

APLICAÇÃO DA EQUAÇÃO DE POISSON-BOLTZMANN À DISSOCIAÇÃO DE POLIÁCIDOS FRACOS

J. Ruggiero e J. R. Ruggiero

Departamento de Física, IBILCE - UNESP - Rua Cristovão Colombo, 2265 - 15054-000 - São José do Rio Preto - SP

The cell model and the Poisson-Boltzmann equation applied to dilute aqueous solutions of polyelectrolytes without added salt are revisited. The results are applied to analyse potentiometric titration data of two weak polyacids: the poly-L-glutamic and the poly-galacturonic acids. Both polyacids show a complex dissociation process indicated by the presence of a shoulder on the pK vs α plot for degree of dissociation values near 0.3. This anomalous behavior has been correlated with an electrostatic conformational transition and its interpretation is difficult in the framework of current polyelectrolytic models. The Poisson-Boltzmann equation permits the estimation of both the structural parameters and the conformational free energies involved in this transition.

Keywords: Poisson-Boltzmann equation; potentiometric titration; conformational transition.

INTRODUÇÃO

O processo de dissociação de grupos ionizáveis de poliácidos fracos de origem biológica é acompanhado, em geral, pelo aparecimento de interações de longo alcance, que resultam da forte repulsão eletrostática entre os grupos carregados. Em oposição, forças atrativas de curto alcance restringem a liberdade rotacional dos monômeros que compõem o polímero. A compensação destes efeitos resulta em fenômenos, cooperativos ou não, ainda de difícil compreensão^{1,2}. O balanço destas contribuições energéticas muitas vezes induz alterações conformacionais que modulam a taxa de dissociação. Desta forma variáveis físico-químicas tais como temperatura, força iônica e pH alteram este balanço energético e, conseqüentemente, o processo de dissociação destes poliácidos.

A mudança conformacional, cooperativa, que ocorre na dissociação de ácido poli-L-glutâmico³ é um exemplo deste comportamento. Na forma ácida este polímero assume a conformação de um glóbulo. A elevação do pH dá origem a um aumento da repulsão eletrostática como resultado da neutralização parcial dos grupos carregados. Sob ação desta força o polímero passa para uma conformação estendida. As alterações induzidas nestes poliácidos pelo pH ou mesmo força iônica é semelhante à deformação sofrida por uma mola sob compressão que rapidamente, recupera seu comprimento inicial quando aquela é retirada. Vários outros polieletrólitos biológicos apresentam este tipo de resposta sob alterações de força iônica, e as evidências têm mostrado que esta compensação elástica às forças de longo alcance desempenham importante papel na estabilidade conformacional destas macromoléculas⁴ e na atividade biológica⁵. Desta maneira a análise deste fenômeno representa um atrativo especial.

Do ponto de vista experimental, a titulação potenciométrica de grupos ácidos é uma maneira simples e efetiva de ter acesso a este efeito. Na forma ácida o próton neutraliza completamente a carga da carboxila, e à medida que a base titulante é adicionada, o próton é trocado pelo cation da base resultando numa carga residual em cada grupo titulado. Este experimento, portanto, é uma forma de monitorar o processo de "carregar" o políon.

A descrição quantitativa do equilíbrio iônico nestes poliácidos tem merecido atenção há longo tempo. Nesta análise é fundamental descrever a distribuição de contraíons ao redor do políon como função do grau de dissociação. Entre os modelos mais utilizados para descrever este equilíbrio estão o proposto por Oosawa⁶ e desenvolvido por Manning^{7,8}, que leva

em conta a condensação de contraíons, e o modelo de cela, baseado na resolução da equação de Poisson para o potencial eletrostático, levando em conta a distribuição de Boltzmann para íons da solução, conhecida como equação de Poisson-Boltzmann (EPB)^{6,9,10}.

Estes modelos assumem uma descrição simplificada para a cadeia polimérica. No modelo de condensação de contraíon (CC) o polímero é substituído por uma linha infinita de cargas, com os grupos carregados igualmente espaçados ao longo dela. Os contra- e co-íons são também considerados pontuais e o solvente é tratado como um meio contínuo caracterizado por uma constante dielétrica. O modelo baseia-se na instabilidade do sistema quando a energia eletrostática de formação de par iônico for maior do que a energia térmica. Para resolver esta instabilidade uma fração dos contraíons se liga ao campo eletrostático do polímero reduzindo a carga efetiva de cada grupo.

No modelo de cela por outro lado, a solução é representada por um conjunto de celas cilíndricas, sendo o políon uma cilindro de raio finito (a) coaxial à cela. Os grupos carregados são uniformemente distribuídos ao longo do eixo, contra- e co-íons são considerados pontuais e o solvente é tratado como contínuo.

Os dois modelos descrevem bem as propriedades coligativas das soluções contendo sal suporte. Neste caso, a atmosfera iônica formada blindada de modo eficiente as interações eletrostáticas e as condições de aplicabilidade dos modelos são claramente satisfeitas.

Na ausência de eletrólito suporte o número de contraíons e de grupos carregados é o mesmo, supondo uma estequiometria 1:1. Dessa forma não é claro qual deve ser o mecanismo de blindagem e a aplicabilidade dos modelos deve ser analisado criteriosamente.

O objetivo deste trabalho é discutir o modelo de cela na ausência de eletrólito suporte, apresentar a resolução da EPB e utilizá-la para interpretar as curvas experimentais de titulação potenciométrica de dois poliácidos fracos: o poli-L-glutâmico (PLGA) e poligalacturônico (PGA). A interpretação destes resultados, bem como a determinação das constantes intrínsecas de dissociação, não é uma tarefa simples é devido à presença de uma anomalia nestas curvas. Esta anomalia é, em geral, relacionada a uma mudança conformacional, cooperativa no caso do PLGA, ou à desagregação, induzida no processo de dissociação do poliácido. A aplicação da EPB para a análise destas curvas requer uma análise criteriosa das simplificações adotadas pelo modelo, e por este motivo constitui um

dos casos mais delicados de aplicação da EPB. Na tentativa de facilitar a determinação dos estados conformacionais envolvidos no processo de "carregamento" destes polímeros, utilizamos também curvas de titulação condutimétrica que permitem monitorar as variações da atividade de contraíons em função do grau de dissociação. Estes valores experimentais podem, também, ser analisados usando o modelo de cela e a resolução da EPB.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Ácido poligalacturônico (Sigma), foi dissolvido em água, precipitado em etanol, ressuspendido em água e dialisado exaustivamente contra água. A forma ácida foi obtida através de diálise contra ácido e a seguir exaustivamente contra a água. Ácido poli-L-glutâmico (Sigma) foi dissolvido em água, e a forma ácida foi obtida através de troca iônica usando resina Dowex 50W, previamente condicionada na forma ácida.

Titulações potenciométricas

As titulações foram efetuadas através de adições de alquotas da base titulante, NaOH (Merk) padronizadas a 0.1N, à solução de PGA. Em cada adição o pH resultante foi determinado através de eletrodo conjugado Metrom e pHmetro Metrom-Micronal mod B-375, ou de equipamento similar Corning. A temperatura da solução foi mantida em 25 ± 0.01 °C através de uma cela de titulação de paredes duplas por onde circula água de um termostato Neslab mod. RTE-111. A cela de titulação foi mantida sob fluxo de N₂, purificado, no sentido de evitar a formação de ácido carbônico. A água utilizada em todos os procedimentos foi de qualidade condutimétrica com condutividade $0.6 \mu\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Os valores de pH medidos em cada adição de titulante são dispostos em gráfico de pK_{ap} vs α , onde:

$$pK_{ap} = \text{pH} - \log(\alpha/1-\alpha) \quad (1)$$

e

$$\alpha = \alpha_n + 10^{-\text{pH}/C_p} \quad (2)$$

sendo C_p a concentração (em eq/l) de grupos carregáveis no polímero, e corresponde a concentração de titulante no ponto de equivalência, α_n é o grau de neutralização do poliácido e dado pela razão entre a concentração de titulante em cada adição e a concentração de grupos carregados.

Titulações Condutimétricas

O mesmo procedimento foi utilizado nas titulações condutimétricas de PGA com (LiOH e KOH Merk padronizadas), sendo que a condutividade da solução foi medida através de um condutímetro Digimed Mod. CD21, que opera à 1 KHz, e cela de 1.01 cm a cada nova medida a constante da cela foi calibrada com solução padrão de KCl.

Os valores de condutividade (σ), obtidos em cada adição de titulante, são dispostos em gráficos em função de α_n . A condutividade elétrica da solução contendo o polímero é dada por:

$$\sigma = fC_p(\lambda_p + \lambda_i) \quad (3)$$

onde λ_p e λ_i são as condutâncias molares do polímero e do íon alcalino da base usada na titulação, C_p é a concentração de grupos carregados do polímero obtido da titulação potenciométrica e f é o fator de transporte obtido experimentalmente através de titulações com dois titulantes diferentes, como KOH

e LiOH. Sendo σ_K e σ_{Li} os valores da condutividade obtidos para estes dois titulantes, determina-se f através da relação:

$$f = (\sigma_K - \sigma_{Li})/(\lambda_K - \lambda_{Li}) \quad (4)$$

O MODELO DE CELA E A EQUAÇÃO DE POISSON-BOLTZMANN (EPB)

O tratamento teórico de solução aquosa de polieletrólito, contendo ou não sal suporte, envolve a avaliação dos efeitos do forte campo eletrostático do polímero na distribuição espacial dos íons pequenos ao seu redor. Este campo é responsável pelo alto grau de não uniformidade dessa distribuição, pois íons de carga oposta ao poliíon (contraíons) são atraídos para sua vizinhança enquanto os de mesma carga (coíons) são repelidos. Estes gradientes iônicos são fundamentais para o comportamento da solução.

A abordagem mecânico-estatística envolve o cálculo das funções de correlação de pares entre todos os componentes do sistema: poliíon-íons, íons-íons, poliíon-poliíon, poliíon-água, íons-água e água-água. No cálculo destas funções as interações coulombianas são dominantes entre os três primeiros tipos de pares, e entre os restantes as interações carga-dipolo, dipolo-dipolo e interações fracas são as dominantes. A descrição do sistema através desta abordagem é extremamente complexa, sendo praticamente impossível mesmo com os atuais recursos computacionais. Considerar o solvente como um meio contínuo, caracterizado por uma constante dielétrica, apesar de reduzir parte da complexidade computacional, ainda o deixa de difícil tratamento.

Simplificações mais "drásticas" foram necessárias para tornar esta descrição teórica acessível do ponto de vista computacional, e conduziram, nos anos cinquenta, ao modelo de cela^{9,10} e na década seguinte ao modelo de condensação de contraíons^{7,8}. Estes modelos permitem a descrição de diversas propriedades físico-químicas de soluções polieletrólíticas, com relativo sucesso, utilizando recursos computacionais modestos. A proposição deste trabalho, como enfatizado na introdução, é discutir o modelo de cela aplicado à solução sem eletrólito suporte.

As suposições básicas do modelo de cela, para uma solução de polieletrólito na ausência de sal simples, são¹⁰: a) o poliíon é, ao menos localmente, considerado um cilindro rígido, de comprimento L , raio a e impenetrável aos contraíons; b) a solução é dividida num conjunto de celas, coaxiais à cadeia polimérica, cujo raio é determinado pelo volume médio por cadeia e c) os contra-íons são "aprisionados" no campo elétrico do polieletrólito de forma a garantir a eletroneutralidade da cela, obedecendo a distribuição de Boltzmann. Esta distribuição de eletrólitos simples blinda a cadeia polimérica minimizando as interações intra e intercadeias. A imagem pictórica deste modelo é que cada cela, contendo o poliíon e a atmosfera iônica, é uma entidade eletricamente neutra "vagando" num mar de outras celas permeadas pelas moléculas do solvente.

Deve-se notar que esta descrição equivale a considerar somente as interações eletrostáticas, ou seja, os termos dominantes das correlações de pares poliíon-íon e íon-íon, sendo que as interações poliíon-poliíon estão sendo desprezadas pela imposição de neutralidade das celas. As interações de curto alcance estão limitadas à consideração de impenetrabilidade da cadeia polimérica e, conseqüentemente, à definição da distância de menor aproximação dos contraíons ao polímero. Uma revisão discutindo qualitativamente a abordagem mecânico-estatística do problema e contendo uma extensa lista bibliográfica sobre as implementações no modelo foi recentemente publicado por Anderson e Record¹¹.

Representar a solução polieletrólítica como um conjunto de celas paralelas, à primeira vista, parece muito difícil de ser

satisfeita experimentalmente. O modelo foi, recentemente, rediscutido por Mandel¹² e a condição necessária para a sua aplicabilidade é que o comprimento de persistência seja significativamente maior do que a distância, *b*, entre seus grupos carregados. A simetria cilíndrica exige, ainda, que o comprimento de persistência seja maior do que o raio da cela. Isto é satisfeito se ele for muito maior do que a distância de Debye, que é o comprimento de blindagem das interações coulombianas entre as cargas da cadeia.

Considerando, por simplicidade, que a solução seja composta por *n_p* cadeias por unidade de volume, sendo *X* o grau de polimerização da cadeia e *z_mq* (*q* carga prótonica) a carga de cada grupo carregado, a concentração em número, *n_c*, de contraíons de carga *z_cq* é dado pela condição de eletroneutralidade, ou seja,

$$n_c = - \frac{|Z_m|}{|Z_c|} X n_p, \quad (5)$$

ou seja, contraíons e políon têm cargas opostas. É conveniente representar as cargas do polieletrólito através de um parâmetro adimensional, a densidade de cargas:

$$\xi = \frac{\lambda_B}{b} = \frac{q^2}{\epsilon k T b}, \quad (6)$$

onde λ_B é o comprimento de Bjerrum, ϵ é a constante dielétrica, *k* a constante de Boltzmann, *T* a temperatura e *b* é a distância entre grupos carregados projetados ao longo do eixo do cilindro. Usando o sistema CGS, à temperatura ambiente, $\lambda_B = 7.13 \text{ \AA}$. Se $L \gg b$, o raio da cela pode ser escrito em função do parâmetro adimensional como:

$$R = (\pi b n_p)^{-1/2} = (\pi \lambda_B n_p / \xi)^{-1/2}. \quad (7)$$

Esta relação mostra que o raio da cela cresce com a diluição da solução e com o aumento da densidade de carga. Cálculos desenvolvidos por Odijk¹³, no contexto do modelo de "worm-like chain", mostram que na ausência de eletrólito simples, o comprimento de persistência varia inversamente com a concentração do polímero. Esse é um indicativo de que o modelo de cela possa ser aplicado mesmo para soluções muito diluídas, pois, nesse caso, tanto o raio *R* quanto o comprimento de persistência crescem. Em soluções muito concentradas há uma forte interação entre as cadeias, tornando-as entrelaçadas. Nestas condições o modelo não mais se aplica pois as correlações entre pares políon-políon não podem ser desprezadas e as cadeias não podem ser tratadas como independentes. Conseqüentemente é razoável usar o modelo de cela ao menos para soluções com concentração moderada de políon.

A função de distribuição para os contraíons pode ser obtida através da aplicação da condição de equilíbrio a cada cela. Sendo *n_c(r)* a concentração, em número, de contraíons a uma distância *r* do políon, e considerando a solução diluída, o potencial eletroquímico é dado por:

$$\mu_c = \mu_c^0 + k T \ln n_c(r) + Z_c q \psi(r), \quad (8)$$

onde o último termo é o trabalho realizado contra o campo eletrostático, do polieletrólito, para colocar *n_c(r)* contraíons no espaço entre *r* e *r*+*dr*. Ao escrever esta equação estamos supondo que o potencial de força média (que descreve o potencial efetivo entre as partículas existentes na solução) seja aproximado pelo potencial eletrostático médio $\psi(r)$, ié, que nenhuma interação de curto alcance está sendo considerada, ou seja, as cargas são, com exceção da definição da distância *a*, pontuais. Fixman¹⁴ mostrou que o modelo pode incorporar modificações que levem em conta o raio finito das cargas.

A condição de equilíbrio impõe a constância do potencial eletroquímico em toda cela, particularmente na borda exterior onde ψ é por conveniência adotado como sendo nulo. Assim,

$$\mu_c^0 + k T \ln n_c(r) + Z_c q \psi(r) = \mu_c^0 + k T \ln n_c(R) \quad (9)$$

onde o potencial químico de referência foi considerado independente de *r*. A solução desta equação conduz à distribuição de Boltzmann para os contraíons ao redor do polieletrólito, ou seja,

$$n_c(r) = n_c^0 \exp(-|Z_c| q \psi(r)/kT), \quad (10)$$

onde *n_c⁰* é a concentração em *r* = *R*.

O potencial eletrostático é dado pelas soluções da equação de Poisson,

$$\nabla^2 \psi(r) = - \frac{4\pi}{\epsilon} q |Z_c| n_c(r), \quad (11)$$

com *n_c(r)* dado pela distribuição de Boltzmann (10). Esta é a equação de Poisson-Boltzmann. Se mais de uma espécie de íons (contra-ou co-íons) está presente, a análise acima se aplica a cada espécie iônica e o lado direito da eq. (11) deve conter o somatório sobre todas elas. Fazendo uso da simetria cilíndrica e, definindo o potencial reduzido como:

$$\Phi(r) = - \frac{q |Z_c| \Psi(r)}{kT}, \quad (12)$$

a EPB é reescrita como:

$$\frac{1}{x} \frac{d}{dx} \left(x \frac{d\Phi}{dx} \right) = \exp(\Phi), \quad (13)$$

sendo *x* = *κr*, onde *κ* é o parâmetro de blindagem de Debye, dado por:

$$\kappa^2 = 4 \pi Z_c^2 \lambda_B n_c^0. \quad (14)$$

O campo elétrico satisfaz condições de contorno na superfície do políon e na borda da cela dadas pela lei de Gauss:

$$\left(\frac{d\Phi}{dx} \right)_{x=\kappa a = \kappa a} = \frac{2 |Z_c| \xi}{X_a} e^{\left(\frac{d\Phi}{dx} \right)_{x=\kappa R = \kappa R}} = 0. \quad (15)$$

A primeira reflete a carga do políon e a segunda a eletroneutralidade da cela.

A integração da equação 13 fornece a seguinte expressão para o potencial reduzido:

$$\Phi(x) = \ln \left(\frac{x^2}{2A^2} \sinh^2(A \ln(Bx)) \right), \quad (16)$$

onde *A* e *B* são constantes de integração, determinadas a partir das condições de contorno:

$$1 + A \coth(A \ln(BX_R)) = 0 \quad (17)$$

e

$$|Z_c| \xi = 1 + A \coth(A \ln(BX_a)). \quad (18)$$

Da (17) pode-se reescrever *B* como função de *A*

$$B = \frac{1}{X_R} \left(\frac{1-A}{1+A} \right)^{1/2A}, \quad (19)$$

que substituída na (18) fornece uma equação transcendente que correlaciona a constante de integração A aos parâmetros que descrevem a solução polieletrólítica, quais sejam: a densidade de cargas, ξ , a distância de menor aproximação, a , as concentrações de grupos carregados e de contra-íons e suas respectivas valências,

$$\xi|Z_c| = \frac{1-A^2}{1+A\coth(A\gamma)}, \quad (20)$$

sendo $\gamma = \ln(x_R/x_a)$. Embora a eq. (13) tenha solução exata em termos de funções elementares, a constante de integração, dada pela eq. (20), só pode ser obtida numérica ou graficamente. Desta forma a análise das soluções da EPB estão vinculadas a este estudo numérico.

A equação transcendental para A apresenta solução real para valores de $0 \leq |Z_c| \xi \leq \gamma/(1+\gamma)$, sendo que o valor de A é restrito ao intervalo $1 \geq A \geq 0$. Para valores de $|Z_c| \xi \geq \gamma/(1+\gamma)$ a solução é um número imaginário puro, e a solução da EPB pode ser obtida substituindo-se A por $i|A|$ nas eq. (16-20).

De acordo com a eq. (8), o potencial elétrico é proporcional ao trabalho realizado contra o campo elétrico do polímero para levar um contraíon da sua superfície até a posição onde o potencial é nulo. Quando o polieletrólito está na forma ácida e prótons são trocados por íons alcalinos, como num experimento de titulação potenciométrica, este trabalho representa a variação do potencial químico para dissociar todos grupos ácidos. Do ponto de vista termodinâmico a constante aparente de dissociação está correlacionada à constante intrínseca através da variação de energia livre eletrostática em função do grau de dissociação como segue:

$$pK_{ap} = pK_0 + \frac{1}{2.303RT} \left(\frac{\partial G^{el}}{\partial \alpha} \right) = 0.433q\Delta\Psi/kT = -0.433\Delta\Phi, \quad (21)$$

onde G^{el} é a energia livre eletrostática e pK_0 é o pK_{ap} intrínseco associado a remoção de um próton quando o polieletrólito está descarregado¹⁵ e $\Delta\Psi$ é a diferença de potencial eletrostático entre o polímero e o ponto de referência. Desta forma a solução da EPB fornece uma maneira simples de ajustar as curvas experimentais de titulação potenciométrica.

O cálculo da energia eletrostática em excesso (ΔpK) requer, assim, uma definição consistente do potencial de referência, e para isto pode-se lançar mão de uma imagem pictórica do processo de carregar o polieletrólito. Supondo que inicialmente o políon esteja "desligado", os contraíons estarão uniformemente distribuídos em toda cela, com concentração média dada por n_c . "Ligar" o políon significa introduzir uma assimetria nesta distribuição, pois parte dos contraíons são atraídos pelo campo elétrico do polieletrólito. Existirá assim uma distância, r , tomada a partir do eixo da cela, para a qual a concentração local será igual à média. Neste ponto o potencial elétrico é nulo, e ele deve ser usado como referência para o cálculo da energia. Honig e Sharp¹⁶ mostraram que para o modelo de cela o potencial deve ser corrigido adicionando-se o termo:

$$-\ln(n_c^0/n_c), \quad (22)$$

onde n_c^0 , a concentração de contraíons na borda da cela, é dada por

$$n_c^0 = (1 - A^2)/(2\pi R^2 \lambda_B). \quad (23)$$

Essa correção não altera a distribuição de contraíons ao redor do polieletrólito e, portanto as propriedades dela dependentes. Além disso, ela é necessária somente no caso de ausência de eletrólito simples.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a - Análise Numérica da EPB

As equações acima mostram que a solução da equação de Poisson-Boltzmann para a cela coaxial na ausência de eletrólito simples depende dos parâmetros estruturais que modelam a cadeia polieletrólítica (o raio do políon, a , e a distância entre os grupos carregados, b), da concentração de grupos carregados em solução, X_{np} , e da valência dos contra-íons, z_c , que é unitária no estudo que se segue. Estes parâmetros influenciam a solução da EPB através da equação transcendental (20) que os correlaciona à constante de integração A.

Antes de apresentar alguns resultados do estudo numérico da eq. (20), convém rediscutir, particularmente, o parâmetro a . Como dito anteriormente, ele representa a distância de menor aproximação do contraíon à cadeia polimérica, ou seja, é dado pela menor distância de aproximação entre o eixo do polímero e o centro de massa do contraíon. Além disso, no contexto da aproximação de campo médio utilizada, este parâmetro contém a dependência de origem não eletrostática envolvida no modelo. Dessa forma é usual considerá-lo dependente dos raios hidratados tanto do polímero como do contraíon, embora uma definição mais precisa não seja possível. Anderson e Record¹¹, no trabalho de revisão acima citado, comentam que o intervalo representativo de valores desse parâmetro, para políons rígidos, varia entre 3 e 30 Å. Baseado nas limitações para sua definição convém tratá-lo como um parâmetro ajustável da teoria.

A figura 1 mostra o gráfico da constante de integração A em função da densidade de cargas, ξ , para diferentes valores da distância de menor aproximação do contraíon ao polímero. Conforme comentado na secção anterior, está claro que as soluções da eq. (20) são reais ou imaginários puros, conforme o valor da densidade de carga. Observa-se, ainda, que para a região $\xi > 2$, a variação de $|A|$ é praticamente independente da densidade de carga. Quando a distância de menor aproximação tende a zero, o que é equivalente a considerar o polieletrólito como uma linha de cargas, e os contraíons puntuais, o potencial eletrostático é independente da densidade de cargas para $\xi \geq 1$. Neste contexto esta é a representação da condensação de contraíons^{7,8}, pois uma fração de contraíons liga-se ao políon, formando uma nuvem iônica que reduz a carga efetiva de cada grupo para um valor $\xi_{ef}=1$.

A variação da constante $|A|$ em relação a concentração equivalente do polieletrólito (C_p) no intervalo de concentrações de 1 a 20 meq/l, considerando diferentes valores de a está mostrada na fig. 2, onde todas as curvas referem-se a $\xi=3$. Observa-se que $|A|$ varia significativamente com a concentração

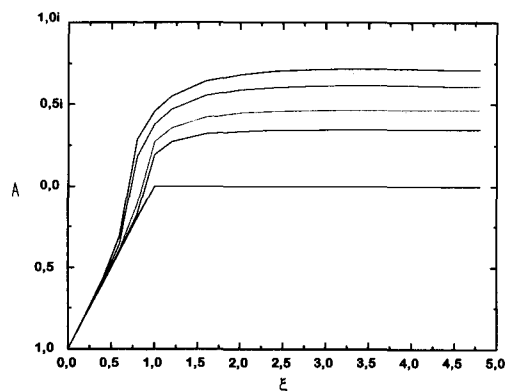


Figura 1. Variação da constante de integração A com a densidade de carga ξ , para valores de $a = 10,0, 5,0, 1,0, 0,1 \text{ \AA}$ e $a = 0$, de cima para baixo, respectivamente.

do polímero se a distância de menor aproximação for grande. Quando esta distância decresce, $|A|$ se torna cada vez menos dependente da concentração do polímero no intervalo considerado.

A dependência de $|A|$ com a densidade de cargas, para $\xi > 1$, para diversos valores da concentração do polímero, mantendo $a=10\text{Å}$, está mostrada na fig. 3. Novamente fica evidente que a variação na constante de integração é decrescente quanto menor a concentração do polieletrólito. O limite $C_p \rightarrow 0$ (no caso de ausência de sal suporte), na teoria de Manning (CC), é a condição para a definição da fração de contraíons condensados. Da eq. (7) vê-se que isto corresponde ao limite $\gamma \rightarrow \infty$, ou seja, a condição para a qual o potencial independe da densidade de cargas para $\xi > 1$ e portanto a condição de condensação, como já discutido com relação ao limite $a \rightarrow 0$. No presente modelo, entretanto, é muito discutível o sentido físico deste limite pois o raio da cela cresce indefinidamente e as condições de aplicabilidade do modelo de cela e da EPB não são satisfeitas. Assim, o limite de $a \rightarrow 0$ é a única condição de condensação a partir da análise deste modelo.

Por fim, na Fig. 4 está mostrado a variação do potencial reduzido ϕ com a constante $|A|$ para valores diversos da distância ao eixo do polímero. Está claro que o potencial é rapidamente decrescente com essa distância e que na superfície do cilindro que representa a cadeia polimérica ele é fortemente dependente de $|A|$. Além disso, ela indica que, mesmo para

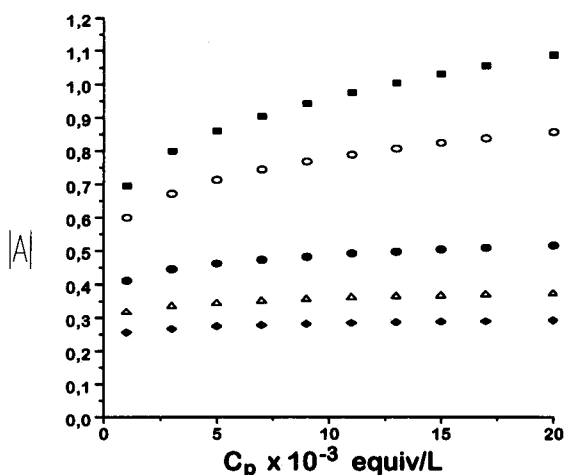


Figura 2. Variação da constante de integração $|A|$ em função da concentração de polímero para $x = 3$ e diversos valores de a : 20 (■); 10 (○); 1 (●); 0,1 (△) e 0,01 (◊) todos os valores em Å.

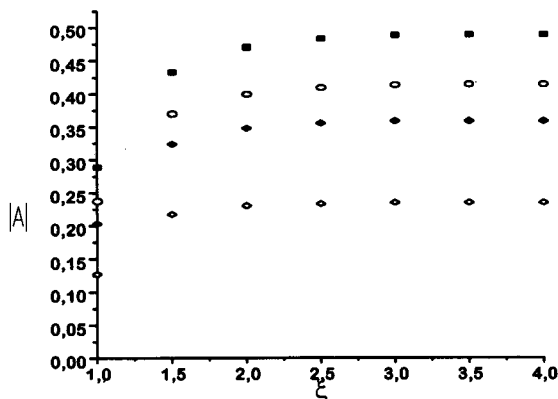


Figura 3. Variação de $|A|$ com a densidade de carga $\xi (> 1)$ para diversos valores da concentração C_p (eq/L) de polímero e $a = 10\text{Å}$. $C_p = 10^{-4}$ (■); 10^{-5} (○); 10^{-6} (●) e 10^{-10} (◊).

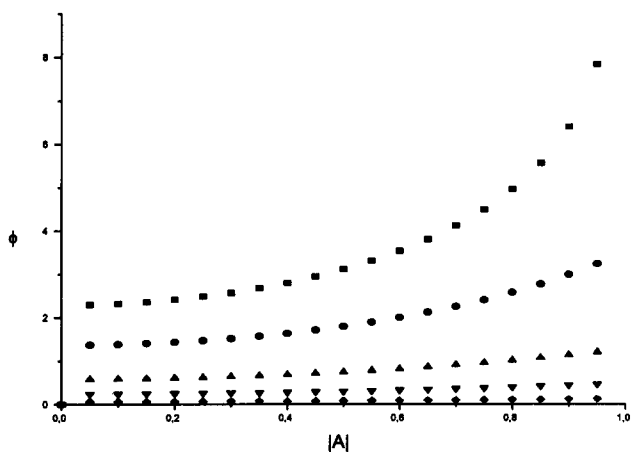


Figura 4. Dependência do potencial reduzido com a constante $|A|$ para diversos valores da distância ao eixo do polímero, considerando $\xi = 3$, $C_p = 5\text{ meq/l}$ e $a = 10\text{Å}$. De cima para baixo os símbolos representam $r = a$; $2a$; $2,5a$; $3,3a$ e $5a$.

uma densidade de carga alta, o potencial reduzido é aproximadamente zero para distâncias significativamente menores do que R , lembrando que, no caso, $R \sim 10a$. A análise conjunta dessas figuras evidencia a sensibilidade do potencial eletrostático com os diversos parâmetros que caracterizam o sistema. Por exemplo, se da Fig. 1 vimos que $|A|$ é praticamente constante com a densidade de carga para $\xi \geq 2$, esse valor varia com a distância a e da Fig. 2 vê-se que a sua variação com C_p é significativa para valores de $a > 1$. Somente no limite $a \rightarrow 0$ obtêm-se a uniformidade.

b - Aplicação da EPB à dissociação do PLGA e PGA

Os resultados da análise acima serão utilizados na interpretação de dados experimentais obtidos de titulação potenciométrica dos poliácidos PLGA e PGA.

A curva de ΔpK vs α para o PLGA, obtidos da titulação potenciométrica com NaOH está mostrado na fig. 5. No eixo y estão dispostos os valores da diferença $pK_{ap} - pK_0$. As curvas representam, portanto, a variação da energia livre eletrostática em função do grau de dissociação. Como pode ser observado esta variação não é monótona como seria esperado para um poliácido fraco, mas apresenta uma anomalia à baixos valores de α .

As soluções da EPB são representadas na figura por linhas contínuas. É importante notar que são curvas suaves e espelham o comportamento esperado para poliácidos fracos.

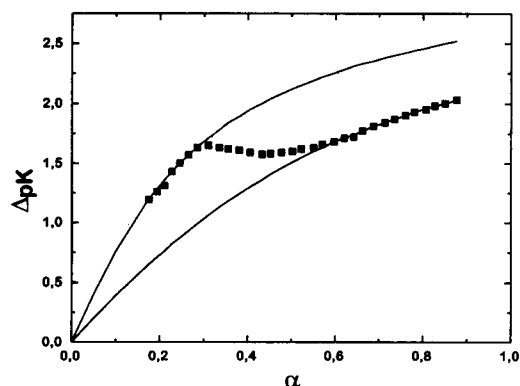


Figura 5. Variação do ΔpK_{ap} com o grau de dissociação, α , para o PLGA. Curvas teóricas (linhas contínuas) com $\xi = 4,75$, $a = 14\text{Å}$ e $\xi = 2,1$, $a = 8\text{Å}$. Concentração do polímero, $C_p = 7 \times 10^{-3}\text{ eq/L}$.

No caso do PLGA, por causa do aparecimento da anomalia, não se consegue ajustar a curva experimental utilizando um único valor da densidade linear de cargas, ξ , mas somente os trechos anterior e posterior a ela podem ser ajustados utilizando os valores $\xi=4.75$ e 2.1 , respectivamente. Estes valores são idênticos aos utilizados por outros autores^{17,18}, considerando modelos que levam em conta a flexibilidade da cadeia polimérica. Os ajustes teóricos foram obtidos usando distâncias de menor aproximação de 16 e 10Å , respectivamente e conduziram a um valor de $pK_0=3.87$. Este valor foi obtido do ajuste teórico para a porção da curva experimental correspondente à valores de α grandes, para os quais o valor de b é conhecido, $\xi=2.1$. A partir deste valor de pK_0 foi ajustada a parte anterior da curva considerando o valor de ξ próprio para a conformação helicoidal.

Simulação com modelos computacionais contidos no pacote WHAT IF¹⁹ mostraram que a conformação "helicoidal" do PLGA, considerando a primeira camada de hidratação, tem um raio de aproximadamente 8Å . Estudos de distribuição de íons monovalentes ao redor do DNA²⁰, através de RMN, mostraram não haver diferença muito grande entre os tempos de relaxação destes íons na presença ou ausência dos polímeros, indicando que possivelmente eles são livres para mover-se no campo elétrico do polieletrólito, alterando pouco, portanto, sua hidratação. Os dados de Kotin e Nagasawa²¹ de deslocamento químico de prótons nas curvas de titulação de poliestireno sulfonado conduzem a resultado semelhante. Considerando estes resultados, os valores de α utilizados nos ajustes com a EPB são fisicamente aceitáveis.

O valor de pK_0 encontrado está em bom acordo com os valores obtidos por outros autores^{18,22}. O último termo da eq. (21) compreende não somente a variação nas interações eletrostáticas dos sítios carregados no polieletrólito, mas também as contribuições devido à conformação do polímero e solvatação. Este termo pode ser considerado como sendo o trabalho necessário para remover os prótons dissociados do campo do políon para o infinito, e é calculado pela integral da curva experimental:

$$\Delta G^{\text{el}} = 2.303RT \int_0^{\alpha} (pK_{\text{ap}} - pK_0) d\alpha. \quad (24)$$

Integrando a região delimitada pela curva experimental e os ajustes teóricos, ié, para valores de α variando entre 0 e 0.6 , obtem-se a energia livre da mudança conformacional $\Delta G_{\text{conf}}^0 = 237$ cal/mol monômeros. Este valor é muito próximo do obtido por Brant e colab²². Usualmente esta extrapolação é realizada através do ajuste de parte da curva experimental por uma reta ou função quadrática, com os quais se obtém um valor de pK_0 ligeiramente superior, mas um valor para ΔG_{conf}^0 de aproximadamente a metade do obtido com a EPB, substituindo, assim a energia de transição.

Uma maneira de explorar esta transição conformacional, cooperativa, é considerar as duas curvas teóricas obtidas da EPB como duas conformações limites, com as conformações intermediárias determinadas a partir dos dados experimentais. Sendo f_h a fração de cadeias na conformação helicoidal, representada por $\xi_h=4.75$, e $\xi_c=2.1$ a densidade da conformação estendida, o valor da densidade de carga para um valor qualquer de α é dado por:

$$\xi = f_h \xi_h + (1 - f_h) \xi_c. \quad (25)$$

Os valores de ΔpK obtidos da solução da EPB recalculados com estes valores de ξ reproduzem a curva experimental. Embora empírico este procedimento só pode ser aplicado porque a diferença de valores de ΔpK representam variações efetivas nos potenciais químicos. A determinação rigorosa da fração f_h , para polieletrólitos, necessita uma formulação estatística que considere efeitos de longo e curto alcance e está desenvolvido

formalmente, por exemplo, no texto de Rice e Nagasawa¹⁵.

A curva de ΔpK vs α , obtida para o PGA titulado com NaOH é mostrada na fig 6. Esta curva apresenta comportamento anômalo semelhante àquele do PLGA, apresentando também um ombro para valores baixos de α . Nesta figura as curvas contínuas são obtidas da resolução da EPB, para dois valores diferentes da densidade linear de cargas, representando assim dois possíveis estados conformacionais, e foram obtidas seguindo o mesmo procedimento anteriormente descrito.

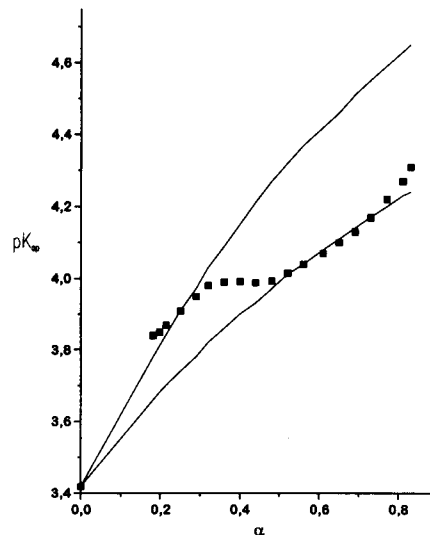


Figura 6. Dependência do pK_{ap} com o grau de dissociação, α , para o PGA. Curvas teóricas para $\xi = 1.67$, $a = 10\text{Å}$ e $\xi = 1.57$, $a = 16\text{Å}$. Concentração do polímero, $C_p = 19.2 \times 10^{-3}$ equiv/L.

Se para o PLGA os valores dos parâmetros estruturais para as duas conformações são bem conhecidos, o mesmo não ocorre com o PGA, embora não só a anomalia mostrada na fig. 6, como também resultados de calorimetria, dispersão óptica rotatória e osmometria²³, evidenciam a existência de uma transição conformacional. As evidências de estudos de difração de raios X neste polímero, nas formas salina e ácida²⁴, de espalhamento de luz em pectatos²⁵ e cálculos conformacionais evidenciam conformações helicoidais de simetrias dois e três porém com aproximadamente os mesmos passos de hélices. Desta forma procuramos ajustar as curvas de pK_{ap} com dois valores de densidade de cargas próximos $\xi=1.67$ e 1.57 , obtendo $pK_0=3.42$ que está em bom acordo com o valor obtido por outros autores^{23,26}. O valor da energia livre conformacional calculado da titulação foi $\Delta G_{\text{conf}}^0 = 63$ cal/mol monômeros. Este valor é maior do que o obtido calorimetricamente por Cesàro et al²⁷, usando a teoria de condensação de contraíons para o ajuste e interpretação dos resultados. O cálculo da entalpia de dissociação, segundo esta teoria, envolve a distância de menor aproximação dos contraíons ao políon, que os autores assumem como 5Å , valor substancialmente menor do que os usados neste trabalho com a EPB. Esta pode ser a fonte dessa diferença, embora uma análise mais permenorizada deva ser feita. Não se pode desprezar neste sentido a possibilidade de ocorrência de agregação, para valores baixos de α , embora titulações com diferentes concentrações (5.12 e 19.2 mM) de polímero possam ser ajustadas com os mesmos parâmetros.

Fazendo uso da eq. (25) para definir a densidade de cargas para cada grau de dissociação e usando a EPB, reproduz-se toda a curva experimental, o que reforça a metodologia adotada.

A EPB foi utilizada, ainda, para calcular os valores do fator de transporte em função do grau de dissociação usando a expressão²⁸

$$f = \frac{D_s}{D_0} = V^2 \left(\int_V \exp(\Phi) dv \int_V \exp(-\Phi) dv \right)^{-1}, \quad (26)$$

onde V é o volume ocupado pelos contraíons. Os resultados apresentam boa concordância com os dados experimentais, como mostrado na figura 7. Nessa figura os dados teóricos foram obtidos com os valores médios de ξ e α , usados nos ajustes do pK aparente.

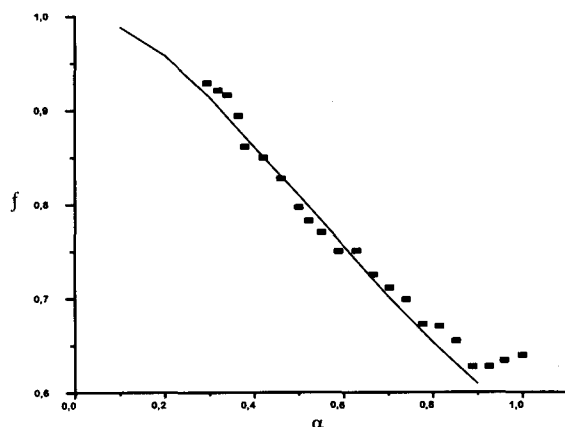


Figura 7. Dependência do fator de transporte, f , com o grau de dissociação. A curva teórica foi obtida usando a equação (26) e o valor médio da densidade de carga encontrado no ajuste do pK aparente.

CONCLUSÕES

O presente trabalho rediscutiu o modelo de cela e a equação de Poisson-Boltzmann aplicando-a à análise de dados experimentais de titulação potenciométrica e condutimétrica. Como enfatizado no texto a EPB tem sido largamente aplicada na análise de propriedades coligativas e de transporte de soluções polieletrólíticas, por ser um modelo de fácil trato computacional, embora isso se torne possível devido as drásticas simplificações introduzidas. Assim, a secção de resultados teóricos foi introduzida mais por completude no sentido de deixar o trabalho mais didático e autoconsistente.

Os resultados apresentados indicam que o modelo de cela e a EPB constituem um modelo útil para estudar a distribuição iônica em soluções aquosas de polieletrólitos, especialmente na interpretação de titulações potenciométrica e condutimétrica de poliacidos fracos. É importante lembrar que a dissociação destes poliacidos é uma das aplicações mais críticas deste e de outros modelos de solução polieletrólítica. Vale comentar que os valores de pK_0 são sempre ajustáveis através de extrapolação para $\alpha \rightarrow 0$. A EPB fornece uma base teórica para esse procedimento.

O parâmetro crítico da teoria é a distância de menor aproximação dos íons ao polímero. Este parâmetro, como discutido, representa mais que a mera soma dos raios dos diversos

componentes hidratados, refletindo, numa espécie de média, um conjunto complexo de interações. É de se esperar que com os avanços no entendimento de sistemas líquidos e soluções de macromoléculas, seja usando a formulação estatística ou simulação computacional, ele possa ser melhor entendido. Isto não impede que, através da escolha criteriosa deste parâmetro, o modelo auxilie na interpretação de uma ampla gama de resultados experimentais, alguns deles discutidos neste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Morawetz, H.; "Macromolecules in Solution", Intersciences, N. York, (1975), cap 7.
2. Cesaro, A.; *J. Them. Analys.*, (1991), **37**, 1851.
3. Poland, D.; Scheraga, H. A.; "Helix Coil Transition in Biopolymers" Academic Press, N. York, (1970), cap 6.
4. Dill, K.; Nall, B.; (1992) "Conformation and Forces in Protein Folding", AAAS, N. York.
5. Manning, G. S.; *Cell Biophys.*, (1986), **7**, 57.
6. Oosawa, F.; "Polyelectrolytes", Marcel Dekker, N. York, (1971).
7. Manning, G. S.; *Quart. Rev Biophys.*, (1979), **11**, 179.
8. Manning, G. S.; *J. Phys. Chem.*, (1981), **85**, 870.
9. Katchalsky, A.; *Pure Appl. Chem.*, (1971), **26**, 270.
10. Katchalsky, A.; Alexandrowicz; Kedem, O.; in "Chemical Physics of Ionic Solutions" ed. B. E. Conway e R.G. Barradas. Wiley, N. York, (1964).
11. Anderson C. F.; Record, M.T. Jr.; *Ann. Rev. Phys. Chem.*, (1982), **33**, 191.
12. Mandel, M.; *J. Phys. Chem.*, (1992), **96**, 3934.
13. Odijk, T.; *Macromolecules*, (1979), **12**, 51.
14. Fixman, M.; *J. Phys. Chem.*, (1979), **70**, 4995.
15. Rice, S. A.; Nagasawa, M.; "Polyelectrolyte Solutions", Academic Press, N. York, (1961), cap 7.
16. Sharp, K. A.; Honig, B. J.; *Phys. Chem.*, (1990), **94**, 7684.
17. Cesàro, A.; Paoletti, S.; Benegas, J. C.; *Biophys. Chem.*, (1991), **39**, 1.
18. Cesàro, A.; Paoletti, S.; Guidugli, S.; Benegas, J. C.; *Biophys. Chem.*, (1991), **39**, 9.
19. Vriend, G.; *J. Mol. Graphics*, (1990), **8**, 52.
20. Mills, P.; Anderson, C. F.; Record, M. T. Jr.; *J. Phys. Chem.*, (1986), **90**, 6541.
21. Kotin, L.; Nagasawa, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1961), **83**, 1026.
22. Dubin, P. L.; O'Connor, F.; Farris, L. A.; Brant, D. A.; "Thermodynamic Characterization of a Polymer Helix-Coil Transition using Ion Titration: A Physical Chemistry Laboratory Experiment, Preprint, U. California.
23. Cesàro, A.; Delben, F.; Paoletti, S.; *Int. J. Biol. Macromol.*, (1990), **12**, 170.
24. Walkinshaw, M. D.; Arnott, S.; *J. Mol. Biol.*, (1981), **153**, 1055.
25. Thibault, J. F.; Rinaudo, M.; *Biopolymers*, (1985), **24**, 2131.
26. Ravanat, G.; Rinaudo, M.; *Biopolymers*, (1985), **24**, 2131.
27. Cesàro, A.; Ciana, A.; Delben, F.; Manzini, G.; Paoletti, S.; *Biopolymers*, (1982), **21**, 431.
28. Marcus, R. A.; *J. Chem. Phys.*, (1955) **23**, 1057.

Publicação financiada pela FAPESP