

Propriedades de transporte de lactato de cálcio em solução aquosa: efeito da temperatura e da presença de β -ciclodextrina

Marigese Botelho Baía Jesus Rita

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

Coimbra, 2010



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Propriedades de transporte de lactato de cálcio em solução aquosa: efeito da temperatura e da presença de β -ciclodextrina

Marigese Botelho Baía Jesus Rita

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química, ramo
Controlo de Qualidade e Ambiente**

Orientadores: Dr. Artur José Monteiro Valente
Dra. Ana Cristina Faria Ribeiro

Setembro de 2010

Universidade de Coimbra

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 2 |
| 1.1 Lactato de cálcio | 3 |
| 1.2 Ciclodextrinas..... | 6 |
| 1.2.1 História..... | 7 |
| 1.2.2 Estrutura química das ciclodextrinas | 8 |
| 1.2.3 Propriedades das ciclodextrinas | 10 |
| 1.2.4 Formação de complexos de inclusão | 11 |
| 2.Tratamento e discussão dos resultados | 16 |
| 2.1 Estudo da condutibilidade de lactato de cálcio | 16 |
| 2.1.1. Condutibilidade da solução aquosa de lactato de cálcio..... | 16 |
| 2.1.2. Efeito da adição de β -ciclodextrina na condutibilidade de soluções aquosas de lactato de cálcio | 20 |
| 2.2 Estudo da viscosidade de lactato de cálcio em diferentes meios | 22 |
| 2.2.1 Viscosidade de lactato de cálcio em meio aquoso..... | 22 |
| 2.2.2 Viscosidade de soluções aquosas de lactato de cálcio/ β -ciclodextrina | 23 |
| 2.3 Estudo da difusão de lactato de cálcio em diferentes meios..... | 24 |
| 2.3.1 Coeficientes de difusão binários..... | 24 |
| 2.3.1 Coeficientes de difusão ternários | 26 |
| 3. Conclusões..... | 30 |
| 4. Parte experimental..... | 34 |
| 4.1 Reagentes | 34 |
| 4.2 Estudos condutimétricos | 34 |
| 4.2.1 Equipamento utilizado | 36 |
| 4.2.2 Preparação de soluções | 36 |
| 4.2.3 Procedimento experimental..... | 36 |
| 4.3 Estudos da viscosidade | 37 |
| 4.2.1 Equipamento utilizado | 38 |
| 4.2.2 Preparação de soluções | 39 |
| 4.2.3 Procedimento experimental..... | 40 |
| 4.3 Estudos dos coeficientes de difusão mútua | 40 |
| 4.3.1 Lei de Fick para a difusão | 40 |
| 4.3.2 Método de Dispersão de Taylor | 45 |
| 4.3.3 Equipamento utilizado | 47 |
| 4.3.4 Preparação de soluções | 48 |
| 4.3.5 Procedimento experimental..... | 49 |
| 4.4 Estudos de pH | 50 |
| 4.4.1 Equipamento utilizado | 50 |
| 4.4.2 Procedimento experimental..... | 50 |
| Referências | 51 |

Resumo

O lactato de cálcio constitui uma das mais importantes fontes de cálcio e tem, em comparação com outros sais de cálcio, uma boa solubilidade e biodisponibilidade. Constitui um suplemento fortificado de cálcio (tanto em bebidas como nos legumes e produtos de carne), aumenta a eficácia dos antioxidantes, impede a descoloração das frutas e vegetais, contribui para manter a densidade dos ossos e, conseqüentemente, a sua força, e mantém a excitabilidade neuromuscular normal.

A caracterização de propriedades de transporte, tais como a difusão, condutibilidade eléctrica e viscosidade, de soluções electrolíticas envolvendo o ião cálcio, em sais de lactato de cálcio, na ausência e na presença de β -ciclodextrina, têm em vista uma melhor compreensão da estrutura dos sistemas e do comportamento termodinâmico de lactato de cálcio em diferentes meios, para aplicação prática em campos como o da medicina e da farmácia.

Numa primeira parte deste trabalho mediram-se os coeficientes de difusão de soluções aquosas binárias de lactato de cálcio a 25 °C, através da técnica de dispersão de Taylor. Foram, também, efectuadas medidas de condutibilidade eléctrica, num intervalo de temperaturas de (15 a 50) °C, e de viscosidades, a 25 °C.

Numa segunda parte deste trabalho determinaram-se os coeficientes de difusão ternários D_{11} , D_{22} , D_{12} e D_{21} para o sistema ternário de lactato de cálcio e β -ciclodextrina, com concentrações de cada componente entre 0,000 M e 0,01 M, a 25 °C, também através da técnica de dispersão de Taylor.

O pH dos dois sistemas também foi estudado a 25 °C.

Destas determinações, é possível tirar conclusões sobre a influência de β -ciclodextrina na difusão de lactato de cálcio e também sobre o número de moles de cada componente transportados por mole de outro componente movido pelo seu próprio gradiente de concentração.

Abstract

The calcium lactate is one of the most important sources of calcium and has, in comparison with other calcium salts, good solubility and bioavailability. Is a supplement of calcium fortified (as in beverages such as vegetables and meat products), increases the effectiveness of antioxidants to prevent discoloration of fruits and vegetables, helps maintain bone density and therefore its strength, and keeps normal neuromuscular excitability.

The characterization of transport properties, such as, diffusion, electrical conductivity and viscosity in electrolyte solutions involving the calcium ion in calcium lactate salts, in the absence and presence of β -cyclodextrin, aiming for a better understanding of the structure of the schemes and thermodynamic behavior of calcium lactate in different environments, for practical application in fields like medicine and pharmacy.

In the first part of this work were measured the diffusion coefficients of binary aqueous solutions of calcium lactate at 25 °C, using the technique of Taylor dispersion. It also measured the electrical conductivity in a temperature range of (15-50) °C and the viscosity at 25 °C. These physical properties were determined, respectively, with the aid of a conductivimeter and a viscometer, previously calibrated with water.

In the second part of this work determined the ternary diffusion coefficients D_{11} , D_{22} , D_{12} and D_{21} for the ternary system of calcium lactate and β -cyclodextrin, with concentrations of each component between 0.000 M and 0.01 M at 25 °C, also using the technique of Taylor dispersion.

The pH of the two systems was also studied at 25 °C.

These determinations, it is possible to draw conclusions about the influence of β -cyclodextrin in the diffusion of calcium lactate and also on the number of moles of each component transported per mole of another component driven by its own concentration gradient.

Agradecimentos

O meu primeiro agradecimento vai para a instituição onde tenho adquirido conhecimentos e às pessoas com quem estudei e aprendi, dos colegas aos professores, que estão a fazer do meu percurso académico, um período enriquecedor no plano técnico e humano, a eles fico a dever tal mérito.

Agradeço em particular aos meus orientadores, Dr. Artur José Monteiro Valente e Dra. Ana Cristina Faria Ribeiro por todo o apoio e disponibilidade demonstrados ao longo deste projecto, pela simpatia, pelas chamadas de atenção, pelas palavras de encorajamento e de força.

Obrigada a todos os estagiários que dividiram o laboratório comigo, pela simpatia, pela amizade, pela disponibilidade e atenção. Agradeço em especial ao Rui, à Joselaine, à Viviana e à Marisa, por me terem acompanhado mais de perto em muitos momentos desta caminhada.

Não tenho palavras para agradecer aos meus queridos pais, irmãos e namorado que sempre acreditaram em mim e que sempre me deram força para continuar.

A todos eles muito obrigado!

Cap. 1

Introdução

1. Introdução

Desde há muito tempo que os fenómenos de transporte têm sido alvo de investigação e interesse por parte da comunidade científica. Esta procura de informação sobre o comportamento e propriedades das soluções aquosas de electrólitos justifica-se não só porque o desenvolvimento da tecnologia e da ciência tem vindo a exigir um conhecimento cada vez mais rigoroso das propriedades termodinâmicas e de transporte [1], mas também porque é muito importante a acção dessas soluções na natureza, como se verifica, por exemplo, nos processos biológicos de todos os organismos.

De entre as várias soluções, temos vindo a debruçar-nos sobre a caracterização de propriedades de transporte em soluções aquosas de lactato de cálcio, contribuindo para uma maior compreensão da sua estrutura, do seu comportamento e proporcionando às comunidades científicas e tecnológica mais alguns valores destes parâmetros. De facto, face às suas diferentes aplicações, o conhecimento destes novos dados é essencial para uma maior compreensão da sua influência na prevenção e tratamento de deficiências de cálcio, eventualmente causadas por uma dieta ou absorção inadequada.

Enquanto alguns estudos têm sido realizados sobre a análise estrutural de sistemas envolvendo iões cálcio através de técnicas de espectroscopia (isto é, infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia no espectro de absorção utilizados para determinar o modo de ligação de catiões e as constantes de associação) [2-4], poucos têm tido em conta o comportamento de transporte dos sistemas químicos complexos que envolvem lactato de cálcio (eventualmente produzidos no organismo).

Neste projecto, pretende-se estudar as propriedades de transporte, tais como a condutibilidade eléctrica, viscosidade e coeficientes de difusão, do lactato de cálcio em solução aquosa, a diferentes concentrações e na gama de temperaturas entre 15 °C a 50 °C. O efeito da presença de β -ciclodextrina nas propriedades de transporte de lactato de cálcio, bem como **a análise da estequiometria de compostos supramoleculares será, também, analisado.**

Desta forma pretendemos ter um melhor conhecimento das características de hidratação do lactato de cálcio, bem como melhor compreender as interacções com a β -ciclodextrina, através da formação de complexos supramoleculares, que poderão ser importantes para aplicação prática em diferentes áreas.

1.1 Lactato de cálcio

O ácido láctico, também designado por ácido α -hidroxi-propanóico ou ácido 2-hidroxipropanóico, um dos primeiros ácidos conhecidos, foi descoberto em 1780 pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele [5], no leite coalhado. Na época da descoberta, muitos cientistas suspeitaram que a substância descoberta por Scheele fosse, na verdade, uma mistura de compostos já conhecidos. Porém, outro químico sueco, J. Berzelius, EM 1807, repetiu os experimentos de Scheele e concluiu que o ácido láctico era um composto simples. Berzelius encontrou ainda o ácido láctico no leite fresco, carne bovina, no sangue, em outros fluidos de origem animal, e demonstrou ainda a sua presença no corpo humano [6].

Em 1817, o químico alemão J. Vogel provou a identidade e a composição química do ácido descoberto por Scheele. Em 1839, E. Fremy produziu o ácido láctico pela fermentação de carboidratos como a sacarose, lactose, manitol, amido e dextrina. A produção industrial do ácido láctico se estabeleceu em Littleton, Massachussets, em 1881 por C. E. Avery [6,7].

Trata-se de um composto orgânico de função mista, um ácido carboxílico alifático - álcool, de fórmula molecular $C_3H_6O_3$, e estrutural $CHCH(OH)COOH$. Possui um átomo de carbono assimétrico, existindo, portanto, em duas formas isoméricas (figura 1.1) opticamente activas, D-láctico e L-láctico e sob a forma de racemato [8]. Cada um dos enantiómeros comporta-se de maneira diferente nos tecidos vivos, sendo o ácido láctico encontrado mais frequentemente nos seres vivos na forma L-láctico, constituindo assim a forma preferida nas aplicações em alimentos e medicina [8]. No homem, por exemplo, somente esta forma é produzida na contracção muscular.

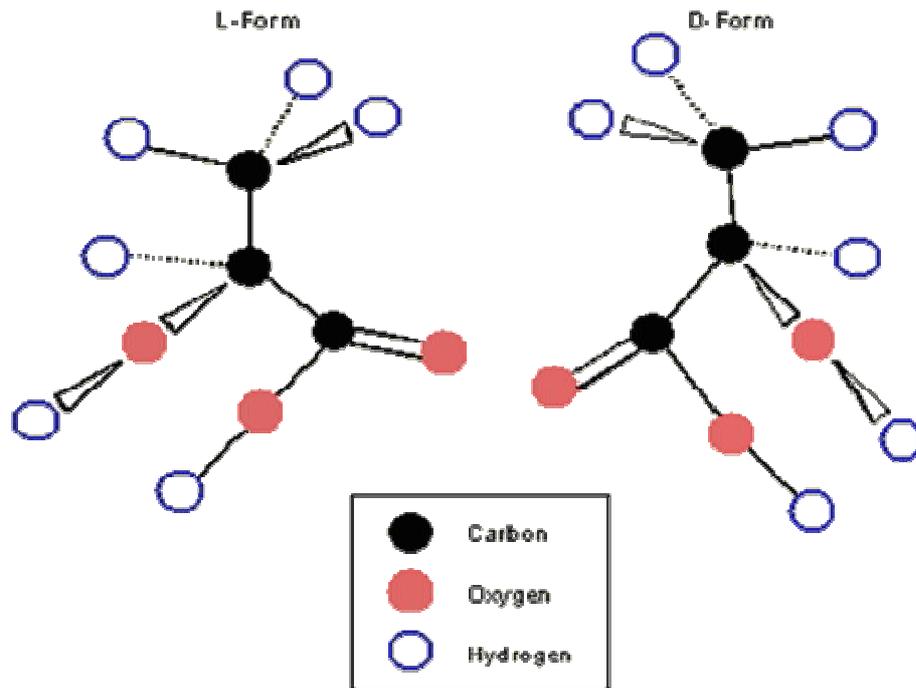


Figura 1.1 - Estereoisômeros de lactato de cálcio.

O ácido láctico é o principal componente do leite ácido e, no corpo humano, pode também ser encontrado no sangue, no músculo, na pele e no cabelo. Pode surgir como produto de fermentação de carboidratos ou por síntese química a partir de carvão, produtos derivados do petróleo, gás natural e de produtos naturais [9]. Como exemplos de produção de ácido láctico por fermentação de carboidratos temos a acção das bactérias lácteas na fermentação do açúcar do leite (lactose) com o *Bacillus lactis acidus*; do amido dos cereais e batatas, do açúcar da uva (glicose) ou do açúcar da cana (sacarose) utilizando o *Bacillus Delbrücki* [9]. O ácido láctico pode, também, ser sintetizado pela hidrólise de cianohidrina de etanal ou por oxidação de propano-1,2-diol usando ácido nítrico diluído [13].

No tecido muscular aparece como produto final da glucólise anaeróbica, por redução do ácido pirúvico, e o seu nível no sangue aumenta após uma intensa actividade muscular, podendo causar câibras [10].

A sua obtenção em laboratório passa por fazer reagir o etanal com uma mistura de cianeto de sódio e ácido sulfúrico. O ácido láctico produzido por síntese fornece apenas a mistura racémica, em que as concentrações das formas D e L do ácido láctico são iguais, enquanto a fermentação permite a obtenção de um dos estereoisômeros do

ácido láctico [11] Porém, neste último caso, pode haver a produção de uma pequena quantidade do outro isômero [12].

Nos últimos dez anos, a procura por ácido láctico produzido por fermentação tem aumentado, principalmente para destinação à indústria de alimentos, pois o mercado está interessado no uso de alimentos de origem natural, sem o risco de contaminação por substância, matéria-prima ou subprodutos, tóxicos à saúde.

Por possuir diversas características como moderada acidez, presença de grupo carboxílico e hidroxílico que possibilitam uma grande variedade de transformações químicas, estabilidade química e térmica, biodegradabilidade e ser reconhecidamente não tóxico em até consideráveis doses, conforme certificado pela FDA (Food and Drug Administration), o ácido láctico possui uma grande variedade de aplicações [5]. Tem sido reportada a sua utilização nas indústrias químicas, na agricultura, indústria de alimentos, bem como em vários campos da medicina. Na indústria química, o ácido láctico pode ser transformado em etanol, propilenoglicol e polímeros acrílicos [13]. A utilização do ácido láctico na produção de biopolímero para aplicações médicas tem aumentado significativamente sua procura mundial. Este crescimento é motivado pela possibilidade de substituição de materiais plásticos que não sejam biodegradáveis ou biocompatíveis por biomateriais que possam ser aplicados em próteses artificiais, libertação controlada de medicamentos em aplicações médicas como reconstituições em vítimas de queimaduras, fracturas e de grandes escoriações [9, 13-15]. Na indústria farmacêutica, da mesma forma, o ácido láctico tem papel importante na produção de loções, medicamentos para esterilização e uso tópico, como esfoliante e hidratante para a pele [5].

Os derivados do ácido láctico, ésteres e sais, são usados como solventes, emulsificantes e plastificantes. A maior procura por ácido láctico, cerca de 85% do ácido produzido [5], está associada a indústria de alimentos, onde possui vasta aplicação, sendo utilizado como acidulante, anti-oxidante, estabilizante e conservante naturais e como agente de limpeza [14,15].

O lactato de cálcio, cuja estrutura molecular é representada na figura 1.1, é um éster do ácido láctico, na proporção de 2:1, muito usado tanto na indústria alimentar como na farmacêutica. Trata-se de uma das mais importantes fontes de cálcio e tem, em comparação com outros sais de cálcio orgânico, uma boa solubilidade e biodisponibilidade. Constitui um suplemento fortificado de cálcio (tanto em bebidas

como nos legumes e produtos de carne), aumenta a eficácia dos antioxidantes, impede a descoloração das frutas e vegetais, auxilia a manter a densidade dos ossos e a força, e mantém a excitabilidade neuromuscular normal, sendo usado como antiácido e também no tratamento de doenças relacionadas com deficiências de cálcio, em especial em Odontologia [16,17]. Na indústria farmacêutica o lactato de cálcio pode ser considerado como um excipiente promissor em comprimidos farmacêuticos.

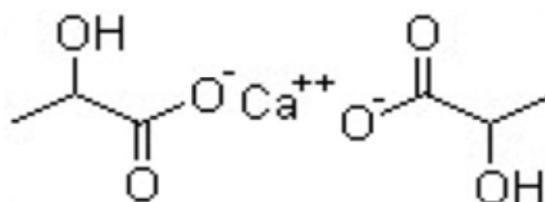


Figura 1.2 - Estrutura molecular de lactato de cálcio

Sabe-se que o cálcio é essencial para a transmissão nervosa, coagulação do sangue, contracção muscular, actua também na respiração celular, além de garantir uma boa formação e manutenção de ossos e dentes [17]. Por isso, quando existe deficiência de cálcio na corrente sanguínea (por má alimentação, questões hormonais ou outros motivos) o corpo tende a repor a deficiência retirando cálcio dos ossos, o que pode levar a osteopatia e osteoporose, na qual os ossos se deterioram e há um aumento no risco de fracturas especialmente nos ossos mais porosos. Também pode causar: agitação, unhas quebradiças, propensão ao desenvolvimento de cáries, depressão, hipertensão, insónia, irritabilidade, dormência no corpo e palpitações.

1.2 Ciclodextrinas

Ao longo das últimas décadas, as ciclodextrinas (CDs), ou cicloamiloses ou ainda cicloglucoamiloses, vêm despertando grande interesse na comunidade científica e na química de macromoléculas, sendo descritas como “moléculas sedutoras, atraindo a atenção dos investigadores tanto no campo de pesquisa como no campo de tecnologias aplicadas” [18]. Szejtli afirmou que “dentre todas as moléculas receptoras em potencial, as CDs parecem ser as mais importantes” [19]. Tal afirmação deriva primordialmente do facto das mesmas, por pertencerem à família dos oligossacarídeos macrocíclicos,

formarem complexos do tipo receptor-substrato, servindo como um ambiente único para reacções químicas [20] e possuírem a capacidade para formar complexos de inclusão com uma variedade de substâncias que têm suas propriedades alteradas pela complexação [21].

Por este motivo, as CDs vêm sendo muito utilizadas em produtos industriais, tecnológicos e em métodos analíticos. Como os efeitos tóxicos podem ser eliminados ou reduzidos pela selecção da ciclodextrina apropriada, as CDs podem ser utilizadas como ingredientes de fármacos, em alimentos ou em cosméticos [19].

1.2.1 História

As ciclodextrinas foram descobertas por Villiers em 1891, a partir da digestão de 1000 g de amido com *Bacillus amylobacter*. Ele obteve cerca de 3 g de uma substância cristalina, a qual denominou “celulosina”, porque as suas características serem semelhantes à celulose no que diz respeito à resistência à hidrólise ácida e porque não era redutora. Villiers determinou que a composição desta substância deveria ser $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ e na forma cristalina ainda pôde observar que ocorriam duas “celulosinas” distintas formadas provavelmente pelas α - e β -CDs. [20-23]. Apesar do trabalho pioneiro de Villiers, as CDs foram primeiramente detalhadas por Schardinger em 1903, que descreveu o processo de preparação e isolamento das mesmas. Por isso, elas são também conhecidas, embora não seja recomendado pela IUPAC, como dextrinas de Schardinger. Ele ainda teve o mérito de distinguir α - e β -CDs através da reacção com iodo [24].

De 1930 a 1970 foram realizados estudos sistemáticos sobre CDs e seus complexos de inclusão. Um grupo composto por Freudenberg e outros estudiosos concluiu, na segunda metade da década de 30, que as CDs apresentam estrutura cíclica, compostas por unidades de glicose unidas através de ligações $\alpha(1-4)$ [19,25].

Ao final da década de 60, o domínio do método de preparação de CDs em escala de laboratório e o acumular de informações sobre sua estrutura, propriedades físico-químicas e propriedades de formação de complexos de inclusão conduziram a estudos visando, em particular, as suas possíveis aplicações [20]. No entanto, a obtenção das CDs ainda apresentava custo elevado e sua utilização em humanos era discutível, uma vez que aparentemente apresentavam toxicidade elevada.

Apenas a partir de 1970 a pretensa toxicidade das CDs foi desmentida após estudos toxicológicos adequados, o que motivou um aumento significativo nas pesquisas nesta área [26-31]. A descrição da estrutura e propriedades das CDs e suas aplicações, bem como a drástica redução do seu custo têm motivado um grande número de pesquisas e publicações neste campo.

1.2.2 Estrutura química das ciclodextrinas

As CDs são formadas durante a acção de enzimas denominadas como CD glicosiltransferases (CGTases) a partir de *Bacillus macerans* sobre o amido [32], sendo este o processo utilizado na produção industrial das mesmas. Esta enzima possui a propriedade de transformar a cadeia linear do amido em moléculas cíclicas. Desta reacção obtém-se com maior rendimento a α -, β - e γ - CDs, e outras CDs em quantidades mais pequenas. As α -ciclodextrinas ou ciclohexa-amilose, são ciclodextrinas formadas por seis unidades de D-glicose; as β - ciclodextrinas ou ciclohepta-amilose, por sete unidades e as γ - ciclodextrinas ou cicloocta-amilose, por oito unidades de D-glicose (figura 1.3).

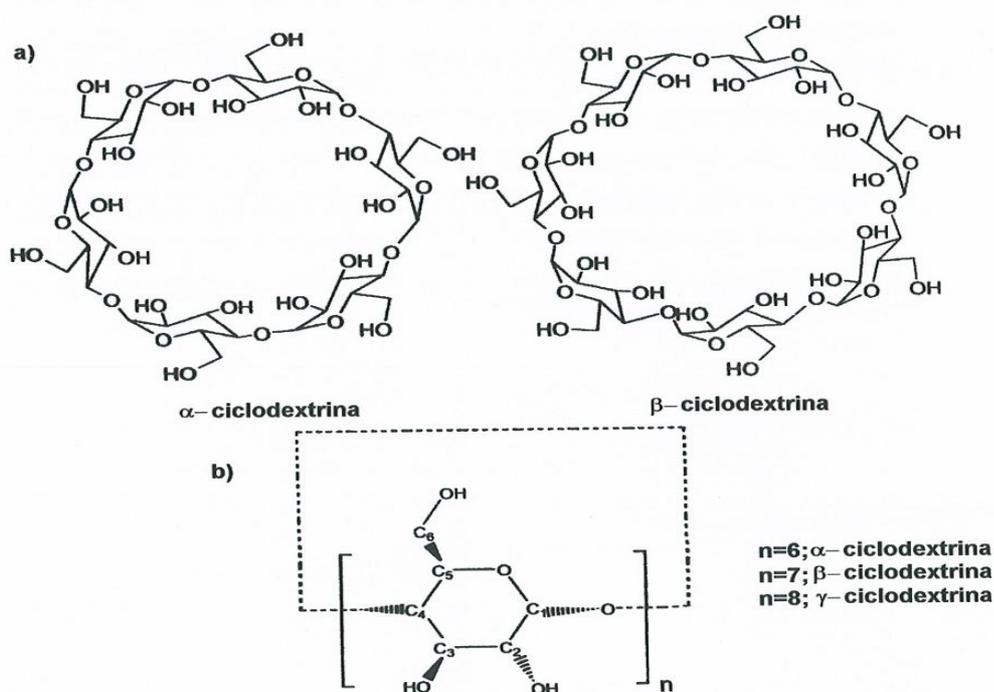


Figura 1.3 – a) Estrutura de α -, β -CD b) Estrutura geral das CDs.

Estas CDs podem ser separadas por precipitação selectiva mediante a acção de determinados solventes orgânicos [33,34]. Existem ciclodextrinas com mais unidades de D-glicose [27], mas não são financeiramente atractivas para o desenvolvimento de aplicações práticas. Cada uma das unidades quirais de glicose possui uma conformação rígida do tipo cadeira rígida, dando ao macrociclo uma geometria semelhante a um cone cortado (figura 1.4).

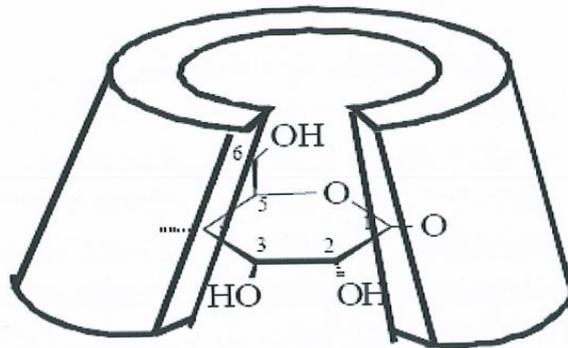


Figura 1.4 – Representação esquemática da conformação das CDs.

O cone é formado pelos esqueletos de carbono das unidades de glicose e os átomos de oxigênio glicosídicos entre aqueles. Os grupos hidroxilos primários (C₆OH) das unidades de glicose estão localizados na parte mais estreita do cone e os secundários (C₂OH e C₃OH) na parte mais larga deste cone (figura 1.5).

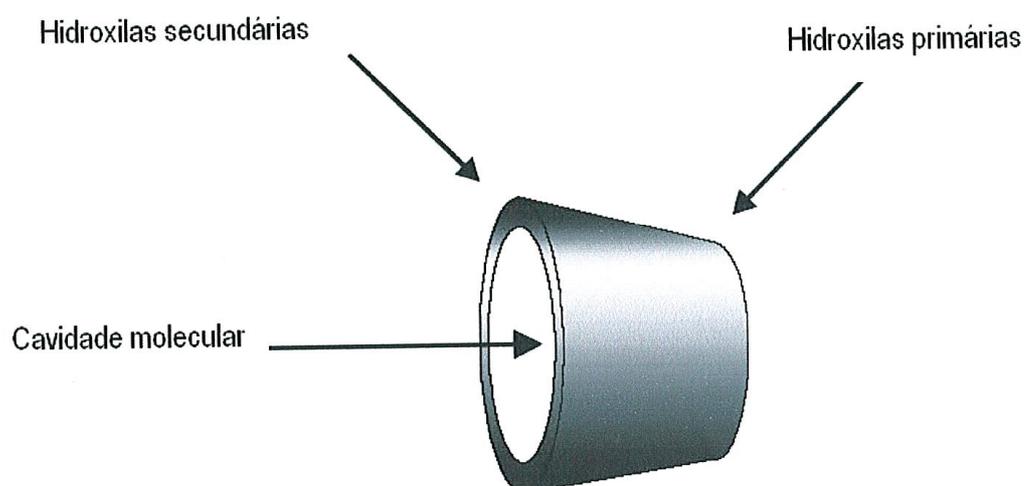


Figura 1.5 – Localização esquemática dos grupos hidroxila e da cavidade molecular.

As CDs são moléculas cristalinas, homogêneas e não higroscópicas [35,36], sendo as suas características estruturais conhecidas com base em estudos por cristalografia de raio-X no estado sólido e por estudos de RMN em solução [20,37].

1.2.3 Propriedades das ciclodextrinas

Os grupos hidroxilos situados nas extremidades do macrociclo conferem às ciclodextrinas a solubilidade em água, bem como uma certa rigidez na estrutura, devido a ligações de hidrogénio intramolecular entre o grupo hidroxilo do carbono 2, de uma unidade de D-glicose, com o hidroxilo do carbono 3 da unidade D-glicose adjacente. As ciclodextrinas são insolúveis na maioria dos solventes orgânicos. O anel da cavidade da ciclodextrina consiste de um anel de grupos CH, um anel de átomos glicosídicos de oxigénio e, novamente, um anel de grupos C-H. Isso torna o interior do anel da ciclodextrina menos polar. São estáveis sob condições alcalinas, mas podem, no entanto, sofrer clivagem por hidrólise ácida, produzindo-se glicose. A actividade das ciclodextrinas segue a ordem de, β , γ e α -CDs, onde a β -CD é a mais tóxica e a γ -CD a mais solúvel.

As propriedades físicas e a dimensão molecular das ciclodextrinas (Tabela 1), variam de acordo com o número de moléculas de D-glicose que as formam, conferindo assim características físico-químicas diferentes a cada uma das ciclodextrinas.

Tabela 1: Propriedades físicas e dimensão molecular de α -, β - e γ -CDs [38]

| Características | α | β | γ |
|--|-------------|-----------|-----------|
| Número de unidades de glicose | 6 | 7 | 8 |
| Peso molecular (g.mol ⁻¹) | 972 | 1135 | 1297 |
| Solubilidade em água (g/100 mL) | 14,5 | 1,85 | 23,2 |
| Rotação específica [α] _D ²⁵ | 150,5 ± 0,5 | 162,5±0,5 | 177,4±0,5 |
| Diâmetro interno (Å) | 4,9 | 6,2 | 7,9 |
| Diâmetro externo (Å) | 14,6 | 15,4 | 17,5 |
| Altura do cone (Å) | 7,9 | 7,9 | 7,9 |
| Volume da cavidade | 176 | 346 | 510 |
| Valores de pKa | 12,33 | 12,20 | 12,8 |

O interior da cavidade apresenta um carácter hidrofóbico devido ao alinhamento dos hidrogénios C(3)-H e C(5)-H e pela ligação éter entre o carbono e oxigénio. A região exterior apresenta carácter hidrofílico (figura 1.6).

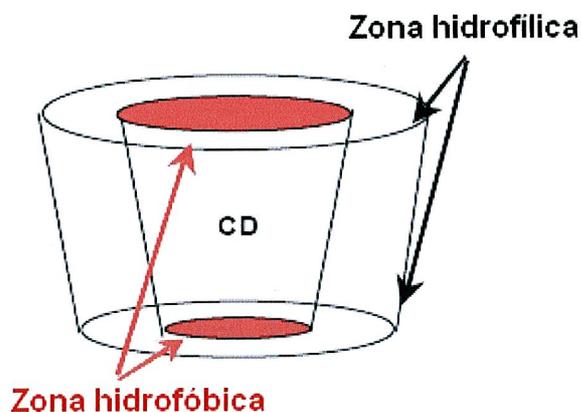


Figura 1.6 – Zonas hidrofóbicas e hidrofílicas das ciclodextrinas.

Em ambiente aquoso, as cavidades das ciclodextrinas proporcionam uma matriz hidrofóbica num ambiente hidrofílico. Assim, as ciclodextrinas em solução aquosa podem formar complexos de inclusão de uma ampla variedade de moléculas, limitados por restrições estereoquímicas da sua cavidade interna rígida.

1.2.4 Formação de complexos de inclusão

Dado que a cavidade é relativamente apolar em comparação com o exterior polar, as ciclodextrinas podem formar compostos de inclusão com moléculas hóspedes hidrofóbicas em soluções aquosas devido, predominantemente, às interações hidrofóbicas [39,40]. Contudo, a possibilidade de formar interações hidrofóbicas representa apenas uma das condições. A outra condição necessária é que a molécula hóspede tenha dimensões adequadas de modo a que possa colocar dentro da cavidade da ciclodextrina. Quando se forma um complexo, a exposição da superfície do interior hidrofóbico da ciclodextrina e do exterior hidrofóbico da molécula de inclusão, ao solvente hidrofílico diminui. O fenómeno da formação de complexos de inclusão com ciclodextrina é deveras complexo [41], tanto que não somente compostos apolares podem ser incluídos, mas também ácidos, amidas, pequenos iões, gases raros a

derivados de benzeno, corantes aromáticos, sais, halogéneos e substâncias inorgânicas [42,43].

A formação de complexos de inclusão altera significativamente as características do substrato. Estas alterações incluem modificações na reactividade química do substrato, fixação de substâncias muito voláteis, melhoria na solubilidade de compostos, estabilização de substâncias sensíveis à luz, calor e oxidação, protecção da degradação de substâncias por microorganismos e actividade catalítica com substratos [20]. Ocorrem ainda, modificações nas propriedades espectrais do substrato (modificando as intensidades de absorvância e de emissão e/ou deslocando bandas) [44,45], na reactividade do substrato incluído e ele, inicialmente hidrofóbico, é tornado hidrofílico sob complexação. A alteração benéfica das propriedades moleculares do hóspede após a formação de um composto de inclusão leva a um grande número de aplicações relacionadas com a química farmacêutica, a tecnologia de alimentos, química analítica, síntese química e catálise [34,46,47]. A estabilização de compostos lábeis e a protecção a longo prazo da cor, odor e sabor representam algumas das possíveis aplicações nestas áreas [34,48].

As pequenas moléculas, normalmente, formam complexos de inclusão 1:1. Neste tipo de complexos de inclusão, um anel de ciclodextrina inclui na sua cavidade apenas uma molécula. É também possível, que apenas uma parte da molécula de inclusão esteja no interior da cavidade da ciclodextrina. Este caso acontece quando são incluídas moléculas mais compridas que a cavidade da ciclodextrina, daí, pode formar-se complexos de inclusão do tipo 2:1. Desta forma, para moléculas pequenas é mais fácil formar complexos com α - e β -CD devido à compatibilidade do volume do substrato e da CD. Já no caso da γ -CD, se o substrato for muito pequeno o encaixe torna-se desfavorável devido ao tamanho muito maior da cavidade desta ciclodextrina.

A formação de complexos de inclusão com as ciclodextrinas é tratada historicamente em solução aquosa. Em meio aquoso, a cavidade interior das CDs é ocupada por moléculas de água através de uma interacção fraca, energeticamente desfavorável (interacção polar-apolar), o que facilita a inclusão de moléculas menos polares que a água (figura 1.7). As extremidades da cavidade da ciclodextrina isolada são abertas de tal forma que o substrato pode entrar no anel da ciclodextrina por ambos os lados.

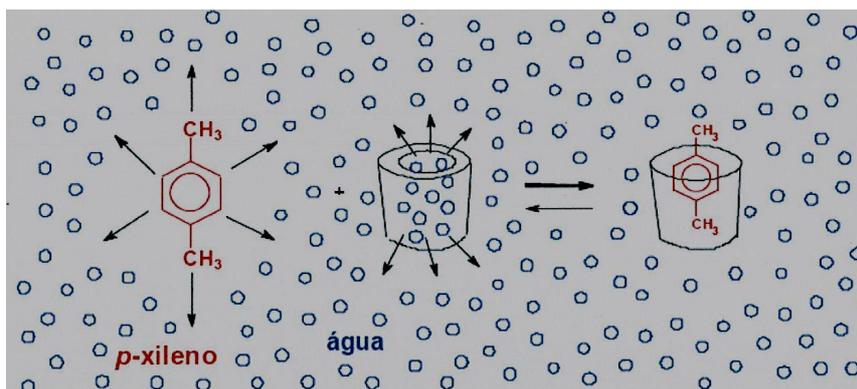


Figura 1.7 – Exemplo da inclusão de uma molécula (p-xileno) na ciclodextrina, em meio aquoso.

Em sistema aquoso, a formação do complexo de inclusão com a ciclodextrina pode ser facilmente detectada através de análise por RMN, dicroísmo circular ou ainda através de espectrofotometria de UV/vis e de fluorescência [20]. Nestas últimas técnicas, a molécula incluída apresenta muitas vezes alterações consideráveis de comprimento de onda de absorvância máxima no espectro de UV/vis e tem sua fluorescência modificada a partir da inclusão. Outras diferentes técnicas podem ser utilizadas para estudar a estrutura ou o equilíbrio do complexo de inclusão, as quais incluem as técnicas de difusão, calorimetria diferencial de varrimento, análise termogravimétrica, espectroscopia Raman, espectrometria de massa, medidas de condutibilidade, potenciometria, voltametria, calorimetria. Estas técnicas também fornecem informações quantitativas e qualitativas sobre os modelos de inclusão e a geometria do complexo obtido.

No entanto, apenas análises por RMN podem comprovar a estrutura do complexo formado, a partir da observação de uma alteração sensível dos sinais obtidos tanto para a ciclodextrina como para o substrato. A modificação nos sinais da ciclodextrina é consequência directa das alterações causadas pela associação com o substrato, que altera o microambiente ao redor dos átomos de hidrogénio no interior da cavidade. Da mesma forma, o substrato incluído sofre alteração na leitura dos sinais correspondentes aos átomos que penetram na cavidade da ciclodextrina, a qual constitui um microambiente diferente daquele em que ele estava originalmente solvatado.

Em relação à solvatação das espécies envolvidas, dois tipos de estrutura da água devem ser inicialmente considerados (1) moléculas de água ligadas fortemente a grupos iónicos ou a grupos com capacidade para formar ligações de hidrogénio e (2) moléculas

de água ao redor de grupos hidrofóbicos. Quanto mais fortemente ligadas se encontram as moléculas de água, mais vagorosamente serão removidas da esfera de hidratação do substrato.

Neste trabalho, as moléculas do lactato de cálcio serão as moléculas hospedes que ocupam a cavidade interna da β -CD, provocando assim a alteração das propriedades das soluções de CaL_2 .

Cap. 2

Tratamento e discussão de resultados

2. Tratamento e discussão dos resultados

Neste capítulo apresentam-se os resultados obtidos para as propriedades de transporte estudadas (condutibilidade eléctrica, viscosidade e coeficientes de difusão mútua) de soluções aquosas binárias (lactato de cálcio/H₂O) e ternárias (lactato de cálcio/ β -ciclodextrina/H₂O), a várias temperaturas. De forma a complementar o estudo e auxiliar a discussão de resultados, determinou-se ainda o valor de pH destes dois sistemas a 25 °C.

2.1 Estudo da condutibilidade de lactato de cálcio

2.1.1. Condutibilidade da solução aquosa de lactato de cálcio

A condutibilidade molar, Λ , é uma quantidade muito útil na caracterização da estrutura de soluções de electrólitos dissolvidos em água [49].

Na figura 2.1 está representada a dependência da condutibilidade molar da solução aquosa de lactato de cálcio com a raiz quadrada da concentração. Este ensaio foi realizado a diferentes temperaturas, variando de 15 °C a 50 °C. A condutibilidade molar de lactato de cálcio foi calculada usando a expressão:

$$\Lambda = \frac{(k - k_0) \cdot 1000}{c} \quad (2.1)$$

onde k e k_0 representam as condutâncias eléctricas específicas, em S.cm⁻¹, da solução aquosa de lactato de cálcio e do solvente, respectivamente, e c é a concentração molar em M.

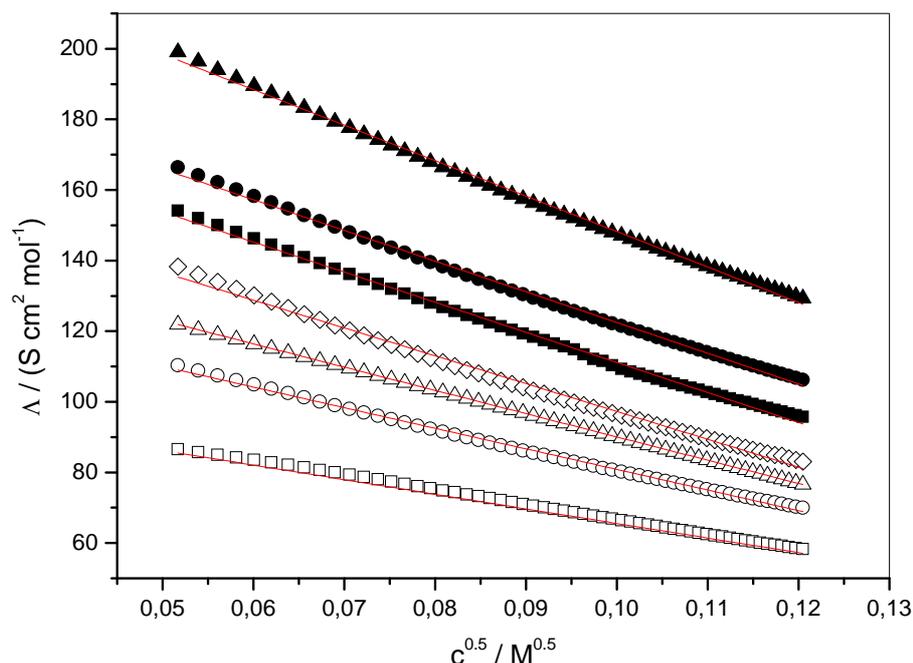


Figura 2.1: Condutibilidade molar de soluções aquosas de CaL_2 , a diferentes temperaturas: (\square) 15 °C, (\circ) 20 °C, (\triangle) 25 °C, (\diamond) 30 °C, (\blacksquare) 37 °C, (\bullet) 40 °C, e (\blacktriangle) 50 °C.

A condutibilidade molar CaL_2 depende linearmente da raiz quadrada da concentração, para concentrações que variam de $(7,44 \times 10^{-4}$ a $1,83 \times 10^{-2})$ M, de acordo com a equação de Kohlrausch [50]:

$$\Lambda = \Lambda^0 - A \cdot c^{0,5} \quad (2.2)$$

onde Λ^0 é a condutividade molar de CaL_2 a concentração infinitesimal, em condições ideais e A é a função da constante dielétrica e a viscosidade média, temperatura e o raio da “atmosfera iônica”.

O parâmetro de ajuste dos resultados experimentais de Λ para a equação 2.2 de CaL_2 a várias temperaturas está representado na tabela (2.1). Estes parâmetros foram obtidos pelo método de regressão linear de mínimos quadrados, usando o software Origin 8.0, com um limite de confiança de 95%

Tabela 2.1: Condutibilidade molar limite, Λ^0 , de CaL_2 calculada a partir dos resultados experimentais, equação 2.3.

| T/ °C | $\Lambda^0/(\text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1})$ | A/ $\text{S.cm}^{7/2}.\text{mol}^{-3/2}$ | R^{2a} |
|-------|---|--|----------|
| 15 | 108,78 ($\pm 0,08$) | -421 (± 1) | 0,9997 |
| 20 | 139,1 ($\pm 0,4$) | -583 (± 4) | 0,9975 |
| 25 | 156,0 ($\pm 0,6$) | -659 (± 7) | 0,9999 |
| 30 | 176,1 ($\pm 0,7$) | -788 (± 8) | 0,9944 |
| 37 | 196,4 ($\pm 0,6$) | -853 (± 6) | 0,9968 |
| 40 | 209,4 ($\pm 0,5$) | -870 (± 6) | 0,9974 |
| 50 | 248,7 ($\pm 0,6$) | -1005 (± 6) | 0,9977 |

^a R^2 : coeficiente de correlação

A partir da condutibilidade molar a concentração infinitesimal, Λ^0 , tabela 2.2, a condutibilidade iónica limite do anião lactato pode ser calculada, mediante a equação 2.4.

$$\Lambda^0 = \lambda^0(\text{Ca}^{2+}) + 2\lambda^0(\text{L}^-) \quad 2.3$$

onde a condutibilidade limite iónica ião cálcio é obtida através da equação 2.5

$$\lambda^0(\text{Ca}^{2+})_t = a_0 + \alpha(t) + \beta(t)^2 + \gamma(t)^3 \quad 2.4$$

onde t é a temperatura em °C e a_0 , α , β e γ são constantes com os seguintes valores: 11,166 $\text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$, 2,959 $\text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}.\text{°C}^{-1}$, $-4,72 \times 10^{-2} \text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}.\text{°C}^{-2}$ e $3,44 \times 10^{-4} \text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}.\text{°C}^{-3}$ respectivamente [50].

Os valores obtidos para $\lambda^0(\text{Ca}^{2+})$ e $\lambda^0(\text{L}^-)$, a diferentes temperaturas, estão indicados na tabela 2.2.

As propriedades de transporte dependem ambas do raio iónico e do grau de hidratação iónico. Para termos uma visão mais profunda sobre os factores que afectam o mecanismo de transporte, calculou-se o raio hidrodinâmico (r_h) para o ião lactato, que é dependente da temperatura. Para tal, usou-se a seguinte equação:

$$\lambda^0 = \frac{F \cdot z \cdot a}{6 \pi \eta \nu r_h} \quad (2.5)$$

onde F é a constante de Faraday ($96485,34 \text{ C.mol}^{-1}$), e é a carga elementar ($1,60 \times 10^{-19} \text{ C}$) e z a carga iónica. Os valores de r_h listados na tabela 2.2 foram calculados usando os valores de viscosidade da água a uma temperatura T (η_0).

Tabela 2.2: Condutibilidade iónica limite do ião lactato a diferentes temperaturas

| T/ °C | $\lambda^0(\text{Ca}^{2+})^*/$ S.cm ² .mol ⁻¹ | $\lambda^0(\text{L}^-)/$ S.cm ² .mol ⁻¹ | $r_h/$ 10 ⁻¹⁰ .m |
|----------|--|--|--------------------------------|
| 15 | 92,21 | 8,29 ($\pm 0,09$) | 7,5 |
| 20 | 108,48 | 15,3 ($\pm 0,4$) | 5,3 |
| 25 | 122,10 | 16,9 ($\pm 0,6$) | 5,4 |
| 30 | 133,58 | 21,3 ($\pm 0,7$) | 4,8 |
| 37 | 147,07 | 24,7 ($\pm 0,6$) | 4,7 |
| 40 | 152,23 | 28,6 ($\pm 0,5$) | 4,3 |
| 50 | 168,55 | 40,9 ($\pm 0,6$) | 3,6 |

*Valores obtidos através da equação 2.4.

Da análise do raio de hidratação obtida pela lei de Walden (eq. 2.5), há uma tendência para uma diminuição de r_h com o aumento da temperatura. Este desvio relativamente à lei de Walden pode ser justificado pelo enfraquecimento das interações ião – solvente, face ao aumento da temperatura (menor resistência ao seu movimento).

A dependência da temperatura de Λ^0 , figura 2.2, pode ser representada no quadro da teoria de condutâncias cinéticas pela equação 2.6

$$\ln \lambda^0 (\text{CaL}_2) + \frac{2}{3} \ln d = - \frac{\Delta H^*}{RT} + B \quad (2.6)$$

onde d é a densidade do solvente (g.cm^{-3}), R é a constante dos gases ($8314 \text{ J.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), B é a constante de integração e ΔH^* é a entalpia de activação do processo (J.mol^{-1}). A figura 2.2 representa a dependência do logaritmo natural da condutibilidade molar a concentração infinitesimal em função do inverso da temperatura. Desta relação, verifica-se que existe uma relação linear, de acordo com a equação 2.6. O valor de ΔH^* correspondente é de $30,8 (\pm 0,1) \text{ kJ.mol}^{-1}$. Este valor de entalpia é da mesma ordem de magnitude dos valores reportados pela J. Chem. Eng. Data para drogas (por exemplo, a efedrina)[51], que embora sejam sistemas diferentes apresentam um comportamento similar (diminuição da condutibilidade molar com o aumento da temperatura). Salienta-se a boa reprodutibilidade do método, com erros aceitáveis ($<1 \%$).

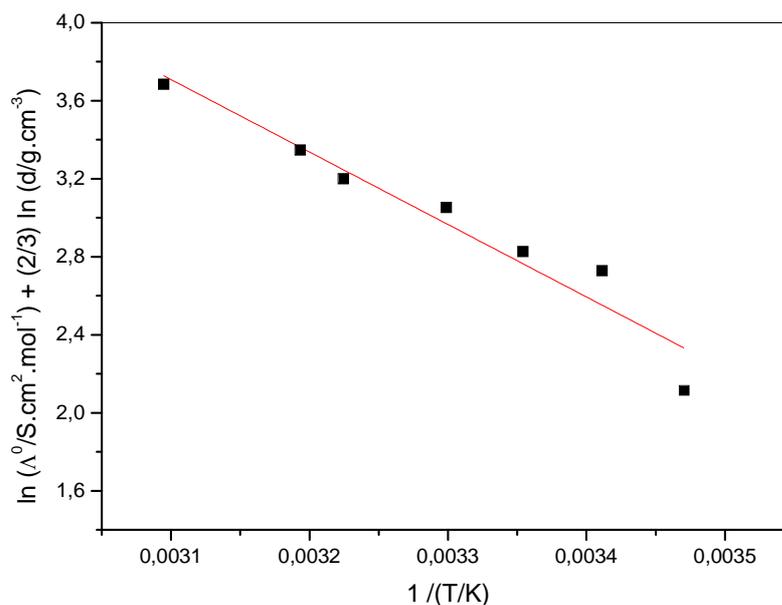


Figura 2.2: Dependência do logaritmo natural da condutibilidade molar a concentração infinitesimal, com a correção da densidade do solvente, com o inverso da temperatura, para CaL_2 .

Tabela 2.3: Logaritmo natural da condutibilidade molar a concentração infinitesimal, X, e o inverso da temperatura.

| T/ K | 1/(T/ ($10^{-3}.\text{K}^{-1}$)) | X |
|--------|------------------------------------|----------------------|
| 288,15 | 3,47 | 2,11 ($\pm 0,011$) |
| 293,15 | 3,41 | 2,73 ($\pm 0,024$) |
| 298,15 | 3,35 | 2,83 ($\pm 0,037$) |
| 303,15 | 3,30 | 3,05 ($\pm 0,035$) |
| 310,15 | 3,22 | 3,20 ($\pm 0,024$) |
| 313,15 | 3,19 | 3,35 ($\pm 0,019$) |
| 323,15 | 3,09 | 3,68 ($\pm 0,015$) |

2.1.2. Efeito da adição de β -ciclodextrina na condutibilidade de soluções aquosas de lactato de cálcio

O efeito da presença de β -ciclodextrina (β -CD) na condutibilidade das soluções aquosas de lactato de cálcio foi estudado. Os resultados, apresentados na figura 2.2, mostram que a presença de β -CD conduz a uma diminuição da condutibilidade eléctrica do CaL_2 . Uma vez que a β -CD é um composto não-iónico tal diminuição pode ser

justificada através do aumento das dimensões da espécie iónica, o que pode ocorrer pela formação de complexos de inclusão [52].

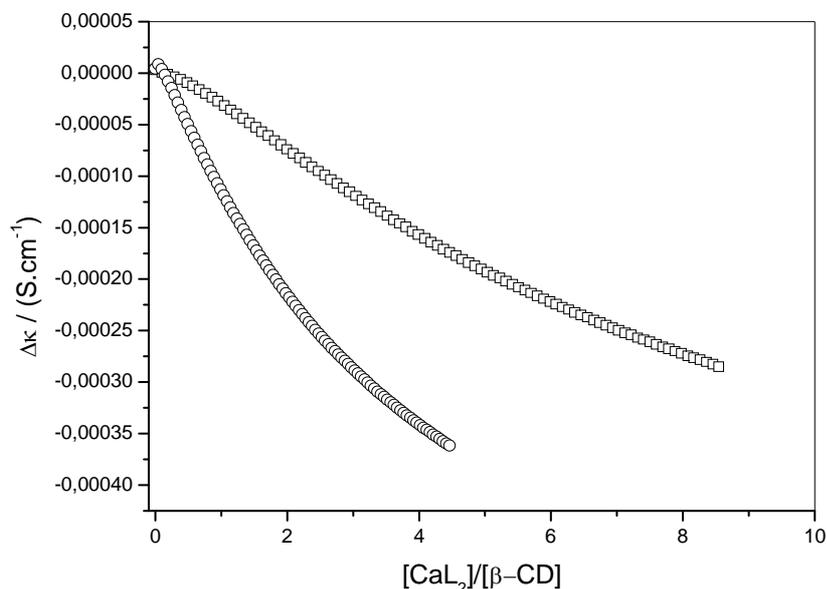


Figura 2.3 - Variação da condutância específica do CaL_2 , $\Delta\kappa = \kappa - \kappa_{\text{CD}}$, na ausência (κ) e presença de CD (κ_{CD}), a 25 °C. (□) $[\text{CD}] = 2,63 \text{ mM}$; (o) $[\text{CD}] = 5 \text{ mM}$.

A condutibilidade diminui consideravelmente com a adição da β -ciclodextrina porque os iões lactato foram complexados pela β -CD, tornando menos eficiente o transporte de carga. Esta diminuição da condutibilidade torna-se mais acentuada para maiores concentrações de β -CD em solução.

Da análise de dados viscosidade (ver secção 2.2) é possível estimar que a β -CD interacciona com CaL_2 numa estequiometria de 1:1. A ser assim, seria de esperar da análise da figura 2.3 que para razões de concentração superior a 1, o valor de $\Delta\kappa$ tenderia a aumentar e tender para zero, assim que a $[\text{CaL}_2]$ fosse superior à de β -CD. Uma vez que tal não acontece, podemos sugerir como hipótese que a adição de CaL_2 a uma solução de β -CD é acompanhada pela desidratação desta em detrimento de uma maior estruturação das camadas de hidratação do açúcar. Este efeito foi anteriormente observado em soluções de cloreto de cobalto na presença de sacarose [53], bem como em soluções de β -CD [54].

De forma a observar o possível efeito da hidrólise de CaL_2 na variação negativa de $\Delta\kappa$, procedeu-se ao estudo do pH de soluções aquosas de lactato de cálcio, numa

gama de concentrações de 0,000249 a 0,0183M. Obtiveram-se valores compreendidos no intervalo $5,6 \leq \text{pH} \leq 6,4$ varia entre 5-6. Constatou-se que este valor permaneceu praticamente inalterado a medida que se ia adicionando a de β -ciclodextrina, uma vez que os valores obtidos estão compreendidos no intervalo $5,7 \leq \text{pH} \leq 6,4$. Desta forma podemos concluir que não há efeito de hidrólise de CaL_2 na variação da condutibilidade eléctrica na presença e ausência da β -CD.

2.2 Estudo da viscosidade de lactato de cálcio em diferentes meios

2.2.1 Viscosidade de lactato de calcio em meio aquoso

Apresentam-se na figura 2.3 os valores experimentais obtidos para a viscosidade de soluções aquosas de lactato de cálcio, a 25 °C.

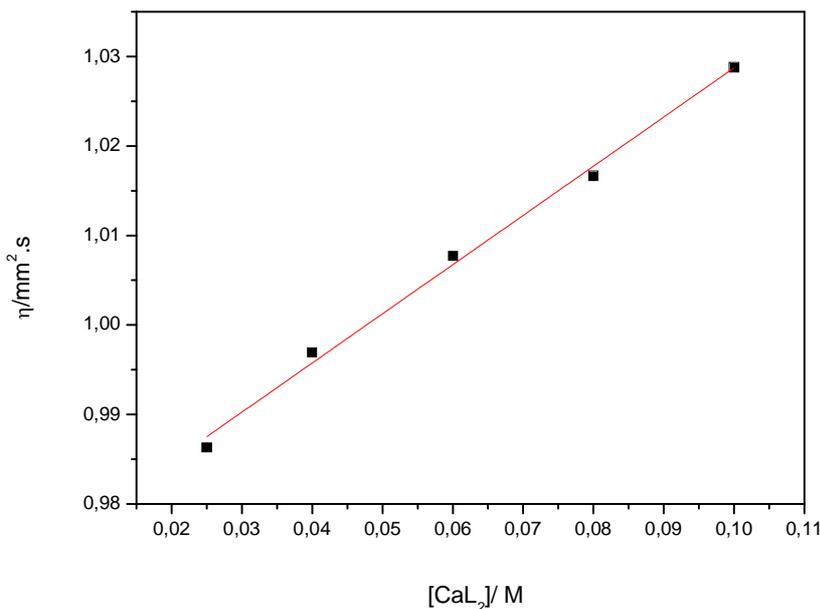


Figura 2.3 - Viscosidade, η , em função da concentração de soluções aquosas de lactato de cálcio, a 25 °C.

A reprodutibilidade dos valores de viscosidades é de $\pm 0,02 \%$.

Na gama de concentrações estudada, verifica-se uma relação linear entre a viscosidade e a concentração, de acordo com a equação:

$$\eta/(\text{mm}^2.\text{s}) = 0,974 + 0,547 c \quad (R^2 = 0,9940) \quad (2.7)$$

Observa-se que quanto maior a concentração de lactato de cálcio em solução maior a viscosidade da mesma. Este facto pode ser explicado uma vez que quanto maior for a quantidade de sal (CaL_2) em solução, maiores serão as forças intermoleculares existentes, diminuindo o movimento das moléculas deste sal, o que conduz a um aumento da viscosidade.

2.2.2 Viscosidade de soluções aquosas de lactato de cálcio/ β -ciclodextrina

A viscosidade de soluções ternárias ($\text{CaL}_2/\text{CD}/\text{H}_2\text{O}$) foi estudada e os resultados obtidos estão ilustrados na figura 2.4. A reprodutibilidade dos valores de viscosidades é de $\pm 1\%$.

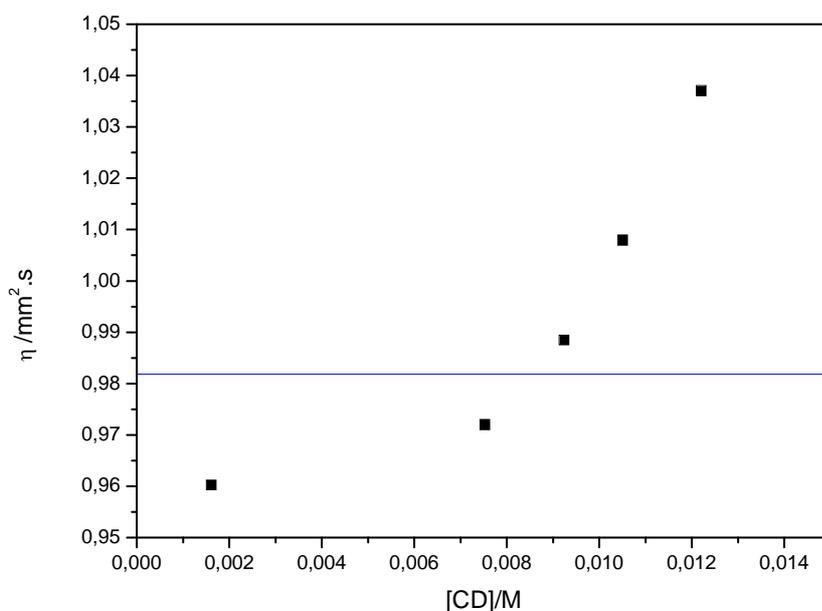


Figura 2.4 – Viscosidade de CaL_2 (9,15 mM) em solução aquosa de diferentes concentrações de β -CD, a 25 °C. A linha horizontal indica a viscosidade de CaL_2 (9,15 mM) em solução aquosa, a 25 °C.

Da análise das viscosidades para o sistema ternário podemos observar que para concentrações de ciclodextrina inferiores à concentração de lactato de cálcio há uma diminuição da viscosidade relativamente a solução sem β -CD, e aquela regista um pequeno aumento com um aumento da concentração de β -CD de 4 vezes. Quando a

concentração da β -CD excede a concentração do CaL_2 , a viscosidade da solução torna-se superior à da solução aquosa de CaL_2 , e a variação da viscosidade com a concentração de β -CD aumenta significativamente. Embora as razões para tal comportamento não sejam ainda conhecidas, pensamos poder concluir que há uma interação entre a β -CD e o CaL_2 e a complexação seja de 1:1.

2.3 Estudo da difusão de lactato de cálcio em diferentes meios

2.3.1 Coeficientes de difusão binários

Tendo verificado a ausência dados na literatura sobre os coeficientes de difusão mútua do lactato de cálcio, resultante de uma pesquisa na literatura, foram determinados esses coeficientes de difusão no intervalo de concentração de 0,000 a 0,1 M a 25 °C.

Em virtude do grande número de resultados obtidos exibem-se apenas os valores médios (D_m) dos coeficientes de difusão obtidos para cada concentração, tendo sido apenas utilizados como critérios em tal escolha, duas medidas de imprecisão, o desvio padrão experimental do valor dos coeficientes de difusão, S_{D_m} , e o respectivo coeficiente de variação, C_v . Estes parâmetros estatísticos são utilizados para avaliar a imprecisão das medidas experimentais.

Na tabela 2.4 estão representados os coeficientes de difusão mútua, D , de CaL_2 em solução aquosa, sendo D_m o valor da média de, pelo menos, três medições independentes.

Tabela 2.4: Coeficientes de difusão médio, D_m , de soluções aquosas de CaL_2 , a 25 °C

| $c /$ M | $D_m /$ $10^{-9} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{S}^{-1}$ | $S_{D_m} /$ $(10^{-9} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{S}^{-1})$ | $C_v /$ % |
|------------|---|---|--------------|
| 0,001 | 0,769 | 0,242 | 0,310 |
| 0,005 | 0,688 | 0,036 | 0,050 |
| 0,100 | 0,643 | 0,020 | 0,030 |

NOTAS: a) c representa a concentração da solução de injeção; b) D_m representa o valor médio do coeficiente de difusão obtido para as medições realizadas; c) S_{D_m} representa o desvio padrão experimental da média; d) C_v representa o coeficiente de variação dos resultados experimentais, comumente designado por imprecisão.

Da análise da tabela 2.4 pode dizer-se que a imprecisão máxima das medidas é de $\leq 0,3\%$.

A figura 2.5 ilustra o comportamento do D_m função da raiz quadrada da concentração de CaL_2 com base na aplicação da curva polinomial ($n = 1$) aos dados experimentais (tabela 2.4), tendo sido apenas utilizado como critério, em tal escolha, o coeficiente de correlação, R^2 . Através da aplicação daquela equação de ajuste (eq. 2.8) torna-se possível estimar o valor da condutibilidade do ião lactato àquela concentração. Isto é, admitindo que o valor extrapolado, D^0 , é aproximadamente igual ao valor do coeficiente de difusão de Nernst [50,55] (eq. 2.9), com uma incerteza da ordem de $\pm 2\%$ ($D^0 = 0,673 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) e tendo presente a condutibilidade do ião cálcio a concentração infinitesimal, $122,10 \text{ m}^2 \Omega^{-1} \text{ mol}^{-1}$ (Tabela 2.3), obtém-se para a condutibilidade do ião lactato o valor $\lambda^0 = 16,84 \text{ m}^2 \Omega^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Este valor está concordante com o valor de λ^0 obtido por extrapolação das medidas de condutibilidade molar (desvio $\leq 0,4\%$).

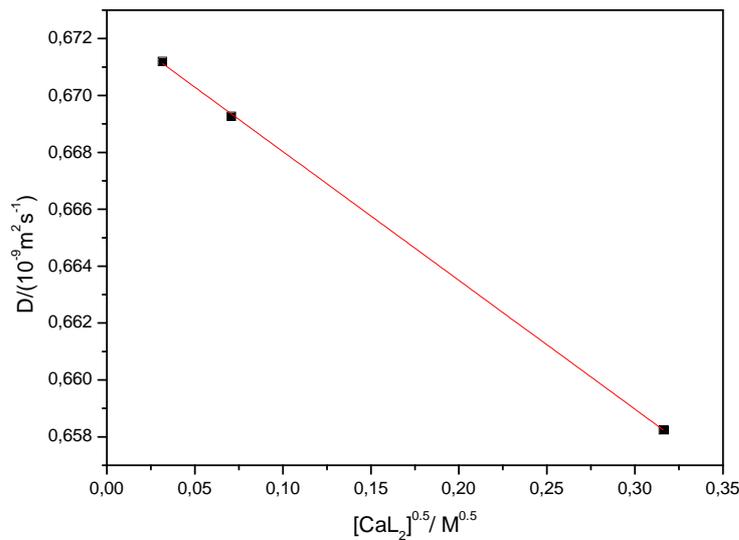


Figura 2.5: Coeficiente de difusão, D , em função da raiz quadrada da concentração, para soluções aquosas de lactato de cálcio, a 25°C .

$$D/10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = 0,673 - 0,045 c^{0.5} \quad (R^2 = 0,9997) \quad (2.8)$$

$$D^0 = \frac{RT}{F^2} \frac{|Z_{\text{Ca}^{2+}}| + |Z_{\text{L}^-}|}{|Z_{\text{Ca}^{2+}} + Z_{\text{L}^-}|} \frac{\lambda_{\text{Ca}^{2+}}^0 + \lambda_{\text{L}^-}^0}{\lambda_{\text{Ca}^{2+}}^0 + \lambda_{\text{L}^-}^0} \quad (2.9)$$

Através da análise dos resultados obtidos, verificamos que o coeficiente de difusão mútua diminui a medida que aumenta a concentração de lactato de cálcio em solução, o que se pode justificar pelo aumento da associação de moléculas de lactato de cálcio, a medida que aumenta a concentração da mesma. A mobilidade das moléculas de lactato de cálcio diminui e, conseqüentemente, o coeficiente de difusão também diminui.

2.3.1 Coeficientes de difusão ternários

Na tabela 2.5 apresentam-se os coeficientes de difusão ternários (D_{11} , D_{22} , D_{12} e D_{21}) para este sistema ternário, com concentrações entre 0,000 M e 0,010 M de cada componente a uma temperatura de 25 °C, utilizando a técnica de dispersão de Taylor. Os coeficientes de D_{11} e D_{22} principais, que correspondem aos fluxos molares dos componentes CaL₂ (1) e β-CD (2) impulsionados pelos seus próprios gradientes de concentração, são comparados com aqueles obtidos para os sistemas binários (CaL₂/água) (figura 2.5), com as mesmas temperatura e técnica. E com base nos valores dos coeficientes de difusão cruzados D_{12} e D_{21} obtidos, pode concluir-se acerca da influência de β-CD na difusão do CaL₂ e vice-versa.

Tabela 2.5: Coeficientes de difusão ternária, D_{11} , D_{12} , D_{21} e D_{22} , para as soluções do CaL₂ aquoso (1) + β-CD (2) e os respectivos desvios padrão, S_D , a 25 °C

| $c_1/$ | $c_2/$ | $D_{11} \pm S_D^a/$ | $D_{12} \pm S_D^a/$ | $D_{21} \pm S_D^a/$ | $D_{22} \pm S_D^a/$ |
|--------|--------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| M | M | $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ |
| 0,0000 | 0,0000 | $0,799 \pm 0,017$ | $-0,0928 \pm 0,024$ | $-0,218 \pm 0,063$ | $0,390 \pm 0,0004$ |
| 0,0005 | 0,0005 | $0,855 \pm 0,016$ | $-0,038 \pm 1,93$ | $-0,036 \pm 1,75$ | $0,359 \pm 0,0060$ |
| 0,0000 | 0,0100 | $0,863 \pm 0,016$ | $0,171 \pm 1,03$ | $-0,023 \pm 4,11$ | $0,303 \pm 0,180$ |
| 0,0100 | 0,0000 | $0,763 \pm 0,00092$ | $0,052 \pm 0,54$ | $-0,0023 \pm 0,30$ | $0,346 \pm 0,018$ |

NOTAS: a) c_1 e c_2 são as concentrações em unidades de mol.dm⁻³. b) ^a representa o desvio padrão experimental

Salienta-se a boa reprodutibilidade do método, com desvios $\leq 5\%$.

Analisando os resultados obtidos, pode-se constatar que a adição de β -CD produz mudanças significativas no D_{11} para CaL_2 , ou seja, a difusão de CaL_2 aumenta consideravelmente com a presença de β -CD e especialmente quando esta se encontra em excesso relativamente a CaL_2 . Considerando o valor de $c_1 = 0,000 \text{ M}$ (tabela 2.5) e aplicando a equação 2.8 obtemos um valor de D_{11} , que comparado com o valor de D_{11} ($0,799 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) (tabela 2.5) obtemos um desvio em relação ao valor do coeficiente de difusão aquoso de cerca de 18,72%. Da mesma forma, considerando $c_1 = 0,010 \text{ M}$ e $D_{11} = 0,673 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (tabela 2.5), obtemos um desvio de cerca de 14,22%. De facto, a presença de β -CD influencia a difusão de lactato de cálcio, especialmente quando a β -CD se encontra em maior quantidade em solução.

A difusão de β -CD em meio aquoso a 25°C obedece à seguinte equação linear:

$$D/10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = D^0 [1 + A (c/ \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})] \quad [56] \quad (2.10)$$

onde D^0 corresponde ao coeficiente de difusão a diluição infinita a 25°C ($0,326 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) e A é uma constante igual a -1.00 a 25°C [56].

Considerando o valor de $c_2 = 0,000 \text{ M}$ (tabela 2.5) e aplicando a equação 2.10 obtemos um valor de D_{22} , que comparado com o valor de D_{22} ($0,390 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) (tabela 2.5) obtemos um desvio em relação ao valor do coeficiente de difusão aquoso de β -CD de cerca de 19,6%. Da mesma forma, considerando $c_2 = 0,0100 \text{ M}$ e $D_{22} = 0,303 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (tabela 2.5), obtemos um desvio de cerca de 6,19%. Visto isto, a difusão de β -CD também é influenciada pela presença de lactato de cálcio, principalmente a concentração infinitesimal.

A partir dos rácios D_{21}/D_{11} e D_{12}/D_{11} (Tabela 2.6) também é possível obter informações relativas ao número de moles de cada componente transportadas por mole do outro componente, impulsionadas pelo gradiente de concentração do primeiro componente.

Tabela 2.6: Razão entre os coeficientes de difusão secundários D_{21} e D_{22} , a respectivas concentrações

| c_1/M | c_2/M | ${}^aD_{12}/D_{22}$ | ${}^bD_{21}/D_{11}$ |
|---------|---------|---------------------|---------------------|
| 0.0000 | 0.0000 | - 0,238 | - 0,273 |
| 0.0005 | 0.0005 | - 0,100 | - 0,042 |
| 0.0100 | 0.0000 | 0,150 | - 0,003 |
| 0.0000 | 0.0100 | 0,564 | - 0,027 |

NOTAS: ${}^aD_{12}/D_{22}$ dá o número de moles de CaL_2 transportados por mole de β -CD. ${}^bD_{21}/D_{11}$ dá o número de moles de β -CD transportados por mole de CaL_2

Os coeficientes de difusão secundários a concentração infinitesimal dos D_{12} e D_{21} devem ser zero dentro do erro experimental. Em concentrações finitas, os valores desses coeficientes são diferentes de zero (embora, em geral, as diferenças são próximas às incertezas das medições. Considerando que D_{12}/D_{22} dá o número de moles de CaL_2 transportados por mole de β -CD, podemos dizer que, gama de concentrações estudadas, β -CD co-transporta mais de 0,5 moles de CaL_2 , diminuindo a transporte com o aumento da sua concentração. Através dos valores de D_{21}/D_{11} , nas mesmas concentrações, podemos esperar que uma mole CaL_2 contra-transporte, no máximo, 0,3 moles de β -CD.

Cap. 3

Conclusões

3. Conclusões

Em farmacologia e medicina o estudo das características físico-químicas de soluções de electrólitos e não-electrólitos é de grande interesse, tendo principal aplicabilidade na previsão das propriedades de transporte e na estruturação de modelos biológicos destes sistemas.

De entre as várias propriedades das soluções, neste trabalho debruçamo-nos particularmente sobre o estudo da condutibilidade eléctrica, dos coeficientes de difusão mútua e viscosidade dos sistemas binário ($\text{CaL}_2/\text{H}_2\text{O}$) e ternário ($\text{CaL}_2/\beta\text{-CD}/\text{H}_2\text{O}$), na tentativa de interpretar a influência da β -ciclodextrina sobre as propriedades de transporte dos iões lactato e avaliar possíveis interacções existentes. Neste sentido, determinamos a condutibilidade eléctrica dos dois sistemas a diferentes temperaturas (15 a 50) °C, bem como os coeficientes de difusão e viscosidade dos referidos sistemas a 25 °C.

Utilizando a técnica condutimétrica desenvolvida para o efeito foi possível calcular parâmetros como a condutibilidade molar para uma concentração infinitesimal, Λ^0 e a condutibilidade iónica limite, λ^0 . Determinou-se também a entalpia de activação do processo, ΔH^* , o raio hidrodinâmico do ião lactato, r_h , e a razão estequiométrica da complexação lactato de cálcio: β -ciclodextrina. A condutibilidade molar das soluções aquosas de lactato de cálcio aumenta com a diminuição da concentração, e para uma mesma concentração diminui com o aumento da temperatura. Constatamos, também, que a condutibilidade molar iónica do ião lactato aumentou cerca de 5 vezes mais, na gama de temperatura estudada. Naturalmente, o raio de hidratação da molécula de lactato de cálcio sofre alterações com a temperatura, diminuindo para valores mais altos de temperatura.

Pela análise dos resultados obtidos para a viscosidade das soluções aquosas de lactato de cálcio constatamos que quanto maior a concentração da solução, maior a sua viscosidade, uma vez que quanto maior for a quantidade de sal (CaL_2) em solução, maiores serão as forças intermoleculares existentes, diminuindo o movimento das moléculas deste sal, o que conduz a um aumento da viscosidade. Constatamos que há uma diminuição dos coeficientes de difusão a medida que a concentração deste soluto aumenta, o que pode ser explicada maioritariamente pela existência de interacções do tipo electrostáticas que, ao aumentar provocam a diminuição do coeficiente de difusão.

Estes resultados são espectáveis tendo em conta que o aumento da temperatura leva ao aumento da velocidade média com que se movem as partículas, contribuindo assim para um aumento do coeficiente de difusão. Por isso, para um dado gradiente de concentração, as moléculas numa amostra quente difundem-se mais rapidamente do que numa amostra fria.

Em resumo, estes resultados evidenciam o facto de que quer a variação da concentração, quer a variação da temperatura, influenciarem de forma significativa as propriedades de transporte deste sistema binário *per si*.

Em sistemas contendo β -ciclodextrina a condutibilidade molar, Λ , de lactato de cálcio condutibilidade diminui consideravelmente com a adição da β -ciclodextrina porque os iões lactato foram complexados pela β -CD, tornando menos eficiente o transporte de carga. Esta diminuição da condutibilidade torna-se mais acentuada para maiores concentrações de β -CD em solução. Podemos sugerir como hipótese que a adição de CaL_2 a uma solução de β -CD é acompanhada pela desidratação desta em detrimento de uma maior estruturação das camadas de hidratação do açúcar. Pela análise das viscosidades, observou-se -se que para concentrações de ciclodextrina inferiores à concentração de lactato de cálcio há uma diminuição da viscosidade relativamente a solução sem β -CD, e aquela regista um pequeno aumento com um aumento da concentração de β -CD de 4 vezes. Quando a concentração da β -CD excede a concentração do CaL_2 , a viscosidade da solução torna-se superior à da solução aquosa de CaL_2 , e a variação da viscosidade com a concentração de β -CD aumenta significativamente. Embora as razões para tal comportamento não sejam ainda conhecidas, pensamos poder concluir que há uma interacção entre a β -CD e o CaL_2 e a complexação seja de 1:1.

Observamos que coeficiente de difusão D_{11} é afectado pelo gradiente de concentração da β -CD, especialmente quando a concentração da β -CD em solução é consideravelmente superior à do lactato de cálcio, havendo uma evidência de co-transporte de CaL_2 . O coeficiente de difusão D_{22} também sofre alterações face ao gradiente do lactato de cálcio. Os coeficientes de difusão secundários, D_{12} e D_{21} , permanecem praticamente inalterados, aproximando-se muito de zero, excepto em duas situações: quando a concentração infinitesimal o D_{21} é negativo ($-0,218 \times 10 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), ocorre o transporte de β -CD provocado pelo gradiente do lactato, em sentido contrário (contra-transporte); e quando a concentração de β -CD é cerca de 10 vezes superior que

a do lactato de cálcio ($D_{12} = 0,171 \times 10 \text{ m}^2\text{s}^{-1}$), inverte-se o sentido (co-transporte) provocado pelo gradiente de β -CD. De facto, a presença de β -ciclodextrina influencia significativamente a difusão de lactato de cálcio.

Cap.4

Parte experimental

4. Parte experimental

Neste capítulo serão abordadas sumariamente as técnicas, bem como os reagentes, materiais e equipamentos utilizados na realização de todas as experiências realizadas.

4.1 Reagentes

L(+)-lactato de cálcio com grau de pureza de 99% e β -ciclodextrina com grau de pureza de 98% foram adquiridos pela *Sigma – Aldrich*. As quantidades de reagente foram pesadas numa balança da Scaltec SBC222 com uma resolução de ± 0.00001 g.

4.2 Estudos condutimétricos

A condutibilidade eléctrica é a capacidade de uma solução, metal ou gás (todos os materiais) de conduzir corrente eléctrica. Em soluções a passagem de corrente processa-se através de iões presentes em solução, ao passo que nos metais, a corrente deve-se ao movimento dos electrões.

A medição da condutibilidade eléctrica é um método amplamente divulgado e utilizado, como por exemplo, em aplicações de controlo de qualidade, abrangendo uma larga gama de condutibilidades de soluções, desde a água pura, com valores abaixo de 1×10^{-7} S.cm⁻¹, até valores superiores a 1 S.cm⁻¹ para soluções aquosas.

A eficiência de como uma solução conduz electricidade depende de uma série de factores como a mobilidade, a valência e o número de iões presentes em solução, a concentração, a temperatura, a natureza química, a homogeneidade e o tamanho e forma da espécie. A condutibilidade eléctrica pode ser medida ao aplicar uma corrente eléctrica alternada de intensidade, **I**, a dois eléctrodos imersos numa solução e medindo essa diferença de potencial, **V**. Durante o processo, os catiões migram em direcção ao eléctrodo negativo, ao passo que os aniões migram para o eléctrodo positivo, passando a solução a actuar como um condutor eléctrico, como se pode ver de forma esquematizada na figura 4.1.

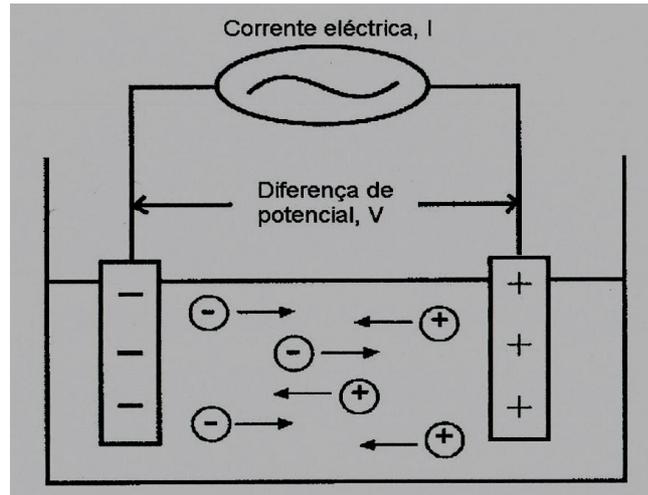


Figura 4.1 – Migração de íões em solução [57].

A condutibilidade é usualmente medida em soluções aquosas de electrólitos, por serem capazes de conduzir electricidade, através de íões presentes em solução. Os electrólitos são substâncias que, quando adicionadas ao solvente e com a aplicação de uma diferença de potencial constante, originam um aumento da intensidade de corrente [58], contêm íões, isto é, são soluções de sais iónicos ou então de compostos que ionizam em solução. Nos electrólitos estão incluídos os ácidos, as bases e os sais, podendo ser não-associados ou associados. O que difere um electrólito forte de um electrólito fraco é a quantidade de íões, por mole de sal dissolvido, que cada electrólito pode fornecer à solução por solvatação e assim possibilitar a passagem da corrente eléctrica. Para a mesma concentração, um electrólito forte terá mais íões presentes em solução do que um electrólito fraco e assim a solução terá maior condutibilidade [59].

A condutibilidade eléctrica, κ , é calculada pela equação 4.1

$$\kappa = G \left(\frac{l}{A} \right) = \frac{1}{R} \left(\frac{l}{A} \right) \quad (4.1)$$

onde A é a área transversal da espécie e l é o comprimento, sendo a unidade da resistência (R) é ohm (Ω), da condutância (G) é Siemens (S , $S = \Omega^{-1}$), da constante da célula (l/A) é cm^{-1} , da condutividade (κ) é $\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ($\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ou $S \cdot \text{cm}^{-1}$).

4.2.1 Equipamento utilizado

As resistências das soluções eléctricas foram medidas com a Wayne-kerr modelo 4265, medidor automático LCR a 1 kHz. Foi também usada uma célula do tipo Shedlovsky, com uma constante da célula de 0.1003 cm^{-1} e uma bureta automática Metron 765 Dosimate micropipeta. As medições foram realizadas a várias temperaturas num banho termostático HAAKE Phoenix II P2.

4.2.2 Preparação de soluções

Tanto a solução de lactato de cálcio (0,099M) como a de β -ciclodextrina (1,1; 2,65; 5,0; 7,7 e 10,0) mM foram preparadas a partir do reagente no estado sólido, em balões volumétricos calibrados e utilizando como solvente a água Millipore-Q ($k = (0,7 - 0,9) \times 10^{-4} \text{ S.m}^{-1}$).

4.2.3 Procedimento experimental

Num procedimento típico de determinação da condutibilidade eléctrica da solução aquosa de CaL_2 , 20 mL de água Milli-pore foram transferidos para a célula de condutibilidade e tapada com Parafilm de forma a evitar qualquer entrada de ar, o que altera os valores de condutibilidade medidos. A presença de ar faz aumentar a condutibilidade das soluções. Previamente, na bureta automática encontram-se 500 mL da solução de CaL_2 0,099M, da qual são adicionadas regularmente pequenas alíquotas em intervalos de tempo previamente definidos. A célula encontrava-se sobre a placa de agitação da *Variomag (Poly)*.

A condutância das soluções foi medida depois de cada adição e correspondem a média de três condutâncias iónicas (com uma incerteza inferior a 0,2 %).

O tempo necessário para obter o equilíbrio do termóstato e os valores correspondentes de resistência eléctrica é controlado por um software desenvolvido no Departamento de Química da Universidade de Coimbra.

As constantes da célula são determinadas com KCl (reagente de grau analítico, recristalizado e seco) usando um procedimento e valores de Barthel et al. [60].

Para a determinação da condutibilidade de soluções de sistemas ternários transferiu-se 20 mL de uma solução aquosa de β -CD para a célula de condutibilidade e procedeu-se de igual modo.

Todas as medições foram realizadas a temperaturas que variavam entre (15 a 50) °C (± 0.02 °C), com agitação constante produzida por uma placa de agitação.

4.3 Estudos da viscosidade

Embora todos os fluidos ofereçam resistência às forças que promovem o “deslizamento” de qualquer camada de fluido sobre as suas vizinhas, essa resistência só se manifesta enquanto há movimento relativo. A resistência ao movimento de cada camada do fluido, sobre a camada vizinha é atribuída à *viscosidade* do fluido [61].

Trata-se de uma propriedade característica dos líquidos e gases reais e newtonianos que se caracteriza pela medida da resistência ao escoamento que um fluido oferece quando se encontra sujeito a um esforço tangencial. O fluxo newtoniano caracteriza-se por viscosidade constante e independente da velocidade de cisalhamento aplicada, enquanto o não-newtoniano por uma mudança na viscosidade com o aumento da velocidade tangencial [61,62]. Fluidos de comportamento simples são também denominados de fluidos newtonianos.

Imaginemos um fluido a escoar por um tubo cilíndrico como se fosse constituído por camadas, em cada camada a velocidade é constante, mas varia de camada para camada. Evidentemente, estas camadas podem ser tão finas quanto se queira, e no limite de camadas muito finas, digamos Δr , um fluido newtoniano satisfaz a seguinte relação linear:

$$\tau = \eta \frac{\Delta v}{\Delta r} \quad 4.2$$

onde $\Delta v / \Delta r$ é o gradiente radial da velocidade do fluido, isto é, a razão da variação da velocidade Δv que se observa quando se muda de uma distância r do centro do tubo cilíndrico para um ponto vizinho em $r + \Delta r$, pela variação da distância Δr . O símbolo η representa a viscosidade do fluido em questão, e τ a tensão tangencial que representa a força aplicada tangencialmente à superfície do fluido (no limite entre duas camadas) por

área; assim, a dimensão de τ é $[N].[m]^{-2}$. Se invertermos a equação 4.2 explicitando η , (Fig. 4.2) vemos que a viscosidade é dada pela razão da tensão tangencial (força/área) pelo gradiente radial da velocidade (velocidade/espessura), e concluímos então que no Sistema Internacional de Unidades, a unidade de η pode ser expressa como $[\eta] = [N][s][m]^{-2}$.

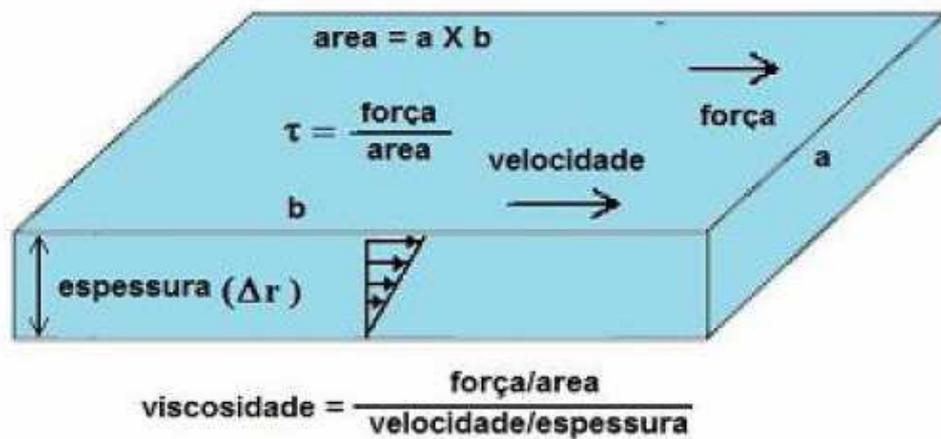


Figura 4.2 – Esquema representativo das forças que actuam num fluido, que permitem a medição da viscosidade [63].

4.2.1 Equipamento utilizado

Na indústria e em outras aplicações técnicas, utilizam-se diversos instrumentos para medir a viscosidade. O instrumento utilizado neste trabalho (figura 4.2a) é composto por um relógio de viscosímetro Visoclock DC 9V/0,6 VA, Nr 170910, um adaptador TZ 1853,100 /240V, 15 mA e um tubo capilar SCHOTT Instruments 50103/0C, Nr 1043506.

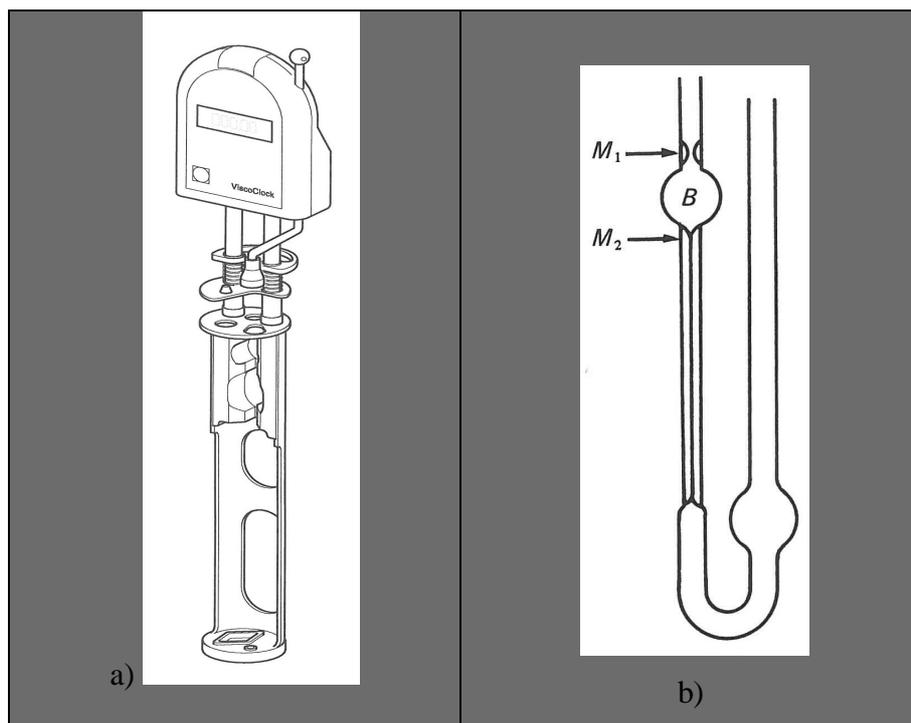


Figura 4.3 - a) Relógio do viscosímetro usado nas medições b) Exemplo de um tubo capilar

O instrumento usado neste trabalho assenta na medição do tempo, em segundos, que uma certa quantidade de líquido demora a escoar através de um tubo capilar. Este, por sua vez, é alinhado na vertical e coloca-se um dado volume de líquido no seu interior (15 mL), de modo a quase encher o bolbo do lado direito. O líquido é então aspirado para o bolbo superior B (ver a figura 3.2 b), de modo a que o menisco fique além da marca M_1 . Deixa-se então que o líquido escorra por gravidade, através do capilar, e a passagem do menisco do líquido entre as marcas M_1 e M_2 é automaticamente cronometrada pelo aparelho.

4.2.2 Preparação de soluções

As soluções aquosas de lactato de cálcio (0,1; 0,08; 0,06; 0,04 e 0,025) M foram preparadas a partir do reagente no estado sólido, em balões volumétricos calibrados, utilizando como solvente a água Millipore-Q ($k = (0,7 - 0,9) \times 10^{-4} \text{ S.m}^{-1}$).

Para o sistema ternário, preparou-se cinco soluções aquosas de β -CD (0,0122, 0,0105, $9,24 \times 10^{-3}$, $7,53 \times 10^{-3}$, $1,61 \times 10^{-3}$) M, mas utilizando como solvente a solução aquosa de lactato de cálcio ($9,15 \times 10^{-3}$ M).

4.2.3 Procedimento experimental

A determinação da viscosidade das soluções foi feita com o auxílio de um viscosímetro electrónico (figura 4.3) previamente calibrado com água. Este modelo é constituído por um descanso utilizado para fixar o viscosímetro, e por uma parte electrónica que mede o tempo de escoamento da solução em segundos.

O viscosímetro foi imerso no banho termostatzado descrito na alínea anterior.

A média aritmética de cinco valores do tempo de fluxo, de cada solução, foi utilizada para efectuar o cálculo da viscosidade.

4.3 Estudos dos coeficientes de difusão mútua

Difusão é um processo que ocorre quando numa solução existe um gradiente de concentração e na ausência de correntes de convecção, se produz um fluxo espontâneo de matéria no sentido de reduzir essa diferença de concentração, resultando em movimentos permanentes nas partículas existentes em solução conhecidos como movimentos Brownianos. A difusão assim descrita é um processo irreversível importante na natureza e é observada em todos os estados físicos da matéria [64].

A sua quantificação é avaliada através do coeficiente de difusão de cada espécie em solução que relaciona o fluxo de matéria com o seu gradiente de concentração.

Os coeficientes de difusão determinados neste trabalho são coeficientes de difusão mútua. A difusão mútua, *mutual diffusion*, é o processo de difusão do componente de uma solução como um todo.

Apesar do processo de difusão ser um fenómeno tridimensional, a maioria dos métodos experimentais de estudo da difusão restringem-no a um processo unidimensional, de forma a simplificar o seu tratamento matemático.

4.3.1 Lei de Fick para a difusão

Considere-se a difusão num sistema multicomponente segundo uma só direcção, por exemplo, segundo o eixo dos xx . Considere-se, ainda, J a quantidade de matéria, em

gramas, moles, ou outra unidade, que atravessa, por unidade de tempo, a unidade de área de um plano perpendicular ao eixo de difusão.

A primeira lei de Fick para a difusão (eq. 4.4) diz-nos que, para um dado componente i , esta quantidade de matéria é proporcional ao seu gradiente de concentração, e que a constante de proporcionalidade é o coeficiente de difusão, D , do sistema

$$- (J_i) = \sum D_{ij} \frac{\partial c_j}{\partial x} \quad (i = 1, 2, \dots, q) \quad (4.4)$$

onde c representa a concentração e $\frac{\partial c}{\partial x}$ o gradiente de concentração na direcção de x . A diferenciação da concentração em relação a x é parcial, uma vez que c pode ser, também, dependente do tempo. Para que D seja positivo, introduz-se o sinal negativo na expressão, pois se x aumentar no sentido do fluxo, a diferencial é negativa [65].

Aplicação das Leis de Fick em sistemas binários

Considere-se a difusão num sistema binário nas circunstâncias acima descritas. A primeira lei de Fick para a difusão (eq. 4.6) num sistema binário será dada por

$$J = - D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (4.5)$$

No caso de um sistema onde o volume permanece constante é conveniente utilizar como referência um sistema onde os fluxos são definidos em relação a um plano, através do qual não ocorre transferência de volume.

Para um sistema unidimensional tem-se

$$J_A^v V_A + J_B^v V_B = 0 \quad (4.6)$$

onde J_A^v e J_B^v são fluxos em moles, por unidade de área e unidade de tempo, dos componentes A e B, representando os índices superiores que o volume dos planos fixos. V_A e V_B são respectivos volumes molares parciais.

Os fluxos podem ser escritos como

$$J_A^v = - D_A^v \frac{\partial c_A}{\partial x}$$

$$J_B^v = - D_B^v \frac{\partial c_B}{\partial x} \quad (4.7)$$

onde c_A e c_B representam as concentrações de A e B em moles por unidade de volume. Combinando as equações anteriores (4.6) e (4.7), obtemos

$$D_A^v V_A \frac{\partial c_A}{\partial x} + D_B^v V_B \frac{\partial c_B}{\partial x} = 0 \quad (4.8)$$

onde,

$$- D_A^v V_A \frac{\partial c_A}{\partial x} - D_B^v V_B \frac{\partial c_B}{\partial x} \quad (4.9)$$

Essa expressão quantifica o volume de A e o volume de B transferidos, por unidade de tempo, através de uma área unitária do plano considerado.

Da definição de volume parcial,

$$V_A c_A + V_B c_B = 1 \quad (4.10)$$

então,

$$V_A \frac{\partial c_A}{\partial x} + V_B \frac{\partial c_B}{\partial x} = 0 \quad (4.11)$$

E de (4.8) e (4.11) obtém-se

$$D_A^V = D_B^V \quad (4.12)$$

Excepto se $V_A = 0$ ou $V_B = 0$. Este coeficiente é denominado por coeficiente de difusão mútua e é representado por D_{AB}^V ou D^V , ou simplesmente por D .

A segunda Lei de Fick estabelecida a partir da derivação da equação (4.10), permite avaliar a variação da concentração com o tempo, t , devido à difusão

$$\left(\frac{\partial c}{\partial t}\right)_{x=\text{const}} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c}{\partial x} \right) \quad (4.13)$$

Generalizando para o espaço tridimensional, as Leis de Fick podem ser escritas da seguinte forma:

$$J = - D \text{ grad } c \quad (4.14)$$

e

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \text{div} (\text{grad } c) \quad (4.15)$$

A determinação experimental dos coeficientes de difusão é baseada nas leis de Fick (4.7 e a 4.13). Ambas foram desenvolvidas admitindo que não existem correntes de convecção no interior da solução.

Aplicação das Leis de Fick em sistemas ternários

Num sistema com mais de dois componentes independentes, o fluxo de cada um dos componentes pode ser afectado pelos gradientes de concentração de todos os outros componentes, e esta interacção pode ocorrer quer os componentes sejam iónicos ou moleculares. Restringindo a difusão a um processo unidimensional, o fluxo do componente i é dado pela equação (4.4).

A introdução da restrição adicional

$$\sum \nabla_i j_i = 0 \quad (4.16)$$

onde ∇_i é o volume parcial molar do componente i , permite-nos a eliminação de um dos fluxos, dado que se inter-relaciona com os outros através dessa última expressão.

Para um sistema ternário (i.e., $q = 3$) e para um referencial a volume constante representado por n , as equações de difusão mútua dos solutos 1 e 2 podem ser descritas através das equações (4.17) e (4.18)

$$- (J_1) = (D_{11}) v \frac{\partial c_1}{\partial x} + (D_{12}) \frac{\partial c_2}{\partial x} \quad (4.17)$$

$$- (J_2) = (D_{21}) v \frac{\partial c_1}{\partial x} + (D_{22}) \frac{\partial c_2}{\partial x} \quad (4.18)$$

Os coeficientes de difusão principais D_{11} e D_{22} , representam os fluxos dos solutos 1 e 2, respectivamente, produzidos pelo seu próprio gradiente de concentração. Os coeficientes secundários D_{12} e D_{21} representam respectivamente os fluxos 1 e 2, produzidos, no entanto, pelo gradiente de concentração do outro componente. Em soluções diluídas que envolvem solutos que não interagem, os valores de D_{12} e D_{21} podem ser negligenciáveis dentro dos limites de imprecisão do método, e, como tal, considerados nulos. Não sendo nulos, um valor positivo para estes coeficientes, representado genericamente por D_{ik} ($i \neq k$), indica o transporte do soluto i desde regiões de mais alta concentração do soluto k para regiões de mais baixa concentração do mesmo soluto. Um valor negativo para D_{ik} ($i \neq k$) indicaria o transporte do soluto i desde regiões de mais baixa concentração do soluto k para regiões de mais alta concentração do mesmo soluto.

Nas condições em que consideramos os valores de D_{12} e D_{21} nulos, os coeficientes de difusão principais D_{11} e D_{22} são idênticos aos valores dos coeficientes de difusão binários dos respectivos solutos, dentro da imprecisão experimental [66, 67]. Admitindo ainda que as interações entre solutos são desprezáveis, ($D_{12} = D_{21} = 0$), os coeficientes D_{11} e D_{22} para um dado intervalo de concentrações (soluções muito

diluídas) podem também ser estimados através do conhecimento destes últimos em condições limite e dos obtidos em sistemas binários de forcas iónicas iguais (4.19) e (4.20)

$$D_{11}(I) = D_{11}^0 + (D_1(I) - D_1^0) \quad (4.19)$$

$$D_{22}(I) = D_{22}^0 + (D_2(I) - D_2^0) \quad (4.20)$$

onde I representa a força iónica do sistema, D_{11}^0 , D_{11}^0 , D_{22}^0 , D_{22}^0 , coeficientes de difusão infinitesimal limite e D_1 e D_2 representam, respectivamente, os coeficientes de difusão para cada um dos componentes da solução.

4.3.2 Método de Dispersão de Taylor

A técnica de dispersão de Taylor, utilizada para a medição de coeficientes de difusão baseia-se no trabalho de Taylor publicado em 1953 e 1954. Esta técnica foi desenvolvida tendo por base uma primeira observação feita por Griffiths, em que ele injectou um pulso de solução colorida num tubo de vidro, através da qual fluía água de forma laminar, e descobriu, experimentalmente, que a matéria colorida se espalhava de forma simétrica a um ponto que se movia à velocidade média da água.

Taylor proporcionou um tratamento matemático para esta situação, e mostrou que a dispersão ao longo do tubo resulta da acção combinada entre a difusão molecular radial, produzida pelo gradiente de concentração, e o gradiente de velocidades. Aris mostrou que proporcionando certas condições requeridas, a distribuição de concentração dentro da coluna do soluto à medida que atravessa o tubo pode ser usada para determinar o coeficiente de difusão binária de um sistema de dois componentes.

Nos últimos anos, o método de dispersão de Taylor evoluiu de forma a tornar-se num método mais versátil, para medições rápidas e seguras, de coeficientes de difusão mútua em líquidos. Esta técnica é actualmente utilizada para medir coeficientes de difusão de soluções aquosas binárias até um máximo de 4 componentes. O método de dispersão de Taylor é baseado na dispersão de uma pequena quantidade de uma solução,

quando injectada num solvente (ou noutra solução com os mesmos componentes, mas de diferente concentração) em fluxo do tipo laminar através de um tubo de secção circular. A dispersão resulta da acção combinada da difusão molecular radial produzida pelo gradiente de concentração e do gradiente de velocidades. Este fenómeno é detectado à saída do tubo por intermédio de métodos apropriados, como por exemplo, o detector de índice de refração [64,66].

Numa experiencia ideal de dispersão de Taylor, um pequeno pulso de soluto (solução de injeção) é injectado num tubo longo e uniforme de comprimento L e raio R , no qual o solvente (solução de fluxo), flui lentamente de uma forma laminar. À medida que o pulso é transformado através do tubo, ele espalha-se devido à acção combinada da convecção na direcção axial e da difusão molecular na direcção radial. Esta descrição está representada esquematicamente na figura 4.4

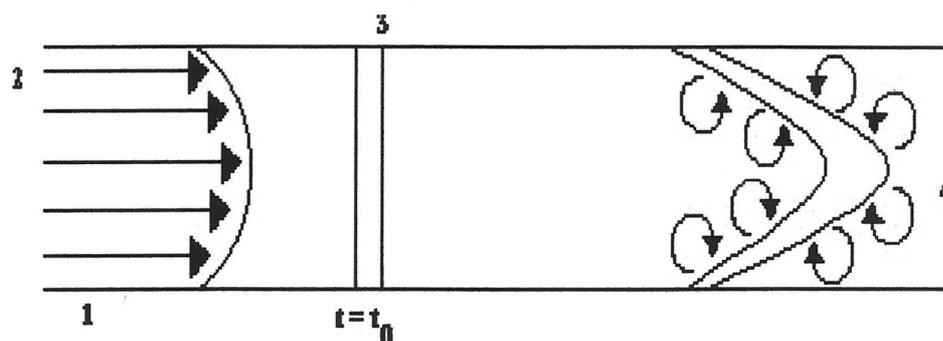


Figura 4.4 - Representação esquemática de dispersão de Taylor [67].

Legenda

- 1:Tubo capilar
- 2:Perfil da velocidade de fluxo laminar
- 3:Injecção de soluto
- 4:Difusão radial

Eventualmente, o pico pode eluir desde o fundo do longo tubo onde um detector adequado é empregue para medir o perfil de concentração radial média como função do tempo. Visto que uma dispersão significativa do pulso inicialmente concentrado pode ser alcançada num pequeno tempo, podem ser conseguidas medições rápidas do coeficiente de difusão mútua, ou seja, é determinada a difusão do electrólito como todo.

A difusibilidade de uma molécula química em um determinado fluído depende da facilidade com a qual a molécula pode mover-se, especificamente a que distância ΔX a molécula pode percorrer em um determinado intervalo de tempo.

A facilidade da movimentação molecular e, portanto, a difusibilidade de um determinado produto químico dependerá do tamanho e polaridade da molécula, do tipo de fluído e da temperatura.

4.3.3 Equipamento utilizado

A técnica usada para obter coeficientes de difusão mútua para uma grande variedade de electrólitos está representada esquematicamente na figura 3.1. O sistema de fluxo escolhido foi uma bomba peristáltica modelo Minipuls 3 da Gilson que introduz a solução directamente no tubo de difusão. As experiencias foram realizadas sempre a 4 rpm. A tubagem utilizada na bomba é um tubo de norpeno, de referência H-06404-13, fornecido pela Cole-Parmer Instrument Co. De diâmetro interno 0,8 mm. A ligação entre o tubo de difusão e o tubo de norpeno, utilizado na bomba peristáltica é feita através de tubo de tefzel de referência H-06488-01 fornecido pela Cole-Parmer Instrument Co., de diâmetro interno 1,59 mm e de diâmetro externo 3,18 mm, e de encaixes adequados. Para que não entrem impurezas no sistema colocou-se um filtro de passagem de solvente no terminal do tubo da bomba que faz a sucção do solvente. Este filtro foi fornecido pela Cole-Parmer Instrument Co., e tem a referência H-42701-00.

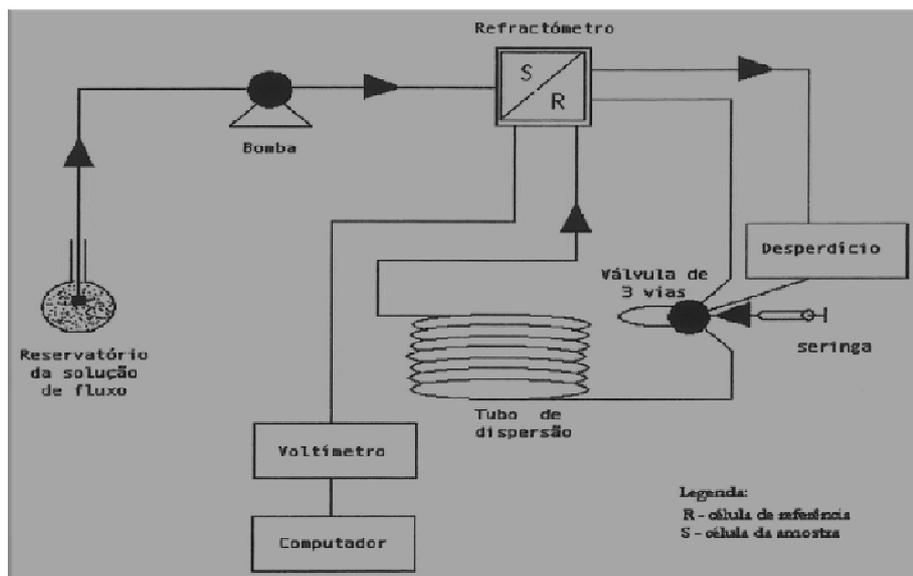


Figura 4.5 - Diagrama esquemático do equipamento experimental da Técnica de dispersão de Taylor

É necessário um detector para medir o gradiente de concentração no final do tubo de dispersão. Para tal, foi escolhido um detector de índice de refração Waters model 2410. A aquisição de dados relativos ao gradiente da concentração em função do tempo é feita num microcomputador, onde são registados o tempo e o valor do sinal do refractómetro depois de amplificado e digitalizado num conversor analógico-digital. O conversor utilizado é um voltímetro com interface IEEE, da Agilent, modelo 3441^a, anexado a um computador.

A válvula de injeção é da Rheodyne modelo 5020. Basicamente, o fluxo da solução de trabalho é mantido através da bomba peristáltica que introduz a solução directamente no tubo de difusão. O tubo da bomba está mergulhado na solução com um filtro para proteger a entrada de partículas sólidas no sistema. O tubo de difusão enrolado num objecto cilíndrico está contido numa caixa de madeira termostaticada. A temperatura na caixa é mantida através de uma lâmpada (75 ou 100 Watt) que se encontra ligada a um “relais”. Este “relais” tem como função ligar ou desligar a lâmpada quando a temperatura do interior da caixa está abaixo ou acima da temperatura pretendida. A circulação do ar dentro da caixa é assegurada por uma ventoinha. A temperatura é medida com auxílio de um termómetro digital (Summit SDT 20) com uma variação máxima de $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$. A ligação do detector ao tubo de difusão é feita através de um conector de volume mínimo morto, em aço inoxidável, da Cole – Parmer Instrument Co.. A distribuição alargada da amostra é monitorizada à saída do tubo de dispersão pelo refractómetro, que funciona como detector. A diferença de índice de refração é transformada num sinal de tensão que é lido pelo voltímetro. Estas leituras são feitas em intervalos de 13 segundos. A aquisição dos dados é feita no microcomputador onde são registados o tempo e o valor do sinal do voltímetro utilizando o programa de aquisição de dados, elaborado em Basic.

4.3.4 Preparação de soluções

As soluções aquosas de lactato de cálcio (1) e β -ciclodextrina (2) foram preparadas a partir do reagente no estado sólido, em balões volumétricos calibrados, utilizando como solvente a água destilada. Esta, foi mantida previamente em ebulição durante 30 minutos e arrefecida no interior de um frasco rolhado até à temperatura

ambiente. O material de vidro utilizado para a preparação destas soluções foi devidamente lavado com água destilada.

Para o sistema binário foram preparadas soluções aquosas de lactato de cálcio com as seguintes concentrações: (0,001; 0,005 e 0,100) M. Na tabela 4.1 estão indicadas as concentrações de soluções aquosas ternárias (CaL₂/β-CD/H₂O) utilizadas.

Tabela 4.1: Concentrações das soluções aquosas de sistema ternário.

| Solução | c ₁ /mol. dm ⁻³ | c ₂ /mol. dm ⁻³ |
|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 0.0000 | 0.0000 |
| 2 | 0.0100 | 0.0000 |
| 3 | 0.0000 | 0.0100 |
| 4 | 0.0005 | 0.0005 |

4.3.5 Procedimento experimental

A solução de fluxo deve ser previamente colocada no sistema até obter-se uma linha de base estável no sinal do detector. Nesta técnica, são necessários, no mínimo, 60 mL de fluxo de solvente para estabelecer uma linha de base adequada no detector.

No início de cada experiência, uma solução de concentração ligeiramente diferente da solução de fluxo, a solução de injeção, que é inserida com o auxílio de uma seringa na válvula de injeção. Esta pequena quantidade de solução, 70 μL será sempre a mesma. Seguidamente executar o programa de aquisição de dados, no computador.

Após a 1ª injeção, pode-se realizar subsequentes injeções para a formação de vários picos, e por conseguinte para obter diferentes medidas do coeficiente de difusão. Convém que o intervalo entre as injeções seja de pelo menos 1 hora, para que os picos não se sobreponham.

Foram feitas medições de coeficientes de difusão em sistemas binários, CaL₂/água, cujas concentrações de CaL₂ variavam entre 0,001M a 0,01M. Também foram estudados em sistemas ternários, CaL₂/β-CD/água, onde se manteve constante a concentração de CaL₂ (0,005M) e variando a de β-CD, em intervalos de 1 hora. Todas as medições foram feitas a uma temperatura de 25 °C.

4.4 Estudos de pH

4.4.1 Equipamento utilizado

As medições de pH foram realizadas com um pH Radiometer PHM 240 usando um eléctrodo conjugado de pH Ingold-U457 K7.

4.4.2 Procedimento experimental

Fez-se o estudo de pH das soluções aquosas de CaL_2 e também de soluções de CaL_2 com β -CD usadas na medição da condutibilidade eléctrica (ver secção 4.2.2). O pH foi medido em soluções frescas, e o eléctrodo foi calibrado imediatamente antes de cada conjunto experimental de soluções, utilizando os tampões pH 4 e 7 recomendados pelo IUPAC. A partir de calibração foram obtidos pH zero de 6,045 ($\pm 0,04$) e sensibilidade 96,5%. Todas as medições foram feitas a uma temperatura de 25 °C.

Referências

- [1] Y. Shigenobu, *J. Polym. Sci.*, **16**, 1997, 193-206.
- [2] A.L. Horvath: Handbook of Aqueous Electrolyte Solutions. Physical Properties. Estimation and Correlation Methods, John Wiley and Sons, New York, 1985.
- [3] A.C.F. Ribeiro, M.A. Estes, V.M.M. Lobo, H.D. Burrows, A.M. Amado, A.M.A. Costa, A.J.F.N. Sobral, E.F.G. Azevedo e M.A.F. Ribeiro, *J. Mol. Liq.*, **128**, 134 2006.
- [4] A.C.F. Ribeiro, M.A. Estes, V.M.M. Lobo, H.D. Burrows, A.J.M. Valente, A.J.F.N. Sobral, A.M. Amado e Ana S. N. Teles, *J. Mol. Liq.* **146**, 69–73, 2009.
- [5] R. Datta, et al. *FEMS MICROBIOLOGY REVIEWS*, **16**, 221-231, 1995.
- [6] B. Elvers, S. Hawkins e G. Schulz, “Ullmann’s Encyclopedia of industrial chemistry”, 15. ed. Weinheim: VCH., v. A15, 97-105, 1990.
- [7] R. E. Kirk e D. F. Othmer, “Encyclopedia of chemical technology”, New York: The Interscience Encyclopedia, v. 8, 167-180, 1950.
- [8] R. T. Morrison e R. N. Boyd, “Química Orgânica”, Lisboa, Fund. Calouste Gulbenkian, 152-200, 1990.
- [9] E. S. Lipinsk e R. S. Sinclair, *Chem. Eng. Progress*, **82**, 26-32, 1986.
- [10] M.L. Foss, S.J. Keteyian, “Bases Fisiológicas do Exercício e do Esporte”, 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000.
- [11] E. G. Lee et al, *J. Membran Sci.*, **145**, 53-66, 1998.
- [12] K. Hofvendahl e B. Hahn-Hagerdal, *Enzyme and Microbial Technology*, **26**, 87-107, 2000.
- [13] M. San-Martín, C. Pazos e J. Coca, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **54**, 6, 1992.
- [14] J. R. Danalewich, et al., *Wat. Res.* **32**, 3555-3568, 1998.
- [15] L. Ju e A. Verma, *Separation Science and technology*, **29**, 2299-2315, 1994.
- [16] A.C.F. Ribeiro, M.C.F. Barros, V.M.M. Lobo, G. Quintenilla e M.A. Estes, *J. Chem. Eng. Data*, **55**, 897 – 900, 2010.
- [17] A.C.F. Ribeiro, M.C.F. Barros, A.S.N. Teles, A.J.M. Valente, V.M.M. Lobo, A.J.F.N. Sobral e M.A. Estes, *Electrochimica Acta*, **54**, 192 – 196, 2008.
- [18] V.T. D’Souza e K.B. Lipkowitz, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1741.
- [19] J. Szejtli, *Chem. Rev.*, **98**, 1743, 1998.

- [20] C.G. Venturini, J. Nicolini, C. Machado e V.G. Machado, *Quim. Nova*, **31**, **2**, 360-368, 2008.
- [21] W.S. Chung, N. J. Turro, J. Silver e W. J. Lenoble, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 1202, 1990.
- [22] K. Harata, *Chem. Rev.* **98**, 1803, **1998**.
- [23] A. Villiers, *Rend Acad. Sci.*, **112**, 536, 1891.
- [24] F. Schardinger, *Wien Klin. Wochenschr.*, **17**, 207, 1904.
- [25] K. Freudenberg e M. Meyer-Delius, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **71**, 1596, 1938.
- [26] K. Freudenberg, F. Cramer e H. Plieninger, German patent No. 895, 769, 1953.
- [27] M.L. Bender, M. Komiyama, "Cyclodextrin chemistry", Springer Verlag, Berlin, 1978.
- [28] J.A. Thomas, L. Stewart, "Starch: chemistry and technology"; R.L. Whistler and E.F. Paschall, Academic Press, New York (US), 1965.
- [29] F.R. Senti, S.R. Erlander, "Non-stoichiometric compounds", L. Mandelcorn, Academic Press, New York (US), 1964
- [30] F. Cramer e H. Hettler, *Naturwissenschaften*, **54**, 625, 1967.
- [31] M.L. Bender, M. Komiyama, "Bioorganic chemistry", E.E. van Tamelen, Academic Press, New York (US), 1977
- [32] D. French, *Adv. Carbohydrate Chem.*, **12**, 189, 1957.
- [33] G. Schmid, "Comprehensive Supramolecular Chemistry", Atwood, J.; Davies, E. D.; MacNicol, D. D.; Vögtle, F., eds.; Pergamon: Oxford, 1996, p. 41-56; Biwer, A.; Antranikian, G.; Heinzle, E.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, **59**, 609; Qi, Q. S.; Zimmermann, W.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005, **66**, 475; Wang, Z.; Qi, Q.; Wang, P. G.; *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, **72**, 1873; Pishtiyski, I.; Zhekova, B.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2006, **22**, 109.
- [34] W. Saenger, *Angrew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 344, 1980.
- [35] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **98**, 1743, 1998.
- [36] H.F. Brito, C.A.A. Carvalho, O. L. Malta, J.J. Passos, J.F.S. Menezes e R.D. Sinisterra, *Spectrochimica Acta*, **55**, 2403, 1999.
- [37] Y.F. Deinega, Z. UI'Berg, L. Marochko, V. Rudi e V. Denisenko, *Kolloidn. Zh.*, **36**, 649, 1974.
- [38] S. Li, *Chem. Rev.*, **92**, 1459, 1992.
- [39] I. Tabushi, *Acc. Chem. Res.* **15**, 66, 1982.

- [40] S. Anderson, T.D.W. Claridge e H.L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*
- [41] K.A. Connors, *Chem. Rev.*, **97**, 1325, 1997.
- [42] J.F. Wojcik, R.P. Rohrbach, *J. Phys. Chem.*, **79**, 2251, **1975**.
- [43] F. Cramer e F.M. Henglein, *Angew. Chem.*, **68**, 649, **1956**.
- [44] N. Fatin-Rouge, G.J.; Bunzli, *Inorg. Chem. Acta*, **53**, 293, 1999.
- [45] T. Hikida e Y. Matsushita, *Chem. Physics Letters*, **85**, 313, 1999.
- [46] J. Szejtli, “Cyclodextrin technology”, Klumer Academic Publishers, Dordrecht.
- [47] L.D. Wilson e R.E. Verall, *J. Chem. Phys. B*, **102**, 2502, 1998.
- [48] V.M.M. Lobo, “Condutibilidade Eléctrica em Soluções de Electrólitos”, *Corr. Prot. Materiais*, Vol. IV, nº4, 1985.
- [49] M.R. Wright, *An Introduction to Aqueous Electrolyte Solutions*, Wiley, England, 2007.
- [50] R.A. Robinson, R.H. Stokes, *Electrolyte Solutions*, 2^oEd, New York, **2002**, 465.
- [51] A.J.M. Valente, A.C.F. Ribeiro, J.M.C. Marques, P.E. Ebreu, V.M.M. Lobo e R. Katakya, *J. Chem. Eng. Data*, **55**, 1145-1152, 2010.
- [52] A.M. Nilsson, C. Cabaleiro-lago, A.J.M. Valente e O. Soderman; *Langmuir*, **22**, 8663-8669, 2006.
- [53] A.C.F. Ribeiro, O. Ortona, S.M.N. Simões, C.I.A.N. Santos, P.M.R.A. Prazeres, A.J.M. Valente, V.M.M. Lobo e H.D.; Burrows, *J. Chem. Eng. Data*, **51**, 1836-1840, 2006.
- [54] A.C.F. Ribeiro, M.A. Estesó, V.M.M. Lobo, A.J.M. Valente, S.M.N. Simões, A.J.F.N. Sobral, M.L. Ramos, H.D. Burrows, A.M. Amado e A.M.A. Costa, *J. Carbohydr. Chem.*, **25**, 173-185, 2006.
- [55] H.S. Harned, B.B. Owem, *The physical chemistry of electrolytic solutions*, 3^a Ed. Reinhold Pub. Corp, New York, 181-233, 1964.
- [56] “Conductivity, Theory and Praticce”, Radiometer Analytical SAS, 2004.
- [57] A.C.F. Ribeiro, G.L. Leaiat, M.A. Estesó, V.M.M. Lobo, A.J.M. Valente, C.I.A.V. Santos, A.M.T.D.T.V Cabral e F.J.B. Veiga, *J.Chem.Eng. Data*, **51**, 1368-1371, 2006.
- [58] V.M.M. Lobo, “Condutibilidade Eléctrica em Soluções de Electrólitos”, *Corr. Prot. Materiais*, Vol. IV, nº4, 1985.
- [60] J. Barthel, F. Feuerlein, R. Neueder e R. Wachter, Calibration of conductance cells at various temperatures. *J. Sol. Chem.*, **9**, 209–219, 1980.

- [61] “Conductivity, Theory and Practice”, Radiometer Analytical SAS, **2004**.
- [62], B.S. Massey, “Mecânica de fluidos” 6ª Ed, Chapman and Hall, London, 55-67, 2002.
- [63], P. A. Netz, G. G. Ortega, Fundamentos de Físico-química - Uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas, *Artmed*, 8, 2002.
- [64] V. M. M. Lobo, Viscosidade em soluções de electrólitos, *Corros. Prot. Mater.*, 7, 3, 1988.
- [65] M. C. B. Montenegro, R. A. S. Lapa J. A. V. Prior, Trabalho Laboratorial n.º 3 (1ª parte) Viscosidade de Líquidos, Disciplina de Física Aplicada, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2008.
- [66] V. M. M Lobo, Tese de Doutoramento - Diffusion and Thermal Diffusion in Solutions of Electrolytes, University of Cambridge, 1971.