



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Pós-Graduação em Química

Estudos da hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila), BDNPP, na presença de co-micelas α -nucleofílicas

Marcelo Silva

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

Florianópolis, maio de 2006

Marcelo Silva

Estudos da Hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) na presença de comicelas α -nucleofílicas

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Química (área de concentração: Química Orgânica) da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

Florianópolis, maio de 2006

Marcelo Silva

Estudos da hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila)
na presença de comicelas α -nucleofílicas

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre no curso de pós-graduação em química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

Orientador

Prof. Dr. José Carlos Gesser

Prof. Dr. Josiel Domingos Barbosa

Prof. Dr. Luis Fernando Probst

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo milagre da vida.

Ao professor Dr. Faruk José Nome Aguilera pela oportunidade de poder participar do seu grupo de pesquisa, por sua dedicação e por me contagiar com sua simpatia e seu espírito científico.

À minha família pelo apoio, incentivo e compreensão nas horas difíceis.

Aos meus colegas do laboratório 210 pela paciência, compreensão e dedicação para comigo.

Aos professores membros da banca examinadora deste trabalho.

Muito Obrigado.

SUMARIO

INDICE DE FIGURAS.....	vii
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Justificativa	2
1.2 . Reações modelos - hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (BDNPP).....	4
1.3. Efeito de alfa nucleófilos na hidrólise do BDNPP.....	7
1.4. Micelas.....	10
Surfactantes catiônicos:	11
Surfactantes aniônicos:	12
Surfactantes dipolares iônicos:	13
Surfactantes neutros:	13
1.5. Micelas mistas.....	14
1.6. Catálise em meio micelar.....	15
1.7. Efeito micelar na hidrólise do BDNPP.....	17
2. OBJETIVOS:.....	18
2.1.Gerais:	18
2.2.Específicos:	18
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	19

3.1. Equipamentos.....	19
3.2. Reagentes	19
3.3. Síntese do ácido hidroxâmico.....	20
3.4. Medidas cinéticas.....	23
3.5 Titulações potenciométricas.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Efeito de DTABr na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA	27
4.2 Efeito de sulfobetáínas na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA.....	40
4.3 Efeito do SDS na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA. .	42
4.4 Efeito de laurato de sódio na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA.....	44
5. CONCLUSÕES	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	50
Anexo 1	54
Anexo 2	<i>Erro! Indicador não definido.</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representação estrutural do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila), BDNPP.	1
Figura 2. Representação do fosfato inorgânico.	2
Figura 3. Representação dos três tipos de ésteres fosfóricos.	3
Figura 4. Variação da constante de velocidade observada em função do pH, a 25,0°C para a hidrólise do diester fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (□) e do monoester fosfato de 2,4-dinitrofenila (O).	5
Figura 5. Algumas espécies nucleofílicas que apresentam o efeito α em processos nucleofílicos.	7
Figura 6. Gráfico logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para o ataque nucleofílico pela NH_2OH no BDNPP (□). Os dados experimentais da reação de hidrólise (◇) a 25°C são incluídos com fins comparativos ⁷	9
Figura 7. Representação esquemática de um surfactante.	10
Figura 8. Representação simplificada da formação de micelas por surfactantes, onde à esquerda temos os surfactantes na forma de monômeros e à direita, para concentrações maiores que a CMC (concentração micelar crítica), temos os surfactantes na forma de micelas.	11
Figura 9. Representação estrutural do brometo de dodeciltrimetilamônio (DTABr).12	
Figura 10. Representação estrutural do dodecil sulfato de sódio (SDS).	13
Figura 11. Representação estrutural da sulfobetaína N-decil-N,N-dimetilamônio-1-propanosulfonato (SB3-10).	13
Figura 12. Representação estrutural de um surfactante neutro com um grupo de cabeça do tipo polioxietileno.	14
Figura 13. Espectro UV-Vis para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de DTABr 1×10^{-2} M e LHA 1×10^{-3} M, sem tampão, pH=10,65.	24
Figura 14. Curvas de titulação de LHA [LHA]= $2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de [DTABr] $2,0 \times 10^{-2}$ M, com e sem a adição de [KCl]=0,1 M, a 25°C.	26
Figura 15. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada para a reação de hidrólise do BDNPP em função da concentração de DTABr (●) na ausência de LHA, pH=10, borato 0,01M e (■) na presença de LHA, mantendo ([LHA]/[DTABr]) = 0,1, pH 10,0 sem tampão.	30

- Figura 16.** Efeito da fração molar de LHA, plot de k_{obs} (s^{-1}) versus fração molar de LHA para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{DTABr}] = 1 \times 10^{-2}$ M, X_{LHA} de 0,1 a 0,7, e $[\text{BDNPP}] = 1,33 \times 10^{-5}$ M, $\text{pH} = 10,0$ sem tampão.34
- Figura 17.** Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{DTABr}] = 1,0 \times 10^{-2}$ M, $[\text{LHA}] = 1,0 \times 10^{-3}$ M, $[\text{BDNPP}] = 1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M dos tampões borato (pH 8 a 11) e Tris (pH 6 a 8).36
- Figura 18.** Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada em função do pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{DTABr}] = 1,0 \times 10^{-2}$ M, $[\text{LHA}] = 1,0 \times 10^{-3}$ M, e $[\text{BDNPP}] = 1,33 \times 10^{-5}$ M, sem tampão.38
- Figura 19.** Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{SB3-10}] = 5,0 \times 10^{-2}$ M, $[\text{LHA}] = 5,0 \times 10^{-3}$ M, $[\text{BDNPP}] = 1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M dos tampões borato (pH 8 a 11) e Tris (pH 6 a 8).41
- Figura 20.** Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{SDS}] = 5,0 \times 10^{-2}$ M, $[\text{LHA}] = 5,0 \times 10^{-3}$ M, $[\text{BDNPP}] = 1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M borato (pH 8 a 11).43
- Figura 21.** Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de $[\text{LA}] = 5,0 \times 10^{-2}$ M, $[\text{LHA}] = 5,0 \times 10^{-3}$ M, $[\text{BDNPP}] = 1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M do tampão borato.45

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Efeito da concentração de DTABr na constante de velocidade de hidrólise do BDNPP tampão borato 0,01 M, pH=10,0 ^a	28
Tabela 2. Efeito da concentração total de detergente na constante de velocidade de hidrólise do BDNPP ^a	29
Tabela 3. Efeito da fração molar de LHA na hidrólise do BDNPP ^a	33
Tabela 4. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e DTABr com fração molar constante de LHA, na presença de tampão ^a	35
Tabela 5. Efeito do pH na hidrólise do BDNPP, na presença de uma mistura de LHA e DTABr com fração molar constante de LHA, sem tampão.[DTABr]= 1×10^{-2} M, [LHA]= 1×10^{-3} M. ^a	38
Tabela 6. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e SB3-10 com fração molar constante de LHA, na presença de tampão ^a	40
Tabela 7. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e SDS com fração molar constante de LHA, na presença de tampão ^a	42
Tabela 8. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e LA com fração molar constante de LHA, na presença de tampão ^a	44

Tabela 9. Constantes obtidas para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de diferentes surfactantes.	46
--	----

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

DNA	Ácido desoxirribonucléico
RNA	Ácido ribonucléico
ATP	Adenosina trifosfato
ADP	Adenosina de difosfato
SB3-10	N-decil-N,N-dimetilamônio-1-propanosulfonato
DTABr	Brometo de dodeciltrimetilamônio
CTABr	Brometo de cetiltrimetilamônio
SDS	Dodecil sulfato de sódio
LA	Ácido láurico
BDNPP	Fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila)
LHA	Ácido lauril hidroxâmico
°C	Graus celcius
S_N2	Substituição nucleofílica bimolecular
S	Substrato
K	Constante de equilíbrio
k_w	Constante de velocidade em água
k_m	Constante de velocidade na fase micelar
k_{obs}	Constante de velocidade observada
UV/VIS	Espectroscopia de ultravioleta e visível
λ	Comprimento de onda
IV	Espectroscopia de infravermelho
s	Segundos
M	Molar = mol.L ⁻¹
μ	Força iônica
X	Fração molar

RESUMO

No presente trabalho estudou-se como modelo mimético para a catálise enzimática a hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (BDNPP), um diéster de fosfato que, cuja hidrólise e reações com diferentes catalisadores tem sido estudada por diferentes autores, conforme será descrito detalhadamente na revisão bibliográfica. Considerando que algumas micelas e compostos alfa nucleofílicos separadamente catalisam a reação de hidrólise do BDNPP, estudou-se esta reação na presença de co-micelas contendo o ácido lauril hidroxâmico (LHA-síntese descrita nesse trabalho) que além de ser um surfactante é também um reagente alfa nucleofílico.

Os resultados da titulação potenciométrica do LHA, na presença de DTABr, mostram que há uma sensível alteração na constante de ionização do LHA quando se varia a força iônica da solução. Conforme esperado, na ausência de KCl a micela concentra localmente na pseudo-fase micelar íons hidróxidos diminuindo assim o valor do pKa do LHA, enquanto que com a adição de KCl além de íons hidróxidos existe também íons cloretos concentrados na pseudo-fase micelar diminuindo a eficácia da micela, de abstrair o próton do LHA, conseqüentemente aumentando o valor do pKa do LHA, se comparado com a ausência de KCl.

A hidrólise espontânea do BDNPP ocorre com uma constante de velocidade na ordem de 10^{-7} s^{-1} a pH=8 e, a mesma reação, é catalisada em torno de 30 vezes na presença de micelas catiônicas do DTABr em elevados valores de pH. Conforme normalmente observado em reações bimoleculares na presença de surfactante, após um

máximo de velocidade, constata-se uma diminuição na constante de velocidade normalmente atribuída a diluição dos reagentes devido ao aumento do volume da fase micelar. Na presença de DTABr+LHA ($X_{LHA}=0,1$) o efeito catalítico na reação de hidrólise do BDNPP quando comparada com a hidrólise espontânea é de aproximadamente 10^5 vezes.

Os surfactantes SB3-10, SDS e LA também foram utilizados na presença de LHA e o efeito catalítico observado foi na ordem de 10^4 vezes. Este efeito, na presença de LHA deve-se em grande parte a forma ionizada do LHA.

Para os quatro surfactantes utilizados, DTABr, SB3-10, SDS e LA o LHA encontrou-se agregado no interior da micela, e a forma mais reativa em todos os casos é a forma monoaniônica. A ordem de efetividade dos diversos surfactantes é: DTABr > SB3-10 > LA > SDS, sendo que em todos os casos a catálise é muito efetiva.

ABSTRACT

In the present work it was studied hydrolysis of the model compound the bis-2,4-dinitrophenylphosphato (BDNPP), a diester of phosphate that, whose hydrolysis and reactions with different catalysts have been studied by different authors, as will be described at great length in bibliographic review. Considering that some micelle and alpha nucleophilic compound separately catalyze the reaction of hydrolysis of the BDNPP, this reaction was studied in presence of co-micelles containing lauryl hydroxamic acid (synthesis of LHA described in this work), besides being a surfactant, it is a alpha nucleophilic reactant too.

The results of potentiometric titration in the presence of DTABr show a sensible modification of the constant of ionization of LHA when ionic force of solution varies. As waited, in absence of KCl the micelle concentrates locally hydroxide ions in the pseudo-phase of the micelle thus decreasing the value of pKa LHA, while with addition of KCl, besides hydroxide ions, concentrated chlorides exists in the pseudo-phase of the micelle, decreasing the efficient of proton abstraction and increasing pKa if compared with the absence of KCl.

Spontaneous hydrolysis of the BDNPP occurs with a constant rate in the order of 10^{-7} s^{-1} pH=8, and the same reaction is catalysed around 30 times in presence of micelles cationics of the DTABr in raised values of pH. As normally observed in bimolecular reactions, after maximum speed, observes a decrease normally attributed it dilutes of the reagents due to the increase of volume of the pseudo-phase of micelle. In presence of DTABr+LHA ($X_{\text{LHA}}=0,1$) the catalyst effect in the reaction

of hydrolysis of the BDNPP approximately 10^5 times faster than the spontaneous hydrolysis. Surfactants SB3-10, SDS and LA were used in presence of LHA and the catalytic effect observed was in the order of 10^4 times. This effect, in presence of LHA in large extent is due by the ionized form of LHA.

For the four surfactants used, DTABr, SB3-10, SDS and LA the LHA found aggregated in the interior of micelle, and the most reactive form in all the cases is the form monoanionic. The order of effectiveness of the several surfactants is: DTABr > SB3-10 > LA > SDS, being in all the cases a catalysis very effective.

1. INTRODUÇÃO

No presente trabalho estudou-se como modelo mimético para a catálise enzimática a hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (BDNPP), um diéster de fosfato, figura 1, e cuja hidrólise e reação com diferentes catalisadores tem sido

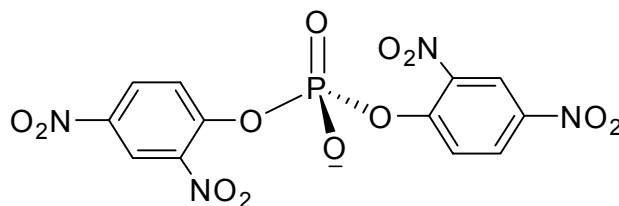


Figura 1. Representação estrutural do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila), BDNPP.

estudada por diferentes autores, conforme será descrito detalhadamente na revisão bibliográfica. Considerando que algumas micelas e compostos alfa nucleofílicos separadamente catalisam a reação de hidrólise do BDNPP, surgiu o interesse de estudar esta reação na presença de co-micelas contendo o ácido lauril hidroxâmico (LHA) que além de ser um surfactante é também um reagente alfa nucleofílico.

Para melhor compreender os objetivos deste trabalho, apresentaremos a continuação uma breve revisão bibliográfica dos diferentes aspectos envolvidos.

1.1. Justificativa

O interesse no estudo da hidrólise de ésteres de fosfato está relacionado com a importância da compreensão da química do átomo de fósforo, provavelmente devido ao seu importante papel nos processos biológicos, quer seja na formação de membranas ou como constituintes de macromoléculas importantes para a vida como DNA e RNA.

Os ácidos nucleicos DNA e RNA são polímeros de nucleotídeos¹. Eles transmitem e armazenam informações genéticas e algumas moléculas de RNA tem papel estrutural em macromoléculas complexas¹.

A representação convencional do fósforo (P) com 3 ligações P-O e uma ligação P=O, não é uma representação exata¹. No P_i (fosfato inorgânico) quatro ligações equivalentes compartilham algum caráter de dupla ligação e o ânion tem estrutura tetrahédrica¹ (figura2).

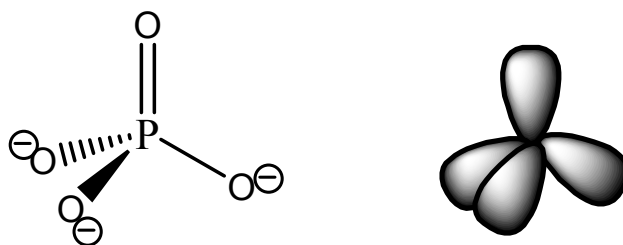


Figura 2. Representação do fosfato inorgânico.

O oxigênio é mais eletronegativo que o fósforo e na ligação formada os elétrons são compartilhados de forma desigual¹. Como resultado o átomo central de fósforo torna-se eletropositivo e pode, por isso, agir como eletrófilo¹. Em várias reações metabólicas o grupo

fosfato é transferido, desde ATP a um álcool (formando um éster fosfórico) ou a ácidos carboxílicos (formando anidridos mistos)¹. Quando o nucleófilo ataca o átomo eletrofílico de fósforo no ATP uma estrutura pentacovalente relativamente estável é formada como intermediário de reação. Com a saída do nucleófugo (ADP), a transferência do grupo fosfato está completa¹. A grande família de enzimas que catalisam a transferência do grupo fosfato com ATP como doador são ditas Kinases¹. A hexokinase, por exemplo transporta o grupo fosfato do ATP para a glucose¹.

Os ésteres fosfóricos (fosfatos) podem ser classificados como monoésteres, diésteres e triésteres, figura 3, de acordo com o número de grupos alquila ou arila presentes, sendo que, os triésteres não participam em processos biológicos.

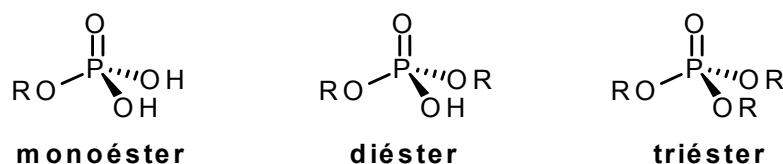


Figura 3. Representação dos três tipos de ésteres fosfóricos.

Os mono e diésteres do ácido fosfórico possuem uma funcionalidade adicional de acordo com o número de grupos hidroxilas presentes na estrutura, caracterizando-se portanto como ácidos dipróticos ou monopróticos.

A hidrólise de ésteres fosfóricos pertence ao grupo das reações consideradas clássicas e de importância fundamental na química e biologia². Muitos compostos organofosforados são tóxicos e usados

como pesticidas, inseticidas e agentes neurotóxicos (gases de guerra)². Em muitos casos, esses compostos são potentes inibidores da acetilcolinesterase, a enzima responsável por regular a concentração do neurotransmissor acetilcolina nas sinapses colinérgicas ².

1.2 . Reações modelos - hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (BDNPP).

Segundo Bunton e colaboradores a hidrólise do diéster BDNPP que resulta na formação do monoéster ocorre com a quebra da ligação P—O³. A reação de hidrólise do BDNPP é extremamente lenta e independente do pH na região de pH entre 4 e 7 (Figura 4). Em pH alcalino há contribuição da reação do íon hidróxido e, em pH ácido aparece uma contribuição significativa de catálise ácida específica. Na faixa de pH entre 4 e 7, os valores de entalpia e entropia de ativação sugerem que o passo limitante da velocidade é o ataque da água ao átomo de fósforo³.

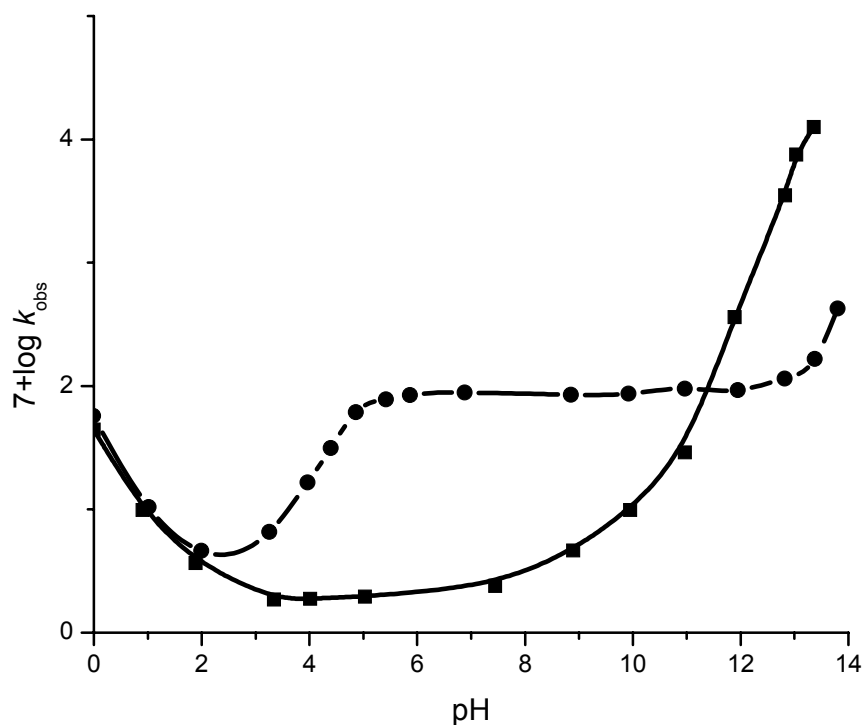
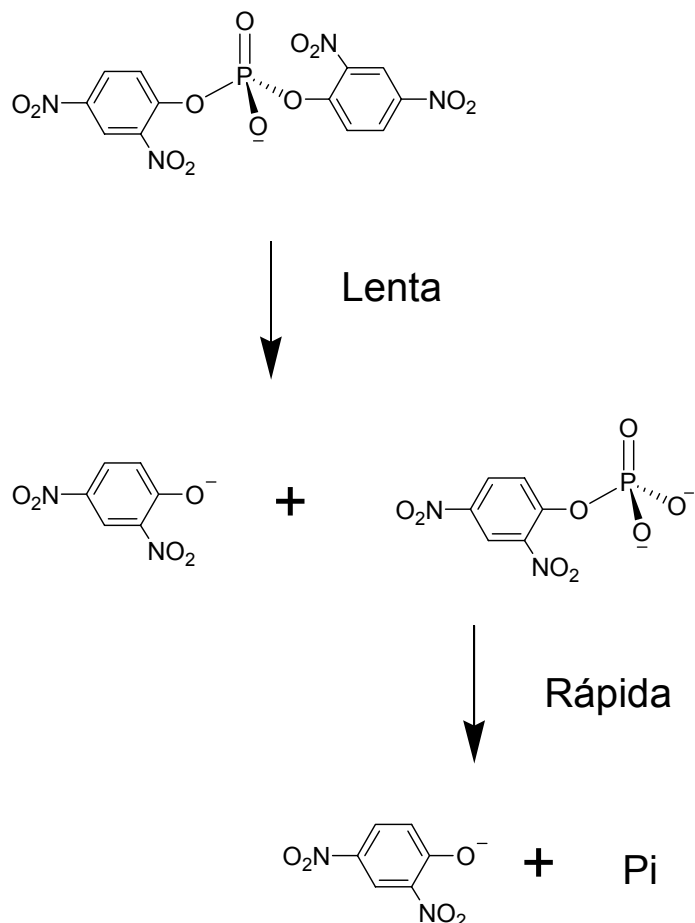


Figura 4. Variação da constante de velocidade observada em função do pH, a 25,0°C para a hidrólise do diester fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (□) e do monoester fosfato de 2,4-dinitrofenila (○).

O esquema 1 é consistente com os dados experimentais e mostra que na faixa de pH da reação espontânea, a hidrólise do BDNPP é a etapa lenta da reação e o monoester fosfato de 2,4-dinitrofenila (DNPP) não pode ser detectado.



Esquema 1. Representação esquemática da degradação do BDNPP.

Na faixa de $\text{pH} < 2$, onde predomina a catálise ácida específica, as reatividades do BDNPP e do DNPP são basicamente idênticas. Entretanto, na região de hidrólise básica, para valores de $\text{pH} > 11$, a reação de hidrólise do DNPP é mais lenta que a hidrólise do BDNPP e, nestas condições é possível detectar a formação do intermediário DNPP em solução³.

1.3. Efeito de alfa nucleófilos na hidrólise do BDNPP

O efeito α é definido como um aumento da reatividade de nucleófilos que têm pares de elétrons não compartilhados sobre o átomo adjacente ao centro nucleofílico, quando comparados a um nucleófilo "normal" (nucleófilo que não possui o efeito " α ") de mesma basicidade. A explicação deste tipo especial de efeito tem sido um desafio contínuo para os pesquisadores desde que esse fenômeno foi observado por Edwards e Pearson⁴.

Dentre as espécies que exibem esta reatividade, estão incluídas a hidroxilamina, o ânion hipoclorito, os ácidos hidroxâmicos, as oximas, os hidroperóxidos, o nitrito e o sufito (**Figura 5**).

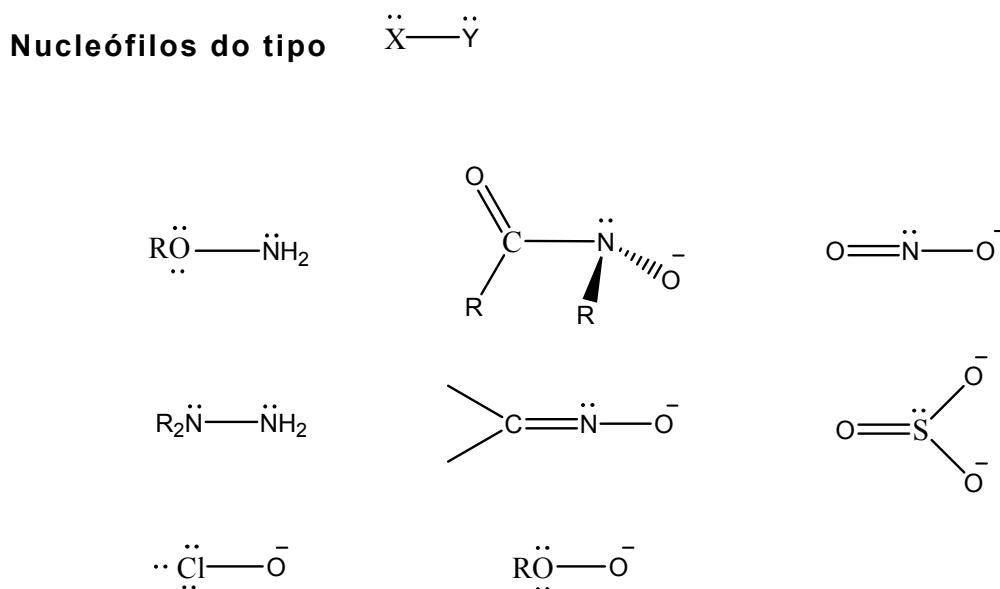
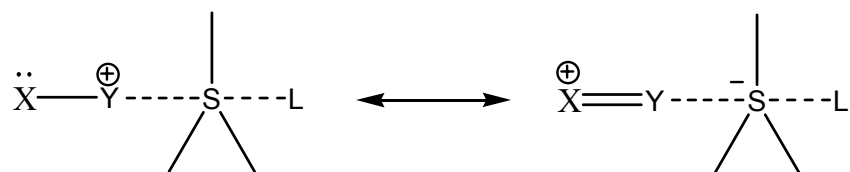


Figura 5. Algumas espécies nucleofílicas que apresentam o efeito α em processos nucleofílicos.

Diferentes fatores podem influenciar a reatividade nucleofílica e ser importantes para o efeito α . É provável que o átomo eletronegativo que está na posição α com o seu par de elétrons livres contribua

diretamente para o aumento da nucleofilicidade de alguns, senão todos, estes nucleófilos.

A explicação proposta mais freqüentemente para o efeito α é a de que os pares de elétrons sobre os átomos na posição α aumentam a nucleofilicidade pelo aumento da densidade eletrônica efetiva no centro da reação. Pode-se ainda argumentar que a remoção parcial dos elétrons de Y no nucleófilo X-Y (esquema 2) por doação ao substrato S no caminho que leva ao estado de transição cria uma deficiência eletrônica sobre Y. Esta deficiência eletrônica pode ser estabilizada pela doação eletrônica de X. O resultado será um aumento na densidade eletrônica efetiva no substrato e, conseqüentemente na nucleofilicidade de X-Y⁵.



Esquema 2. Representação de um estado de transição entre um eletrófilo e um alfa nucleófilo.

Em termos da teoria dos orbitais moleculares, a idéia mais aceita seria que o estado fundamental do nucleófilo é desestabilizado pela repulsão dos orbitais ocupados $p\pi$ dos átomos adjacentes e isso leva a um aumento na energia do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) que participa da reação. Como conseqüência, o orbital (HOMO) do nucleófilo interagiria fortemente com o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO) do centro

eletrofílico, levando a uma diminuição da repulsão entre orbitais $p\pi$ e um conseqüente aumento da reatividade.

Alfa nucleófilos também possuem um efeito catalítico significativo na hidrólise de diésteres de fosfato, conforme demonstrado por Domingos e colaboradores que investigaram a hidrólise do BDNPP na presença de hidroxilamina⁷.

Na figura 6 os dados experimentais para a reação do BDNPP com a hidroxilamina em água, na faixa de pH de 4 a 12 mostram que a constante de velocidade observada de primeira ordem, k_{obs} , inicialmente aumenta em função do pH, mas torna-se independente do mesmo entre valores⁷ de pH de 7,2 até 10.

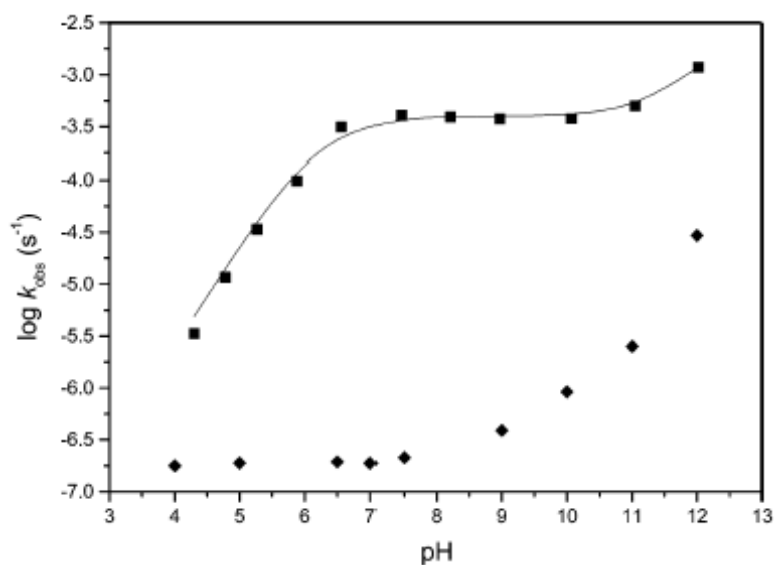


Figura 6. Gráfico logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para o ataque nucleofílico pela NH_2OH no BDNPP (□). Os dados experimentais da reação de hidrólise (◇) a 25°C são incluídos com fins comparativos⁷.

A hidrólise de outros ésteres fosfóricos inclusive SARIN um composto utilizado como gás de guerra, foi estudada na presença do

íon hipoclorito (nucleófilo alfa) com e sem CTABr por Dubey e colaboradores, os resultados demonstram a eficiência do nucleófilo alfa e do CTABr que aumenta a reatividade do nucleófilo e concentra os reagentes na fase micelar⁸.

1.4. Micelas

Surfactantes são moléculas anfifílicas que possuem em sua estrutura um grupo de cabeça hidrofílica e uma cadeia de hidrocarbonetos (cauda) de natureza hidrofóbica⁹, conforme representado esquematicamente na Figura 7.

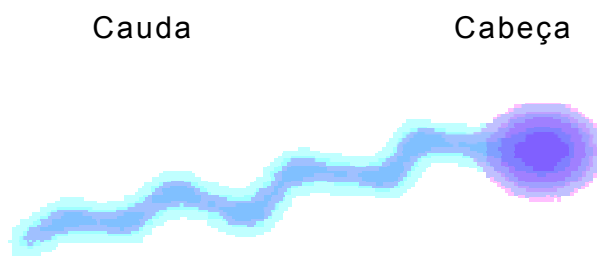


Figura 7. Representação esquemática de um surfactante.

Moléculas com este tipo de propriedades podem associar-se espontaneamente em solução aquosa diluída gerando agregados de vários tipos, formas e tamanhos tais como pequenas micelas globulares, grandes micelas cilíndricas ou vesículas esféricas, sendo que as características dos agregados formados é determinada pela estrutura molecular do surfactante¹⁰.

Equações rigorosas descrevem o comportamento e propriedades desses agregados formados pelos surfactantes, e a estrutura do mesmo

define volume, tamanho e raio da micela, bem como número de agregação e concentração micelar crítica (CMC)¹¹.

Conforme mostrado na **Figura 8**, são formados agregados esféricos para concentrações de surfactante maiores que a CMC, e abaixo dela o surfactante é encontrado na forma de monômeros. A tendência dessas moléculas formarem micelas em solução aquosa é consequência do efeito hidrofóbico¹².

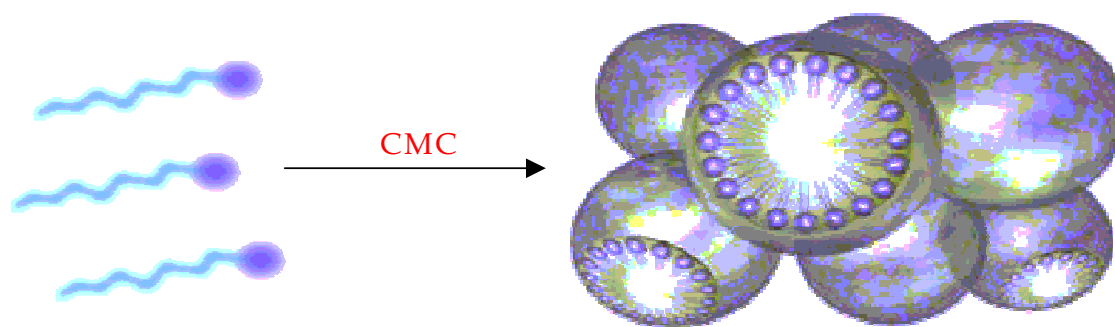


Figura 8. Representação simplificada da formação de micelas por surfactantes, onde à esquerda temos os surfactantes na forma de monômeros e à direita, para concentrações maiores que a CMC (concentração micelar crítica), temos os surfactantes na forma de micelas.

Dependendo de sua estrutura molecular os surfactantes podem ser classificados como aniônicos, catiônicos, dipolares iônicos e neutros.

Surfactantes catiônicos:

São classificados como catiônicos os surfactantes que apresentam uma ou mais cargas positivas em sua cabeça. Um exemplo típico de surfactante catiônico é o brometo de dodeciltrimetilamônio

(DTABr) figura 9, que trata-se de um composto comum em produtos de limpeza e cosméticos.

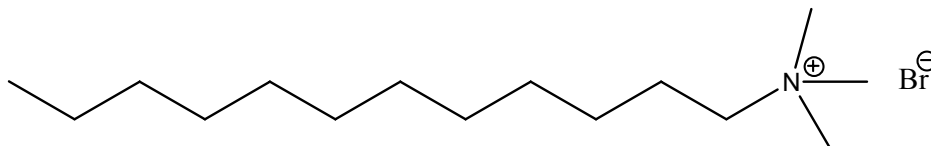


Figura 9. Representação estrutural do brometo de dodeciltrimetilamônio (DTABr)

Micelas formadas por surfactantes catiônicos como brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr) tem sido muito utilizadas para catalisar ou acelerar reações químicas devido a sua capacidade de concentrar reagentes orgânicos hidrofóbicos e reagentes nucleofílicos aniônicos, quando em solução aquosa e em concentrações maiores que a concentração micelar crítica ($CMC = 8,8 \times 10^{-4} M$)¹³.

Surfactantes aniônicos:

São surfactantes que possuem uma ou mais cargas negativas concentradas na sua cabeça, também é utilizado como catalisador devido a sua capacidade de concentrar reagentes catiônicos. Um exemplo típico de surfactante aniônico é o dodecilsulfato de sódio, figura 10, cuja CMC é $8,1 \times 10^{-3} M$ ¹⁴.

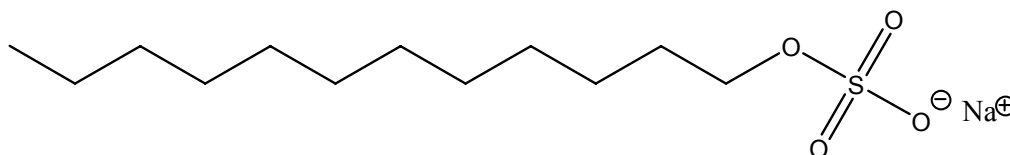


Figura 10. Representação estrutural do dodecil sulfato de sódio (SDS)

Surfactantes dipolares iônicos:

São surfactantes que possuem cargas positiva e negativa na mesma estrutura molecular, como no exemplo da sulfobetaína da figura 11. Na representação SB3-10, SB é a sigla para sulfobetaína, 3 é o número de átomos de carbono entre o nitrogênio e o enxofre (normalmente chamado de espaçador) e 10 é o número de átomos de carbono que constituem a cadeia principal do surfactante.

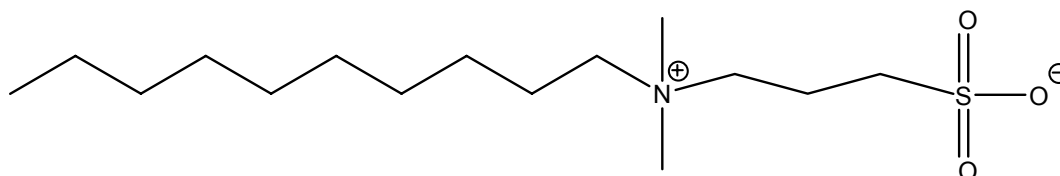


Figura 11. Representação estrutural da sulfobetaína N-decil-N,N-dimetilamônio-1-propanosulfonato (SB3-10).

Surfactantes neutros:

São surfactantes que possuem uma cabeça polar hidrofílica sem cargas, um exemplo é o polioxietileno mostrado na figura 12, onde há uma cauda de 12 átomos de carbono.

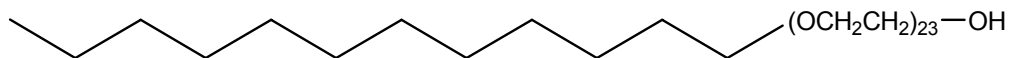


Figura 12. Representação estrutural de um surfactante neutro com um grupo de cabeça do tipo polioxietileno.

1.5. Micelas mistas

Micelas mistas ou co-micelas são agregados formados por dois ou mais surfactantes diferentes¹⁰. Esses tipos de agregados são de considerável interesse devido ao seu grande uso comercial⁶. De fato os produtos comerciais contendo tensoativos geralmente consistem de misturas de surfactantes porque podem ser produzidos a um custo relativamente menor do que quando constituídos por um único componente¹⁶.

Em soluções contendo misturas de surfactantes a tendência de formação de agregados pode ser substancialmente diferente daquela de soluções contendo somente um surfactante. Exemplos de tais agregados podem ser micelas, precipitados ou monocamadas¹⁶.

O comportamento de soluções contendo micelas mistas é comumente aproximado pelo uso do modelo de pseudofase. O equilíbrio entre monômeros e micela é considerado análogo ao equilíbrio vapor-líquido em uma mistura ideal de líquidos, ou seja, em ambos os casos uma fase com pouca interação entre os componentes está em equilíbrio com uma fase concentrada na qual as interações podem ser significativas¹⁶.

As características dos agregados formados são determinadas pelas estruturas moleculares dos surfactantes presentes na mistura,

bem como pelas condições da solução, como: temperatura, concentração e/ou força iônica¹⁰. A teoria para a formação de micelas mistas permite o cálculo da CMC, do tamanho médio da micela, da composição média e da distribuição da composição da micela em sistemas de surfactantes mistos¹⁰.

Para um sistema binário de surfactantes A e B, a formação de micela mista pode ser modelada assumindo que a termodinâmica da mistura na micela obedece a teoria de soluções ideais. Quando monômeros e micela estão em equilíbrio num sistema o resultado é:

$$C_M = CMC_A CMC_B / (Y_A CMC_B + Y_B CMC_A) \quad (1)$$

$$X_A = Y_A C_M / CMC_A \quad (2)$$

Onde C_M é a concentração total do monômero, CMC_A ou CMC_B são os valores individuais de CMC dos componentes, Y_A e Y_B são as frações molares dos monômeros A e B respectivamente e X_A e X_B são as frações molares micelares de A e B respectivamente, portanto $Y_A + Y_B = 1$ e $X_A + X_B = 1$ ¹⁶.

1.6. Catálise em meio micelar

O efeito micelar sobre reações bimoleculares em soluções aquosas tem sido extensivamente estudado e muitas reações químicas entre compostos hidrofóbicos ou entre um íon reativo e uma molécula orgânica são efetivamente aceleradas ou catalisadas por surfactantes na forma de micelas¹⁵. Um exemplo importante é a degradação de

compostos neuro tóxicos a base de fósforo como o Sarin, que são degradados na presença de micelas de CTABr⁸.

Detergentes dicatiônicos formam micelas que são efetivos catalisadores da reação do íon hidróxido com cloro- e fluor-2,4-dinitrobenzeno e para as reações de hidróxido e fluoreto com o fosfato de *p*-nitrofenildifenila¹⁷. A catálise observada pode ser explicada qualitativamente em termos da interação iônica e hidrofóbica do reagente e do estado de transição com a micela¹⁷. Entretanto, ainda que uma forte incorporação do substrato seja observada em muitas micelas, a catálise micelar geralmente é relativamente pouco efetiva, com um aumento de velocidade de aproximadamente 10 -100 vezes¹⁷.

Citamos como exemplo o CTABr que, em concentrações maiores que a CMC, catalisa a hidrólise espontânea dos fosfatos de 2,4- e 2,6-dinitrofenila mas não afeta a constante de velocidade de ataque do íon hidróxido sobre eles ou da hidrólise do monoânion do fosfato de *p*-nitrofenila ou do diânion da glicose-6-fosfato¹⁸. Um resultado que sugere que micelas catiônicas assistem uma variedade de reações orgânicas concentrando reagentes na fase micelar.

1.7. Efeito micelar na hidrólise do BDNPP.

A reação de hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila) (BDNPP) é catalisada aproximadamente 30 vezes por micelas catiônicas do brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr)¹⁹. Em solução alcalina a catálise pode ser explicada através da capacidade das micelas catiônicas em concentrar reagentes aniônicos e simultaneamente concentrar compostos orgânicos¹⁹.

Micelas aniônicas de lauril sulfato de sódio (SLS) não aumentam a constante de velocidade de hidrólise do BDNPP¹⁹, provavelmente porque apesar de solubilizar o BDNPP, repelem os reagentes nucleofílicos, fazendo com que a hidrólise ocorra na fase aquosa¹⁹.

Micelas neutras com estrutura de poliéteres no grupo de cabeça inibem a hidrólise do fosfato de bis-(2,4-dinitrofenila)²⁰, sendo que a inibição da reação pode ser explicada pela incorporação do substrato na pseudo-fase micelar protegendo-o do ataque pelo íon hidróxido²⁰.

2. OBJETIVOS:

2.1.Gerais:

O objetivo geral desse trabalho é estudar o efeito de co-micelas α -nucleofílicas na hidrólise de um éster de fosfato, como modelo mimético da catálise enzimática. Para isso deve ser sintetizado um composto que além de ser um nucleófilo alfa também deve ser um surfactante e, por tanto, possa agregar-se com outros surfactantes formando micelas mistas.

2.2.Específicos:

- 1) Sintetizar o ácido lauril hidroxâmico (LHA) que além de ser um nucleófilo alfa também é um surfactante;
- 2) Testar a solubilização do LHA em micelas mistas na presença de surfactantes como brometo de dodeciltrimetilamônio (DTABr), dodecilsulfato de sódio (SDS), N-decil-N,N-dimetilamônio-1-propanosulfonato (SB3-10) e ácido láurico (LA);
- 3) Testar o efeito do LHA, na reação de hidrólise do BDNPP, na presença de micelas mistas com diferentes surfactantes.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos

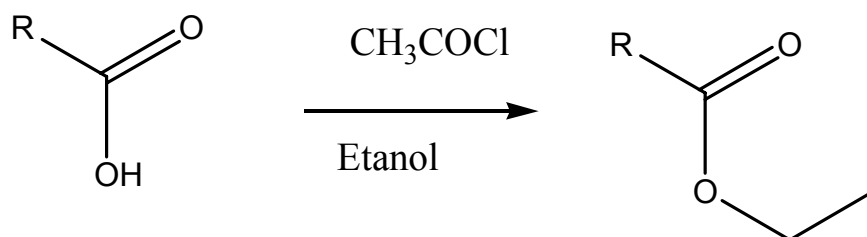
Os espectros de UV/VIS, bem como as medidas cinéticas foram realizadas em um espectrofotômetro UV/VIS Varian Cary 50 scan, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos, incorporado na programação do equipamento. As medidas foram realizadas no compartimento termostaticado do espectrofotômetro e, a temperatura foi controlada utilizando um banho termostático da Microquímica. As medidas de pH para os procedimentos cinéticos foram realizadas em um potenciômetro digital Hanna modelo Q-400 MA , calibrado previamente com soluções padrão de pH 7,00 e 10,00 (Carlo Erba).

3.2. Reagentes

O ácido láurico (99 %) e cloreto de acetila (p.a.) foram procedentes da Aldrich. O cloridrato de hidroxilamina (99%) era da marca Acros e o brometo de hexadeciltrimetilamônio (99%) foi comprado da Sigma. Os tampões borato, tris(hidroximetil)aminometano, e sais utilizados na preparação das soluções e misturas reacionais foram de qualidade p.a., e procedentes da Merck, Carlo Erba e Reagen. Todos os reagentes foram utilizados sem qualquer tratamento prévio.

3.3. Síntese do ácido hidroxâmico

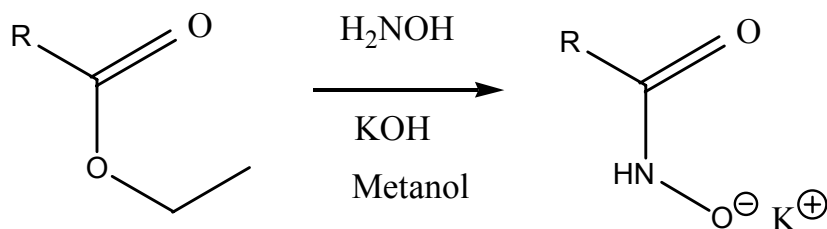
O éster laurato de etila foi sintetizado segundo descrito na literatura²¹ esquema 3.



Esquema 3. R=CH₃(CH₂)₁₀

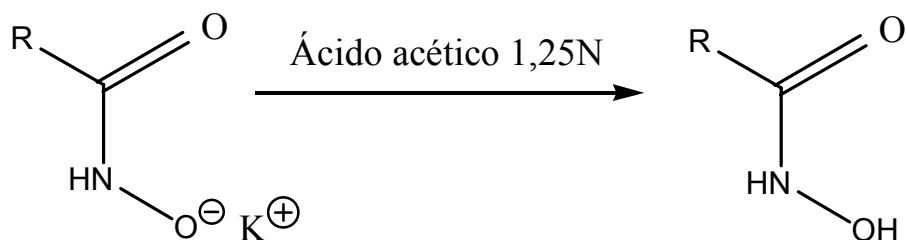
Foram adicionados 20g (0,1mol) de ácido láurico e 258 mL (4,4 mol) de etanol absoluto num balão de fundo redondo. Em seguida, adicionou-se lentamente 8,6 mL (0,12 mol) de cloreto de acetila. O sistema foi aquecido durante 1,5 horas com um banho de glicerina a 110°C sob agitação magnética e, deixou-se esfriar a mistura até atingir a temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura reacional até 60mL com o auxílio de um evaporador rotativo e transferiu-se a mesma para um funil de separação onde adicionou-se 130mL de éter etílico e 50mL de uma solução aquosa de bicarbonato de sódio 5%. Após a separação removeu-se a fase aquosa (fase inferior). Extraiu-se a fase etérea com mais três adições de 50mL cada uma de bicarbonato de sódio 5%. Evaporou-se o solvente no evaporador rotativo e obteve-se 18g de um óleo levemente azulado que foi isolado e identificado como o laurato de etila.

A partir do éster laurato de etila foi sintetizado o sal de potássio do ácido lauril hidroxâmico seguindo o procedimento descrito na literatura²², esquema 4.



Esquema 4. R=CH₃(CH₂)₁₀

Prepararam-se separadamente uma solução de 10,8 g (0,156 mol) de cloridrato de hidroxilamina em 56 mL de metanol, e outra contendo 13,06 g (0,23 mol) de hidróxido de potássio em 35 mL de metanol. Adicionou-se a base com agitação magnética sobre a solução de hidroxilamina e observou-se a formação de um precipitado branco. Após adição total da base deixou-se a solução em repouso por 20 minutos até completa precipitação do KCl, e então filtrou-se a mesma com sucção. Em seguida, 18,01 g (0,078 mol) do laurato de etila foram adicionados a mistura reacional sob agitação magnética a temperatura ambiente, observando-se a precipitação imediata de um sólido branco. Em seguida, a mistura foi colocada num banho de gelo por 1 hora e filtrada com sucção, lavada com pequena quantidade de etanol absoluto e o precipitado obtido foi seco ao ar (15,15 g).



Esquema 5. R=CH₃(CH₂)₁₀

A amostra de 15,15 g (0,059 mol) do precipitado obtido na etapa anterior (sal de potássio) foram adicionados 70 mL de ácido acético 1,25 N e a mistura foi agitada e aquecida até que a solução fica-se límpida, esquema 5. A solução foi deixada esfriar até atingir a temperatura ambiente e finalmente colocada num banho de gelo. A solução foi filtrada e o sólido branco obtido foi recristalizado em éter etílico obtendo-se 10,05 g (0,046 mol) do ácido lauril hidroxâmico(LHA) (p_{f_{exp}} 92°C; p_{f_{lit}} 94°C)²³.

O Ácido lauril hidroxâmico foi caracterizado por RMN ¹H e IV (KBr) (Espectros em anexo I e II respectivamente). Os dados de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, referência interna TMS) são consistentes com a estrutura do LHA e mostra as seguintes características: δ 0.89 (H-12, t, 3H, $J_{12} = 7.39$ Hz), δ 1.28 (s, 16H), δ 1.59 (H-3, quint, 2H, $J = 7.39$ Hz), δ 2.07 (H-2, t, 2H, $J_{12} = 7.39$ Hz).

O espectro de infravermelho, em pastilha de KBr mostra bandas características nas seguintes frequências (cm⁻¹): 3259 f, 2914 F, 2847 f, 1663 f, 1624 f, 1567 m, 1470 f, 1425 m, 1117w, 1089 w, 1068 w, 1019 w, 968 w, 648 w, 558 w, 503 w.

3.4. Medidas cinéticas

As determinações cinéticas foram realizadas em solução aquosa a temperatura de 25°C, sendo que o pH durante a reação foi mantido constante pela adição de tampão tris(hidroximetil)aminometano nas faixas de pH de 6 a 8 e borato nas faixas de pH de 8 a 11. Em todos os casos as concentrações de tampão foram de 0,01 M. Para os experimentos feitos utilizando LHA como tampão o pH da mistura reacional foi medido antes e depois da reação, garantindo assim que o pH durante a reação de hidrólise do BDNPP não mudou. A concentração final do substrato (BDNPP) nos experimentos cinéticos foi de $1,33 \times 10^{-5}$ M e as reações foram iniciadas pela adição de uma alíquota de 10 μ L de uma solução estoque do substrato em acetonitrila, em 1,5 mL de solução aquosa com a composição desejada.

Em todos os casos, imediatamente após a adição do BDNPP, foram registrados sequencialmente os espectros de UV-Vis durante aproximadamente 5 tempos de meia vida e na seqüência de espectros em função do tempo, conforme Figura 13, pode-se observar o aumento da absorbância em 360 nm e em 400 nm, consistente com a formação do íon 2,4-dinitrofenolato, mostrando as bandas típicas deste íon em solução aquosa com λ_{\max} em 360 nm e em 400 nm, conforme descrito na literatura.

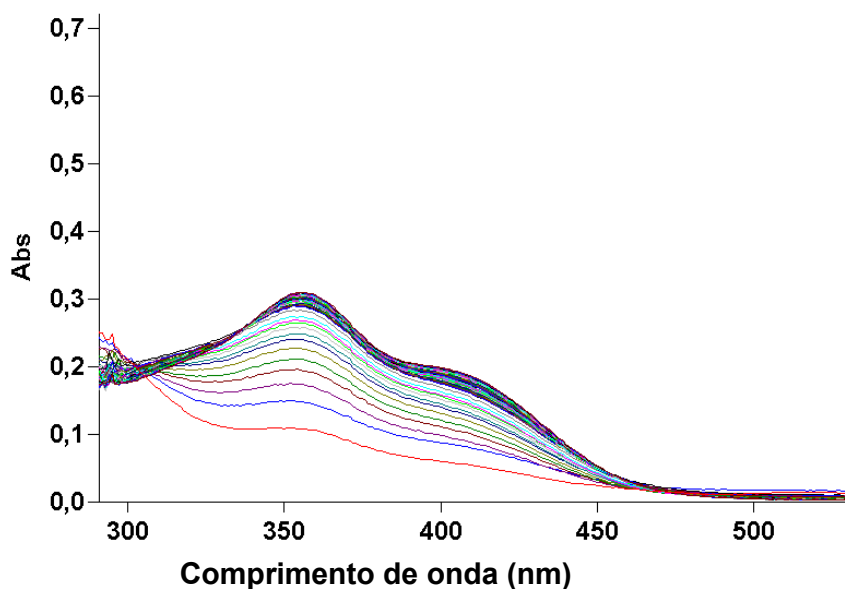


Figura 13. Espectro UV-Vis para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de DTABr 1×10^{-2} M e LHA 1×10^{-3} M, sem tampão, pH=10,65.

As constantes de velocidade observadas (k_{obs}) em solução aquosa foram calculadas com o auxílio do programa disponível no equipamento, o comprimento de onda utilizado nas determinações das constantes cinéticas foi de 400 nm. As regressões lineares e não-lineares para outros ajustes de dados cinéticos em função de concentração de surfactante e de nucleófilo, foram realizadas com o programa de computação ORIGIN versão 5.0 (Microcal Software, 1999).

3.5 Titulações potenciométricas

As titulações foram realizadas em um sistema composto por um pHmetro Metrohm 713 e um dosador automático Dosimat 765 (Metrohm) acoplados à um computador. As amostras foram tituladas em uma célula com fluxo constante de nitrogênio, a temperatura foi estabilizada

com o auxílio de um banho termostático em $25,0 \pm 0,1$ °C. Os ajustes e constantes de ionização foram definidos no programa FITEQL 4.0. As concentrações utilizadas foram de 5×10^{-3} mol L⁻¹ de LHA com a concentração de surfactante DTABr em solução de 5×10^{-2} mol L⁻¹.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da titulação potenciométrica do LHA, na presença de DTABr, mostram que há uma sensível alteração na constante de ionização do LHA quando se varia a força iônica da solução (Figura 14).

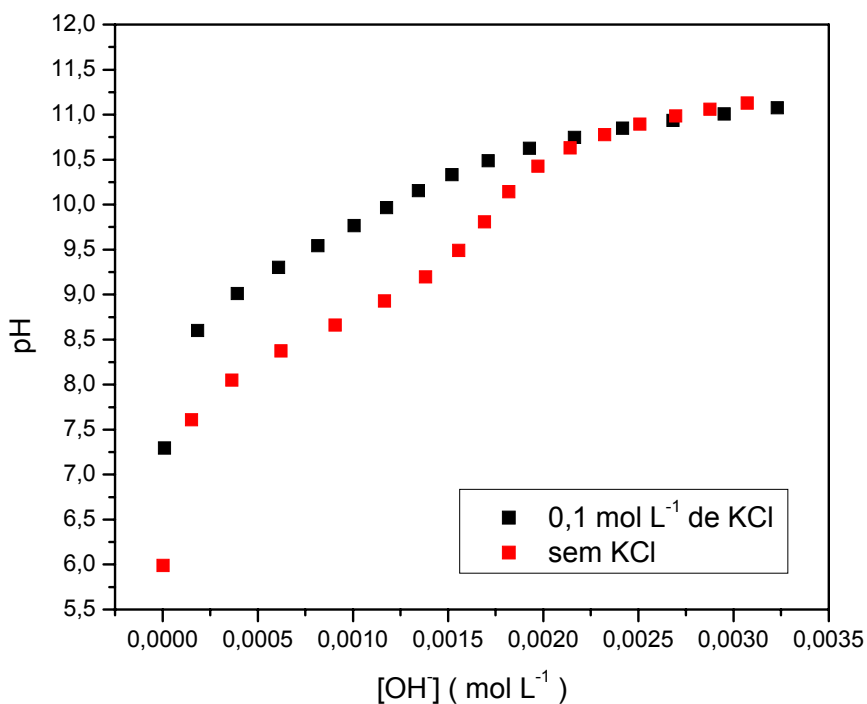


Figura 14. Curvas de titulação de LHA $[LHA]=2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de $[DTABr] 2,0 \times 10^{-2}$ M, com e sem a adição de $[KCl]=0,1$ M, a 25°C .

Na titulação do ácido sem adição de sal para fixação da força iônica, a curva experimental foi ajustada com o programa FITEQL 4.0 e o pKa obtido foi de 8,63. Conforme pode ser verificado no gráfico, o valor de pKa é aparentemente maior na presença de eletrólito agregado. De fato, com a adição de KCl, o pKa aparente do substrato

varia consideravelmente e, em presença de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, observou-se um pKa aparente igual a 9,41.

Conforme esperado, na ausência de KCl a micela concentra localmente na fase micelar íons hidóxidos diminuindo assim o valor do pKa do LHA, enquanto que com a adição de KCl além de íons hidróxidos existe também íons cloretos concentrados na fase micelar diminuindo a eficácia da micela, de abstrair o próton do LHA, conseqüentemente aumentando o valor do pKa aparente do LHA, se comparado com a ausência de KCl. O resultado observado é consistente com o fato de que adição de Cl^- deve remover OH^- da superfície da micela, afetando o pH local.

4.1 Efeito de DTABr na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA

A hidrólise espontânea do BDNPP ocorre com uma constante de velocidade na ordem de 10^{-7} s^{-1} a pH=8 e, a mesma reação, é catalisada em torno de 30 vezes na presença de micelas catiônicas do CTABr em elevados valores de pH¹⁹.

A tabela 1 mostra os resultados obtidos para a reação de hidrólise do BDNPP, na presença de $0,01 \text{ M}$ de tampão borato, pH 10,0. Basicamente, observa-se um aumento significativo da constante de velocidade, que atinge um máximo de aproximadamente $1,66 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ em presença de baixas concentrações de surfactante.

Tabela 1. Efeito da concentração de DTABr na constante de velocidade de hidrólise do BDNPP tampão borato 0,01 M, pH=10,0 ^a.

[DTABr] M	$k_{obs} \times 10^5 (s^{-1})$	[DTABr] M	$k_{obs} \times 10^5 (s^{-1})$
0,0001	0,333	0,008	1,0
0,0002	0,666	0,01	0,833
0,0004	1,33	0,02	0,666
0,0005	1,5	0,03	0,50
0,001	1,66	0,04	0,50
0,003	1,5	0,05	0,50
0,005	1,16	0,06	0,50

^a Temperatura 25°C, [BDNPP]= $1,33 \times 10^{-5}$ M.

Conforme normalmente observado em reações bimoleculares, após o máximo de velocidade, observa-se uma diminuição na mesma, normalmente atribuída a diluição dos reagentes devido ao aumento de volume da fase micelar.

Quando a mesma reação é estudada na presença de uma mistura de DTABr e ácido lauril hidroxâmico (LHA), mantendo uma razão constante entre as concentrações de surfactantes ($[LHA]/[DTABr] = 0,1$), os resultados experimentais, indicam que há um aumento significativo da constante de velocidade, quando comparado com os dados obtidos em presença de DTABr e na ausência de LHA. Ainda,

observa-se que aparentemente não há uma maior influência do aumento da concentração de DTABr sobre a constante de velocidade na presença de LHA tabela 2, uma comparação entre os dois conjuntos de dados pode ser visualizada na figura 15.

Tabela 2. Efeito da concentração total de detergente na constante de velocidade de hidrólise do BDNPP^a.

[DTABr]Mx10 ²	[LHA]Mx10 ³	<i>k</i> _{obs} (s ⁻¹)
0,5	0,5	0,0241
1,0	1,0	0,0217
1,5	1,5	0,0223
2,0	2,0	0,0222
2,5	2,5	0,0192
3,0	3,0	0,0209
3,5	3,5	0,0184
4,0	4,0	0,0203

^a Temperatura de 25°C, pH=10, sem tampão, [BDNPP]=1,33x10⁻⁵ M.

Considerando que a constante de velocidade observada para a reação de hidrólise do BDNPP em meio aquoso, pH=10, é de aproximadamente 10⁻⁶ o efeito catalítico obtido na ausência de LHA é de aproximadamente 17 vezes. Um resultado comparável com aquele obtido na presença de CTABr (30 vezes). O resultado obtido na presença de fração molar 0,09 de LHA, mostra um efeito catalítico

muito significativo, em torno de 2×10^4 vezes mais rápido que a hidrólise do BDNPP na presença de DTABr.

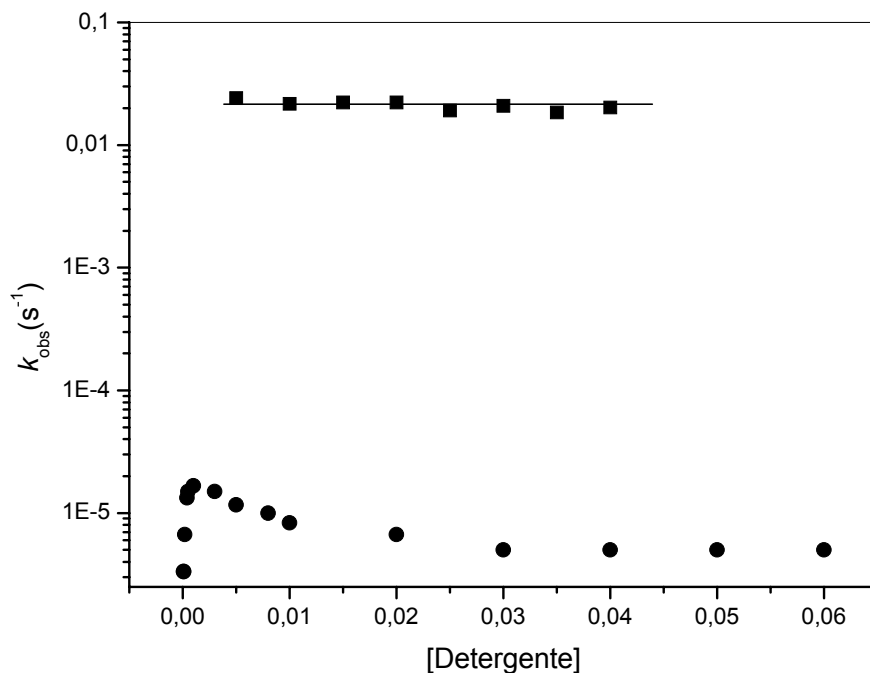
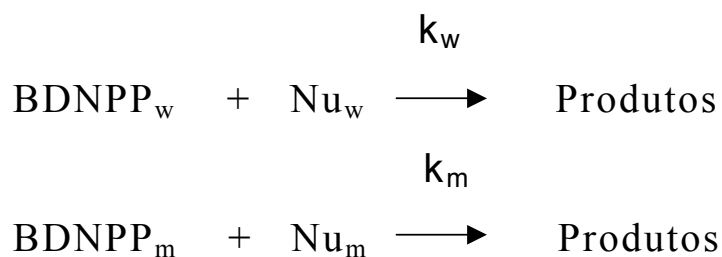


Figura 15. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada para a reação de hidrólise do BDNPP em função da concentração de DTABr (•) na ausência de LHA, pH=10, borato 0,01M e (■) na presença de LHA, mantendo $([LHA]/[DTABr]) = 0,1$, pH 10,0 sem tampão.

Para poder tratar quantitativamente os dados, há necessidade de incluir o equilíbrio de distribuição do substrato entre a fase aquosa e micelar, que permite que as reações possam acontecer na fase aquosa ou na fase micelar (Esquema 6)²⁴.



Esquema 6. Distribuição de reagentes entre fases, na reação de hidrólise do BDNPP em solução micelar aquosa. Nu é o nucleófilo e os subscritos m e w referem-se as fases micelar e aquosa respectivamente.

De acordo com o esquema 6, para a reação em DTABr a constante de velocidade é descrita pela equação 1²⁴.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{2m} [\text{OH}_m^-] K_s [\text{DTABr}] + k_{2w} [\text{OH}_w^-]}{1 + K_s [\text{DTABr}]} \quad (\text{equação 1})$$

Nesta equação K_s corresponde a constante de incorporação do substrato na micela, e os subscritos m e w referem-se as fases micelar e aquosa respectivamente. Assim, o efeito catalítico observado é devido em grande parte ao aumento de concentração de hidróxido na fase micelar.

Na presença de LHA a situação é diferente e o valor médio da constante de velocidade observada na presença de LHA foi de $(2,11 \pm 0,14) \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$; um valor que é aproximadamente 1000 vezes maior que a constante de velocidade observada na presença de DTABr e, em torno de 30000 vezes maior que a reação na ausência de surfactante.

De acordo com Bunton e colaboradores, o aumento da velocidade de hidrólise do BDNPP causado pelo CTABr é o resultado de um

decréscimo de 2-3 kcal/mol na energia de ativação e a entropia de ativação é quase inafetada¹⁸. No caso de micelas mistas onde temos um surfactante catiônico incorporando a forma aniônica do ácido LHA, espera-se incorporação quantitativa e, para sistemas com cargas opostas, a micelização normalmente ocorre com uma diminuição significativa da CMC¹⁰. Assim, os resultados obtidos concordam com a idéia de que o ácido lauril hidroxâmico está agregado no interior da micela junto com DTABr.

O efeito catalítico observado na presença de LHA deve-se em grande parte a forma ionizada do LHA que, de acordo com a literatura, mostra uma reatividade muito maior que a forma neutra. Assim, a equação 2 descreve a reação em micelas mistas, na presença de LHA, para uma situação onde o substrato está totalmente incorporado na fase micelar.

$$k_{obs} = k_m \chi_{LHA} + k_{2m} OH^-_m \quad (\text{equação 2})$$

O resultado mostrado na Figura 15 está perfeitamente de acordo com a equação 2, já que a fração molar de LHA é constante e, portanto, espera-se que a constante de velocidade não mude significativamente nestas condições.

Na **Tabela 3** podemos observar que a medida que é aumentada a concentração do LHA e mantida constante a concentração de DTABr a constante de velocidade de hidrólise do BDNPP aumenta inicialmente de forma significativa.

Tabela 3. Efeito da fração molar de LHA na hidrólise do BDNPP ^a

[DTABr]Mx10 ²	[LHA]Mx10 ³	X _{LHA}	k _{obs} (s ⁻¹)
1,0	0,01	0,0009	0,0005
1,0	0,1	0,009	0,002
1,0	0,2	0,019	0,0041
1,0	0,3	0,029	0,0063
1,0	0,6	0,056	0,0102
1,0	1,0	0,09	0,0207
1,0	2,0	0,166	0,0285
1,0	3,0	0,231	0,0312
1,0	4,0	0,286	0,0334
1,0	5,0	0,333	0,0346

^a Temperatura de 25°C, sem tampão pH=10, [BDNPP]=1,33x10⁻⁵ M.

Este fenômeno acontece em concentrações de nucleófilo relativamente baixas e, para frações molares de LHA maiores que 0,10 há uma tendência a saturação (Figura 16), atingindo uma constante de velocidade para a reação de BDNPP com LHA de aproximadamente 3,0 x 10⁻² s⁻¹, ou seja cerca de 10⁵ vezes mais rápida que a hidrólise espontânea do BDNPP. O comportamento observado indica que a medida que muda a fração molar de LHA, o aumento de constante de velocidade observada não é linear. Um fato que provavelmente está relacionado com a mudança da superfície do surfactante (DTABr) que está perdendo sua

propriedade de concentrar carga negativa, uma propriedade esperada para micelas formadas por misturas de detergentes aniônicos e catiônicos.

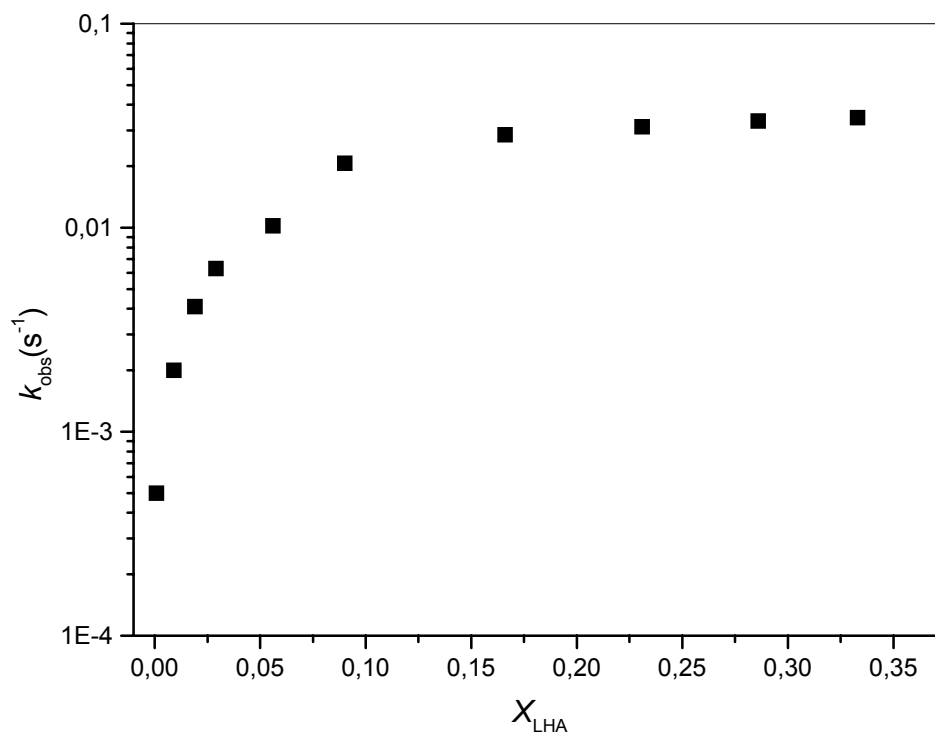


Figura 16. Efeito da fração molar de LHA, plot de $k_{obs} (s^{-1})$ versus fração molar de LHA para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de $[DTABr]=1 \times 10^{-2} M$, X_{LHA} de 0,1 a 0,7, e $[BDNPP]=1,33 \times 10^{-5} M$, $pH = 10,0$ sem tampão.

Na **Tabela 4** temos o perfil de pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de $0,01 M$ DTABr e $1,0 \times 10^{-3} M$ de LHA, em função do pH , utilizando tampão Tris (tris(hidroximetil)aminometano) na faixa de pH de 6 a 8 e tampão borato na faixa de pH de 8 e 11.

Tabela 4. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e DTABr com fração molar constante de LHA, na presença de tampão^a.

pH	k_{obs} (s ⁻¹)	pH	k_{obs} (s ⁻¹)
5,9	0,000018	10,0	0,00449
7,0	0,000254	10,1	0,00551
7,5	0,000703	10,2	0,00637
8,0	0,00101	10,5	0,00952
8,5	0,00155	10,7	0,0118
9,0	0,00206	10,9	0,0166
9,2	0,00216	11,0	0,0175
9,5	0,00255	11,3	0,0204
9,7	0,00336	11,6	0,0239
9,8	0,00405		

^a. [DTABr] = $1,0 \times 10^{-2}$ M, [LHA] = $1,0 \times 10^{-3}$ M, 25°C, [BDNPP] = $1,33 \times 10^{-5}$ M, tampão borato 0,01 M entre pH 8 e 11 e tampão Tris entre pHs 6 e 8.

Como pode ser visualizado na **Figura 17**, o perfil de pH mostra um comportamento cineticamente complexo, onde observa-se três regiões distintas, uma entre pH 6,0 e pH 8,5, onde a constante de velocidade aumenta linearmente, um patamar entre valores de pHs 8,5 e 9,5 e um novo aumento da constante de velocidade para pH > 9,5, mostrando tendência de saturação para valores de pH > 11.

O comportamento observado é cineticamente complexo devido em grande parte ao efeito dos diversos tampões utilizados na

concentração de íons hidróxido na superfície da micela de DTABr.

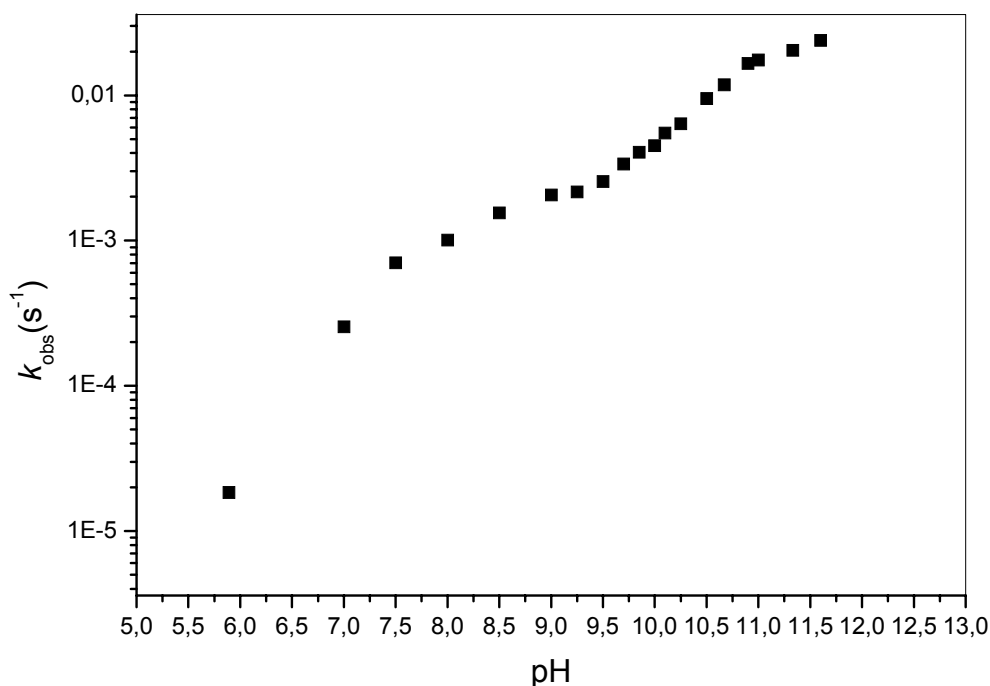


Figura 17. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de [DTABr] = $1,0 \times 10^{-2}$ M, [LHA] = $1,0 \times 10^{-3}$ M, [BDNPP] = $1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M dos tampões borato (pH 8 a 11) e Tris (pH 6 a 8).

O gráfico é mostrado unicamente a título ilustrativo, e justifica realizar grande parte dos experimentos na ausência de um tampão adicional, já que o LHA pode tamponar efetivamente a região de pH de interesse. Este tipo de efeito de tampão é conhecido e tem sido tratado teoricamente utilizando a teoria de troca iônica, conforme descrito na literatura²⁴. Provavelmente, o primeiro patamar corresponde ao pKa do LHA, com um efeito de inibição provocado pelo tampão. A observação de um segundo patamar para valores elevados de pH, pode ser indicativo de hidrólise do LHA, formando hidroxilamina. Assim devido a

complexidade do sistema parece necessário obter o perfil de pH na ausência de tampão.

Na Tabela 5 e Figura 18 temos o perfil de pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de 0,01 M DTABr e $1,0 \times 10^{-3}$ M de LHA. No experimento, as concentrações dos surfactantes são mantidas constantes e é variado o pH, na ausência de tampão.

Conforme pode ser visualizado, a medida que é aumentado o pH do meio reacional a constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP aumenta significativamente até atingir um patamar, um comportamento que indica que a desprotonação do LHA é fundamental para uma maior reatividade do LHA, confirmando o fato de que a forma aniônica dos ácidos hidroxâmicos é consideravelmente mais reativa que a forma neutra.

Tabela 5. Efeito do pH na hidrólise do BDNPP, na presença de uma mistura de LHA e DTABr com fração molar constante de LHA, sem tampão. $[DTABr]=1 \times 10^{-2}$ M, $[LHA]=1 \times 10^{-3}$ M.^a

pH	K_{obs} (s^{-1})	pH	K_{obs} (s^{-1})	pH	K_{obs} (s^{-1})
6,39	0,000048	8,75	0,0061	10,12	0,0239
7,14	0,00023	8,85	0,005	10,65	0,025
8,17	0,0019	9,12	0,0106	10,65	0,025
8,25	0,0029	9,34	0,0122	11,6	0,031
8,46	0,0026	9,8	0,0156		

^a Temperatura de 25°C, $[BDNPP]=1,33 \times 10^{-5}$ M.

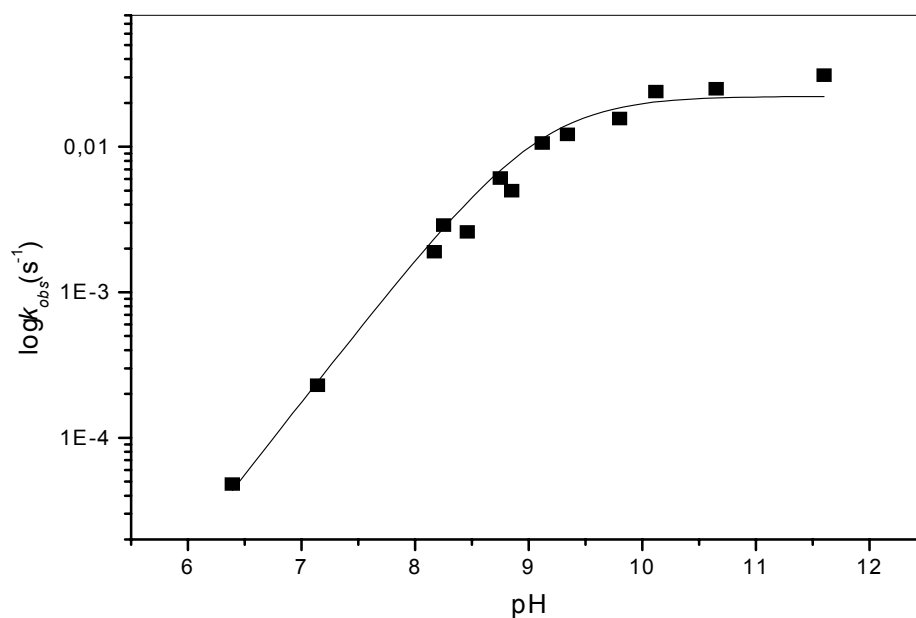


Figura 18. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada em função do pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de $[DTABr] = 1,0 \times 10^{-2}$ M, $[LHA]=1,0 \times 10^{-3}$ M, e $[BDNPP]=1,33 \times 10^{-5}$ M, sem tampão.

O aumento de reatividade do LHA para maiores valores de pH é consistente com a equação 3, que descreve a mudança de constante de velocidade observada em função da formação do monoânion a qual é determinada pelo pH e pelo valor do pKa do LHA.

$$k_{obs} = k_m Ka / (Ka + [H^+]) \quad (\text{equação 3})$$

A linha sólida na Figura 18 corresponde ao ajuste teórico dos dados utilizando a equação 3 e valores de k_m $2,2 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ e de $pKa = 8,7$. A boa correlação entre os dados experimentais e a equação 3, sugere que na presença de DTABr a reatividade da forma monoaniônica é muito maior que aquela da forma neutra.

4.2 Efeito de sulfobetáínas na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA.

Na **Tabela 6** e **Figura 19** temos o perfil de pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de 0,05 M SB3-10 e $5,0 \times 10^{-3}$ M de LHA, em função do pH. As reações foram estudadas na presença de uma concentração 0,01 M de tampão Tris de pH=6 até 8 e tampão borato de pH=8 até 11.

Tabela 6. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e SB3-10 com fração molar constante de LHA, na presença de tampão^a

pH	k_{obs} (s ⁻¹)	pH	k_{obs} (s ⁻¹)
6,4	0,000065	9,35	0,00635
7,1	0,00038	9,84	0,01014
8,5	0,00413	10,4	0,0108
9,1	0,0047	10,5	0,0119
9,2	0,00603	13,36	0,0057

^a. [SB3-10]= 5×10^{-2} M, [LHA]= 5×10^{-3} M, 25°C, [BDNPP] = $1,33 \times 10^{-5}$ M, tampão borato 0,01 M entre pH 8 e 11 e tampão Tris entre pHs 6 e 8.

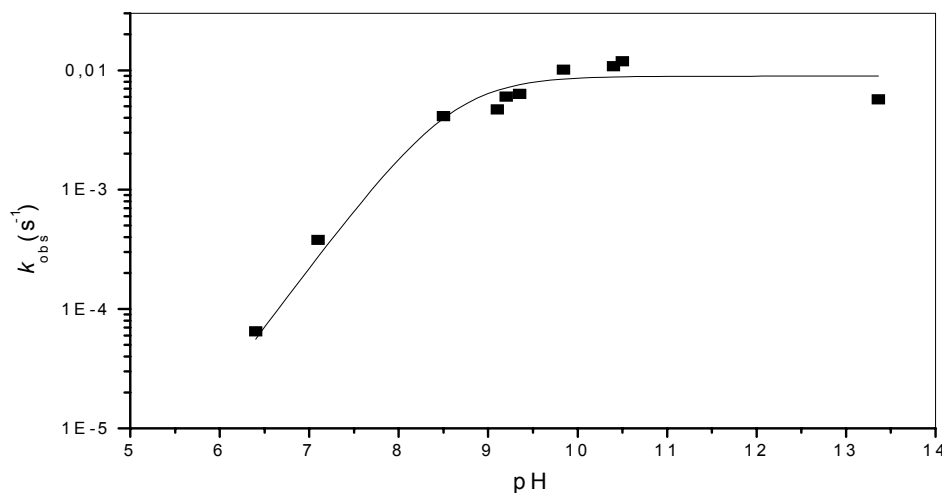


Figura 19. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de [SB3-10] = $5,0 \times 10^{-2}$ M, [LHA]= $5,0 \times 10^{-3}$ M, [BDNPP]= $1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M dos tampões borato (pH 8 a 11) e Tris (pH 6 a 8).

Na presença de surfactantes dipolares iônicos e não iônicos o efeito da concentração de tampão não é significativo, já que a superfície do surfactante não possui uma carga significativa, principalmente quando na presença de um co-íon de carga negativa, como no caso do LHA.

A reatividade do LHA para a reação de hidrólise do BDNPP aumenta a medida que aumenta a concentração do íon hidróxido até atingir um patamar a partir de pH =10 onde o LHA está completamente deprotonado apresentando assim sua maior reatividade e, os resultados são consistentes com a **equação 3**.

A linha sólida na Figura 16 corresponde ao ajuste teórico dos dados utilizando a equação 4 e valores de k_m $9,0 \times 10^{-3} s^{-1}$ e de $pK_a = 9,1$. A boa correlação entre os dados experimentais e a equação 3,

sugere fortemente que na fase micelar a forma monoaniônica é a espécie reativa.

4.3 Efeito do SDS na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA.

Na **Tabela 7** e **Figura 20** temos o perfil de pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de uma mistura de SDS+LHA cujas concentrações são mantidas constantes e variado o pH, na presença de tampão de de tampão borato.

Tabela 7. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e SDS com fração molar constante de LHA, na presença de tampão^a.

pH	k_{obs} (s ⁻¹)	pH	k_{obs} (s ⁻¹)
9,0	0,0000216	11,06	0,000166
9,5	0,00004,66	11,63	0,000433
10,0	0,0000266	12,0	0,000663
10,6	0,0000383	14,0	0,00123

^a[SDS]= 5×10^{-2} M, [LHA]= 5×10^{-3} M, [borato] = 0,01M e [BDNPP] = $1,33 \times 10^{-5}$ M, temperatura de 25°C.

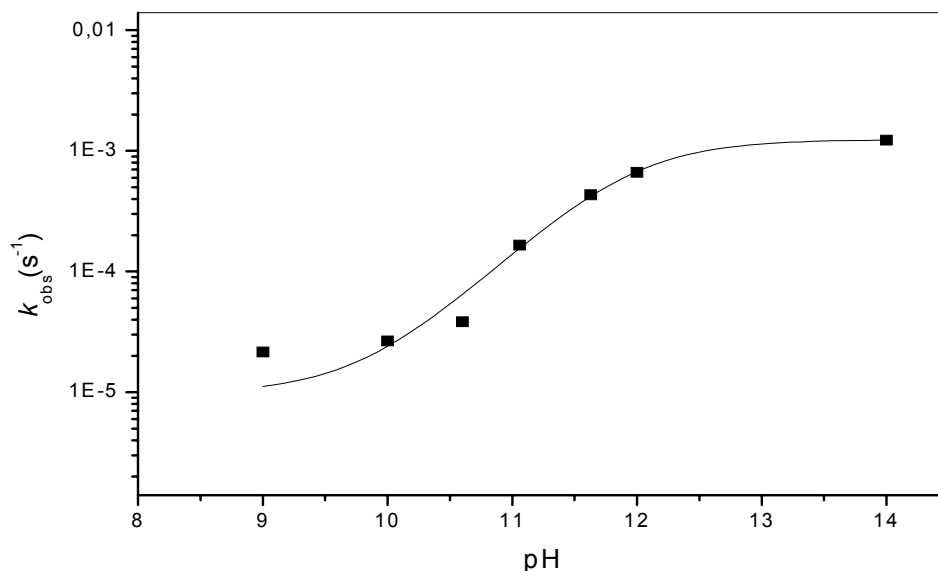


Figura 20. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de [SDS] = $5,0 \times 10^{-2}$ M, [LHA] = $5,0 \times 10^{-3}$ M, [BDNPP] = $1,3 \times 10^{-5}$ M, e 0,01 M borato (pH 8 a 11).

De forma semelhante aos casos do DTABr e da SB3-10, na presença de SDS, a reatividade do LHA frente a reação de hidrólise do BDNPP aumenta a medida que aumenta a concentração do íon hidróxido até atingir um patamar a partir de pH = 12 onde o LHA deve estar desprotonado. A reatividade é muito menor de que nos casos anteriores, entretanto obedece fundamentalmente a mesma **equação 3**.

A linha sólida na Figura 17 corresponde ao ajuste teórico dos dados utilizando a equação 4 e valores de k_m $1,2 \times 10^{-3} s^{-1}$ e de $pK_a = 11,9$. A boa correlação entre os dados experimentais e a equação 3, sugere novamente, que em SDS, na fase micelar, a forma monoaniônica é a espécie reativa.

4.4 Efeito de laurato de sódio na hidrólise do BDNPP, na presença de LHA.

Na **Tabela 8** e **Figura 21** temos os valores de constantes de velocidade em função do pH para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de 0,05 M laurato de sódio LA e $5,0 \times 10^{-3}$ M LHA, na presença de tampão de borato. Devido a insolubilidade do ácido láurico em soluções aquosas para valores de pH < 9, todos os experimentos foram realizados para valores de pH ≥ 9 .

Tabela 8. Efeito do pH na constante de velocidade observada para a reação entre LHA e BDNPP na presença de uma mistura de LHA e LA com fração molar constante de LHA, na presença de tampão^a.

pH	K_{obs} (s ⁻¹)	pH	K_{obs} (s ⁻¹)
9,04	0,00323	9,74	0,00492
9,11	0,00464	9,87	0,00211
9,21	0,00586	10,13	0,00225
9,42	0,00145		

a

[LA]= 5×10^{-2} M, [LHA]= 5×10^{-3} M, [borato]=0,01M, [BDNPP]= $1,33 \times 10^{-5}$ M e 25°C.

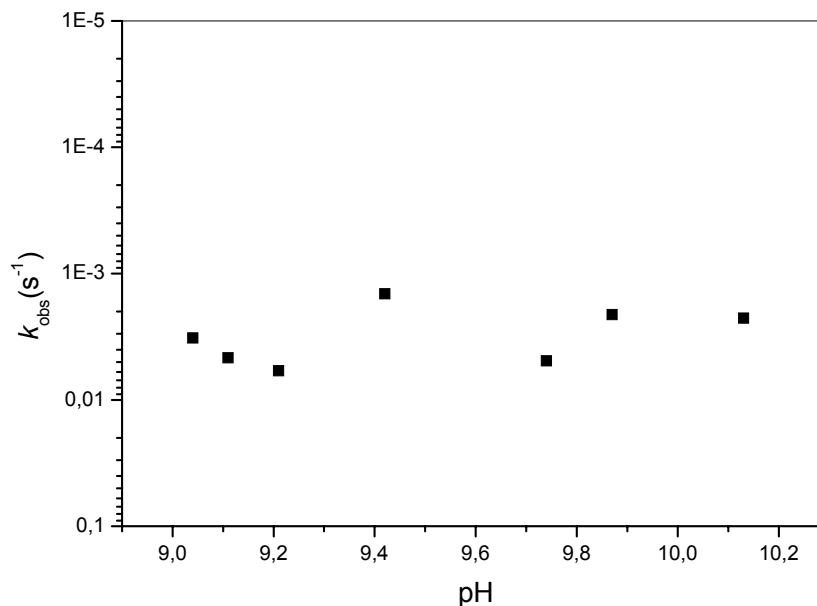


Figura 21. Gráfico semi-logarítmico da constante de velocidade observada versus pH para a hidrólise do BDNPP na presença de $[LA] = 5,0 \times 10^{-2} M$, $[LHA]=5,0 \times 10^{-3} M$, $[BDNPP]=1,3 \times 10^{-5} M$, e $0,01 M$ do tampão borato.

Ácido Láurico apesar de ser um surfactante aniônico apresentou um efeito catalítico significativo na reação de hidrólise do BDNPP, entretanto não foi possível tratar os dados com a equação 3 devido a pequena variação de constante de velocidade observada na faixa de pH em estudo.

A **Tabela 9** mostra os resultados obtidos com os diferentes surfactantes utilizados, após o ajuste dos dados com a equação 3 e permite portanto comparar as razões entre k_{obs} da hidrólise espontânea do BDNPP, e k_{obs} da hidrólise do BDNPP na presença de co-micelas.

Tabela 9. Constantes obtidas para a reação de hidrólise do BDNPP na presença de diferentes surfactantes.

Surfactante	Nucleófilo	k_m	pKa	Efeito catalítico
DTABr	LHA 0,001 M	$2,2 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$	8,7	$2,2 \times 10^5$
DTABr	Hidróxido			30
SB3-10	LHA 0,005 M	$9,0 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	9,1	$9,0 \times 10^4$
SDS	LHA 0,005 M	$1,2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	11,9	$1,2 \times 10^4$
LA	LA 0,05 M e LHA 0,005 M	$3,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$		$3,5 \times 10^4$

Os resultados mostrados na tabela permitem observar a dependência dos efeitos catalíticos dos mesmos. Os efeitos catalíticos são definidos como a razão entre a constante de velocidade observada na presença de catalisador e a constante de velocidade observada em solução aquosa no mesmo valor de pH.

Baseados na Tabela 9 gostaríamos de destacar que para os quatro surfactantes utilizados, DTABr, SB3-10, SDS e LA o LHA encontrou-se agregado no interior da micela, e a forma mais reativa em todos os casos é a forma monoaniônica. A ordem de efetividade dos diversos surfactantes é DTABr > SB3-10 > LA > SDS, sendo que em todos os casos a catálise é muito efetiva. A ordem dos valores de pKa segue aproximadamente aquela que deve ser encontrada em soluções aquosas deste tipo de surfactante, mostrando que os valores de pKa

são menores em DTABr, que deve concentrar ânions na superfície e maiores em SDS que repele hidróxido. O Ácido Láurico mesmo sendo um surfactante aniônico apresentou um efeito catalítico bastante considerável na ordem de 10^4 vezes mais rápido que a hidrólise espontânea do BDNPP, provavelmente devido a catálise nucleofílica pelo ânion carboxilato.

5. CONCLUSÕES

Os resultados da titulação potenciométrica do LHA, na presença de DTABr, mostram que há uma sensível alteração na constante de ionização do LHA quando se varia a força iônica da solução

Conforme esperado, na ausência de KCl a micela concentra localmente na pseudo-fase micelar íons hidróxidos diminuindo assim o valor do pKa do LHA, enquanto que com a adição de KCl além de íons hidróxidos existe também íons cloretos concentrados na pseudo-fase micelar diminuindo a eficácia de abstrair o próton do LHA conseqüentemente aumentando o pKa se comparado com a ausência de KCl.

A hidrólise espontânea do BDNPP ocorre com uma constante de velocidade na ordem de 10^{-7} s^{-1} a pH=8 e, a mesma reação, é catalisada em torno de 30 vezes na presença de micelas catiônicas do DTABr em elevados valores de pH.

Conforme normalmente observado em reações bimoleculares, após o máximo de velocidade, observa-se uma diminuição normalmente atribuída a diluição dos reagentes devido ao aumento de volume da fase micelar

Na presença de DTABr+LHA ($X_{\text{LHA}}=0,1$) o efeito catalítico na reação de hidrólise do BDNPP é de aproximadamente 10^5 vezes.

Os surfactantes SB3-10, SDS e LA também foram utilizados na presença de LHA e o efeito catalítico foi na ordem de 10^4 vezes.

O efeito catalítico observado na presença de LHA deve-se em grande parte a forma ionizada do LHA.

Para os quatro surfactantes utilizados, DTABr, SB3-10, SDS e LA o LHA encontrou-se agregado no interior da micela, e a forma mais reativa em todos os casos é a forma monoaniônica. A ordem de efetividade dos diversos surfactantes é DTABr > SB3-10 > LA > SDS, sendo que em todos os casos a catálise é muito efetiva.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

(1) NELSON, L. D; COX, M. M; **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3rd Edition Worth Publishers New York, p.68, 2000.

(2) KALLOL, K. G; SINHÁ ,D; SATNAMI ,M. L; DUBEY,D.K; RODRIGUEZ-DAFONTE, P; and MUNDHARA, G. L; Nucleophilic Dephosphorylation of *p*-Nitrophenyl Diphenyl Phosphate in Cationic Micellar Media. **Langmuir** v. 21, p. 8664-8669, 2005.

(3) BUNTON, C. A; and FARBER ,S. J; The Hydrolysis of Bis(2,4-dinitrophenyl)Phosphate , **The Journal of Organic Chemistry**, v.34, p.767 ,1968.

(4) EDWARDS, J. O; and PEARSON, R. G; The Factors Determining Nucleophilic Reactivities, **Journal of the American Chemistry Society** v.84, n.1, p.16-24,1962.

(5) GERSTEIN, J; and JENCKS, W. P; Equilibria and Rates for Acetyl Transfer Among Substituted Phenyl Acetates, Acetylimidazole, O-acylHydroxamic acid, and Thiol Esters. **Journal of the American Chemistry Society**. v. 86, p. 4655-4663, 1964.

(6) Lei, H; and Somasundaran, P; Theoretical Model and Phase Behavior for Binary Surfactant Mixtures. **Langmuir** v.13 p.6683-6688, 1997.

(7) DOMINGOS, J. B; LONGHINOTTI, E; BUNTON, C, A; and NOME, F; Reaction of Bis-2,4-dinitrophenyl Phosphate with Hydroxylamine, **Journal Organic Chemistry** v.68, p.7051, 2003.

(8) DUBEY, D. K; GUPTA, A. K; SHARMA, M; PRABHA, S; and VAIDYANATHASWAMY, R; Micellar Effects on Toxic Phosphorus Ésters, **Langmuir**, v.18, p.10489, 2000.

(9) POOL, R; and BOLHUIS, P. G; Accurate Free Energies of Micelle Formation. **The Journal of Physical Chemistry B**. v.109, p. 6650-6657, 2005.

(10) NAGARAJAN, R.;, Molecular Theory for Mixed Micelles. **Langmuir**. v. 1, p.331, 1985.

(11) TANFORD, C ;Theory of Micelle Formation in Aqueous Solutions, **The Journal of Physical Chemistry**, v.78, p. 2469.1974.

(12) MAIBAUM, L; DINNER, A. R; and CHANDLER, D; Micelle Formation and the Hydrophobic Effect . **Journal of Physical Chemistry B** v.108, p. 6778-6781, 2004.

(13) MESA, L.C; Dependence of Critical Micelle Concentration on Intensive Variables: A Reduced Variables Analysis. **Journal Physical Chemistry** v.94, p.323-326 ,1990.

(14) MORAES, S. de L; RESENDE, M. O. O; Determinação da Concentração Micelar Crítica de Ácidos Húmicos por Medidas de Condutividade e Espectroscopia. **Química Nova** v.27 n. 5, 2004.

(15) AL-LOREDANI, H; BUNTON, C. A; and MHALA, M. M; Micellar Effect upon Spontaneous Hydrolysis and Their Relation to Mechanism. **Journal of the American Chemical Society** v. 104, p. 6654-6660,1982.

(16) SCAMEHON, J. F; An Overview of Phenomena Involving Surfactant Mixtures in **Phenomena in Mixed surfactant Systems**. American Chemical Society, Washington, D. C. 1986.

(17) BUNTON, C. A; ROBINSON, L; SCHAAK, J; and STAM, M. F; Catalysis of Nucleophilic Substitutions by Micelles of Dicationic Detergents. **Journal Organic Chemistry** v. 36, p. 2346, 1971.

(18) BUNTON, C. A; FENDLER, E. J; SEPULVEDA, L; and YANG, K; Micellar-Catalyzed Hydrolysis of Nitrophenyl Phosphates, **Journal of the American Chemical Society** v. 90, p. 5512 .1968.

(19) BUIST, G. J; BUNTON, C. A; ROBINSON, L; SEPULVEDA, L; and STAM, M; Micellar Effects upon the Hydrolysis of Bis-2,4-dinitrophenyl Phosphate.**Journal of the American Chemical Society** v.92, 4072 ,1970.

(20) BUNTON, C. A; KAMEGO, A; and SEPULVEDA, L; Inhibition of the Hydrolysis of Bis-2,4dinitrophenyl Phosphate by a Nonionic Detergent, **Journal Organic Chemistry** v.36, p.2571, 1971.

(21) DANAW, M; PIKE, M; R; TRUMPER, R; PETER, K; **Microscale Organic Laboratory Experimentes**, New York: 3rd ed., p. 202, 1994.

(22) BLATT, A. H; **Organic Syntheses** Collective volume I, New York London Sydney, p.66.

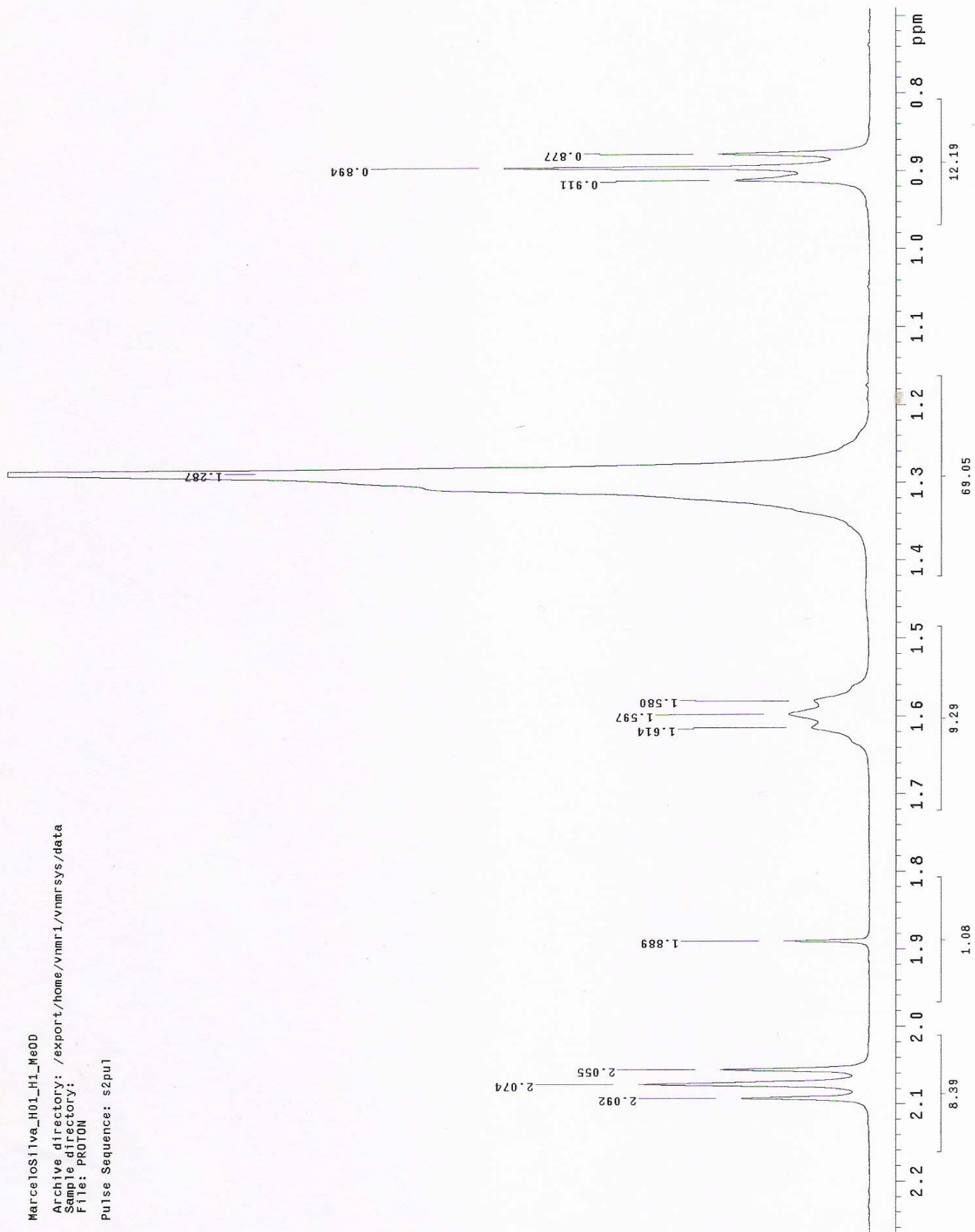
(23) YOSIYUKI, I; HANSABURO, Y;. Separation and Identification of Aliphatic Acids. I. Hydroxamic Acids Derivad from Satured Aliphatic Acids. **Nippon Nogei Kagaku Kaishi**, v.16,p. 504 ,1940.

(24) BUNTON, C. A; NOME, F; QUINA, F. H; ROMSTED, L. S; Ion Binding and Reactivity at Charged Aqueous Interfaces. **Accounts of Chemical Research**.v.24, n 12, 1991.

(25) Lei, H; and Somasundaran, P; Theorical Model and Phase Behavior for Binary Surfactant Mixtures. **Langmuir** v.13 p.6683-6688, 1997.

(26) SCAMEHON, J. F; An Overview of Phenomena Involving Surfactant Mixtures in **Phenomena in Mixed surfactant Systems**. American Chemical Society, Washington, D. C. 1986.

Anexo 1 Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD , referência interna TMS)



MarceloS11va_H01_H1_Me0D

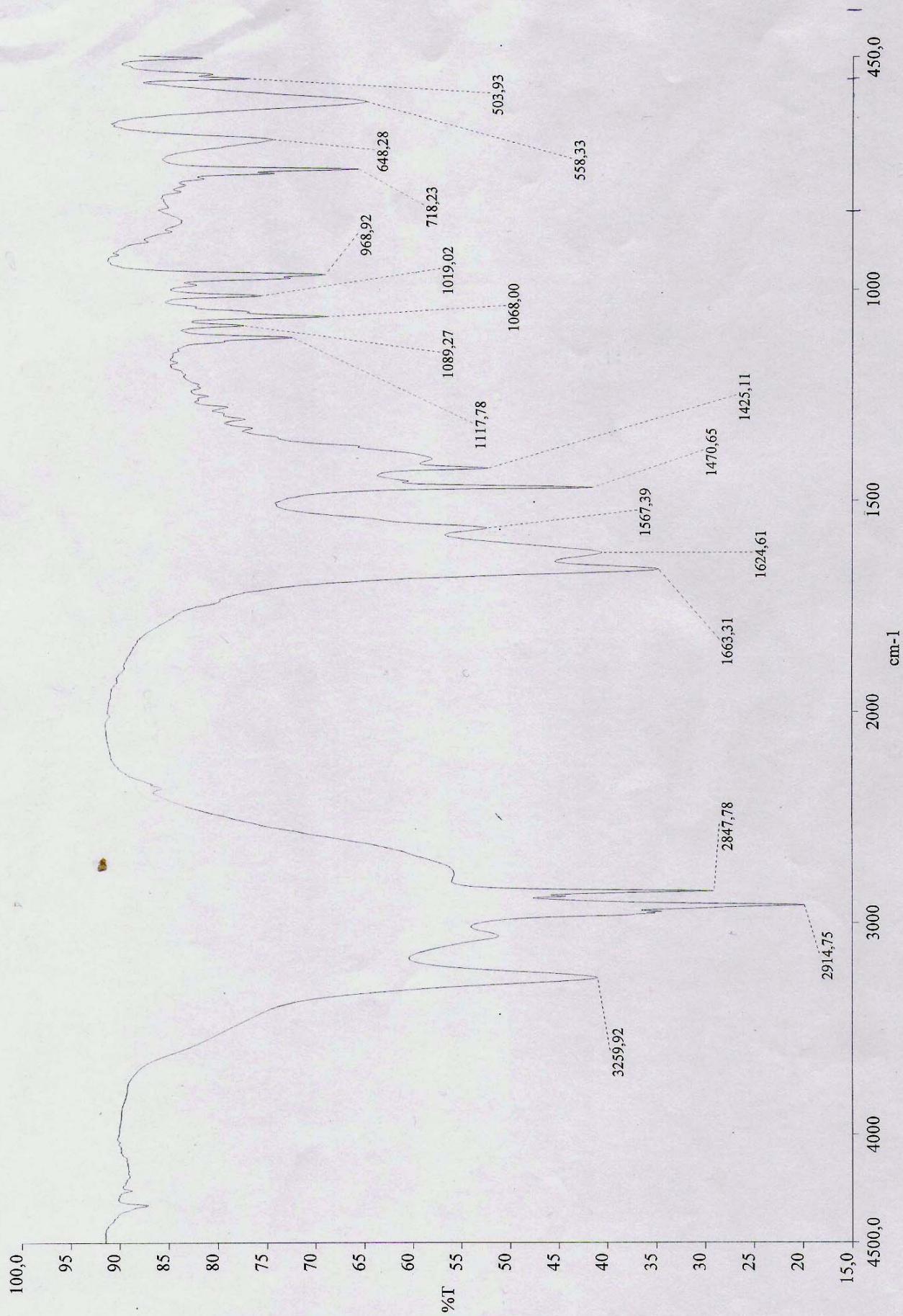
Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrSYS/data

Sample directory:

File: PROTON

Pulse Sequence: s2pu1

Anexo 2 Espectro de infravermelho, em pastilha de KBr.



d:\xavier\cacalhada\acidomar - ajustado.sp - note

