

Este exemplar corresponde à versão corrigida da dissertação de mestrado defendida por Rodolpho B. Serratini em 20/12/96 e aprovada pela comissão julgadora.



Prof. Dr. Pedro L. O. Volpe

**“Efeito do solvente e contração na taxa de transporte de
cátions potássio através de membranas líquidas
hidrofóbicas”**

UNICAMP
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA



S009E

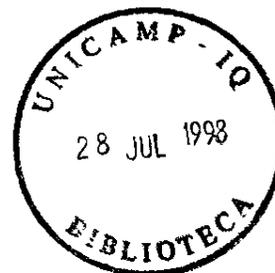
240E

Dissertação de Mestrado

Autor: Rodolpho B. Serratini

Orientador: Prof. Dr. Pedro L. O. Volpe

Dezembro de 1996



“Este último capítulo é todo de negativas. Não alcancei a celebridade do emplastro, não fui ministro, não fui califa, não conheci o casamento. Verdade é que, ao lado dessas faltas, coube-me a boa fortuna de não comprar o pão com o suor do meu rosto. Mais; não padeci a morte de Dona Plácida, nem a semidemência do Quincas Borba. Somadas umas coisas e outras, qualquer pessoa imaginará que sai quite com a vida. E imaginarámal; porque ao chegar a este outro lado do mistério; achei-me com um pequeno saldo, que é a derradeira negativa deste capítulo de negativas:- Não tive filhos, não transmiti a nenhuma criatura o legado da nossa miséria.”

Joaquim Maria Machado de Assis em: Memórias Póstumas de Brás Cubas (1839 - 1908)

“... e na sua alma de menino pela primeira vez vislumbrou uma vaga idéia do que é, afinal, a vida, da qual todos somos os soldados e os servidores, ora tristes, ora alegres.”

Parágrafo final de: Os Meninos da Rua Paulo de Ferenc Molnár (escritor Húngaro).

Dedico esta ao químico Angelo G. Sorratini, que sempre soube honrar a sua profissão e sempre esteve do meu lado como pai, amigo e irmão.

Agradecimentos

À CAPES, pelo apoio financeiro;

Ao Prof. Dr. Pedro L. O. Volpe, pela orientação e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Biotermodinâmica (Andre, Andrea, Henrique, José Mauro, Sílvia) e em especial para Alexandre que contribuiu de inúmeras formas para a realização deste projeto;

Aos amigos de todas as horas: Simone e Marcão, Carol, Daniel, Macgiver, Bandejão, Serra, Mau, Zuin, Roberta Ziolli, Denio, Fernando, Cesinha, Doniseti, Batata, Fabi, Perfil, Pinguin;

Aos amigos do futebol: Zetti, Mongo, Jacó, Dallan, Cavi, Ricardo, Jeferson, Coca, Betão, Emerson, Bitão, Pedrão, Gaucho, Palhaço, Volpa, Zé Renato, Carlão, Sergião, Bi, Cré, Flávio, Marquinho, Cesão, Flecha, Sal, Pintas, e Luisão;

Aos meus pais: Rodolpho Serratini e Zelinda G. Serratini e aos meus irmãos: Angelo, José e Sidney pela força e apoio em todas as horas; e amigas: Val e Naime por fazerem parte desta família;

Ao Prof. Dr. Edvaldo Sabadini pelo interesse demonstrado não só no meu trabalho, como também na correção desta dissertação.

Índice

Resumo	1
Abstract	2
1. Introdução	3
1.1 Transporte em membranas biológicas	3
1.2 Transporte em membranas líquidas	5
1.3 Membrana biológica	6
1.4 Membranas sintéticas	7
1.5 Tipos de transporte	11
1.6 Mecanismos de transporte	13
1.7 Carregadores naturais	16
1.8 Estruturas de ionóforos	17
1.9 Carregadores sintéticos	19
1.10 Termodinâmica de transporte de íons através de membrana líquida hidrofóbica	21
1.11 Princípios básicos de processos de transporte	25
2. Objetivos	28
3. Parte Experimental	29
3.1 Reagentes utilizados	29
3.2 Soluções utilizadas	30
3.3 Curvas de calibração	33
3.4 Determinação do K^+	36
4. Resultados e Discussão	38
4.1 Resultados Obtidos	38
4.2 Discussão dos Resultados	44
4.3 Transporte com um carregador neutro	48
4.4 Formação de complexos	49
4.5 Outros efeitos importantes na estabilidade de complexos	53
5. Conclusões	55
6. Bibliografia	56

Resumo

Estudou-se o transporte de K^+ através de membrana líquida hidrofóbica utilizando o método BLM ("Bulk liquid membrane") e como carregador neutro o éter coroa 18C6. Estudou-se também o efeito da troca do solvente da membrana hidrofóbica e do tamanho de ânions isômeros orgânicos (2-nitrofenolato, 3-nitrofenolato e 4-nitrofenolato) utilizados como contraíons, bem como, o efeito da temperatura sobre as taxas de transporte de K^+ .

Os experimentos foram realizados utilizando uma cela compartimentalizada com temperatura controlada (293, 298, 303 e 308K) por um banho termostático. Foram empregadas soluções de K^+ 0,01M ($pH \approx 12$) e de 18C6 0,01M em CH_2Cl_2 e CCl_4 .

A quantificação do K^+ foi feita indiretamente utilizando um espectrofotômetro, nos comprimentos de onda máximos (λ) para cada contraíon. Tal procedimento foi adotado baseando-se no fato de que, durante o transporte, a relação cátion/ânion/éter coroa é 1:1:1, uma vez que é necessário manter a neutralidade elétrica do meio.

O mecanismo de transporte envolvido neste trabalho é o chamado simporte, já que as espécies migram somente numa direção através da membrana.

No caso de membranas com solvente CH_2Cl_2 as taxas de transporte obtidas, para cada temperatura, decrescem na ordem: picrato > 2-nitrofenolato > 4-nitrofenolato > 3-nitrofenolato.

Para o solvente CCl_4 foi observado transferência apenas para o ânion picrato, sendo que as taxas de transporte decrescem na ordem: $CH_2Cl_2 > CCl_4$.

Abstract

A liquid membrane is a liquid phase that separate two other layers in which it is immiscible. Chemical species may permeate this liquid membrane if they are soluble in it. Permeation can occur by simple diffusion or facilitated by a carrier.

The interior of a hydrophobic liquid membrane is a medium of low dielectric constant (ϵ), being a high barrier of energy to the transport of small solvated ions, e.g., K^+ .

By using the neutral macrocyclic carrier 18-crown-6 (18C6) and the Bulk Liquid Membrane method (BLM), the transport rate of K^+ though liquid membrane was studied. The following parameters were varied for this study: the temperature, the hydrophobic liquid membrane solvent and the size of the organic isomers anions used as counterions (2-nitrophenolate, 3-nitrophenolate and 4-nitrophenolate and 2,4,6-trinitrophenolate).

The experiments were carried out using a compartmentalized and thermostated cell at the temperatures of 293, 298, 303 and 308K. Solutions of K^+ 0,01M ($pH \cong 12$) and of 18C6 0,01M in CH_2Cl_2 and CCl_4 were employed.

Quantification of K^+ was made indirectly by using a spectrophotometer, at the maximum wavelength (λ) for each organic counterion. This proceeding was adopted based on the fact that, during the transport, the ratio cation/anion/crown ether is 1:1:1, due the necessity to maintain the electrical neutrality of the medium.

The mechanism involved in this transport process is called symport, since species are found to migrate in only one direction through the membrane.

1. Introdução

1.1 Transporte em membranas biológicas

O movimento de espécies químicas através de membranas é conhecido como **transporte**, e envolve dois aspectos principais: a permeabilidade da membrana e o mecanismo de transporte.

Atualmente as bases moleculares do transporte de espécies neutras e carregadas por membranas constituem uma grande área de pesquisa na bioquímica.

A literatura sobre modelos de transporte tem enfatizado as vantagens do transporte trifásico sobre o clássico transporte bifásico⁽¹⁾.

Em geral as membranas atuam como barreira seletiva para controlar a passagem de substâncias de uma região para outra. Moléculas pequenas atravessam membranas mais rapidamente que as grandes como as proteínas⁽²⁾.

O transporte de solutos é importante para produzir nutrientes, regular níveis de metabólitos, além de uma infinidade de outros processos.

Estudos genéticos forneceram informações importantes quanto à função e biologia dos sistemas de transporte. Algumas bactérias quando crescem tendo glicose como única fonte de carbono, são incapazes de utilizar citrato externo adicionado ao meio. Entretanto, se tais células, forem removidas do meio com glicose e colocadas em um meio onde o citrato é a única fonte de carbono, elas se adaptam rapidamente e adquirem a capacidade de utilizar o citrato exógeno como fonte de carbono. Esse efeito não é devido a um aumento generalizado na permeabilidade da membrana celular, mas sim pelo fato de que essas bactérias possuem um sistema induzível para o transporte do citrato⁽³⁾.

Conclui-se a partir desses experimentos que os componentes moleculares dos sistemas de transporte de membrana são determinados geneticamente, da mesma maneira que os componentes proteicos de uma seqüência multienzimática que cataliza um percurso metabólico.

Os sistemas de transporte através de membranas dos tecidos animais são classificados em três tipos morfológicos diferentes, denominados **homocelular**, **transcelular** e **intracelular**.

O transporte homocelular, é aquele que ocorre através da membrana celular, de modo que um determinado substrato orgânico neutro ou um iônico é transportado para dentro ou para fora da célula.

Muitos tipos de células animais contem sistemas de transporte homocelular para bombear íons sódio ao meio externo e manter uma concentração intracelular elevada de íons potássio.

O transporte transcelular é um caso especial do transporte homocelular no qual o sistema de transporte está localizado em uma porção específica da superfície celular.

Esse arranjo ocorre nas camadas de células epiteliais, tais como a mucosa gástrica e intestinal, e as células epiteliais que revestem os túbulos renais.

Os sistemas de transporte nas camadas de células epiteliais são organizados de tal maneira na membrana celular que um transporte direcional através da célula ocorre, provavelmente, porque os sistemas de transporte ativo estão localizados somente em um dos lados da barreira celular⁽³⁾.

O terceiro tipo de transporte que ocorre na membrana das células eucarióticas é o transporte intracelular, no qual o processo de transporte ocorre através da membrana de uma organela intracelular, por exemplo a mitocôndria, o cloroplasto, ou o retículo endoplasmático.

Tais sistemas servem para o transporte de íons minerais ou de metabólitos entre o citossol e o interior da organela.

Esse tipo de transporte está envolvido na compartimentação do ATP e de muitos outros metabólitos na mitocôndria, na regulação do ciclo de contração e de relaxamento do músculo pelo transporte de Ca^{2+} entre o citossol e o retículo sarcoplasmático, e no transporte de Ca^{+} do citossol para a mitocôndria⁽³⁾.

1.2 Transporte em membranas líquidas

O transporte através de membranas líquidas sintéticas tem sido investigado em processos químicos com o objetivo de conhecer melhor e tentar mimetizar os processos biológicos semelhantes⁽⁴⁾.

Ultimamente a importância das membranas líquidas tem aumentado devido ao desenvolvimento sucessivo de receptores artificiais⁽⁵⁾.

Eletrodos para detecção de moléculas orgânicas, separação de isômeros ópticos, de íons amônio quaternário orgânico e derivados de ácido, são constituídos basicamente de receptores para moléculas orgânicas.

Algumas características dos sistemas de membranas líquidas são a miniaturização, multifuncionalidade, alta sensibilidade e seletividade.

O tamanho reduzido desses sistemas permitem a utilização em diversos campos de pesquisa. Eles são particularmente utilizados para medidas quantitativas da concentração iônica em células biológicas ou no sangue⁽⁵⁾.

1.3 Membrana Biológica

Membranas biológicas são estruturas organizadas compostas de bicamadas de fosfolipídeos ou de uma matriz lipídica contendo proteínas. Os grupos polares constituintes da bicamada de fosfolipídeos se orientam para as extremidades, ficando a cadeia longa de hidrocarbonetos (apolar) no interior⁽²⁾.

Em 1972 S. Jonathan Singer e Garth Nicholson propuseram uma estrutura de membrana conhecida como “*modelo do mosaico líquido*”. Segundo esta teoria as proteínas integrais assemelham-se a “icebergs” flutuantes em um mar de fosfolipídeos bidimensionais e estas proteínas livres se difundem lateralmente em uma matriz lipídica, a não ser que seus movimentos sejam restringidos pelas associações com outros componentes celulares⁽⁶⁾. Um diagrama esquemático de uma membrana plasmática está apresentado na figura 1.

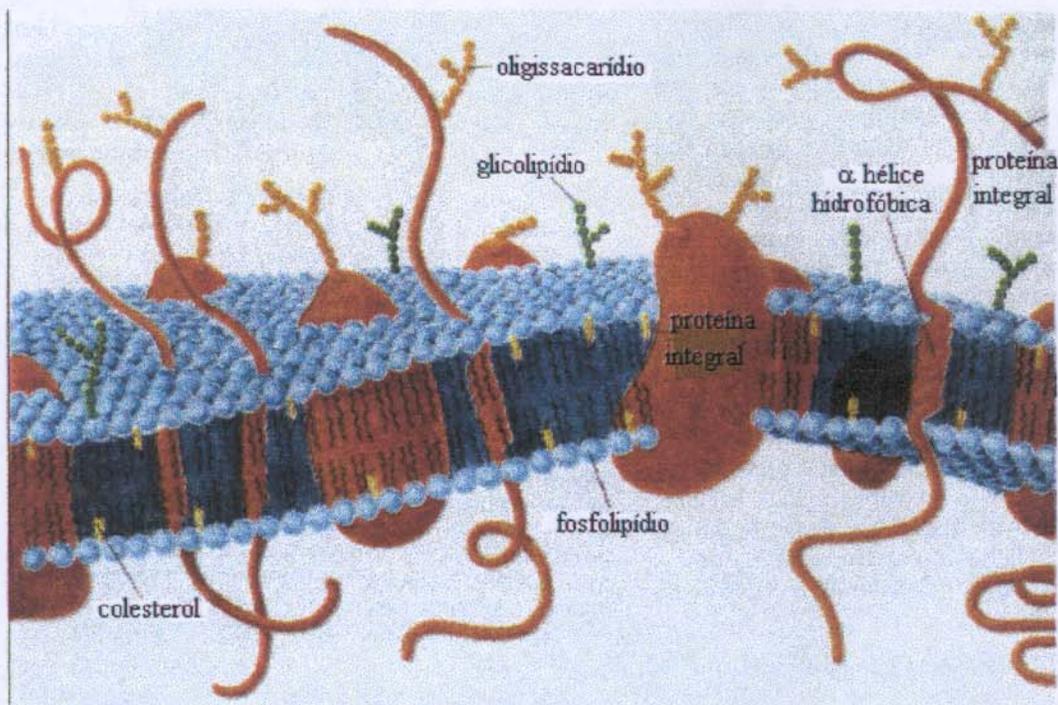


Figura 1: Diagrama esquemático de uma membrana plasmática. As proteínas integrais (cor laranja) são envoltas pela bicamada de fosfolipídeos (cor azul).

As membranas funcionam como organizadoras de processos biológicos, compartimentalizando-os. Elas regulam a composição do meio intracelular pelo controle do fluxo de nutrientes, consumo de produtos, íons, etc, dentro e fora da célula.

Por exemplo, em *E. coli* a lactose é transportada para o interior da célula pela lactose permease. Este processo é dirigido pelo gradiente eletroquímico celular de íons H^+ , que é mantido por uma bomba de próton acoplada ao metabolismo oxidativo.

O transporte de íons Ca^{+2} dirigido por ATP ocorre com a fosforilação e desfosforilação, acompanhadas por alterações conformacionais que garantem a rápida interconversão de todos os intermediários ao longo do caminho de transporte⁽⁶⁾.

1.4 Membranas sintéticas

Há dois tipos básicos de membranas na ciência de separação: “membranas líquidas” e “membranas sólidas”.

As membranas líquidas geralmente são mais seletivas às espécies a serem transportadas, mas as membranas sólidas possuem maior estabilidade física para uso prático⁽⁵⁾.

Para aplicações em larga escala, a maioria das pesquisas tem se concentrado no desenvolvimento de membranas líquidas que são seletivas a espécie transportada e mecanicamente estável.

Uma membrana líquida é uma fase líquida que separa outras duas em que a membrana é imiscível. Espécies químicas podem permear através da membrana

se possuírem alguma solubilidade nela. Isto pode ocorrer por simples difusão ou por transporte mediado⁽⁷⁾.

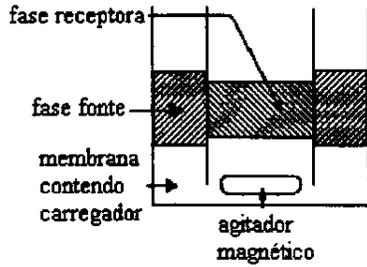
Membranas líquidas podem ser aplicadas para uma variedade de processos, como separação gasosa, remoção de compostos orgânicos, recuperação de íons metálicos, remoção de resíduos tóxicos, reações enzimáticas, recuperação de produtos de fermentação, além de outras⁽⁵⁾.

Cinco tipos de membrana líquida sintética tem sido estudados com maior frequência:

- *“bulk liquid membrane” (BLM)*
- *“thin sheet supported liquid membrane” (TSSLM)*
- *“hollow fiber supported liquid membrane” (HFSLM)*
- *“emulsion liquid membrane”(ELM)*
- *“two-module hollow fiber supported liquid membrane” (TMHFSLM)*

A figura 2 mostra estes sistemas de forma esquematizada.

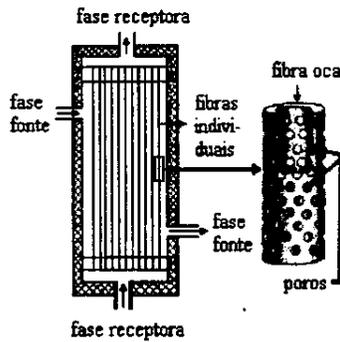
a) Bulk Liquid Membrane (BLM)



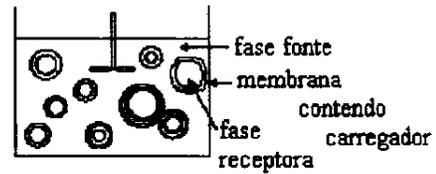
b) Thin Sheet Supported Liquid Membrane (TSSLM)



c) Hollow Fiber Supported Liquid Membrane (HFSLM)



d) Emulsion Liquid Membrane (ELM)



e) Two-Module Hollow Fiber Supported Liquid Membrane (TMHFSLM)

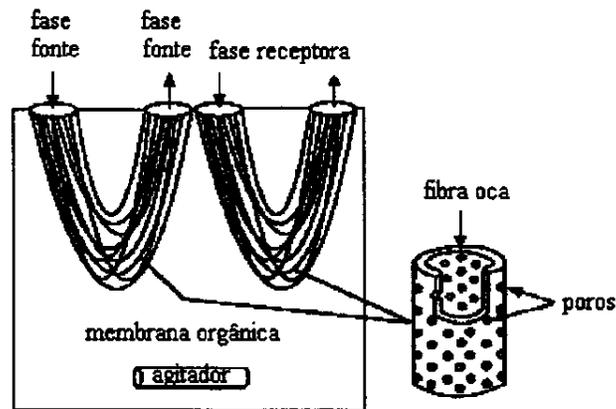


Figura 2: Tipos de membrana líquida sintética.

Sistemas **Bulk** e **TSSLM** são empregados em separações analíticas de pequena escala. A razão entre os volumes das fases aquosa e orgânica geralmente é 2 : 1⁽⁸⁾.

Experimentos com membranas líquidas são realizados tipicamente em um tubo com formato em U. Este sistema é chamado “bulk liquid membrane”. Um solvente orgânico hidrofóbico, por exemplo diclorometano ou clorofórmio, contendo um carregador dissolvido se encontra na parte inferior do tubo em U⁽⁵⁾, conforme apresentado na figura 3.

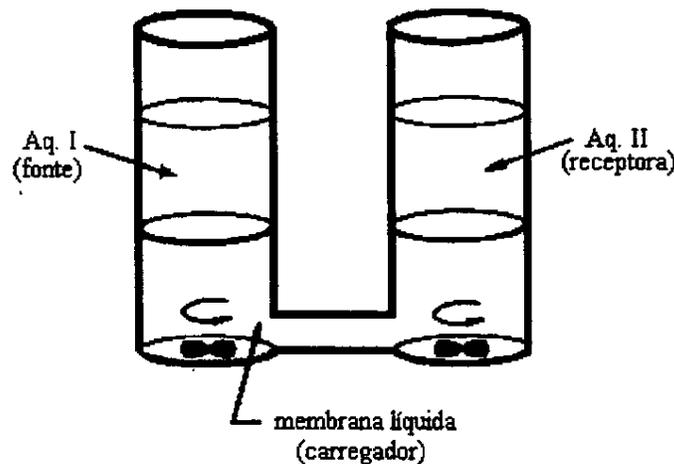


Figura 3: Tubo em U utilizado para transporte em sistemas BLM.

Nos sistemas **TSSLM** as taxas de transporte são muito baixas, sendo assim, o processo é inviável comercialmente. Entretanto eles são muito utilizados para se prever o comportamento de sistemas **HFSLM**⁽⁸⁾.

Uma vantagem, do ponto de vista industrial dos sistemas **HFSLM**, é a facilidade de introdução das fases fonte e de recebimento. Além disso, é observada uma taxa de transferência elevada.

Entre as desvantagens estão a obrigatoriedade do uso de solventes muito hidrofóbicos e a dificuldade de preparação de carregadores hidrofóbicos.

Devido a grande área superficial de troca, os sistemas ELM permitem um transporte rápido. Pesquisas tem provado que eles são extremamente úteis na recuperação de metais e remoção de substâncias orgânicas tóxicas de efluentes industriais⁽⁹⁾. Entretanto, a desvantagem dos sistemas ELM é a estabilização da emulsão.

1.5 Tipos de Transporte

Os solutos apresentam um movimento efetivo ou fluxo através da membrana, seja por processos “*mediados*” seja por processos “*não-mediados*”⁽³⁾.

Esses processos podem ser distinguidos por medidas da velocidade do transporte e de que modo ela é influenciada por determinadas condições.

Transporte não-mediado: ocorre por simples difusão de substâncias entre duas regiões com concentrações diferentes.

Acredita-se que existam pequenos canais ou poros na estrutura da membrana por onde as moléculas passam. Este mecanismo explica não só o fluxo rápido de dióxido de carbono e oxigênio, mas também porque moléculas polares como a água podem permear a membrana com facilidade⁽²⁾.

Transporte mediado: a difusão de substâncias ocorre com o auxílio de moléculas denominadas *carregadoras* e pode ser classificado em duas categorias, dependendo da termodinâmica do sistema⁽⁶⁾:

- 1- **Transporte passivo ou difusão facilitada** em que o fluxo de moléculas específicas ocorre de uma fase de maior para outra de menor concentração a fim de equilibrar seu gradiente de concentração. O processo é espontâneo;
- 2- **Transporte ativo** em que o fluxo de moléculas específicas se dá contra seu gradiente de concentração. O processo só ocorre com uma quantidade de energia adicional obtida por outros processos.

O sistema de transporte de glicose através da membrana do eritrócito é um exemplo bem característico de transporte mediado-passivo. Este sistema exhibe quatro características que diferenciam o transporte mediado do transporte não-mediado: (1) velocidade e especificidade; (2) cinética de saturação; (3) susceptibilidade à inibição competitiva; e (4) susceptibilidade a inativação química⁽⁶⁾.

Para um sistema de transporte de ânions o processo é idêntico, apenas o carregador deve ter carga positiva.

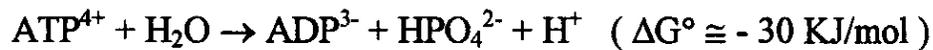
Concentrações diferentes de íons sódio e potássio em fluidos intra e extracelulares podem ser mantidas como resultado de transporte ativo⁽²⁾.

Nesse caso o movimento de íons Na^+ é para dentro da célula e o movimento de íons K^+ em sentido oposto.

Entretanto, íons Na^+ são constantemente *bombeados* para fora da célula, enquanto íons K^+ são bombeados para dentro. O termo “bombeado” é utilizado aqui para descrever o movimento de íons contra o gradiente de concentração.

O estado-estacionário é atingido quando o fluxo de íons de uma espécie num determinado sentido é balanceado por transporte ativo pela difusão dos íons desta mesma espécie em sentido oposto⁽²⁾.

A energia requerida para que este processo não espontâneo ocorra é obtida pela hidrólise de ATP:



Todos os processos de transporte mediado através das membranas biológicas compartilham de três propriedades características: possibilidade de saturação, especificidade do substrato e inibição específica⁽³⁾.

Moléculas neutras são também transportadas de uma fase orgânica para outra através de uma membrana líquida aquosa por carregadores solúveis em água. Este tipo de transporte é pouco convencional⁽⁵⁾.

1.6 Mecanismos de Transporte

A velocidade com que cátions e ânions atravessam uma membrana são menores que 10^{-11} cm/s⁽¹⁰⁾. Isto se deve em grande parte a menor solubilidade dos íons na bicamada lipídica. Proteínas facilitam o transporte de solutos polares por um dos seguintes mecanismos:

- 1- Desestabilização ou uma alteração na bicamada facilitada por uma variedade de solutos, de modo que a barreira de permeabilidade é momentaneamente ou permanentemente quebrada (através de poros ou canais);
- 2- O transporte por carregador envolve uma estequiometria de ligação sem contato direto entre os compartimentos aquosos;
- 3- Canais formados por proteínas fornecem caminhos polares que conectam os compartimentos aquosos.

Uma representação esquemática para o transporte mediado passivo é mostrado na figura a seguir⁽¹¹⁾.

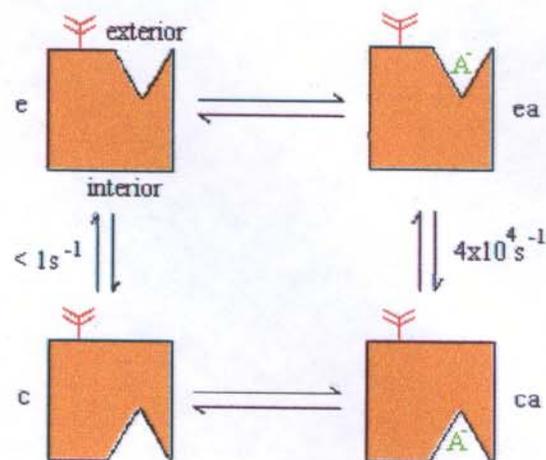


Figura 4: Esquema mostrando o mecanismo para o transporte mediado passivo.

Neste esquema, **e** representa o transportador vazio com o sitio ligante de ânions do lado extracelular; **c** o transportador vazio com o centro de ligação voltado para o citossol; **ea** o transportador contendo um ânion ligado (A^-), com o centro de ligação voltado para o lado extracelular; **ca** o transportador contendo um ânion ligado voltado para o citossol.

Um aspecto crítico desse transporte é que a interconversão $ea \leftrightarrow ca$ acontece muito mais rapidamente que a interconversão $e \leftrightarrow c$.

De acordo com esta reação o carregador ou ionóforo pode ser visto como um agente complexante, portanto o termo complexo deve ser empregado quando este se encontra ligado ao íon.

Nesse mecanismo de transporte, a energia livre para a ligação resulta em grande parte de interações eletrostáticas⁽¹⁰⁾.

Em um processo de transporte mediado ativo as seguintes etapas são identificadas⁽⁵⁾:

- a) reconhecimento do soluto (ligação do soluto ao carregador);
- b) permeação através da membrana;

- c) consumo de energia;
- d) dissociação do complexo soluto-carregador.

O transporte mediado é classificado de acordo com a estequiometria do processo de transporte⁽⁶⁾.

O movimento de uma molécula simples em função do tempo é denominado **Uniport**.

O transporte simultâneo de duas moléculas diferentes no mesmo sentido é denominado **Symport**.

Um transporte simultâneo de duas moléculas diferentes, mas em sentidos opostos é conhecido por **Antiport**.

Esses termos são traduzidos diretamente para: **Uniporte**, **Simporte** e **Antiporte** e são mostrados na figura 5.

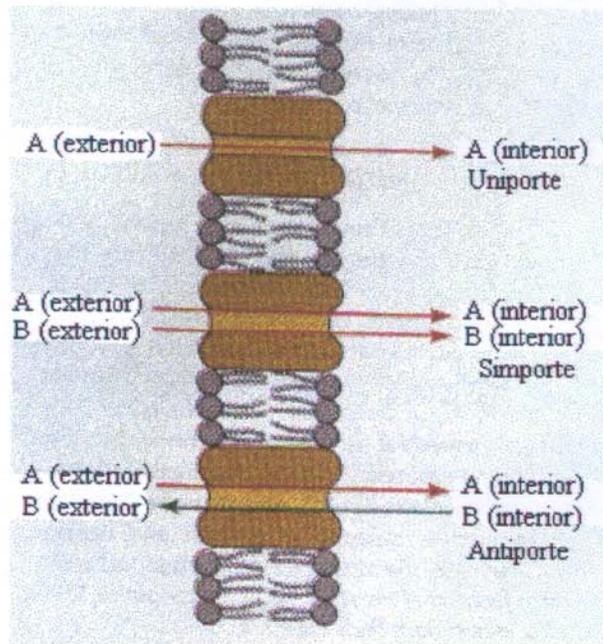


Figura 5: Sistemas de transporte mediado.

1.7 Carregadores naturais

Vários tipos de carregadores de ocorrência natural (ex.: antibióticos), chamados “*ionóforos*”, são conhecidos por transportar especificamente cátions de metais alcalinos e alcalinos terrosos bem como aminas através de biomembranas⁽⁵⁾.

Existem dois tipos diferentes de antibióticos ionóforos: os formadores de canais, como a gramicidina A, e os carregadores, como a valinomicina.

No primeiro caso, íons atravessam a membrana por canais formados pelos antibióticos. No outro grupo, os íons se ligam aos ionóforos que se difundem através da cadeia de hidrocarbonetos da biomembrana. A figura 6 mostra um esquema desses dois processos.

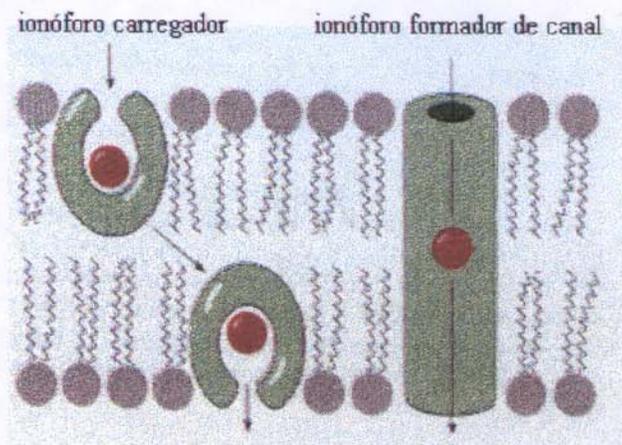


Figura 6: Tipos de ionóforos: a) carregadores. b) formadores de canal.

Carregadores e formadores de canal podem ser distinguidos experimentalmente através de medidas de condutância iônica como uma função da temperatura.

Um ionóforo formador de canal não precisa se difundir através da membrana para mediar o transporte. Entretanto, a cadeia de hidrocarbonetos

Análises de raio-X revelaram que o complexo **monensin- Na^+** possui as mesmas características do complexo **valinomicina- K^+** . O monesin coordena ao Na^+ octaedricamente envolvendo, conforme apresentado na figura 8.

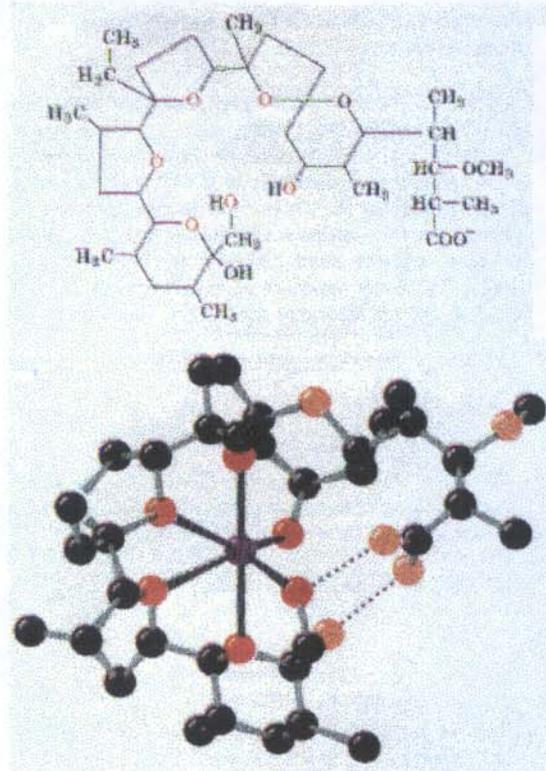


Figura 8: Fórmula estrutural do monensin e sua estrutura molecular formando complexo com Na^+ , proposta a partir da difração de raio-X.

Evidências cristalográficas de raio-X e RMN indicam que a gramicidina A dimeriza e forma um canal por onde espécies iônicas atravessam a biomembrana (figura 9).

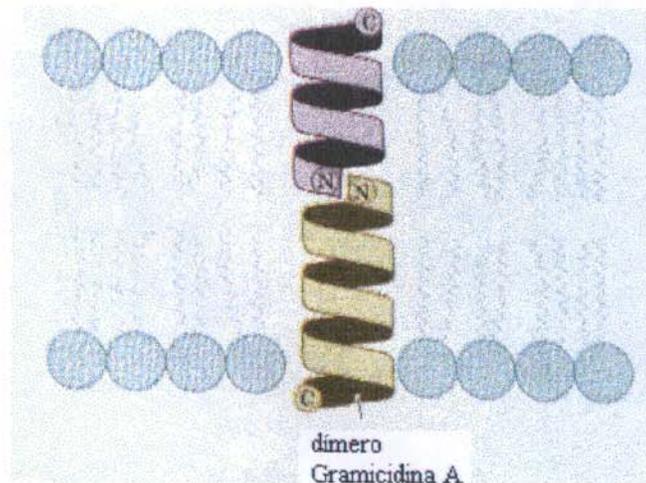


Figura 9: Diagrama mostrando o canal formado por duas moléculas de gramicidina A.

1.9 Carregadores sintéticos

Trabalhos sistemáticos tem sido realizados para investigar o uso de carregadores macrocíclicos tipo *crown-ethers* (éteres-coroa) em sistemas **bulk** para o transporte de cátions mono- e bivalentes⁽⁵⁾.

O carregador macrocíclico dissolvido na membrana líquida hidrofóbica facilita o transporte do cátion da fase aquosa fonte para a fase aquosa receptora⁽¹²⁾.

Para esses cátions, a seletividade é controlada pelo conceito do tamanho da cavidade do éter-coroa e tamanho do raio iônico^(13,14).

Na figura 12, observamos que os éteres-coroa de 18 e 21 membros transportam melhor K^+ e Rb^+ respectivamente, enquanto o de 15 membros favorece o transporte de Na^+ .

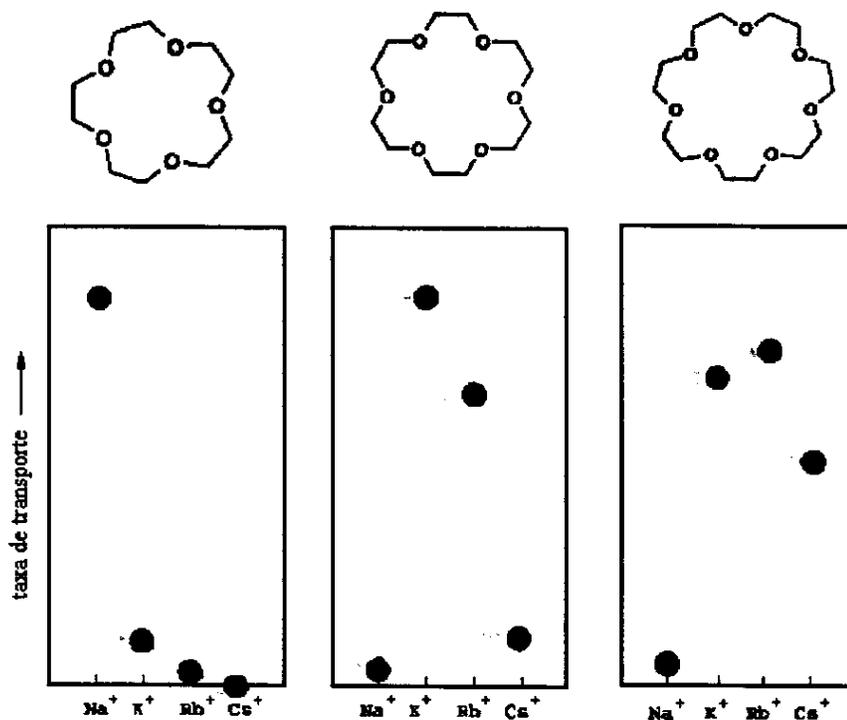


Figura 10: Transporte de cátions com carregadores tipo éter-coroa⁽⁵⁾.

Sobre a estrutura molecular de carregadores sintéticos para solutos catiônicos, geralmente deve-se considerar:

- A- o tamanho e formato da cavidade do carregador para a acomodação do soluto;
- B- a natureza do sítio de ligação do soluto;
- C- a topologia de coordenação tridimensional;
- D- solubilidade e estabilidade do carregador e do complexo;
- E- flexibilidade molecular e dinâmica de ligação.

Dependendo da topologia, os carregadores do tipo éteres-coroa são classificados em três categorias básicas:

- “podandos” acíclicos (tipo A);

- “éteres-coroa” monocíclicos (tipo B);
- “criptandos” bicíclicos (tipo C);

Outros novos tipos de carregadores macrocíclicos tem sido desenvolvidos a partir destas três classes, com excelentes resultados. A figura 13 mostra algumas representações desses tipos de carregadores macrocíclicos⁽⁵⁾.

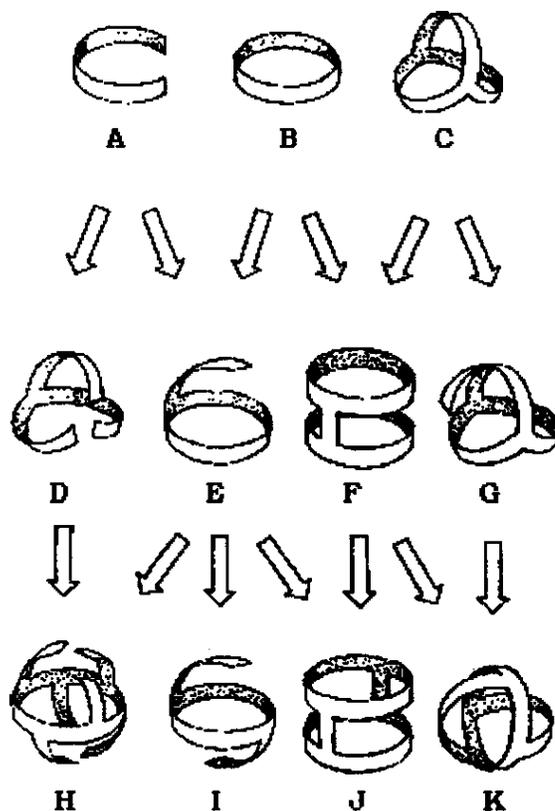


Figura 11: Classificação dos carregadores macrocíclicos.

1.10 Termodinâmica de transporte de íons através de membrana líquida hidrofóbica

A difusão de um soluto numa fase líquida pode ser estudada pela equação de Stokes-Einstein, equação 1 :

$$D = \frac{kT}{6\pi r\eta} \quad (1)$$

onde: D é o coeficiente de difusão

T é a temperatura em Kelvin

k é a constante de Boltzmann

r é o raio da espécie que se difunde

η é a viscosidade do solvente

Entretanto, uma interpretação simples da energia envolvida no transporte de íons através de soluções foi sugerida pelo físico Marx Born (1882-1970).

No modelo de Born, a energia w requerida para transferir uma espécie iônica de raio r e valência z a partir de uma fase aquosa semi-infinita (constante dielétrica ϵ), para dentro de uma membrana líquida hidrofóbica infinitamente espessa (constante dielétrica ϵ_m) será⁽¹⁵⁾:

$$w = \frac{z^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0 kTr} \left(\frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon} \right) \quad (2)$$

onde : T é a temperatura em grau Kelvin; $z = \pm 1$; e_0 é a carga elementar; $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ CV}^{-1}\text{m}^{-1}$ é a permissividade do vácuo e w é expresso em unidades de kT (k é a constante de Boltzmann's e T a temperatura absoluta). Por exemplo, para um íon como o potássio não hidratado ($r \cong 0,13 \text{ nm}$) e considerando um solvente de constante dielétrica $\epsilon_m = 2,1$, a energia w assume um valor extremamente alto de $w \cong 100$ ($\epsilon \cong 79$) para $T = 298\text{K}$.

Na vizinhança da interface dos dois meios dielétricos, o íon experimenta uma força (chamada força imagem) que tende a atraí-lo para o meio com maior constante dielétrica (a água). Isso pode ser visto na figura 12. Quando d for igual a 0 e 50Å, ou seja nas interfaces, w será mínimo. A energia potencial $w(x)$ do íon na membrana, de espessura (x), tem portanto a forma de uma barreira com um pico achatado no centro⁽¹⁶⁾. A figura 12 mostra alguns exemplos de $w(x)$ em função de ϵ de membranas.

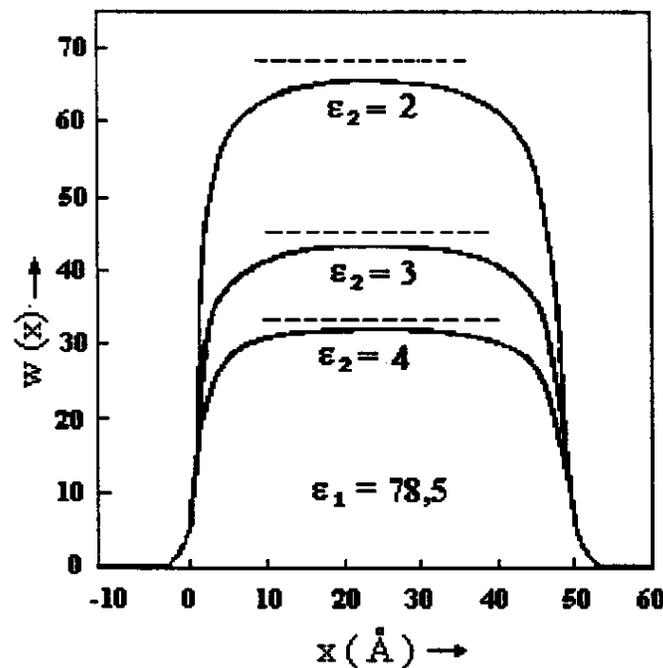


Figura 12: Energia potencial $w(x)$ de um íon de carga unitária e raio $r = 2$ Å em uma membrana de espessura $d = 50$ Å e constante dielétrica ϵ_m .

Podemos também distinguir entre transporte passivo e ativo através da variação de energia livre envolvida em um sistema de transporte⁽¹¹⁾.

Considere uma molécula de soluto não carregada. A variação de energia livre no transporte dessa espécie da fase 1, onde possui uma concentração c_1 , para a fase 2, onde está presente na concentração c_2 é:

$$\Delta G = RT \ln \frac{c_2}{c_1} \quad (3)$$

Para uma espécie carregada, o potencial elétrico através da membrana deve ser considerado. A soma dos termos elétrico e químico é chamada de potencial eletroquímico. A variação de energia livre é obtida por:

$$\Delta G = RT \ln \frac{c_2}{c_1} + ZF \Delta V \quad (4)$$

onde Z é a carga elétrica da espécie transportada, ΔV é o potencial em volts através da membrana, e F a constante de Faraday (23,062 kcal V⁻¹ mol⁻¹).

O processo de transporte é ativo quando ΔG for positivo, e passivo quando ΔG for negativo. Transporte ativo requer uma quantidade adicional de energia livre para ocorrer. Por exemplo, considere o transporte de uma molécula não carregada a partir de uma fase de concentração $c_1 = 10^{-3}$ mM para outra fase de concentração $c_2 = 10^{-1}$ mM.

$$\begin{aligned} \Delta G &= RT \ln \frac{10^{-1}}{10^{-3}} \\ &= 1,99 \cdot 298 \cdot 4,6 \\ &= +2,7 \text{ kcal/mol} \end{aligned}$$

A 25°C (298K), ΔG é +2,7 kcal/mol, indicando que este transporte é ativo e conseqüentemente requer uma quantidade extra de energia livre. Esta pode ser obtida, por exemplo, pela hidrólise de ATP, que fornece -7,3 kcal/mol em condições padrões.

1.11 Princípios básicos de processos de transporte

Alguns termos e princípios gerais aplicáveis ao fenômeno de transporte em membranas, podem ser definidos⁽¹⁷⁾:

- **Difusão:** em células vivas é um processo que se dá rapidamente ($\sim 10^{-3}$ s). Em membranas líquidas, devido a energia cinética, moléculas de solvente e do soluto estão em constante movimento. Em escala macroscópica, e não havendo convecção nem agitação, a difusão ocorre lentamente.
- **Permeabilidade:** é um processo que ocorre nas proximidades das interfaces existentes entre as soluções e a membrana celular. Neste processo a velocidade de difusão é consideravelmente baixa. Através da magnitude da permeabilidade em membranas podemos explicar a velocidade de difusão.
- **Fluxo (J):** é a difusão de partículas através de uma membrana, em unidades de quantidade/(área•tempo) ($\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$).
- **Fluxo residual (ΔJ):** é o movimento residual numa dada direção (fluxo unidirecional); no equilíbrio a energia livre do sistema tende a um mínimo e, portanto, ($\Delta J=0$).

Processos de permeação através de biomembranas são discutidos em termos das equações clássicas de difusão.

A lei fundamental de difusão é a primeira Lei de Fick, na qual a taxa de difusão dn/dt de um soluto através de uma área de interface A é dado por:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (5)$$

onde D é o coeficiente de difusão e expresso em unidades de área/tempo (cm^2/s), e $\partial c/\partial x$ é o gradiente de concentração de soluto.

O sinal negativo denota o decréscimo do gradiente de concentração.

Considerando uma difusão unidimensional ao longo do eixo x , o fluxo por unidade de área, J , para um íon de carga z , é dado pela equação de Nernst-Planck⁽¹⁷⁾:

Fluxo = mobilidade x concentração x força

$$J = u \times C \times \left(-\frac{d\bar{\mu}}{dx} \right)$$

$$= -uCRT \left[\frac{1}{c} \frac{dc}{dx} + \frac{\bar{V}}{RT} \frac{dP}{dx} + \frac{zF}{RT} \frac{\psi}{dx} \right] \quad (6)$$

A literatura^(5,7) descreve todo o tratamento matemático, para cada sistema de transporte em particular, até se chegar na expressão da Lei de Fick, onde: $D = uRT$ e J é dado pela equação 6 acima.

Um destes modelos é o desenvolvido por A. A. Elhassadi⁽¹⁸⁾ para um sistema "SLM" (Supported Liquid Membranes). Neste sistema foi observado experimentalmente e explicado teoricamente um mecanismo de solubilidade para um sistema de transporte facilitado por carregador.

J. A. Ibáñez⁽¹⁹⁾ descreve um modelo teórico para o estudo experimental de co-transporte em sistemas tipo BLM.

É importante notar que nestes trabalhos todas as fases são constantemente agitadas e o termo fluxo ou permeabilidade é empregado para descrever o transporte na interface.

Em trabalhos com membranas é conveniente definir uma quantidade conhecida como coeficiente de permeabilidade, P . Considerando o caso de duas soluções agitadas, de concentrações c_1 e c_2 , separadas por uma membrana de espessura l , o fluxo será dado por:

$$J = -P (c_1 - c_2) \quad (7)$$

onde $P = D/l$ com unidades de distância/tempo (cm s^{-1}).

O coeficiente de difusão D pode ser calculado a partir de medidas do fluxo J ; a área, a espessura l e a diferença de concentração $c_1 - c_2$ são facilmente determinadas.

Na literatura encontram-se vários modelos teóricos aplicáveis aos vários tipos de membranas citados anteriormente^(15,17).

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo o estudo do transporte do cátion potássio através de membrana líquida hidrofóbica.

Foi pesquisado o efeito do solvente utilizado na formação da membrana líquida e a sua influência na taxa de transporte do cátion potássio.

Os efeitos causados pela variação da temperatura e pelo tamanho do ânion co-transportado foram também analisados neste processo.

O método utilizado para este estudo foi o “Bulk Liquid Membrane” no qual íons K^+ são transportados de uma fase aquosa (fase fonte) para outra (fase receptora) através da membrana líquida com o auxílio de um carregador macrocíclico, do tipo éter coroa neutro, neste caso, o 18-coroa-6.

3. Parte Experimental

3.1 Reagentes utilizados

1,4,7,10,13,16- hexaoxaciclooctadecano - 18-crown-6 (Aldrich)

2,4,6- trinitrofenol (Sigma)

2- nitrofenol (Sigma)

3- nitrofenol (Sigma)

4- nitrofenol (Sigma)

diclorometano - CH_2Cl_2 (Sinth)

tetracloro de carbono - CCl_4 (Sinth)

hidróxido de potássio - KOH (Nuclear)

Obs.: Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico e utilizados sem nenhum tratamento prévio. As pesagens foram feitas em balança analítica.

Para o estudo do transporte de potássio através de uma membrana líquida hidrofóbica foi utilizado como carregador o 18-C-6, um éter coroa neutro. O método empregado é denominado **BLM**, e o sistema montado pode ser representado pela figura 13.

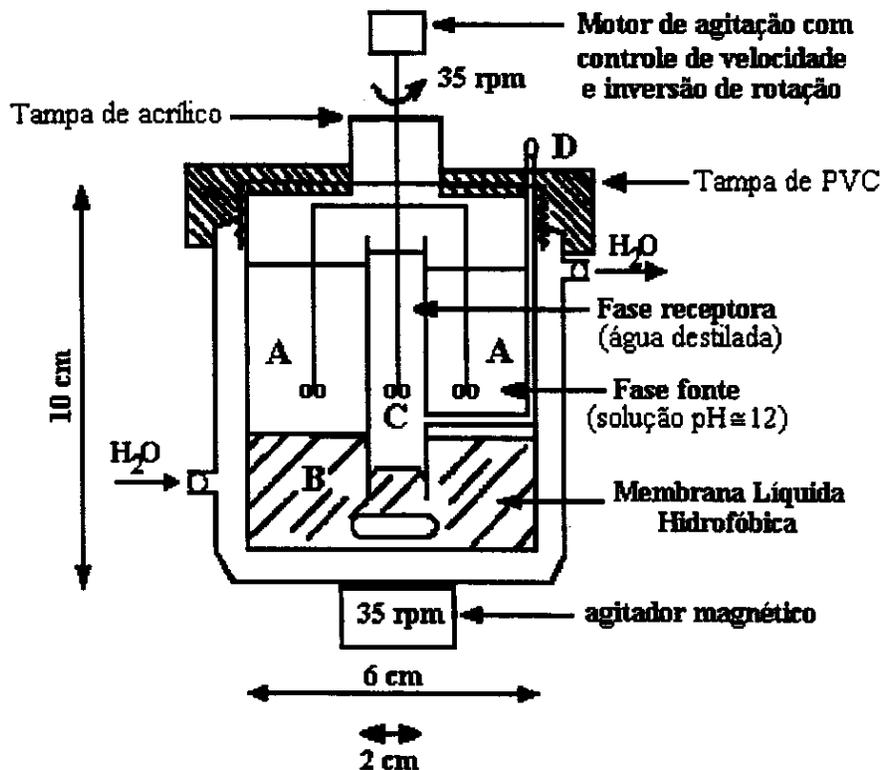


Figura 13: Sistema BLM utilizado neste trabalho.

Para as manipulações volumétricas foram utilizadas pipetas volumétricas de 10, 25 e 50mL previamente calibradas.

3.2 Soluções utilizadas

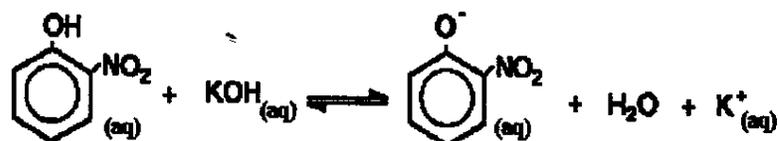
No sistema “bulk” esquematizado acima, a membrana líquida hidrofóbica utilizada nos experimentos, representada por **B** na figura 13, foi uma solução (75mL) $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de éter coroa (18-crown-6) dissolvidos em diclorometano ou tetracloreto de carbono. A solução formadora da BLM foi preparada pesando 0,6600g do carregador (18-crown-6). Em seguida, esta quantidade, foi dissolvida em 250 mL do solvente em um balão volumétrico.

A fase fonte de íons K^+ foram soluções (100mL) de vários sais de potássio sempre em concentração $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. O preparo destas soluções (indicadas por A na figura 13), que será descrito a seguir, foi idêntico para todos os compostos.

Como fase receptora de íons foi utilizada 10 mL de água destilada. Na figura 13 ela está representada pela letra C.

Uma massa adequada do soluto (nitrofenóis) e cerca de 1,2g de KOH foram dissolvidos em água destilada, sob rigorosa agitação, em um balão volumétrico de 1 litro. Após esta etapa a solução foi armazenada em um recipiente de polietileno.

Foi adicionado excesso de KOH ($\text{pH} \cong 11$) para garantir que todo fenol estivesse na forma ionizada (fenolato). A equação de equilíbrio que ocorre para o 2-nitrofenol é ilustrada a seguir:



Obs.: Para os demais compostos a equação é semelhante.

Na tabela abaixo estão indicadas as quantidades de fenol utilizadas.

Tabela I: massa do derivado do fenol utilizada no preparo das soluções

Composto	massa de fenol pesada/g ($\pm 0,0001$)
2-nitrofenol	1,3900
3-nitrofenol	1,3900
4-nitrofenol	1,3900
2,4,6-trinitrofenol	2,2900

As fotos apresentadas a seguir referem-se ao sistema empregado neste trabalho.

Podemos observar pela foto 1 que o solvente da membrana se encontra transparente no início do processo (tempo = 0h). Após alguns poucos minutos, a membrana se encontra colorida, foto 2.

O mesmo não foi observado quando o crown éter não foi adicionado à membrana.

Porém o tempo para a fase aquosa receptora ficar colorida é maior, indicando que a mobilidade do crown éter na fase orgânica é menor que a mobilidade do crown éter na fase aquosa.

A fase aquosa fonte de cor laranja foi uma solução básica de 2-nitrofenolato de potássio.



Foto 1: Início do processo de transporte ($t=0$).

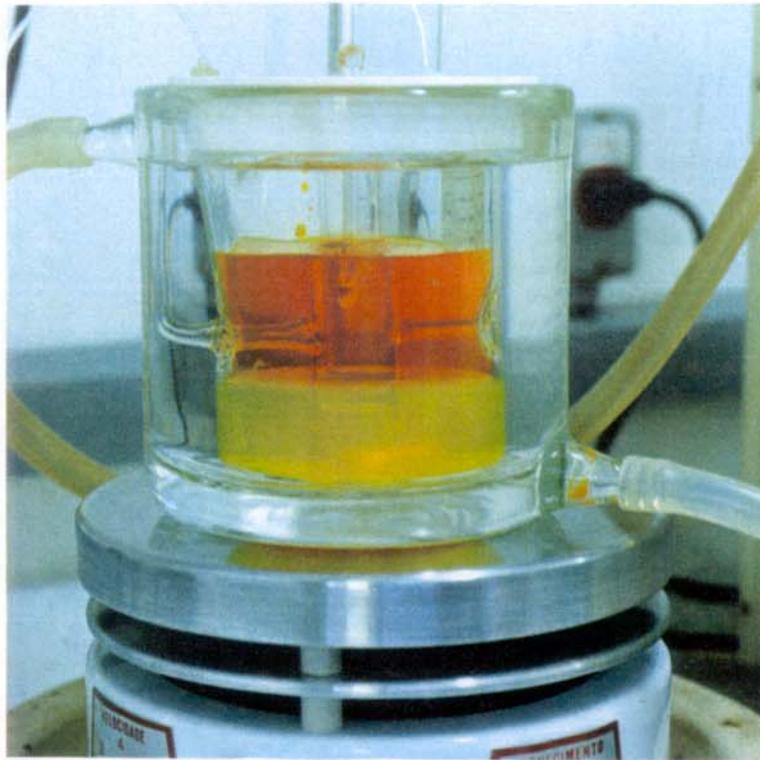


Foto 2: Após alguns minutos.

3.3 Curvas de Calibração

Para cada solução de nitrofenolato de potássio preparada, foi construída uma curva de calibração, no comprimento de onda adequado. A regressão linear dos pontos obtidos forneceu uma equação na forma $Abs = A \cdot [nitrofenolato] + B$, que permitiu a quantificação do ânion.

As retas obtidas por regressão linear estão mostradas abaixo:

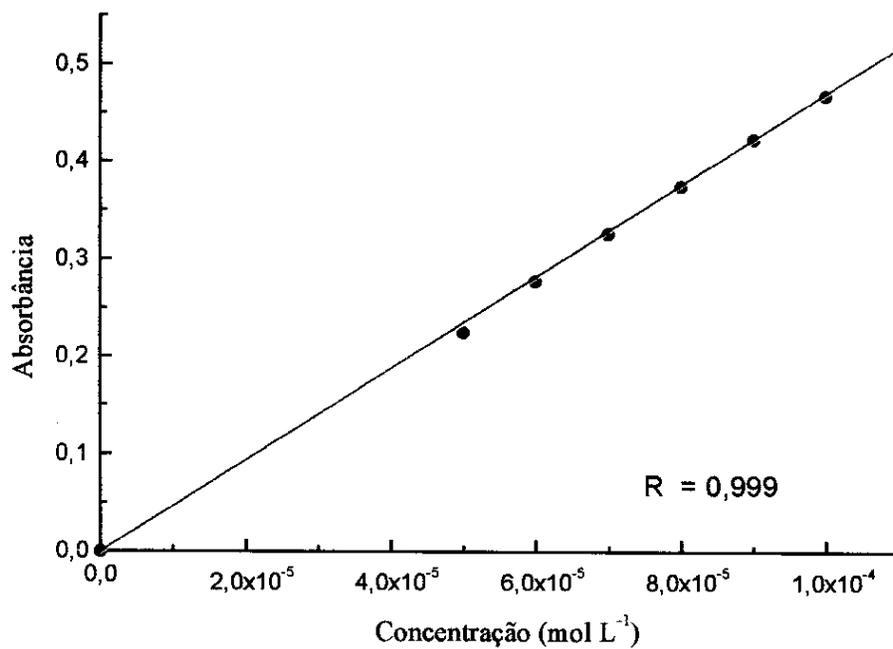


Figura 14: Curva de calibração para o 2-nitrofenolato.

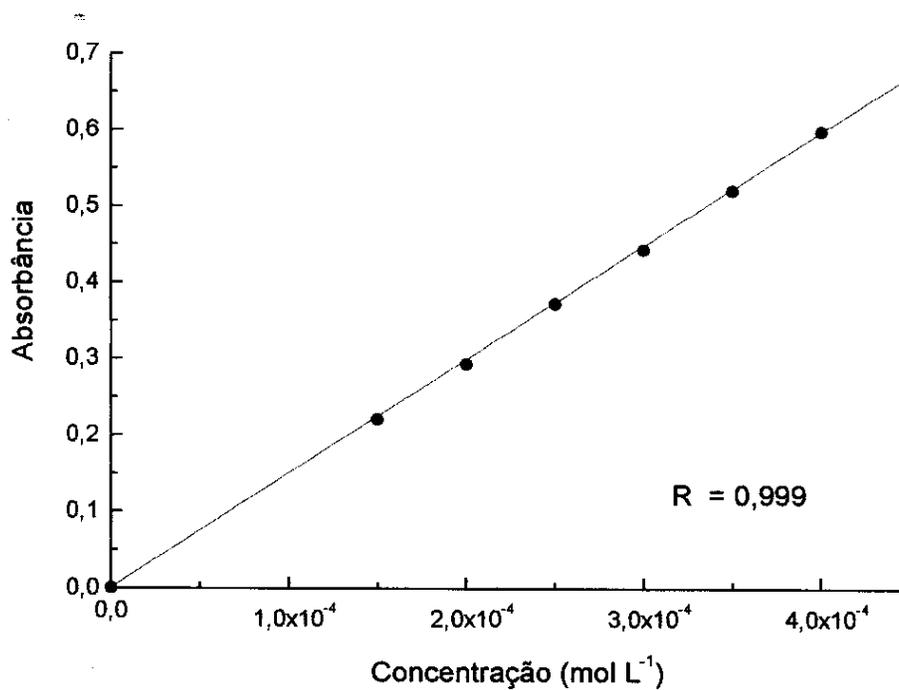


Figura 15: Curva de calibração para o 3-nitrofenolato.

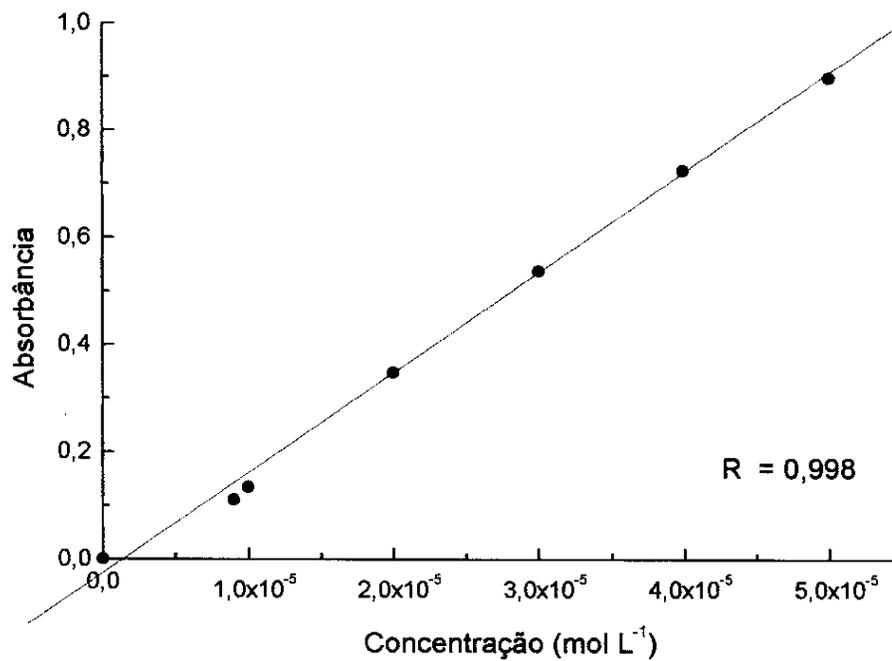


Figura 16: Curva de calibração para o 4-nitrofenolato.

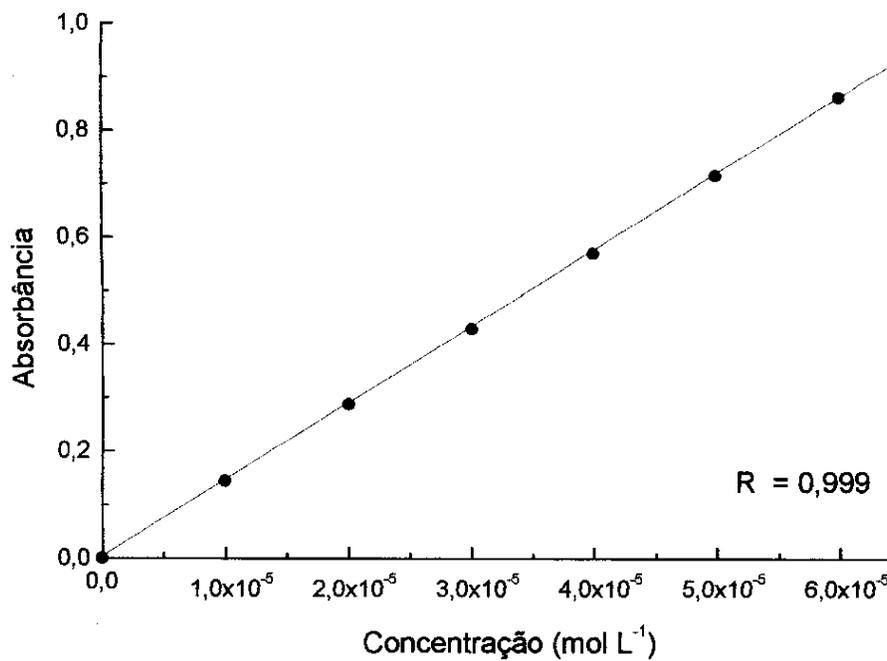


Figura 17: Curva de calibração para o 2,4,6-trinitrofenolato.

3.4 Determinação do K⁺

As medidas de determinação do cátion K⁺ foram feitas monitorando-se a variação da concentração do contra-íon (nitrofenolato) utilizado na fase aquosa receptora.

Aliquotas de 1mL, medidos em micropipeta Gilson previamente calibrada, foram coletadas através de uma saída lateral que está indicado pela letra **D** no esquema da figura 13.

Após diluição a um volume conhecido (em balões de 10 ou 100mL), as soluções foram analisadas em um espectrofotômetro UV-VIS modelo Cary 2300, utilizando-se cubetas de quartzo de caminho ótico de 1cm.

Os comprimentos de onda (λ) de máximo de absorvância, foram obtidos por Antunes, A. M.⁽²⁰⁾, num espectrofotômetro HP 4250A, e estão apresentados na tabela a seguir na tabela II.

Tabela II: Comprimentos de onda utilizados

Composto	Comprimento de onda / nm
2-nitrofenolato	410
3-nitrofenolato	390
4-nitrofenolato	396
2,4,6-trinitrofenolato	353

Com os valores de absorvância em função do tempo (em horas) obtidos para cada experimento foram plotados gráficos através dos quais determinou-se a razão de difusão (dn/dt).

Para cada ânion foram realizados experimentos nas temperaturas de 293, 298, 303 e 308K até obter-se dados reprodutíveis.

Nas temperaturas de 293K para o 2-nitrofenolato e 308K para o 4-nitrofenolato os experimentos foram repetidos várias vezes a fim de se conseguir explicar a alteração do comportamento da taxa de transporte em função da temperatura (que será apresentado posteriormente).

Foram utilizados diclorometano e tetracloreto de carbono como solventes da membrana pois os mesmos possuem densidade maior que a da água. A utilização de outros solventes que possuem densidade inferior à da água, implicaria numa alteração do sistema empregado, impossibilitando uma comparação dos dados obtidos.

4. Resultados e Discussão

4.1 Resultados Obtidos

A energia potencial w prevista pela equação de Born (eq.2) é, teoricamente, a mesma para íons de mesmo raio, considerando experimentos a mesma temperatura e solvente utilizado. Porém, para íons de tamanho de raio diferentes, w deve ser menor para íons de raio maior.

Isto pode ser demonstrado para o caso dos três ânions orgânicos isômeros utilizados neste trabalho: 2-, 3- e 4-nitrofenolato e também para o 2,4,6-trinitrofenolato.

Utilizando-se um programa desenvolvido por Takahata e Gaudio⁽²¹⁾, foram calculados os raios iônicos para os ânions estudados apresentados na tabela III.

Tabela III: Raio iônico dos ânions utilizados⁽²¹⁾

Composto	Raio iônico/Å
2-nitrofenolato	2,93
3-nitrofenolato	2,93
4-nitrofenolato	2,93
2,4,6-trinitrofenolato	3,24

Através das curvas de calibração obtidas para cada solução de nitrofenolato de potássio preparada, plotamos um gráfico do número de moles de K^+ transportado versus tempo (em horas). Para cada ânion determinou-se a taxa

de difusão ($\Delta n/\Delta t$), a uma dada temperatura e um determinado solvente, através dos coeficientes angulares das retas das figuras 18 a 22.

Os resultados representados a seguir nas tabelas IV e V e gráficos 18 a 22, representam a média de duas medidas.

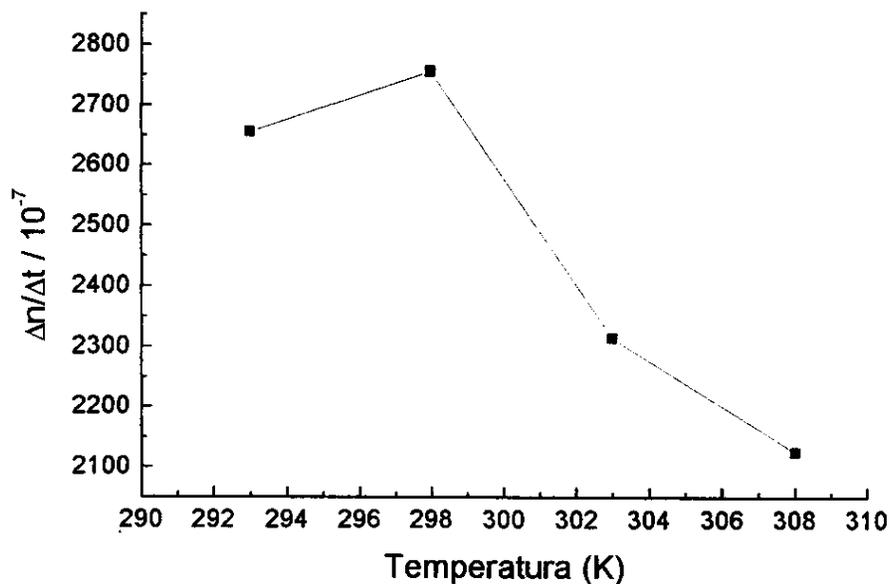


Figura 18: Difusão do 2-nitrofenolato de potássio em função da temperatura através da membrana líquida hidrofóbica $\text{CH}_2\text{Cl}_2/18\text{C}_6$.

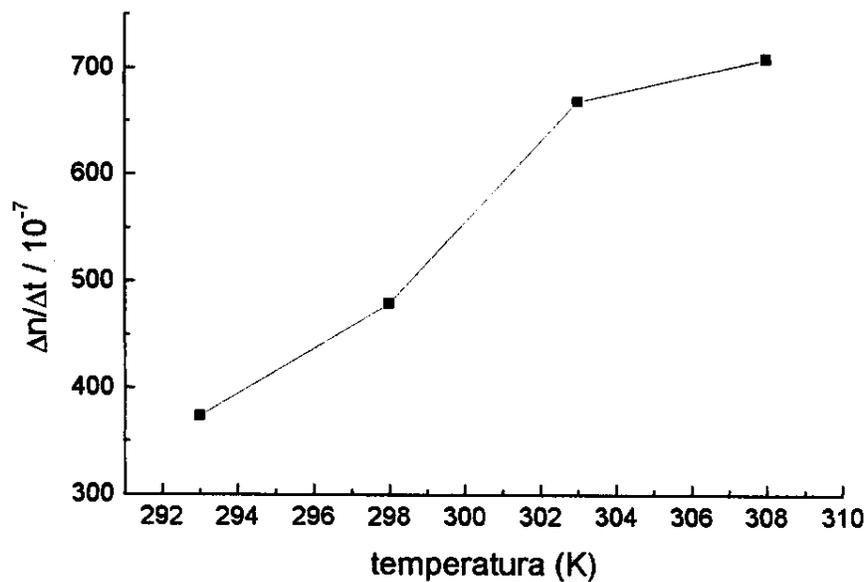


Figura 19: Difusão do 3-nitrofenolato de potássio em função da temperatura através da membrana líquida hidrofóbica $\text{CH}_2\text{Cl}_2/18\text{C}_6$.

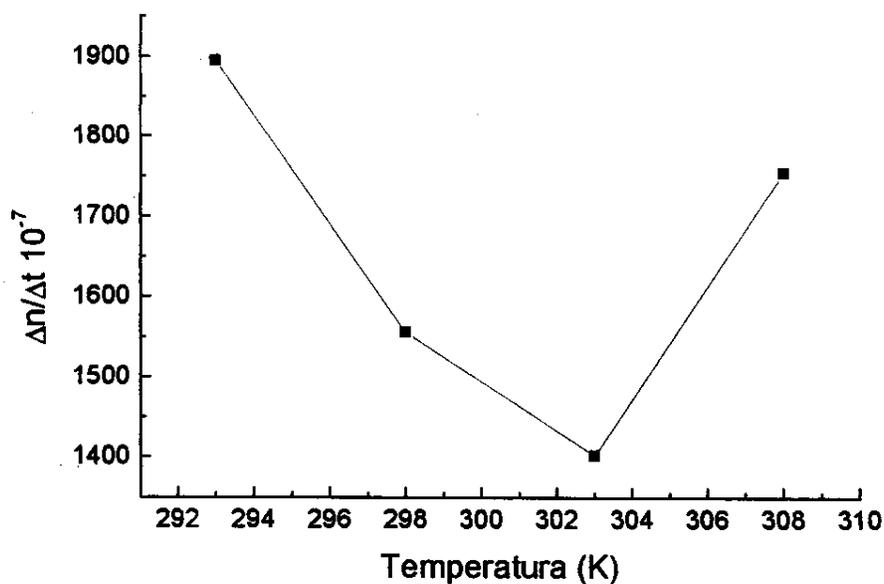


Figura 20: Difusão do 4-nitrofenolato de potássio em função da temperatura através da membrana líquida hidrofóbica $\text{CH}_2\text{Cl}_2/18\text{C}_6$.

Tabela IV: Taxa de difusão de cátions K^+ através da membrana líquida hidrofóbica $CH_2Cl_2/18C6$ obtida em função da temperatura para ânions de mesma carga e raio iônico semelhantes

Composto	Temperatura/K	$(\Delta n/\Delta t)/(10^{-7} \text{ mol h}^{-1})$ em (CH_2Cl_2)
2-nitrofenolato	293	2655 ± 95
	298	2756 ± 61
	303	2314 ± 147
	308	2125 ± 44
3-nitrofenolato	293	373 ± 16
	298	479 ± 0.6
	303	668 ± 9.6
	308	708 ± 1.2
4-nitrofenolato	293	1895 ± 101
	298	1556 ± 72
	303	1402 ± 43
	308	1755 ± 29

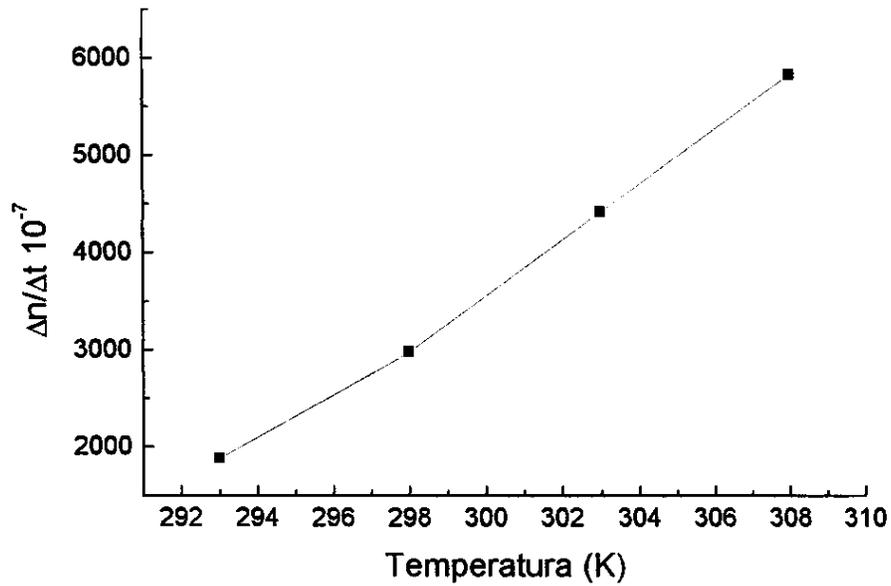


Figura 21: Difusão do 2,4,6-trinitrofenolato de potássio em função da temperatura através da membrana líquida hidrofóbica CH₂Cl₂/18C₆.

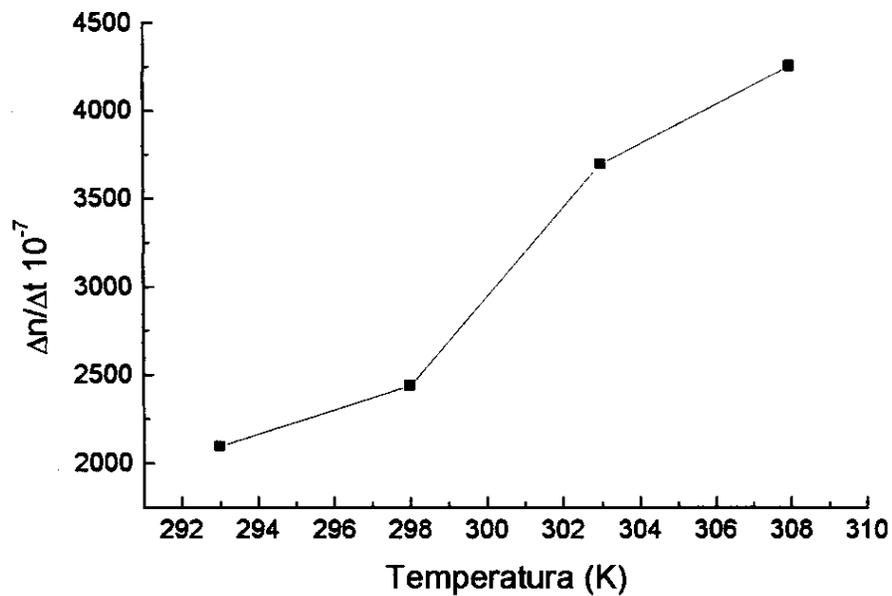


Figura 22: Difusão do 2,4,6-trinitrofenolato de potássio em função da temperatura através da membrana líquida hidrofóbica CCl₄/18C₆.

Tabela V: Taxa de difusão de cátions K^+ através das membranas líquidas hidrofóbicas $CH_2Cl_2/18C6$ e $CCl_4/18C6$ obtida em função da temperatura e do solvente

Composto: 2,4,6-trinitrofenolato			
Temperatura/K	$(\Delta n/\Delta t)/(10^{-7} \text{ mol h}^{-1})$ em (CH_2Cl_2)	$(\Delta n/\Delta t)/(10^{-7} \text{ mol h}^{-1})$ em ($CHCl_3$)	$(\Delta n/\Delta t)/(10^{-7} \text{ mol h}^{-1})$ em (CCl_4)
293	1880 ± 70	3930 ± 2	2094 ± 115
298	2979 ± 15	5921 ± 295	2439 ± 0.6
303	4417 ± 64	7451 ± 41	3697 ± 208
308	5825 ± 178	10300 ± 738	4259 ± 38

Para melhor visualização dos dados das tabelas IV e V anteriores apresentamos os resultados obtidos na forma de gráfico de barras (Gráfico I).

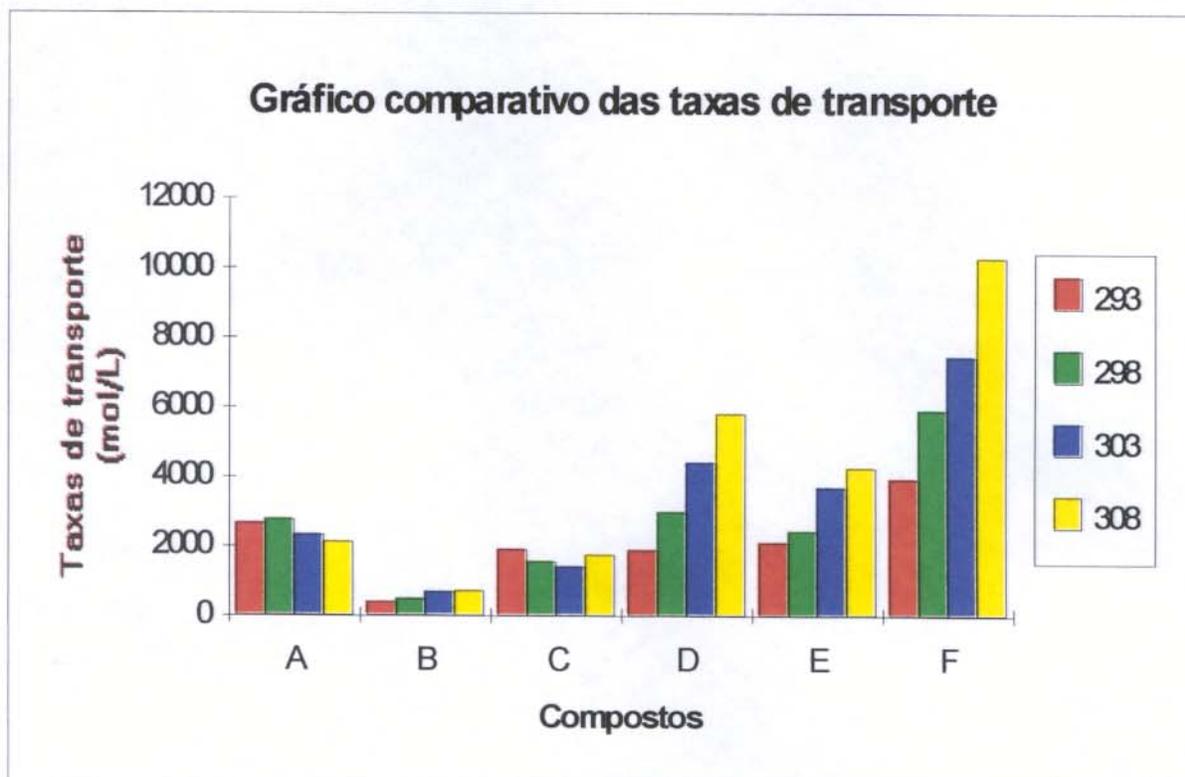


Gráfico I: Taxa de transporte de cátions K^+ obtida em função da temperatura e do solvente da membrana líquida

onde: A= 2-nitrofenolato; B= 3-nitrofenolato; C= 4-nitrofenolato; D= 2,4,6-trinitrofenolato (CH_2Cl_2); E= 2,4,6-trinitrofenolato (CCl_4); F= 2,4,6-trinitrofenolato ($CHCl_3$).

4.2 Discussão dos resultados

No estudo do transporte através de membrana líquida hidrofóbica, o cátion utilizado foi sempre o potássio. Por isso nossa discussão é baseada nas mudanças observadas quando da alteração do contraíon, da temperatura e dos solventes empregados no sistema BLM.

Pela análise dos resultados obtidos verificamos que apesar dos ânions orgânicos isômeros 2-, 3- e 4-nitrofenolato possuírem o mesmo tamanho, os valores de taxa de difusão são diferentes entre si.

Utilizando CCl_4 como solvente da membrana líquida hidrofóbica não foi observado transporte mensurável após 4 horas para estes compostos, independentemente da temperatura.

Para o contraíon picrato (2,4,6-trinitrofenolato), observa-se pela análise dos dados da tabela V que a difusão aumenta, quando CCl_4 é substituído por CH_2Cl_2 como solvente da membrana, confirmando as considerações feitas com relação à energia de dessolvatação do ânion⁽²²⁾.

Solventes com constante dielétrica (ϵ) mais próxima ao valor da água ($\epsilon \cong 79$) devem facilitar o transporte do complexo ($\text{K}^+ - 18\text{C}6 - \text{contraíon}$) como descrito pela equação de Born⁽²³⁾.

Assim, a ordem decrescente de constante dielétrica fica: CH_2Cl_2 ($\epsilon = 8.9$) > CHCl_3 ($\epsilon = 4.8$) > CCl_4 ($\epsilon = 2.2$)⁽²³⁾. Como podemos observar pelos resultados apresentados neste trabalho, os valores de $\Delta n/\Delta t$ para o íon picrato obtidos com clorofórmio⁽²⁰⁾ como solvente da membrana líquida hidrofóbica são maiores que os valores para diclorometano.

Os valores das taxas de difusão para o solvente clorofórmio (CHCl_3) obtidos por Antunes⁽²⁰⁾ foram apresentados na tabela V para fins comparativos do efeito do solvente.

Com relação aos resultados obtidos para os ânions isômeros, verificamos que $\Delta n/\Delta t$ para o 2- e para o 4-nitrofenolato não aumentam com o aumento da temperatura. Para o 2-nitrofenolato o valor de $\Delta n/\Delta t$ decresce ao passarmos de 298K para 303K. E para o 4-nitrofenolato o valor de $\Delta n/\Delta t$ aumenta ao passarmos de 303K para 308K.

Para estes ânions isômeros, tanto a temperatura como a estabilização da carga elétrica negativa devem ser fatores importantes no transporte de cátions K^+ em sistemas BLM. A tabela VI mostra os valores de pKa para os compostos estudados⁽²⁴⁾.

Tabela VI: Valores de pKa para os nitrofenóis

Composto	pKa
2-nitrofenol	7,17
3-nitrofenol	8,28
4-nitrofenol	7,15
2,4,6-nitrofenol	0,38

Considerando o efeito da acidez e o fato de $\Delta n/\Delta t$ não apresentar um comportamento linear para o 2- e o 4-nitrofenolato, a hipótese formulada por Antunes⁽²⁰⁾ sobre a importância das formas de ressonância e do efeito de indução para os isômeros 2-,3- e 4-nitrofenóis pode ser utilizada também neste caso, para explicar o fato.

O estudo das estruturas de ressonância mostra que para o caso do grupo **nitro** estar em posição **2** ou **4**, a carga negativa pode ser delocalizada pelo anel aromático e se conjugar com o grupo nitro favorecendo a formação do ânion e facilitando a complexação do cátion potássio pelo carregador macrocíclico.

Sua base conjugada, o ânion 2-nitrofenolato, deve ser insolúvel na membrana por causa da carga negativa residual. Porém, esta carga negativa se encontra distribuída pela estrutura do anel aromático como mostra as estruturas de ressonância (figura 23). Por esta razão, os complexos a serem formados na fase orgânica são mais estáveis, portanto em maior quantidade⁽²⁵⁾.

Assim, o 2- e o 4-nitrofenolato transportam mais que o 3-nitrofenolato. É importante lembrar que a análise, neste caso deve ser feita em função dos ânions fenolatos formados, pois as soluções de fenóis utilizadas foram preparadas com pH final aproximadamente 11.

Para ilustrar o que foi discutido, apresentamos as forma de ressonância dos três isômeros na figura 23.

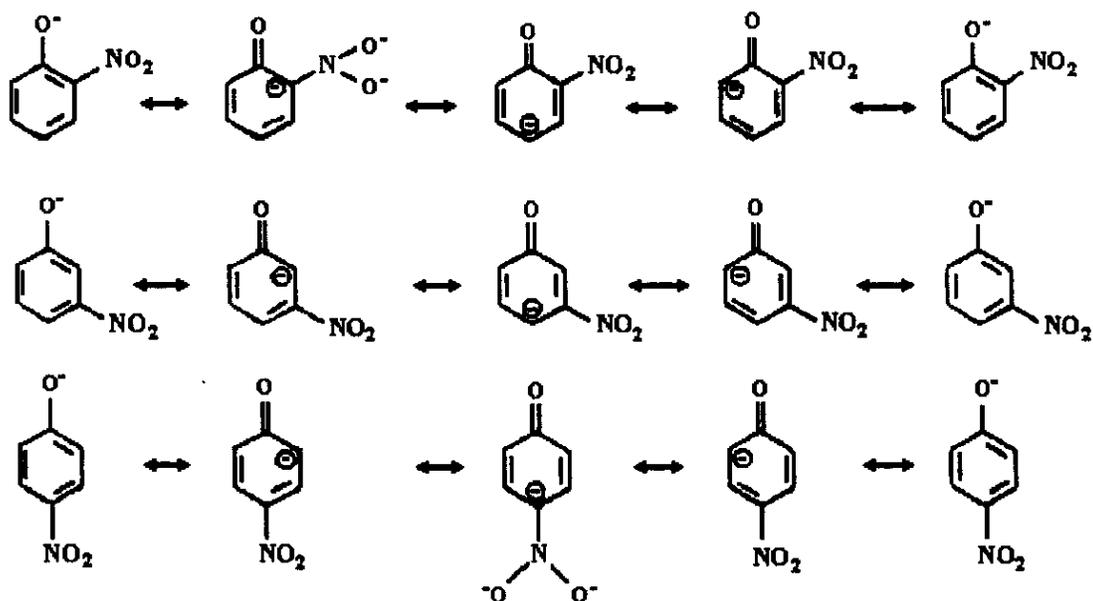


Figura 23: Estruturas de ressonância dos ânions isômeros orgânicos.

Esta hipótese pode ser confirmada ao analisarmos os valores obtidos para o ânion 2,4,6-trinitrofenolato, onde a carga negativa é melhor estabilizada pela presença de três grupos nitros.

Em associação ao exposto acima, existe também o efeito causado pelo solvente na magnitude de $\Delta n/\Delta t$. Isto é, a taxa de difusão deve ser maior para o solvente de maior constante dielétrica, pois este facilita a permeação tanto do carregador como dos íons na membrana hidrofóbica e posteriormente na fase aquosa.

4.3 Transporte com um carregador neutro

Ainda hoje não são conhecidos todos os detalhes mecânicos e energéticos dos fenômenos de transporte, sendo que muitos modelos ainda são propostos e tratados teoricamente, a fim de se esclarecer o funcionamento de sistemas de transporte ativos e passivos.

As membranas líquidas em geral apresentam alta seletividade e especificidade para determinados substratos, permitindo fluxo considerável de espécies químicas, tornando-se, assim, úteis na investigação de novos mecanismos e propriedades de processos de transporte⁽²⁶⁾.

O mecanismo de transferência de cátions, utilizando carregadores neutros, depende do tipo de ânion co-transportado. Este tipo de processo é chamado "*symport*", e traduzido simplesmente para **simporte**. A figura 24 ilustra o tipo de mecanismo envolvido no trabalho em questão:

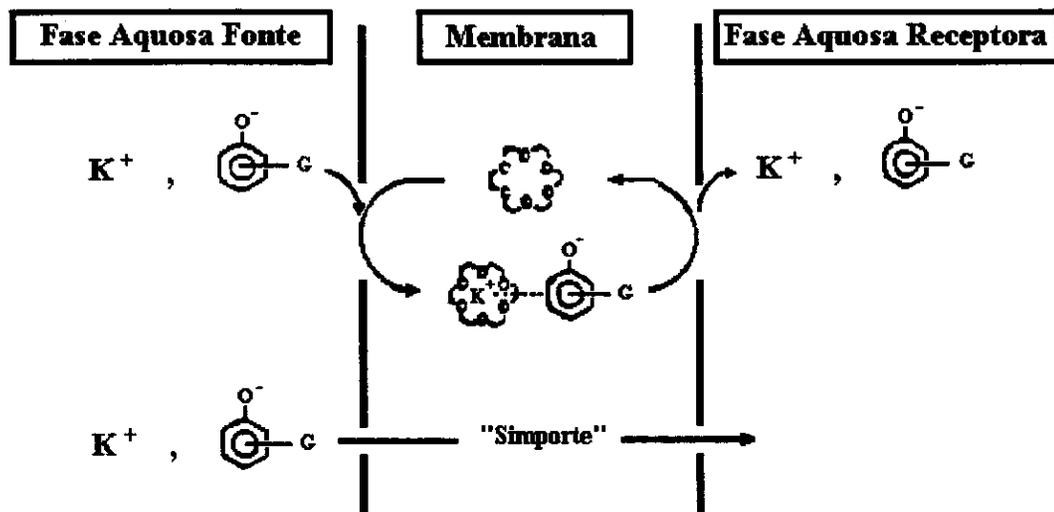


Figura 24: Mecanismo de transporte simporte.

Este processo pode ser descrito pelas seguintes etapas:

- a) O K^+ é complexado com o carregador (18C6) na interface fase aquosa fonte/membrana (CH_2Cl_2 ou CCl_4);
- b) O complexo K^+ -18C6 e o ânion co-transportado se difundem através da membrana;
- c) Na interface da membrana/fase aquosa receptora ocorre a liberação do K^+ e do ânion;
- d) O carregador neutro, livre, se difunde de volta através da membrana.

A estabilidade do complexo formado depende, dentre outros fatores, da forma, tamanho, conformação, quiralidade e flexibilidade dos carregadores, do efeito do solvente, do tipo de interações, do tipo de contraion e entalpia de solvatação de ambos cátions e ânions⁽²⁷⁾.

A mobilidade do complexo carregador-par iônico formado, poderá ser maior ou menor, dependendo do solvente utilizado na preparação da membrana.

4.4 Formação de complexos

As propriedades da associação de éteres coroa com cátions de metais alcalinos têm sido descritas principalmente em termos da similaridade entre os tamanhos dos cátions e da cavidade destes carregadores.

Algumas características são necessárias para qualificar uma molécula como carregadora de cátions numa membrana:

- 1) Ela deve ser solúvel no solvente da membrana;
- 2) Deve difundir rapidamente através da membrana;

3) A formação do complexo na interface fase fonte/membrana deve ser mais favorável que a hidratação do cátion, porém na interface membrana/fase receptora, deverá favorecer a liberação do mesmo⁽⁸⁾.

Isto pode ser mais facilmente entendido através do esquema apresentado na figura 24 anterior.

Estudos de Izatt e colaboradores⁽²⁸⁾ mostraram que, para os complexos K^+ -18C6, a estabilidade é máxima quando a razão entre os raios se aproxima de 1. Isto pode ser explicado pela entalpia de ligação. Quanto mais próximos forem os tamanhos das espécies hospedeiro e convidado, maior será a energia de ligação eletrostática.

Os raios das cavidades podem ser estimados a partir de vários modelos. Estudos de cristalografia de raio-X tem demonstrado que os melhores resultados são obtidos utilizando o modelo desenvolvido por Corey-Pauling-Kolton (CPK)⁽²⁸⁾.

Na tabela abaixo é feita uma comparação do tamanho da cavidade hidrofílica de vários éteres coroa e diâmetros de cátions não solvatados^(29,30).

Tabela VII: Comparação entre alguns diâmetros de carregadores e cátions

Éter coroa	Diâmetro/Å	Cátion	Diâmetro/Å
12C4	1,20 - 1,50	Li^+	1,36
15C5	1,72 - 2,20	Na^+	1,94
16C5	2,00 - 2,40	K^+	2,66
18C6	2,68 - 3,20	Rb^+	2,98
19C6	3,00 - 3,50	Cs^+	3,40
21C7	3,40	Ba^{+2}	2,86
24C8	4,00	Ca^{+2}	2,12
		Sr^{+2}	2,54
		Be^{+2}	0,68

A formação do complexo metal-carregador de estequiometria 1:1 não significa necessariamente que o íon esteja localizado dentro da cavidade do macrocíclico⁽²⁹⁾.

Através de deformações na estrutura do macrocíclico ou pelo movimento do cátion para uma posição totalmente fora do plano do anel, podem ser formados complexos 2:1, 1:2 e em certos casos até 3:2 (carregador : cátion)^(29,31). Uma forma esquematizada destes complexos está representada na figura 25.

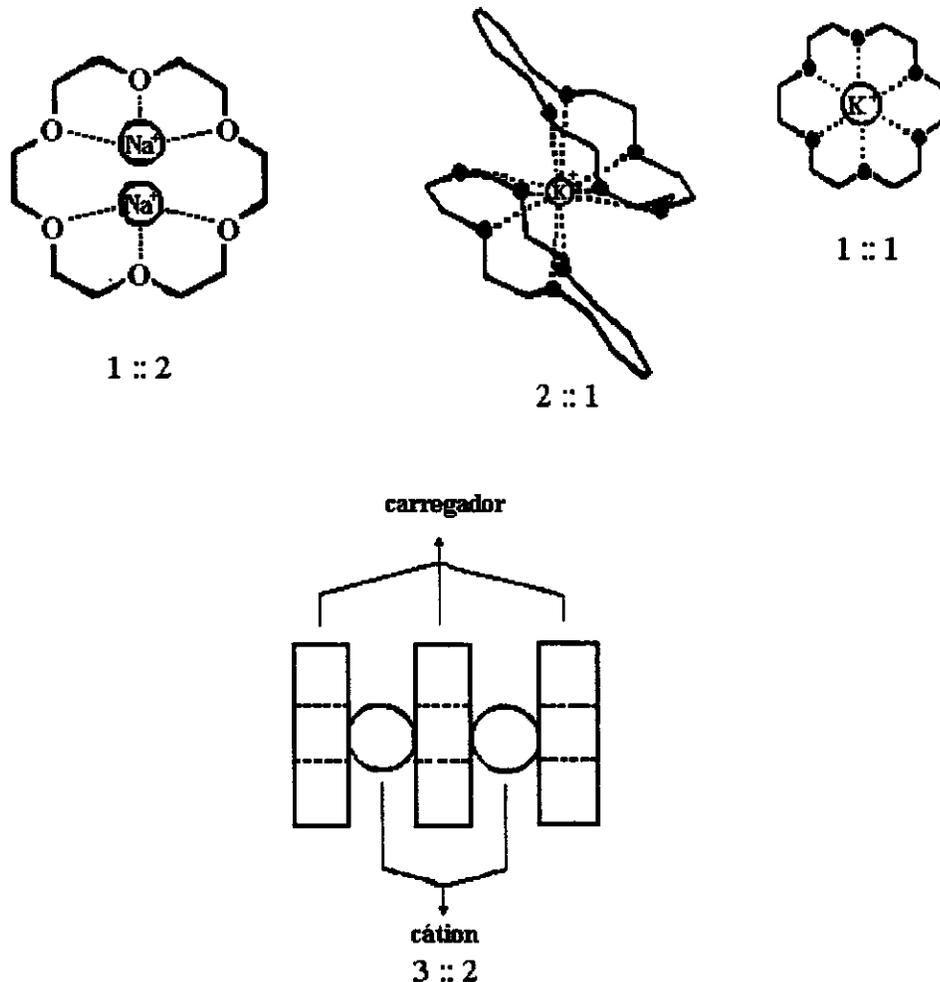


Figura 25: Tipos de complexos que podem ser formados entre carregador e metal.

Cálculos teóricos utilizando o programa “Spartan” realizados em colaboração com o grupo de pesquisa do Prof. Dr. Rogério Custódio (IQ-UNICAMP)⁽³²⁾ mostraram que, o cátion potássio permanece um pouco deslocado do plano do macrocíclico, apesar de estar equidistante dos átomos de oxigênio.

Isto pode ser observado na figura 26a e b.

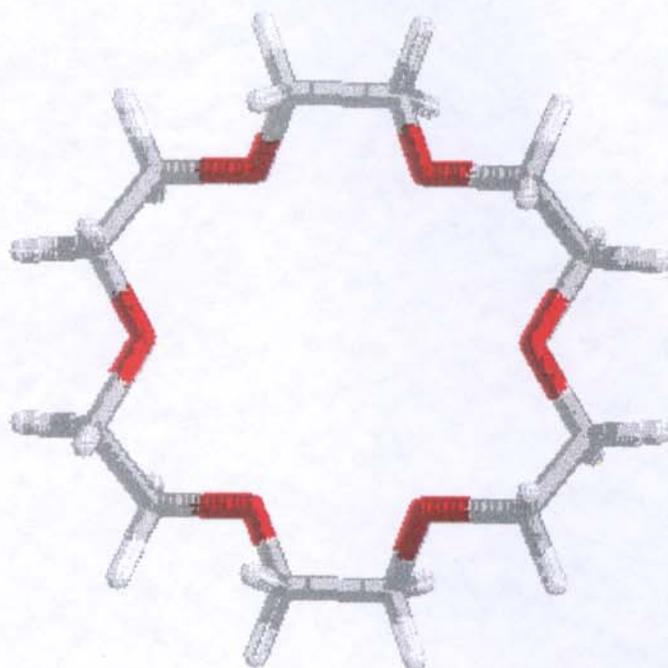


Figura 26a: Estrutura do 1,4,7,10,13,16-hexaoxaciclooctadecano (18C6). As barras em vermelho representam o oxigênio, e as barras acinzentadas os grupos CH_2 .

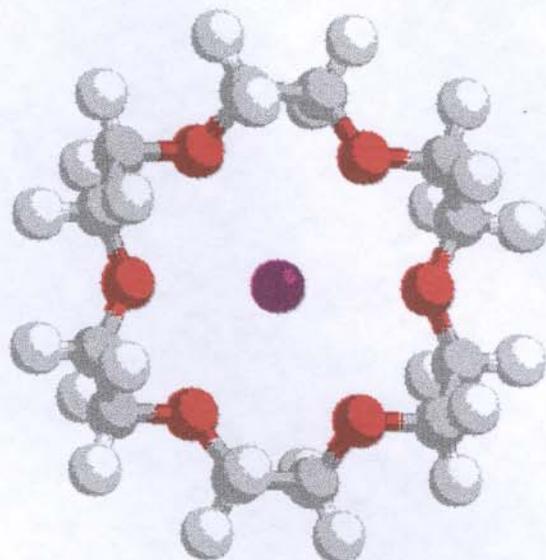


Figura 26b: Estrutura do complexo formado entre o éter-coroa 18C6 - K^+ . As esferas de coloração vermelha representam o oxigênio, as acinzentadas os grupos CH_2 e a esfera violeta o cátion potássio.

4.5 Outros efeitos importantes na estabilidade de complexos

O tipo de contraíon a ser transportado, além de exercer influência na estabilização do complexo 18C6- K^+ , também é importante para manter a neutralidade elétrica do meio⁽³³⁾. Sendo assim, e considerando o complexo formado de estequiometria 1:1, podemos determinar a taxa de K^+ transportado a partir da quantificação dos ânions presentes na fase aquosa receptora.

Vários artigos sugerem que a seletividade do transporte do cátion e a sua extração por ionóforos naturais e sintéticos neutros podem ser afetadas pela substituição do ânion⁽²²⁾.

Em fase aquosa, quanto maior o ânion, menor sua densidade de carga superficial e conseqüentemente menor a energia de hidratação. Na fase orgânica,

o inverso é verdade, e ânions maiores são melhor solvatados que os ânions menores⁽²²⁾.

Portanto, o processo de transporte é dependente da energia de solvatação do ânion em ambas as fases orgânica e aquosa. A troca do solvente da membrana deve alterar a constante de estabilidade do complexo carregador-cátion formado.

A constante dielétrica de um solvente (ϵ) é geralmente utilizado para verificar a habilidade deste em separar ou não as cargas do par iônico (K^+ - 18C6 - **contraíon**). Em geral a eficiência total do processo de transporte diminui com o aumento da diferença entre as constantes dielétricas das fases aquosa e orgânica⁽²³⁾.

A. A. Elhassadi mostrou que os efeitos de solubilidade e viscosidade do solvente em sistemas SLM são significativos. Segundo o modelo teórico proposto, a difusão das espécies iônicas é inversamente proporcional ao aumento da viscosidade do solvente⁽³⁴⁾.

5. Conclusões

Pela análise dos dados obtidos neste trabalho podemos concluir que:

- Utilizando picrato como contraíon observa-se que o valor de $\Delta n/\Delta t$ aumenta, confirmando as considerações feitas com relação à energia de dessolvatação do ânion;
- Com relação ao efeito do solvente, os valores de $\Delta n/\Delta t$ para o íon picrato obtidos com o solvente clorofórmio são maiores que os valores para diclorometano;
- Para o 2- e 4- nitrofenolato $\Delta n/\Delta t$ não aumenta com o aumento da temperatura. Para estes isômeros tanto a temperatura como o pKa devem ser fatores importantes no transporte de K^+ ;
- Apesar do 4-nitrofenol ser ligeiramente mais ácido que o 2-nitrofenol as taxas de transporte do primeiro são menores, indicando que os parâmetros indicados acima não são suficientes para explicar o fenômeno de transporte;
- Pela análise dos dados podemos concluir que a equação de Born apresentou ser incompleta para explicar as variações dos valores de $\Delta n/\Delta t$ tanto no caso de ânions de tamanho de raio semelhantes, como no caso de solventes de constantes dielétricas diferentes.

6. Bibliografia

- 1) Behr, J.; Kirch, M.; Lehn, J.; "Carrier-Mediated Transport through Bulk Liquid Membranes: Dependence of Transport Rates and Selectivity on Carrier Properties in a Diffusion-Limited Process"; *J. Am. Chem. Soc.* (1985), **107**, 241 - 246.
- 2) Chang, R.; "Physical Chemistry with Applications to Biological Systems", MacMillan Publishing CO., INC., New York, 2nd ed., 1981, 221.
- 3) Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M.; "Bioquímica", tradução da 2^a ed. Americana, Edgard Blücher, São Paulo vol. 3, 1976.
- 4) Nabi, A.; Beg, M. A.; "Selective Transport of Cations Through Liquid Membranes"; *Indian J. Chem.* (1985), **V. 24A**, 863 - 865.
- 5) Araki, T.; Tsukube, H.; "Liquid Membranes: Theory and Applications", CRC Press, Boca Raton, 1990.
- 6) Voet, D.; Voet, J. G.; "Biochemistry", John Wiley & Sons, New York, 1990.
- 7) Ibáñez, J. A.; Victoria, L.; Hernández, A.; "Flux and Characteristic Parameters in Mediated Transport through Liquid Membranes. I. A Theoretical Model"; *Sep. Sci. Tech.* (1989), **24(1&2)**, 157 - 164.

- 8) Izatt, R. M.; Lamb, J. D.; Bruening, R. L.; "Comparison of Bulk, Emulsion, Thin Sheet Supported and hollow Fiber Supported Liquid Membranes in macrocycle - Mediated Cation Separations"; *Sep. Sci. Tech.* (1988), **23**, 1645.
- 9) Ulbrich, M.; Marr, R.; Draxler, J.; *J. Membr. Sci.* (1991), **59**, 189.
- 10) Jain, M. K.; "Introduction to Biological Membranes", John Wiley & Sons, New York, 2nd ed., 1988.
- 11) Stryer, L.; "Biochemistry", W. H. Freemanad Co., New York, 3th ed., 1988.
- 12) Lamb, J. D.; Christensen, J.J.; Oscarson, J. L.; Nielsen, B. L.; Asay, B. W.; Izatt, R. M.; "The Relationship between Complex Stability Constants and Rates of Cation Transport through Liquid Membranes by Macrocyclic Carriers"; *J. Am. Chem. Soc.* (1980), **102**, 6820 - 6824.
- 13) Lehn, J. M.; "Supramolecular Chemistry: Scope and perspectives"; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1988), **27**, 89.
- 14) Cram, D. J.; "The design of molecular hosts, guests, and their complexes"; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1988), **27**, 1009.
- 15) Laidler, K. J.; "Physical Chemistry With Biological Applications", The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc. 1978.
- 16) "Membranes and Intercellular Communication", ed. by Balian, R.; Chabre, M.; Devaux, P. F.; Amsterdam, North-Holland, 1981, p. 436.

- 17) Benga, G.; "Water Transport in Biological Membranes", vol. I, CRC Press., 1989.
- 18) Elhassadi, A. A.; Do, D. D.; "Effects of a Carrier and Its Diluent on the Transport of Metals across Supported Liquid Membranes (SLM). I. Solubility Mechanism"; *Sep. Sci. Tech.* (1986), **21(3)**, 267 - 283.
- 19) Ibáñez, J. A.; Victoria, L.; Hernández, A.; "Flux and Characteristic Parameters in Mediated Transport through Liquid Membranes. II. A Model for Co-transport and Experimental Study of KI Transport through a Bulk Liquid Membrane"; *Sep. Sci. Tech.* (1990), **25(6)**, 739 - 752.
- 20) Antunes, A. M.; "Estudo do transporte de potássio através de membranas líquidas hidrofóbicas utilizando carregadores do tipo éter coroa"; *Dissertação de Mestrado*, IQ-Unicamp, 1995.
- 21) Gaudio, A. C.; Takahata, Y.; *Computers Chem.*, (1982), **16**, 277 - 284.
- 22) Olsher, U.; Hankins, M. G.; Kim, Y. D.; Bartch, R. A.; "Anion Effect on Selectivity in Crown Ether Extraction of Alkali Metal Cations"; *J. Am. Chem. Soc.*, (1993), **115**, 3370 - 3371.
- 23) Carey, F. A.; Sundberg, R. J.; "Advanced Organic Chemistry", 5th ed., Plenum Press, 1993, p. 232 - 239.
- 24) "Handbook of Chemistry and Physics", 70st ed., 1989 - 1990, CRC Press, p. D-163 e D-164.

- 25) Rawn, J. D.; "Biochemistry", Neil Patterson Publishers, North Carolina, 1989, p. 381.
- 26) Noble, R. D.; Way, J. D.; Eds., "Liquid Membranes: Theory and Applications, ACS Symposium Ser., No. 347, *Am. Chem. Soc.*, Washington, D. C., 1987.
- 27) Hilgenfeld, R.; Saenger, W.; "Structural Chemistry of Natural and Synthetic Ionophores and their Complexes with Cations"; *Top. Curr. Chem.* (1982), **101**, 3 - 75.
- 28) Izatt, R. M.; Bradshaw, J. S.; Niesen, S. A.; Lamb, J. D.; Christensen, J. J.; "Thermodynamic and Kinetic Data for Cation - Macrocyclic Interaction"; *Chem. Rev.* (1985), **85**, 271.
- 29) Weber, E.; Vögtle, F.; "Crown - Type Compounds - An Introductory Overview"; *Top. Curr. Chem.* (1981), **98**.
- 30) Dietrich, B.; "Coordination Chemistry of Alkali and Alkaline - Earth Cations with Macrocyclic Ligands"; *J. Chem. Educ.* (1985), **62**, 954.
- 31) Pedersen, C. J.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1967), **89**, 2498 e *J. Am. Chem. Soc.*, (1970), **92**, 386 - "New Macrocyclic Polyethers"; e 391 - "Crystalline Salt Complexes of Macrocyclic Polyethers".
- 32) Custódio, R.; em Dissertação de Mestrado de Antunes, A. M.; IQ-Unicamp, 1995.

33) Nahir, T. M.; "Transport Process in Membranes Containing Neutral Ion Carriers, Positive Ion Complexes, Negative Mobile Sites, and Ion Pairs"; *J. Phys. Chem.* (1993), **97**, 12363.

34) Elhassadi, A. A.; Do, D. D.; "Effects of a Carrier and Its Diluent on the Transport of Metals across Supported Liquid Membranes (SLM). II. Viscosity Effect"; *Sep. Sci. Tech.*, (1986), **21(3)**, 285 - 297.