

## 4. Resultados e Discussão

A caracterização dos filmes foi realizada com base na análise das isotermas de pressão de superfície ( $\pi$ -A) e de potencial de superfície ( $\Delta V$ -A).

Uma das formas de avaliar as propriedades dos filmes de Langmuir é pela medida da pressão de superfície (em  $\text{mN m}^{-1}$ ) em função da área disponível por molécula (em  $\text{\AA}^2$ ), que é observada na isoterma  $\pi$ -A. Os primeiros experimentos tinham como objetivo observar a atividade dos aminoácidos estudados na interface sem a presença do surfactante ácido esteárico, por meio da análise das isotermas  $\pi$ -A. Em todos os experimentos em que não foi adicionado o filme de ácido esteárico, o valor de área por molécula foi calculado utilizando como base um filme de ácido esteárico a partir de 10  $\mu\text{L}$  de solução de 0,002  $\text{mol L}^{-1}$  de ácido esteárico. Esperava-se que aminoácidos com estruturas químicas semelhantes, solubilidades próximas ou valores próximos na escala de hidrofobicidade pudessem apresentar comportamentos similares em relação à atividade superficial.

Assim, cada solução aquosa de aminoácido ( $C= 0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ) foi adicionada a cuba em diferentes experimentos, onde a interface ar-solução aquosa foi submetida a uma compressão constante de 5  $\text{mm min}^{-1}$ . A nomenclatura *interface ar-solução aquosa* está sendo utilizada no texto, pois a subfase não é água pura. Desta forma, o termo *interface ar-água* não se aplica nesta dissertação. Apesar disto, preferiu-se utilizar a nomenclatura *interface ar-água* no título da dissertação pois é utilizada em toda literatura. A posição de 50 mm (em relação à posição inicial das barreiras) foi escolhida como alvo para que fosse atingida uma pressão de superfície a mais alta possível, porém, sem que ocorresse o contato das barreiras com o papel de filtro utilizado como sensor na eletrobalança. As isotermas  $\pi$ -A obtidas nestes experimentos estão representadas na Figura 24.

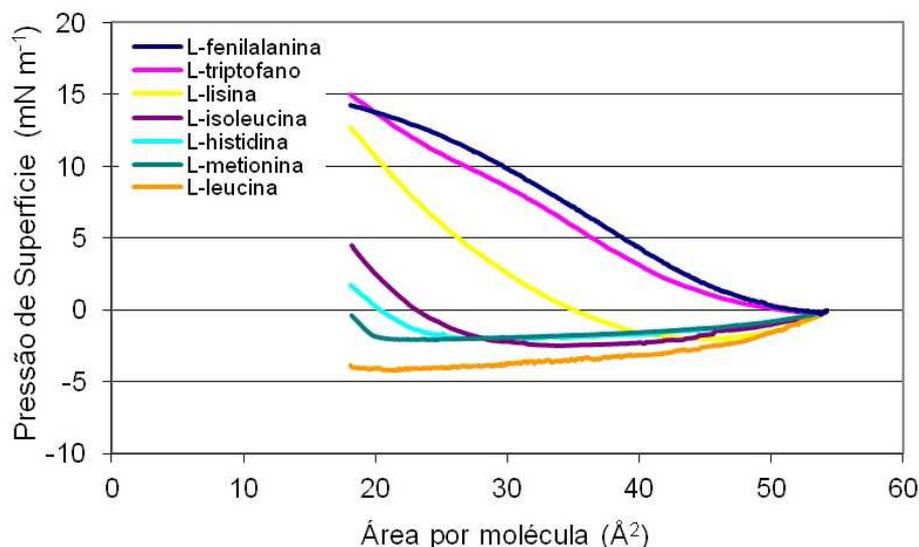


Figura 24. Isotermas  $\pi$  –A (1 compressão) de soluções  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de aminoácidos, sem presença de ácido esteárico. A área por molécula é calculada utilizando como base um filme de ácido esteárico a partir de  $10 \mu\text{L}$  de solução  $0,002 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido esteárico.

Na figura 24, pode-se observar que há diferentes comportamentos entre as soluções aquosas de aminoácidos em relação a variação da pressão de superfície. Nesta concentração de  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ , pode-se distinguir três grupos de aminoácidos nessa figura: os de atividade superficial alta, que são L-Fenilalanina, L-Triptofano e L-Lisina, os de atividade intermediária, que são L-Isoleucina, L-Histidina e L-Metionina e o aminoácido de atividade superficial baixa, que é a L-Leucina.

Nota-se que a L-Fenilalanina, o L-Triptofano e a L-Lisina apresentam atividade superficial alta, visto que são as substâncias que mostram um aumento considerável na pressão de superfície ao longo da compressão. Em contrapartida, a L-Isoleucina, a L-Histidina e a L-Metionina apresentaram uma diminuição em suas pressões de superfície no início da compressão e um leve aumento na pressão de superfície para valores de área por molécula próximos ao valor da área-alvo. A substância que apresentou um perfil mais atípico foi a L-Leucina, que teve seus valores de pressão de superfície cada vez menores quanto menor era o valor de área por molécula. Como uma diminuição na pressão de superfície não era esperada, o experimento foi repetido mais duas vezes, a fim de descartar a hipótese de possíveis erros experimentais, porém, o resultado se manteve.

Para tentar explicar os comportamentos na atividade superficial dos aminoácidos consultou-se os valores de escala de hidrofobicidade de Kyte e Doolittle, que estão apresentados na Tabela 2 e a solubilidade desses aminoácidos em água, a 25 °C (Tabela 3).

No estudo da literatura (Griffith *et al.*, 2012), foi discutido que a L-Fenilalanina é um dos aminoácidos de ocorrência natural que possui um dos maiores índices de hidrofobicidade (2,8 na escala de Kyte e Doolittle, 1982). Apesar de ser suficientemente solúvel em água, a L-Fenilalanina consegue apresentar atividade superficial grande uma vez que suas moléculas tendem a adsorver na interface, devido ao efeito de hidrofobicidade. O mesmo comportamento pode ser observado pelo L-Triptofano que, de acordo com (Nozaki e Tanford, 1971; Bull e Breese, 1974; White e Wimley, 1998), é um dos aminoácidos mais hidrofóbicos existentes.

A L-Lisina, apesar de ter grande solubilidade em água e ser pouco hidrofóbica, apresentou atividade superficial grande. Esse aminoácido apresenta valores de energia de Gibbs interfacial positiva, 2,80 kcal mol<sup>-1</sup> (escala de White e Wimley, 1998) e índice de hidropatia -3,9 na escala de (Kyte e Doolittle, 1982). Isso poderia ocorrer devido alguma dificuldade das moléculas de água de solvatar a cadeia hidrocarbônica (com quatro carbonos) da L-Lisina.

Os aminoácidos que apresentaram atividade superficial intermediária (L-Isoleucina, L-Histidina e L-Metionina) possuem hidrofobicidade intermediária, segundo a escala de hidrofobicidade de (White e Wimley, 1998) e grande solubilidade em água (entre 0,27 a 0,34 mol L<sup>-1</sup>), o que explica o fato desses compostos não terem tanta afinidade com a interface ar-solução aquosa, o que é percebido ao se comprimir o filme até valores de área por molécula muito menores. É provável que o fato de a pressão de superfície aumentar somente próxima à posição-alvo seja porque, ao comprimir ao máximo o filme, o efeito da hidrofobicidade seja mais efetivo que o efeito da solubilidade, devido a uma maior dificuldade de solvatação dessas cadeias em valores menores de área por molécula, fazendo com que as moléculas de aminoácidos adsorvam na superfície da água. De fato, seria importante utilizar uma cuba de Langmuir maior para fazer uma compressão maior do filme, o que não foi possível com a cuba existente em nosso laboratório.

A L-Leucina apresentou um perfil atípico, visto que é um aminoácido que apresenta hidrofobicidade razoavelmente alta, segundo a escala de hidrofobicidade de (White e Wimley, 1998), e solubilidade próxima à da L-Fenilalanina ( $0,18 \text{ mol L}^{-1}$ ). Por essas informações, pode-se pensar que as moléculas de L-Leucina tenderiam a adsorver na interface ar-solução aquosa. No entanto, como foi visto na Figura 24, esse aminoácido é o que apresenta valores baixos de pressão de superfície, que se tornam ainda menores, quanto menor o valor de área por molécula.

De acordo com (Glinski *et al.*, 2000), a existência de um grupo hidrofóbico bem definido na molécula de L-Leucina sugere a formação de clatratos de água em forma de gaiola ao redor da estrutura do aminoácido, a qual aumenta de tamanho quanto maior a hidrofobicidade do mesmo. Ou seja, quanto menor o valor de área por molécula, mais hidrofóbica torna-se a estrutura, de forma que os clatratos de água tornem-se maiores. Outra explicação possível seria a formação de aglomerados do tipo micelas solúveis em água, diminuindo assim a pressão de superfície.

Os experimentos de potencial de superfície foram realizados a fim de complementar a caracterização dos filmes de Langmuir, pela medida da variação do potencial de superfície (em Volts) com a diminuição da área ocupada por molécula (em  $\text{Å}^2$ ). No entanto, foi impossível realizar experimentos com as soluções de aminoácidos, sem o filme de ácido esteárico, pois a variação do potencial de superfície foi muito pequena durante a compressão do filme. Portanto, os experimentos de potencial de superfície foram realizados com adição de solução de ácido esteárico.

Nos experimentos de potencial de superfície foi utilizada a mesma quantidade de ácido esteárico em todos os filmes de Langmuir de forma a estabelecer uma comparação entre os aminoácidos. Com a finalidade de observar a reprodutibilidade dos experimentos de potencial de superfície nos filmes, foram realizados dois experimentos para cada aminoácidos, para observar a reprodutibilidade dos mesmos e os resultados reprodutíveis foram apresentados nos itens a seguir.

## 4.1. Aminoácidos com grupos *R* aromáticos (Grupo I)

### 4.1.1. Pressão de Superfície

No experimento em que foi utilizada a solução de L-Fenilalanina sem adição de ácido esteárico, observou-se que a pressão de superfície aumentou de forma perceptível a partir de valores de área em torno de  $45 \text{ \AA}^2$  por molécula, como pode ser observado na Figura 24, chegando a uma pressão de superfície em torno de  $14 \text{ mN m}^{-1}$ . Posteriormente, foram realizados experimentos de ciclos de compressão-expansão em soluções  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Fenilalanina para evidenciar a adsorção no filme de ácido esteárico.

Nos experimentos, foram utilizados  $10 \text{ \mu L}$  (Experimento A) e  $15 \text{ \mu L}$  (Experimento B) de solução de ácido esteárico. Ao espalhar  $10 \text{ \mu L}$  de ácido esteárico, observou-se um aumento significativo na pressão de superfície, que atingiu o valor de  $10,62 \text{ mN m}^{-1}$  logo nos primeiros segundos, valor esse que é próximo a pressão de superfície máxima atingida no experimento anterior de compressão da solução de L-Fenilalanina, sem ácido esteárico (Figura 24). Após vinte minutos desde a adição do ácido esteárico, a pressão de superfície foi de  $15,00 \text{ mN m}^{-1}$ .

No experimento B, o valor de pressão de superfície observado ao espalhar  $15 \text{ \mu L}$  de ácido esteárico ( $11,93 \text{ mN m}^{-1}$ ) foi próximo ao valor observado quando foram espalhados  $10 \text{ \mu L}$  de ácido esteárico no experimento descrito anteriormente. Ou seja, modificando a quantidade de ácido esteárico espalhada na solução de L-Fenilalanina não houve uma mudança significativa nos resultados de pressão de superfície. Após vinte minutos, os experimentos foram iniciados.

Foram realizados dez ciclos de compressão-expansão em cada experimento, sendo que somente as compressões foram representadas no gráfico para maior clareza. As isotermas  $\pi$ - $A$  referentes aos filmes formados por solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Fenilalanina com  $10 \text{ \mu L}$  e  $15 \text{ \mu L}$  de solução de ácido esteárico estão representadas na Figura 25 e Figura 26, respectivamente.

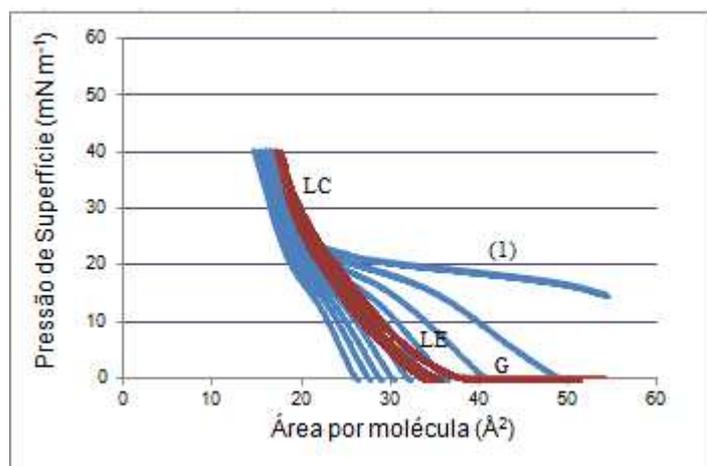


Figura 25. Isotermas  $\pi$ -A (10 ciclos) de 10  $\mu$ L de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol L<sup>-1</sup> de L-Fenilalanina. — Ácido esteárico com L-Fenilalanina — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

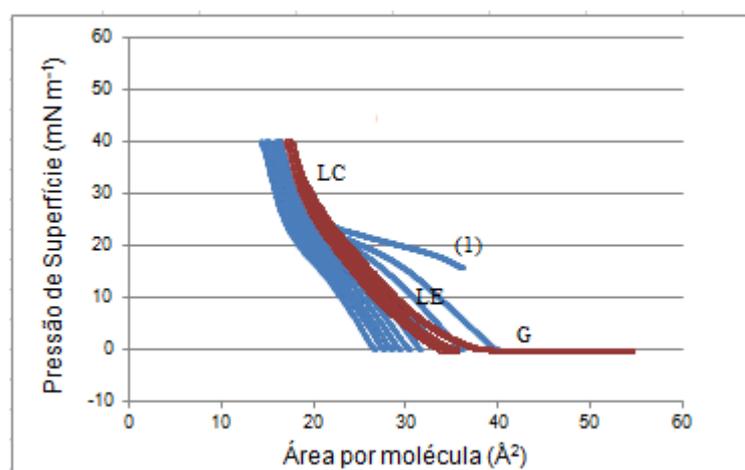


Figura 26. Isotermas  $\pi$ -A (10 ciclos) de 15  $\mu$ L de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol L<sup>-1</sup> de L-Fenilalanina. — Ácido esteárico com L-Fenilalanina — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

Observa-se uma perturbação no filme de ácido esteárico pela presença da L-Fenilalanina, evidenciada pelo desaparecimento da fase líquido-condensada característica de ácido esteárico (Figuras 25 e 26). A presença da L-Fenilalanina modifica o filme de ácido esteárico mudando até o valor de área por molécula correspondente a transição de fase gasosa-líquido expandida (20 Å<sup>2</sup>), em relação ao filme de ácido esteárico apenas (em torno de 33 Å<sup>2</sup>), como pode ser observado na curva (1), correspondente à primeira compressão. Considera-se que há as fases gasosa e líquido-expandida no filme de L-Fenilalanina com ácido esteárico, pois

inicialmente há a formação do filme. Mesmo ainda não existindo organização do filme, a fase inicial é chamado de fase gasosa. Não significa, porém, que interação entre as moléculas de L-Fenilalanina e ácido esteárico nessa fase é nula.

Para valores menores de área por molécula, as isotermas assemelham-se à isoterma do ácido esteárico, o que indica que a L-Fenilalanina foi sendo removida da interface, no decorrer das compressões, devido ao fenômeno de colapso hidrofóbico prematuro descrito por (Griffith *et al.*, 2013). Como o grupo hidrofóbico (grupo fenil) da L-Fenilalanina se insere entre algumas moléculas de ácido esteárico, pode-se formar agregados mais solúveis na subfase aquosa e não se mantêm na interface. Observa-se histerese, pois as moléculas de L-Fenilalanina são removidas da interface, deslocando as isotermas para valores menores de área por molécula, a cada compressão.

O comportamento das isotermas  $\pi$ -A no experimento A de ciclos de compressão-expansão foi reproduzível, como pode ser visto nas isotermas  $\pi$ -A do experimento B (Figura 26). Também houve desaparecimento da fase líquido-condensada do filme de ácido esteárico. Pode-se perceber, nos dois experimentos, que houve diminuição da pressão de colapso, que ocorre em torno de 55 mN m<sup>-1</sup> por molécula, pois o experimento só foi viabilizado com a limitação da pressão máxima (alvo) de 40 mN m<sup>-1</sup>.

Os mesmos procedimentos foram realizados para o filme de ácido esteárico sobre solução de L-Triptofano. Após esperar os 20 minutos necessários para evaporação do clorofórmio, conforme foi feito para a L-Fenilalanina, foi dado início ao Experimento A. Foram realizados dez ciclos de compressão-expansão, sendo a pressão de superfície máxima de 40 mN m<sup>-1</sup>, pelos mesmos motivos expostos para o L-Fenilalanina. As isotermas  $\pi$ -A do Experimento A (com 10  $\mu$ L de solução de ácido esteárico) estão apresentadas na Figura 27. Em seguida, realizou-se o Experimento B, utilizando 15  $\mu$ L de solução de ácido esteárico, cujos resultados estão na Figura 28.

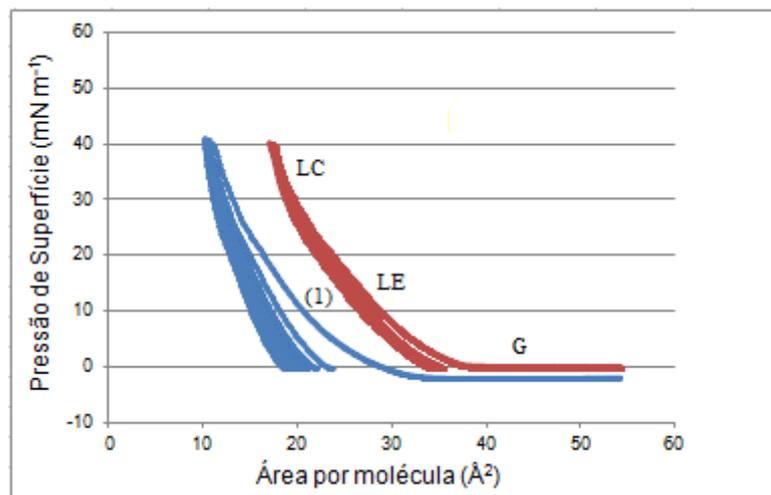


Figura 27. Isotermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Triptofano; — Ácido esteárico com L-Triptofano — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

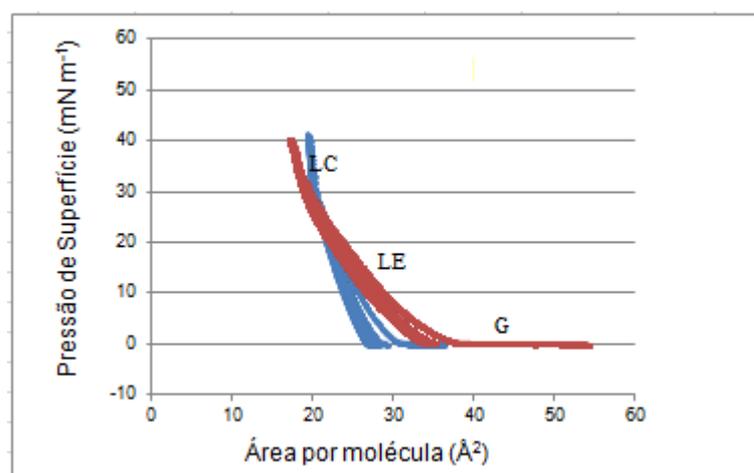


Figura 28. Isotermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 15  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Triptofano; — Ácido esteárico com L-Triptofano — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

No Experimento A, ao espalhar 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico, observou-se um aumento muito discreto na pressão de superfície, que atingiu o valor de  $0,03 \text{ mN m}^{-1}$  logo nos primeiros segundos. Após vinte minutos desde a adição do ácido esteárico, a pressão de superfície decresceu até  $-1,73 \text{ mN m}^{-1}$ . No experimento B, ao espalhar 15  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico, observou-se também aumento na pressão de superfície para  $0,30 \text{ mN m}^{-1}$ , atingindo o valor de  $-0,30 \text{ mN m}^{-1}$  no último minuto antes de serem iniciados os ciclos.

Nos Experimentos A e B, nota-se que a pressão começa a aumentar em  $30 \text{ \AA}^2$  por molécula, diferentemente do que ocorre na isoterma  $\pi$ -A da solução de L-Triptofano  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  sem a presença do filme de ácido esteárico, apresentada na Figura 24, em que o aumento da pressão inicia-se em  $50 \text{ \AA}^2$  por molécula. Assim, como nos experimentos com L-Fenilalanina, houve diminuição da pressão de colapso, porém houve apenas histerese entre as duas primeiras compressões, evidenciando a entrada do L-Triptofano na interface inicialmente e sua manutenção ao longo dos ciclos, diferentemente do que ocorreu com a L-Fenilalanina. Ou seja, não é observado colapso hidrofóbico. Além disso, nota-se a manutenção da fase líquido-condensada, diferentemente do que foi observado nos experimentos com a L-Fenilalanina.

#### 4.1.2 Potencial de Superfície

As isotermas  $\Delta V$ -A correspondentes aos filmes de  $10 \text{ \mu L}$  de solução de ácido esteárico espalhada em subfase aquosa  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Fenilalanina (Figura 29) e  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Triptofano (Figura 30) estão representadas a seguir.

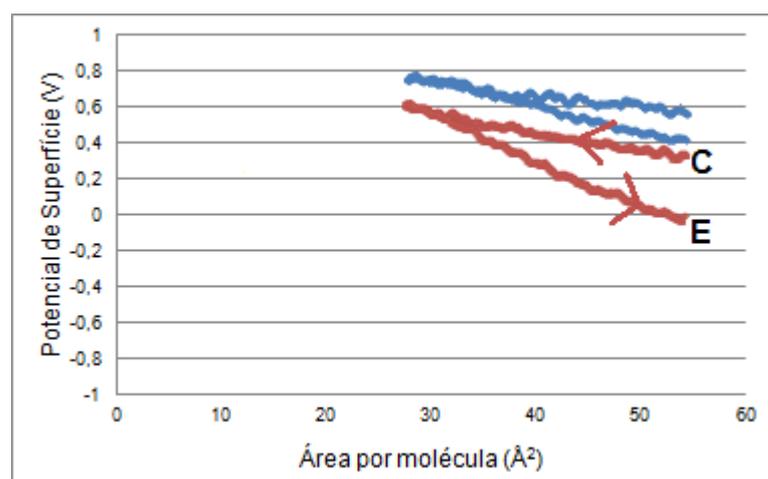


Figura 29. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de  $10 \text{ \mu L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Fenilalanina; ■ Ácido esteárico com L-Fenilalanina ■ Ácido esteárico puro; **C** – compressão / **E**– expansão.

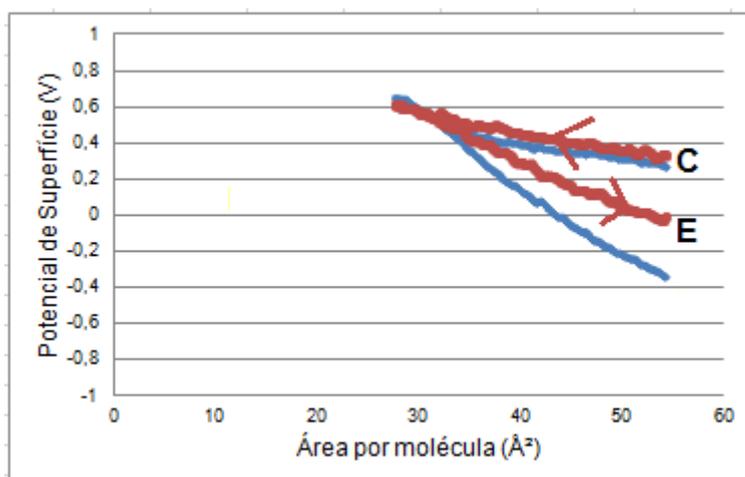


Figura 30. Isothermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Triptofano; — Ácido esteárico com L-Triptofano — Ácido esteárico puro; C – compressão / E – expansão.

Inicialmente, podemos observar que houve um aumento no potencial de superfície no decorrer da compressão do filme. Quando foi formando o filme de ácido esteárico em solução aquosa de L-Fenilalanina o valor de potencial de superfície iniciou-se em 575 mV, ao fim da compressão foi de 777 mV e ao fim da expansão foi de 429 mV (Figura 29). Comparando os valores de potencial de superfície para o filme de ácido esteárico em subfase aquosa e em solução de L-Fenilalanina, nota-se que a variação de potencial é menor na presença de L-Fenilalanina ( $\Delta V = 146$  mV) que a variação de potencial do filme na ausência desse aminoácido ( $\Delta V = 340$  mV), o que reforça os resultados de pressão de superfície, que mostram que a L-Fenilalanina forma agregados solúveis, que não permanecem na interface ao longo dos ciclos de compressão-expansão, diminuindo as cargas na interface.

No experimento referente ao filme de ácido esteárico sobre solução de L-Triptofano 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$ , o valor de potencial de superfície inicial foi de 282 mV, atingindo 628 mV, decrescendo até -333 mV (Figura 30). A variação de potencial de superfície é maior na presença de L-Triptofano ( $\Delta V = 615$  mV) do que na ausência desse aminoácido ( $\Delta V = 340$  mV), mostrando que há um aumento das cargas na interface devido a presença de moléculas de L-Triptofano e confirmando o que foi observado nos resultados de pressão de superfície para filmes de ácido esteárico espalhado em solução aquosa de L-Triptofano 0,02 mol

$L^{-1}$ , ou seja, sem formação de agregados solúveis que foram sendo removidos da interface.

## 4.2.

### Aminoácidos com grupos *R* alifáticos não-polares (Grupo II)

#### 4.2.1.

##### Pressão de Superfície

No experimento em que foi formado o filme de Langmuir apenas com a solução de L-Leucina, observou-se que a pressão de superfície diminuiu e se manteve negativa em toda compressão (Figura 24).

Ao ser realizado o experimento de ciclos de compressão-expansão de filme de ácido esteárico espalhado em soluções  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Leucina, observou-se um aumento na pressão de superfície, que atingiu o valor de  $5,27 \text{ mN m}^{-1}$  logo nos primeiros segundos durante a adição da solução de ácido esteárico. Após vinte minutos desde a adição do ácido esteárico, a pressão de superfície foi de  $7,98 \text{ mN m}^{-1}$ . Após 20 minutos, foi dado início aos ciclos de compressão-expansão, cujas isotermas  $\pi$ -A estão representadas na Figura 31.

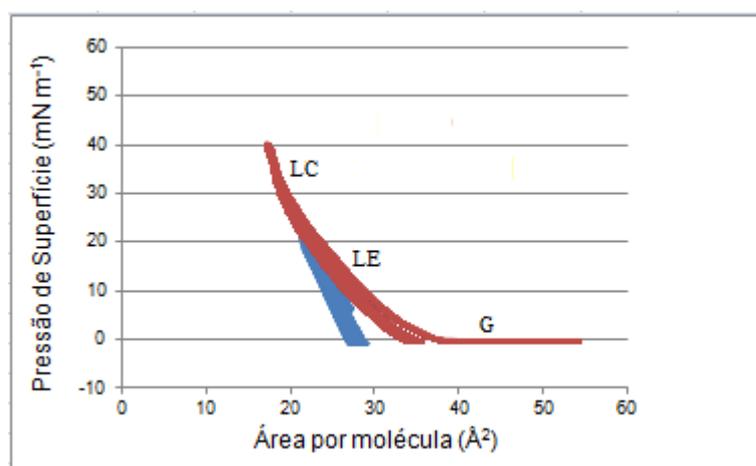


Figura 31. Isotermas  $\pi$ -A (dez compressões) de  $20 \mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Leucina; ■ Ácido esteárico com L-Leucina ■ Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

Foi necessário fixar uma pressão de superfície máxima igual a  $25 \text{ mN m}^{-1}$ , ainda mais baixa do que a que foi fixada para os experimentos com L-Fenilalanina

e L-Triptofano, devido à uma redução ainda maior da pressão de colapso, o que é uma mudança importante na interface. Não é observada histerese, mostrando que a presença da L-Leucina não provoca grandes modificações no filme de ácido esteárico, uma vez que não há uma mudança significativa nos valores de área por molécula no decorrer dos ciclos. Assim como foi observado nos experimentos com L-Fenilalanina, não foi observada a presença da fase líquido condensada característica do filme de ácido esteárico, ou seja, o filme não atinge um estado de organização maior.

No primeiro experimento em que foi formado o filme de Langmuir apenas com a solução de L-Isoleucina sem a presença de ácido esteárico, observou-se que a pressão de superfície diminuiu e se manteve negativa em quase toda compressão e aumentou apenas a partir de valores de área por molécula em torno de  $25 \text{ \AA}^2$ , como pode ser visto na Figura 24. Conforme foi dito anteriormente, a L-Isoleucina possui hidrofobicidade intermediária e grande solubilidade em água, o que explicaria a diminuição na pressão de superfície no início da compressão.

Ao espalhar  $20 \text{ \mu L}$  de solução de ácido esteárico, observou-se um aumento significativo na pressão de superfície, que atingiu o valor de  $13,12 \text{ mN m}^{-1}$  logo nos primeiros segundos. Após vinte minutos desde a adição do ácido esteárico, a pressão de superfície foi de  $9,90 \text{ mN m}^{-1}$ . Em seguida, foram realizados os ciclos de compressão-expansão, cujas isotermas  $\pi$ - $A$  obtidas estão apresentadas na Figura 32.

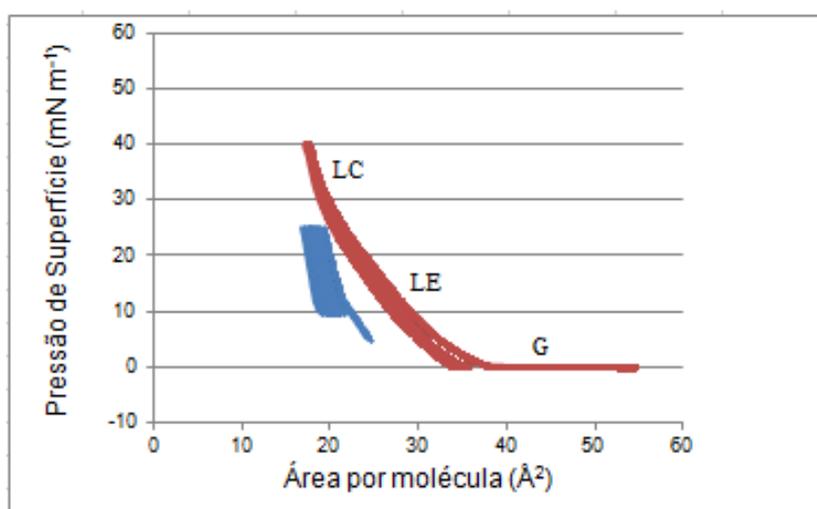


Figura 32. Isotermas  $\pi$ - $A$  (dez compressões) de  $20 \text{ \mu L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Isoleucina; — Ácido esteárico com L-Isoleucina — Ácido esteárico puro. Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

Como pode ser observado na figura 32, assim como a L-Leucina, a L-Isoleucina apresenta um comportamento diferente em relação a L-Fenilalanina, pois não há uma variação grande em valores de área por molécula a cada ciclo, quando a pressão de superfície atinge os valores mínimos. Como L-Isoleucina e L-Leucina são estruturalmente similares, esperou-se que ambas se comportassem de forma semelhante, o que foi confirmado pelos resultados mostrados. Nesse caso, pode-se supor que os efeitos eletrostáticos entre a cabeça polar do ácido esteárico e do aminoácido sejam preponderantes em relação aos efeitos hidrofóbicos, não permitindo que a L-Isoleucina fosse muito ativa na interface e que a mesma interaja apenas com a cabeça polar do ácido esteárico.

A dificuldade para ser atingida a pressão de  $40 \text{ mN m}^{-1}$  (como foi feito para a L-Fenilalanina e para o L-Triptofano), ajuda a confirmar essa hipótese. Foi preciso fixar uma pressão de superfície-alvo muito menor do que a pressão utilizada para os demais aminoácidos para conseguir realizar os dez ciclos completos. Em experimentos preliminares, quando foram feitos os ciclos de compressão-expansão da L-Isoleucina, observou-se que as barreiras estavam quase abertas até o seu limite ao atingir a pressão de superfície igual a zero, o que poderia causar danos ao equipamento. Foi necessário fixar um valor de pressão de superfície mínima ( $10 \text{ mN m}^{-1}$ ) para que as barreiras não chegassem a tocar as laterais da cuba.

No experimento em que foi formado o filme de Langmuir apenas com a solução de L-Metionina, observou-se que a pressão de superfície diminuiu e se manteve negativa em quase toda compressão e aumentou apenas a partir de valores de área por molécula em torno de  $20 \text{ \AA}^2$ , como pode ser visto na Figura 24. Assim como a L-Histidina e a L-Isoleucina, a L-Metionina possui hidrofobicidade intermediária e grande solubilidade em água, o que explicaria a diminuição na pressão de superfície ao longo da compressão.

Foi realizado o experimento de ciclos de compressão-expansão do filme de  $20 \mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhado na interface sobre em solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Metionina. Ao espalhar  $20 \mu\text{L}$  de ácido esteárico, observou-se um aumento sutil na pressão de superfície, que atingiu o valor de  $0,80 \text{ mN m}^{-1}$  nos primeiros segundos. Após 20 minutos desde a adição do ácido esteárico, a pressão

de superfície foi de  $1,16 \text{ mN m}^{-1}$ . Após 20 minutos, foram iniciados os ciclos de compressão-expansão do filme de ácido esteárico sobre a solução de L-Metionina. A pressão de superfície-alvo foi fixada em  $25 \text{ mN m}^{-1}$  já que o filme colapsa em pressões de superfície superiores a esta. A pressão mínima, durante a expansão, foi fixada em  $10 \text{ mN m}^{-1}$  para que não ocorresse a abertura máxima das barreiras. Os resultados estão apresentados na Figura 33.

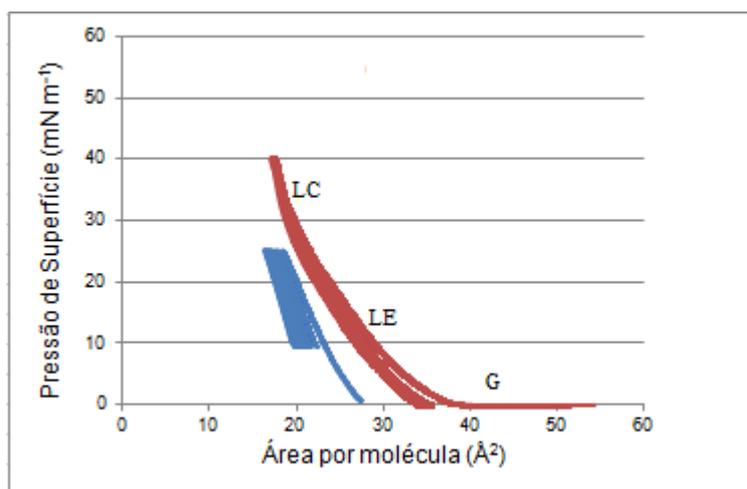


Figura 33. Isothermas  $\pi$ -A (dez compressões) de  $20 \mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Metionina; — Ácido esteárico com L-Metionina — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida ; LC = Líquido condensada.

Como pode ser observado na Figura 33, a L-Metionina apresenta um comportamento parecido com o da L-Leucina e da L-Isoleucina, pois não há uma mudança grande em valores de área por molécula a cada ciclo, quando a pressão de superfície atinge os valores mínimos. Assim, também pode-se supôr que os efeitos eletrostáticos entre a cabeça polar do ácido esteárico e da L-Metionina sejam preponderantes em relação aos efeitos hidrofóbicos que não permite que a L-Metionina seja ativa na interface ar-solução aquosa.

Além disso, foi encontrada a mesma dificuldade para atingir valores de pressão de superfície mais altos (assim como os filmes de ácido esteárico em L-Leucina e em L-Isoleucina), o que contribui corroborar a hipótese de que o ácido esteárico esteja interagindo apenas eletrostaticamente com o aminoácido. Somente foi possível a conclusão de ciclos completos com o valor máximo de pressão de superfície de  $25 \text{ mN m}^{-1}$ , assim como foi observado para os experimentos com L-Leucina e L-Isoleucina.

Nitidamente, observa-se que os três aminoácidos pertencentes ao grupo II apresentam comportamento semelhante, o que indica que a estrutura química não-polar e não carregada desses aminoácidos torna a interação dos mesmos com o ácido esteárico muito diferente da interação entre L-Fenilalanina e ácido esteárico.

#### 4.2.2 Potencial de Superfície

As isotermas  $\Delta V$ -A correspondentes aos filmes de 10  $\mu\text{L}$  de ácido esteárico espalhados de solução 0,02 mol L<sup>-1</sup> de L-Leucina (Figura 34), de L-Isoleucina (Figura 35) e L-Metionina (Figura 36) estão representadas a seguir.

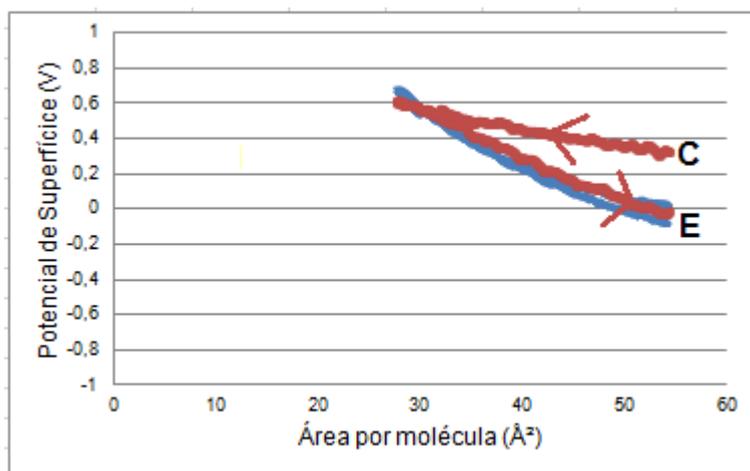


Figura 34. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol L<sup>-1</sup> de L-Leucina; — Ácido esteárico com L-Leucina — Ácido esteárico puro; **C** – compressão / **E**– expansão.

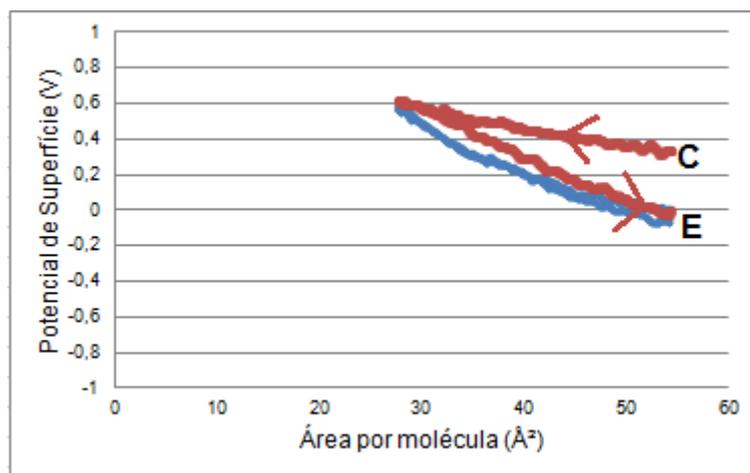


Figura 35. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Isoleucina; — Ácido esteárico com L-Isoleucina — Ácido esteárico puro; C – compressão / E – expansão.

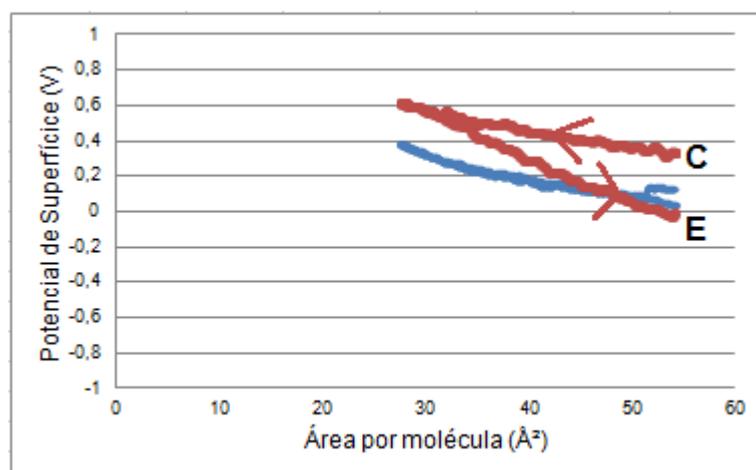


Figura 36. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Metionina; — Ácido esteárico com L-Metionina — Ácido esteárico puro; C – compressão / E – expansão.

No experimento referente ao filme de ácido esteárico sobre solução de L-Leucina 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  (Figura 34), o valor de potencial de superfície inicial foi de 37 mV, atingindo 672 mV, decrescendo até 54 mV. A variação de potencial de superfície é menor na presença de L-Leucina ( $\Delta V = 17$  mV) do que na ausência desse aminoácido ( $\Delta V = 340$  mV), mostrando que não houve uma variação de potencial de superfície significativa, devido à ausência de moléculas de L-Leucina na interface.

Quando o mesmo procedimento foi realizado para a solução de L-Isoleucina 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  (Figura 35), o valor de potencial de superfície inicial foi

de 18 mV, atingindo 568 mV, decrescendo até 52 mV. A variação de potencial de superfície também foi menor na presença desse aminoácido ( $\Delta V = 34$  mV) em relação ao valor para filme de ácido esteárico puro sobre subfase aquosa.

Quando foi formado o filme de ácido esteárico sobre solução de L-Metionina  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 36), o valor de potencial de superfície inicial foi de 44 mV, atingindo 379 mV, decrescendo até 130 mV. Da mesma forma que a L-Leucina e a L-Isoleucina, a variação de potencial de superfície não foi muito alta ( $\Delta V = 86$  mV) e foi menor do que o potencial do filme de ácido esteárico espalhado em subfase aquosa. Dessa forma, nota-se que os três aminoácidos pertencentes ao Grupo II apresentam o mesmo comportamento em relação à variação de potencial de superfície, que se mostrou pequena.

Outro fato importante é que nas isotermas  $\Delta V$ -A dos três aminoácidos, não há histerese, assim como foi observado nos experimentos de pressão de superfície, mostrando que as moléculas desses aminoácidos não alcançam a interface e apenas interagem eletrostaticamente com a cabeça polar do ácido esteárico. Além disso, pode-se observar que os valores iniciais de potencial de superfície em todos os experimentos referentes a esses aminoácidos são muito baixos ( $V < 44$  mV) e são menores que os valores observados no experimento onde há apenas ácido esteárico em subfase aquosa ( $V = 341$  mV).

### 4.3.

#### **Aminoácidos com grupos R positivamente carregados (Grupo III)**

##### 4.3.1.

##### **Pressão de Superfície**

No experimento em que foi formado o filme de Langmuir apenas com a solução de L-Lisina, observou-se que a pressão de superfície diminuiu ligeiramente no início da compressão e aumentou a partir de valores de área por molécula em torno de  $37 \text{ \AA}^2$ , como pode ser visto na Figura 24. Conforme foi dito anteriormente, a L-Lisina é muito solúvel em água e altamente hidrofílica, o que poderia explicar a diminuição na pressão de superfície no início da compressão.

Em seguida, foram realizados experimentos de ciclos de compressão-expansão de filmes de ácido esteárico sobre soluções  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Lisina.

Nos experimentos, foram utilizados 10  $\mu\text{L}$  (Experimento A) e 15  $\mu\text{L}$  (Experimento B) de solução de ácido esteárico espalhada na interface. No Experimento A, ao adicionar 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico, a pressão de superfície aumentou para 8,78  $\text{mN m}^{-1}$ . No Experimento B, foram utilizados 15  $\mu\text{L}$  de ácido esteárico, a fim de verificar a reprodutibilidade dos experimentos. Após vinte minutos, foram iniciados os ciclos de compressão-expansão e os resultados encontram-se na Figura 37 (Experimento A) e Figura 38 (Experimento B).

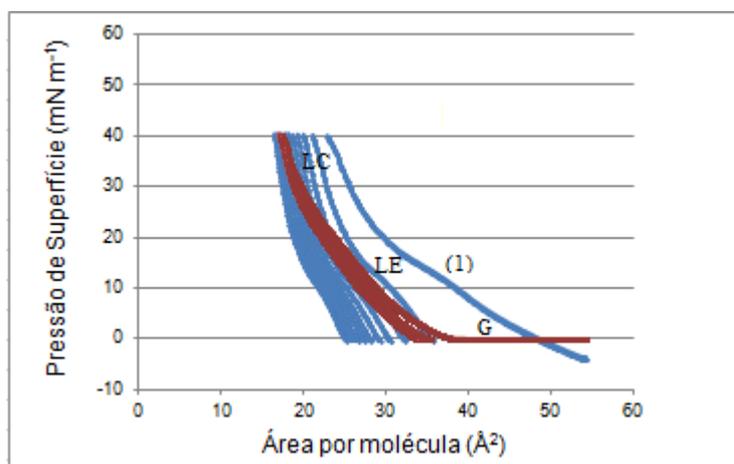


Figura 37. Isothermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02  $\text{mol L}^{-1}$  de L-Lisina; — Ácido esteárico com L-Lisina e — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida ; LC = Líquido condensada.

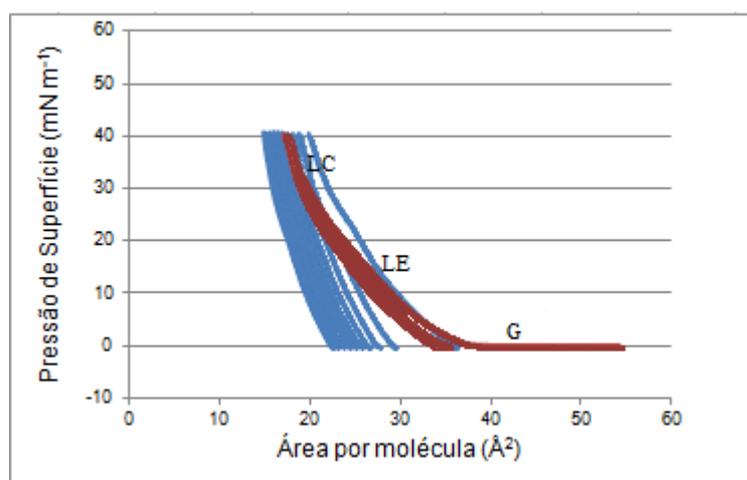


Figura 38. Isothermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 15  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02  $\text{mol L}^{-1}$  de L-Lisina; — Ácido esteárico com L-Lisina e — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida ; LC = Líquido condensada.

Os dados mostram que a L-Lisina rapidamente transfere-se para interface devido a sua atividade superficial, no entanto a mesma deve se solubilizar lentamente na subfase, pois o filme formado não é estável, pelo fato da L-Lisina não possuir nenhum grupo hidrofóbico em sua estrutura química. Observa-se histerese ao longo das compressões, assim como ocorreu com os filmes de ácido esteárico em soluções de L-Fenilalanina, mesmo sendo considerada muito hidrofílica (índice de hidropatia igual a -3,9). Uma hipótese seria o grupo amino terminal da L-Lisina interagir eletrostaticamente com a cabeça polar do ácido esteárico formando micelas anfifílicas que colapsam o filme de ácido esteárico parcialmente. Além disso, a L-Lisina possui solubilidade três vezes maior que a L-Fenilalanina, em água, o que pode contribuir para a solubilização dessas micelas formadas.

No primeiro experimento em que foi formado o filme de Langmuir apenas com a solução de L-Histidina, observou-se que a pressão de superfície diminuiu e se manteve negativa em quase toda compressão e aumentou apenas a partir de valores de área por molécula em torno de  $20 \text{ \AA}^2$  (Figura 24). Conforme foi dito anteriormente, a L-Histidina possui hidrofobicidade intermediária e grande solubilidade em água.

No experimento A, ao espalhar  $10 \text{ \mu L}$  de ácido esteárico na interface, pressão de superfície diminuiu para  $-0,03 \text{ mN m}^{-1}$ , atingindo o valor de  $-0,65 \text{ mN m}^{-1}$ . No experimento B, ao espalhar  $15 \text{ \mu L}$  da solução de ácido esteárico, a pressão de superfície diminuiu para  $-0,59 \text{ mN m}^{-1}$ . Em seguida, foram realizados os ciclos de compressão-expansão em soluções  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Histidina com ácido esteárico, cujas isotermas  $\pi$ -A estão representadas nas Figuras 39 (Experimento A) e Figura 40 (Experimento B).

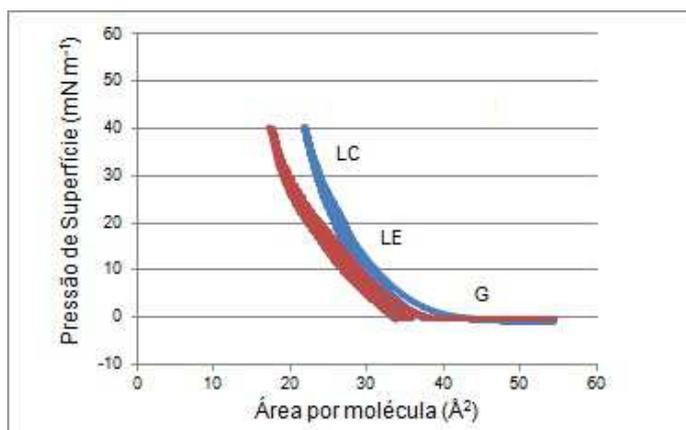


Figura 39. Isotermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Histidina; — Ácido esteárico com L-Histidina — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida; LC = Líquido condensada.

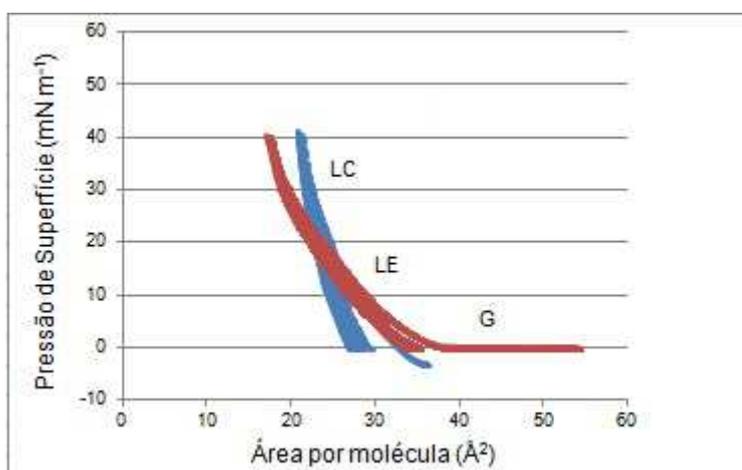


Figura 40. Isotermas  $\pi$ -A (dez compressões) de 15  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de L-Histidina; — Ácido esteárico com L-Histidina — Ácido esteárico puro; Fases: G = Gasosa; LE = Líquido expandida ; LC = Líquido condensada.

As isotermas  $\pi$ -A apontam que a L-Histidina interage com o ácido esteárico de forma diferente da L-Lisina, apesar de serem dois aminoácidos carregados positivamente e serem muito hidrofílicos. Não é observada histerese, mostrando que as moléculas de aminoácido não são removidas da interface ao longo das compressões, o que pode ter relação com a solubilidade da L-Histidina não tão alta quanto a da L-Lisina. Tanto a L-Lisina quanto a L-Histidina causam diminuição na pressão de colapso no filme de ácido esteárico.

### 4.3.2 Potencial de Superfície

As isotermas  $\Delta V$ -A correspondentes aos filmes formados pelo espalhamento de 10  $\mu\text{L}$  solução de de ácido esteárico sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Lisina (Figura 41) e de L-Histidina (Figura 42) estão representadas a seguir:

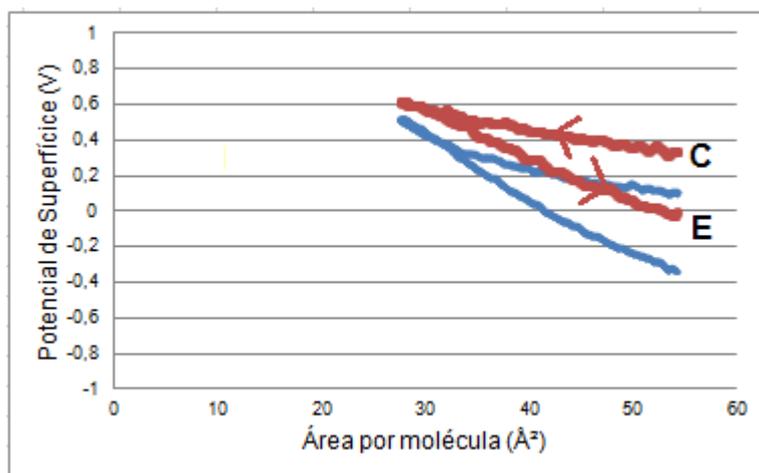


Figura 41. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão - expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Lisina; — Ácido esteárico com L-Lisina — Ácido esteárico puro; C – compressão / E– expansão.

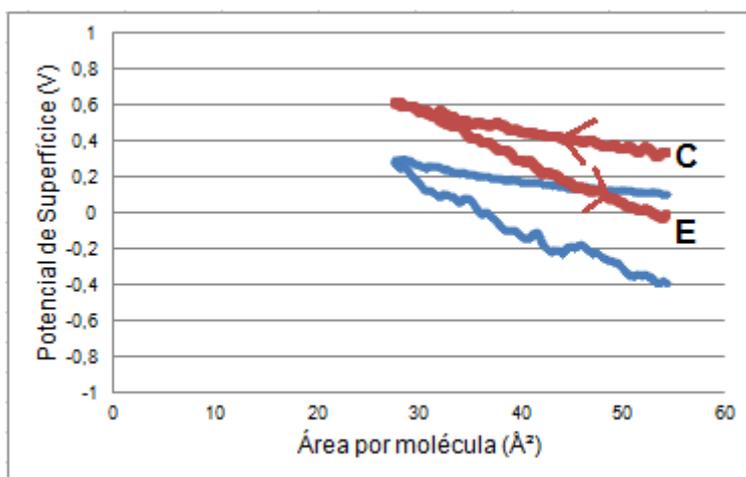


Figura 42. Isotermas  $\Delta V$ -A (dois ciclos de compressão-expansão) de 10  $\mu\text{L}$  de solução de ácido esteárico espalhada sobre uma solução 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  de L-Histidina; — Ácido esteárico com L-Histidina — Ácido esteárico puro; C – compressão / E– expansão.

No experimento referente à L-Lisina, o potencial de superfície inicial foi 108 mV, aumentou até 502 mV e atingiu o valor de -330 mV ao fim da expansão.

Assim, a variação de potencial de superfície foi de 438 mV, maior que o valor observado para o ácido esteárico puro. Da mesma forma, a L-Histidina apresentou variação de potencial de superfície superior ao do ácido esteárico puro, sendo igual a 496 mV. Esse comportamento da L-Lisina e da L-Histidina pode estar associado ao excesso de cargas positivas na interface. Os três sítios com carga (dois positivos e um negativo) tornam esses aminoácidos peculiares em relação aos demais aminoácidos estudados nessa dissertação.