

Análise calorimétrica aplicada a polímeros biológicos

Parte II: Exemplos de aplicações práticas

MARIA HELENA CASIMIRO¹, JOÃO PAULO LEAL^{2,3},
M. HELENA GIL⁴, CARLOS A. NIETO DE CASTRO^{3,*}

Este artigo aborda a importância do conhecimento das propriedades dos polímeros biológicos e apresenta exemplos da aplicabilidade e versatilidade das técnicas calori-

métricas na análise de macromoléculas biológicas. Complementa a Parte I, precedente nesta revista (QUÍMICA 98), sobre Fundamentos Teóricos

Proteínas

As proteínas constituem uma das classes mais importantes de macromoléculas biológicas existentes na natureza. À medida que a utilização de proteínas como agentes terapêuticos e de diagnóstico tem crescido, o estudo do seu comportamento térmico tem ganho particular importância visto que quando retiradas do seu ambiente natural, as proteínas tendem a perder a sua estrutura e actividade biológica. Apesar de desempenharem funções biológicas variadas (enzimas, hormonas reguladoras, constituintes das membranas biológicas e de parte do material cromossómico, etc.), todas elas contêm o mesmo conjunto de vinte aminoácidos. Contudo, estes por si só não possuem actividade biológica intrínseca. A actividade biológica das proteínas é o resultado da sequência específica dos aminoácidos nas cadeias polipeptídicas, assim como da estrutura tridimensional resultante do estabelecimento de ligações entre os grupos de alguns dos seus aminoácidos.

Deste modo, alterações subtis no ambiente químico envolvente, tais como, variações de pH, temperatura ou força iónica, facilmente conduzem à quebra das interações fracas que estabilizam as estruturas secundária e quaternária, o que se traduz na desnaturação da proteína.

Desnaturação de proteínas

O processo de desnaturação é definido como uma transição durante a qual a distribuição espacial do polipeptídeo muda para outra mais desordenada sem que haja ruptura das ligações covalentes primárias.

O recurso à técnica de DSC, normal e de elevada sensibilidade (HSDSC – *High Sensitivity Differential Scanning Calorimetry*), possibilita a investigação directa da desnaturação de proteínas em solução. No entanto nem sempre é possível utilizar, com sucesso, métodos calorimétricos nestes estudos, como quando ocorre precipitação após a desnaturação, onde não é por vezes possível obter resultados reprodutíveis.

Uma característica comum nos termogramas de desnaturação de proteínas é a diferença na capacidade calorífica entre os estados inicial e final da proteína, o que reflecte o facto de os estados inicial e final da proteína em solução serem fisicamente distintos.

Em termos simplistas, as reacções de desnaturação de proteínas podem ser classificadas em dois grupos. No primeiro caso, o processo de desnaturação ocorre entre dois estados, o estado nativo e o desnaturado, enquanto que no segundo caso as proteínas exibem mecanismos de desnaturação mais complexos envolvendo vários estados intermediários.

O critério para definir se uma reacção de desnaturação de uma proteína pode ser descrita de acordo com o modelo dos “dois-estados” baseia-se na equação de van't Hoff. Se os dados obtidos se ajustarem à equação de van't Hoff considera-se que durante o processo de desnaturação da proteína em estudo ocorre apenas uma transição entre dois estados [1, 2]. A constante de equilíbrio K_{eq} entre as fracções da proteína no estado nativo (N) e no estado desnaturado (D) determina-se a partir da área fraccional α da curva de transição até à temperatura T , em relação à área total acima da linha de base [1]:

$$K_{eq} = \frac{[D(T)]}{[N(T)]} = \frac{\alpha}{1 - \alpha} \quad (1)$$

A dependência da constante de equilíbrio, com a temperatura entre as fracções da proteína na conformação nativa e desnaturada, K_{eq} , é obtida pela equação:

¹ Departamento de Física, Instituto Tecnológico e Nuclear, 2686-953 Sacavém, Portugal

² Departamento de Química, Instituto Tecnológico e Nuclear, 2686-953 Sacavém, Portugal

^{3,*} Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 1749-016 Lisboa; e-mail: ccastro@fc.ul.pt

⁴ Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Pólo II Pinhal de Marrocos, 3030-290 Coimbra, Portugal

$$\frac{d \ln K_{eq}}{dT} = -\frac{\Delta H}{R} \quad (2)$$

Relkin [1] mostrou a utilidade da técnica de DSC para avaliar a estabilidade termodinâmica conformacional de proteínas utilizando o exemplo de duas proteínas globulares (β -lactoglobulina e α -lactalbumina) com diferentes comportamentos na desnaturação por aquecimento. A β -lactoglobulina apresenta diferentes parâmetros termodinâmicos de desnaturação a pH 3.5 e a pH 7, enquanto a α -lactalbumina não apresenta pico de transição a pH ácido pois nessas condições já se encontra desnaturada.

Yu Ignatieva *et al.* [3] determinaram as condições e as diferenças entre a desnaturação do colagénio de tecido conjuntivo induzida respectivamente por radiação laser de infra-vermelhos e por aquecimento “usual”, recorrendo à técnica de DSC.

Actualmente, o aquecimento local por laser constitui uma nova abordagem na cirurgia clínica utilizada principalmente a nível da cirurgia estética, nomeadamente na remodelação de cartilagens. A matriz deste tipo de tecido conjuntivo é contudo diferente da do tecido conjuntivo fibroso, sendo constituída principalmente por uma rede tri-dimensional de fibrilas de colagénio e de uma rede/agregados de glicosaminas ligadas a proteínas (proteoglicanos). Quando sujeito a um processo de aquecimento, o colagénio sofre desnaturação ou transformação da sua estrutura nativa para uma configuração mais irregular e enrolada. No caso de tecido conjuntivo fibroso, a desnaturação total do colagénio ocorre à mesma temperatura para o aquecimento “usual” e para o aquecimento provocado por exposição à radiação infravermelha. Relativamente ao colagénio presente nas cartilagens, ocorre apenas a sua desnaturação parcial, uma vez que os proteoglicanos actuam como termoestabilizadores das moléculas de fibrilas de colagénio.

Transições de fase

Como anteriormente referido, a compreensão detalhada da estrutura das macromoléculas biológicas assume particu-

lar importância na concepção de novas aplicações biomédicas e na obtenção de moléculas modificadas para aplicação a nível industrial. Contudo, obter cristais de proteínas de elevada qualidade para determinar a sua estrutura continua a ser, em geral, bastante difícil. A possibilidade de prever as condições em que ocorre a nucleação e cristalização de proteínas a partir de uma solução seria um passo bastante importante na compreensão do mecanismo de cristalização destas macromoléculas.

Para caracterizar a cristalização de proteínas, é necessário em primeiro lugar obter informação acerca do comportamento das proteínas em solução e o seu diagrama de fases.

Lu *et al.* [4] apresentaram uma nova abordagem para o estudo da formação de estruturas e separação de fase líquido-líquido de soluções de proteínas. Para isso recorreram à micro calorimetria diferencial de varrimento (μ -DSC) para estudar soluções de lisozomas. O facto de utilizarem soluções com baixas concentrações permitiu distinguir agregação ou formação de uma rede de nucleação e crescimento de cristais, e o uso de elevadas concentrações de lisozomas possibilitou o estudo da separação de fases líquido-líquido através da medição da temperatura de *cloud-point*. Os resultados mostram que para soluções de baixas concentrações de lisozomas, a primeira estrutura é constituída por pequenos agregados (unidades), e que estas podem ser transformadas numa segunda estrutura constituída por agregados de maiores dimensões (*clusters*). A força responsável por esta transformação é a formação de interacções hidrofóbicas entre as moléculas de lisozomas, que perdem água à superfície (hidrofobicidade). Tanto para as soluções diluídas, como para as soluções concentradas de lisozomas, ficou demonstrado que as fronteiras sólido-líquido e líquido-líquido podem ser deslocadas para temperaturas superiores ou inferiores através da variação da força iónica e da adição de aditivos (glicerol por exemplo).

Interacções proteína-proteína

É possível também utilizar a calorimetria para estudar interacções entre proteínas através do ajuste dos dados obtidos a modelos adequados.

O processo através do qual um polipeptídeo assume a sua conformação nativa funcional é bastante complexo e tem algumas semelhanças com o processo das interacções proteína-proteína, semelhança essa expressa pelos parâmetros termodinâmicos que a descrevem (temperatura, solvente, formação de pontes de hidrogénio, interacções de van der Waals, etc.) e que condicionam a sua estabilidade. No entanto, enquanto que o processo de naturalização das proteínas parece estar particularmente dependente dos seus resíduos hidrofóbicos, é menos claro qual a força dominante nas interacções proteína-proteína. A componente energética de ambos os processos também partilha de algumas semelhanças, sendo a mais notável a elevada variação negativa que ocorre na capacidade calorífica. Assim, estudos termodinâmicos do processo de naturalização das proteínas por métodos directos e indirectos suportam a tese de que um decréscimo na capacidade calorífica é indicativo da diminuição à exposição a uma superfície hidrofóbica. Este facto ainda não pode ser extrapolado para a formação de complexos proteína-proteína, reforçando-se apenas que as forças envolvidas em ambos os processos, se bem que do mesmo tipo, poderão desempenhar papéis diferentes em cada um dos processos [5].

A calorimetria isotérmica de titulação (ITC) permite medir directamente a energia associada a uma reacção química através da mistura de dois componentes. Deste modo, recorrendo a esta técnica, é possível medir directamente a energia de ligação entre duas proteínas num dado tampão, sendo que a única limitação é que a variação da entalpia da ligação se encontre dentro dos limites de detecção da técnica. Resultados provenientes de reacções em diferentes tampões poderão fornecer informação acerca do efeito do solvente na reacção em estudo.

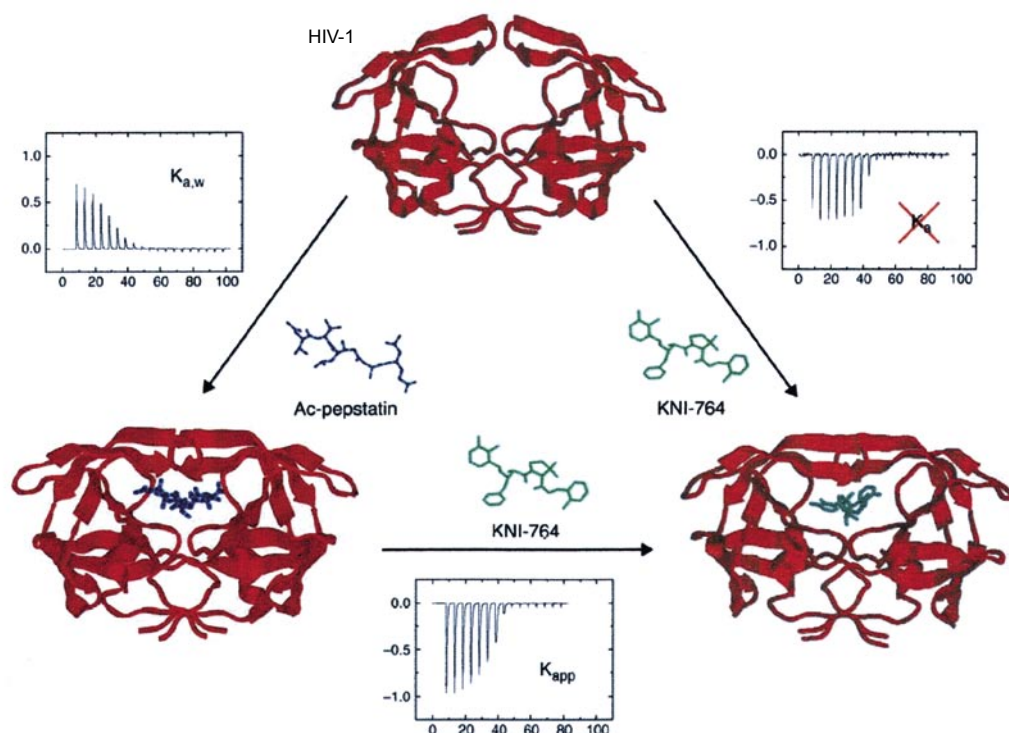


Figura 1 Implementação da titulação calorimétrica competitiva no estudo da protease HIV-1 (adaptado de [6]).

Como uma aplicação da ITC, Pierce et al. [5] observaram a interação do antígeno citocromo c (cyt c) com dois anticorpos, 2B5 e 5F8. A 25°C ambos os anticorpos apresentam valores da variação da energia de Gibbs, da entalpia e da entropia de ligação ao antígeno (ΔG° , ΔH° e ΔS°) praticamente idênticos. Contudo, os dois antígenos mostram dependências diferentes da entalpia e entropia de ligação com a temperatura. Estas dependências diferentes conduzem a variações diferentes da capacidade calorífica na ligação antígeno-anticorpo e a efeitos diferentes de protonação. Assim, e relativamente às entalpias de ligação em função da temperatura e da solução tampão utilizada, as diferenças observadas sugerem diferentes modos de ligação. A interação anticorpo 2B5-cyt c foi acompanhada por uma variação elevada da capacidade calorífica e pelo ganho de um próton na rede, enquanto que, para a interação anticorpo 5F8-cyt c, tal não foi observado.

Nos casos em que a energia associada à interação proteína-proteína não é mensurável, é possível otimizar o mé-

todo recorrendo a ensaios de titulação competitiva. Leavitt e Freire [6] utilizaram esta técnica no estudo da inibição da protease HIV-1. A Figura 1 apresenta de forma esquemática o procedimento implementado pelos autores. A constante de associação também designada por afinidade da ligação (K_a) do inibidor estudado (KNI-764) encontra-se fora do limite de determinação calorimétrica directa. Nestas condições contudo, a ITC pode ser capaz de fornecer uma medida exacta da entalpia de ligação se for realizada na presença de um inibidor fraco, a acetil-pepstatina, previamente ligado à protease. A constante de afinidade desta ligação é dada por $K_{a,w}$. A escolha de um inibidor fraco com uma entalpia de ligação de sinal oposto ao do inibidor KNI-764, produz um sinal maior e que já se encontra dentro da região mensurável por ITC. A afinidade de ligação em estudo, K_a , pode assim ser dada pela equação (3) através da escolha adequada da concentração do inibidor fraco, $[X]$.

$$K_{app} = \frac{K_a}{(1 + K_{a,w} [X])} \quad (3)$$

Os estudos de complexação de proteínas em diferentes solventes permitem ainda determinar o n.º de prótons captados de, ou libertados para, o tampão, e portanto o n.º de prótons envolvidos na reacção de complexação [7,8].

Polissacarídeos

Paralelamente com as proteínas, os polissacarídeos, também designados por carboidratos, ocupam uma das posições mais importantes na química dos processos vitais e no mundo que nos rodeia. Os polissacarídeos são compostos de carbono, hidrogénio e oxigénio, nos quais o hidrogénio e o oxigénio estão geralmente combinados nas mesmas proporções com que surgem na molécula da água: $C_m(H_2O)_n$, sendo que m pode ser ou não igual a n .

Nas plantas, eles constituem o produto principal de processos a partir dos quais moléculas inorgânicas e energia solar são incorporados nos organismos vivos. A celulose por exemplo, o biopolímero mais abundante na natureza, é um polissacarídeo estrutural de peso molecu-

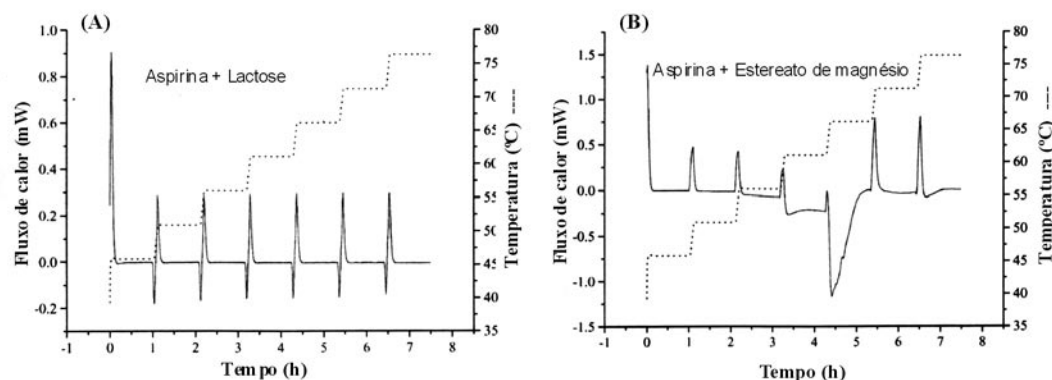


Figura 2 Traçado de HSDSC utilizando incrementos de 5 °C e períodos isotérmicos de 1h para aspirina e (A) Lactose e (B) Estereato de magnésio em misturas 1:1 (adaptado de [2])

lar muito elevado, sendo constituído por unidades repetidas de glicose. Este é por sua vez um açúcar em C₆, isómero da frutose e galactose, mas com diferentes propriedades destes, devido ao diferente arranjo espacial dos átomos.

Nos animais, o metabolismo dos hidratos de carbono é uma fonte de energia muito importante. Por exemplo, os ácidos nucleicos, que controlam os processos de replicação no interior das células, são polímeros em que a unidade que se repete contém uma molécula de açúcar. Constituem ainda a principal fonte de energia nas reacções celulares de respiração e fermentação.

Os polissacarídeos e/ou os seus derivados constituem actualmente uma das classes de compostos com mais aplicações sendo utilizados como vestuário, embalagens recicláveis, aditivos alimentares, excipientes em fármacos, matriz suporte de sistemas de libertação controlada de fármacos, etc. De um modo geral, o recurso a técnicas calorimétricas (DSC), e termogravimétricas (TGA) também, permite obter informação acerca das propriedades estruturais e físico-químicas dos carboidratos e seus derivados.

Indústria alimentar

A estabilização das biomoléculas presentes nos alimentos é importante, não só em termos de conservação alimentar, como também em termos de desenvolvimento de alimentos modificados.

No que diz respeito aos açúcares em particular, verifica-se que apresentam boas capacidades de protecção de algumas proteínas. Além disso, a forma e tamanho dos seus cristais são também particularmente importantes na formação de microestruturas responsáveis pela textura dos alimentos. Desta forma, é frequente a sua utilização como estabilizantes alimentares. Contudo, a temperatura de armazenamento, a magnitude das flutuações de temperatura, a humidade relativa, etc., podem induzir alterações nas estruturas cristalinas atrás referidas. Para as controlar, torna-se necessário compreender as interacções entre os seus componentes e a velocidade das suas reacções durante o processamento e conservação dos alimentos.

Mazzobre *et al.* [9] obtiveram resultados relativos à cinética de cristalização de soluções de lactose e de lactose-trehalose inicialmente amorfas, utilizando calorimetria diferencial de varrimento. A utilização desta técnica permitiu obter dados precisos das entalpias de cristalização, tempos de indução, temperaturas de transição vítrea e estudar a cinética de cristalização do açúcar em sistemas modelo. Contudo, a sua aplicação é por vezes condicionada em alimentos ou sistemas complexos, visto ocorrerem outras transições (por exemplo, gelatinização, evaporação de água, reacções químicas, etc.) que originam termogramas de difícil interpretação.

Furuki [10] realizou estudos térmicos de várias soluções de açúcares mas a temperaturas negativas. Medindo a entalpia de fusão do gelo através da técnica de DSC, em função da concentração do açúcar, foi possível determinar a quantidade de água não congelada para cada sacarídeo. Os dados obtidos mostraram que as características anti-congelantes dos carboidratos dependem da sua estereoquímica, verificando-se uma maior quantidade de água por congelar nas soluções de carboidratos com pouca compatibilidade com a rede tri-dimensional de ligações de hidrogénio da água.

Compatibilidade entre compostos

A compatibilidade entre o princípio activo e o(s) excipiente(s) é um factor importante quando se considera a estabilidade de fármacos, sendo de grande importância assegurar que o princípio activo não reduz a sua eficácia devido a interacção com o(s) excipiente(s). A lactose, dissacarídeo resultante da ligação de uma molécula de glicose e outra de galactose, é um dos excipientes mais comuns.

Gaisford *et al.* [2] referem no seu artigo de revisão o uso da técnica de calorimetria diferencial de varrimento de elevada sensibilidade (HSDSC) para estudar a compatibilidade com o excipiente em misturas binárias de aspirina/lactose e aspirina/estereato de magnésio (Figura 2), referindo os trabalhos originais de Wissing *et al.* [11]. O regime de

aquecimento utilizado alterna períodos isotérmicos com períodos de aumento de temperatura. Os sinais endo e exotérmicos registados advêm do atraso da temperatura da amostra à medida que o sistema varia entre modos isotérmicos e de varrimento de temperatura.

No caso da mistura aspirina/lactose (A), não se observaram desvios da linha de base durante cada passo isotérmico, o que sugere a obtenção de um equilíbrio térmico. Estes dados levaram os autores a concluir que os dois componentes não interagiram. Relativamente à mistura aspirina/estereato de magnésio (B), a presença de sinais endotérmicos nos períodos isotérmicos acima dos 55°C, são indicadores da ocorrência de interações.

Caracterização de materiais para aplicações várias

Actualmente, o elevado número de operações cirúrgicas com problemas de infecções pós-operatórias e o aparecimento de novas doenças infecto-contagiosas, contribuem para o desenvolvimento de novos materiais de forma a responder às necessidades e especificações dos serviços de cuidados de saúde. Este desenvolvimento contudo tem de ter em consideração as modificações induzidas nos materiais pelos métodos de esterilização, nomeadamente por irradiação gama. Ferreira *et al.* [12] mostraram a aplicação das técnicas de DSC e TGA a têxteis cirúrgicos de base celulose na previsão da variação das suas propriedades mecânicas. Os dados da variação da entalpia de fusão e da temperatura de degradação mostraram que a radiação gama induz alterações na estrutura molecular dos materiais, mas que estes mantêm uma boa coesão molecular, não apresentando elevados níveis de degradação para exposições à radiação até 100 kGy (geralmente a dose de esterilização situa-se perto dos 25 kGy).

O quitosano é um polissacarídeo derivado por acetilação da quitina, o segundo biopolímero natural mais abundante a seguir à celulose. Apresenta grupos amina e hidroxilo na sua estrutura, possui actividade biológica (é fungistático, bacteriostático, etc.) e é ainda

biocompatível e biodegradável. Estas características fazem deste polissacarídeo um material muito atractivo para ser utilizado em áreas biomédicas e de ambiente. Dong *et al.* [13] estudaram o comportamento de mobilidade molecular e relaxação térmica do quitosano através da determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) recorrendo à calorimetria diferencial de varrimento. Os resultados obtidos mostram, por um lado, que o envelhecimento físico torna mais distinta a transição vítrea das amostras e, por outro, que a temperatura associada a essa transição não está dependente do grau de acetilação do quitosano.

O desenvolvimento de materiais para embalagens de base de amido inclui a modificação química de forma a introduzir novas propriedades de acordo com a aplicação pretendida. Daik *et al.* [14] modificaram quimicamente o amido de salgueiro, introduzindo alterações nas suas propriedades físico-químicas. Estas alterações foram caracterizadas, entre outras técnicas, por DSC. Os resultados obtidos mostram que a acetilação do amido provoca um aumento da temperatura de gelatinização embora reduza a variação de entalpia. Por outro lado, a reticulação por hidroxi-propilação conduz a uma diminuição de ambos os parâmetros. Estes dados indicam uma perda de estrutura do amido por ambos os processos embora a acetilação conduza a um aumento da estabilidade térmica.

Fármacos / Dispositivos médicos

Compatibilidade de sistemas de fármacos conjugados

A entalpia de solução de fármacos é uma propriedade termodinâmica importante que pode ser utilizada para a sua caracterização tendo em vista a compatibilidade de sistemas binários de fármacos conjugados. Na realidade, esta propriedade tem sido utilizada com sucesso na determinação do grau de cristalinidade de fármacos e excipientes, assim como no esclarecimento do papel das interações entre fármacos e veículo de transporte em conjunto com estudos de solubilidade e de taxa de dissolução.

Como exemplo recente, podem referir-se os estudos de Chadha *et al.* [15] que determinaram calorimetricamente a entalpia de solução de diclofenac de sódio, de paracetamol e das suas misturas binárias. Os resultados indicam que a dissolução é um processo endotérmico e que é acompanhado por valores positivos de entropia, possivelmente devido à quebra de estruturas altamente ordenadas de água à volta das moléculas de fármaco. Os autores concluíram ainda que os parâmetros termodinâmicos de dissolução são independentes da concentração, embora dependentes do pH do meio.

Interacção/libertação de fármacos para biomembranas modelo

A influência de vários parâmetros na interacção e libertação de fármacos para biomembranas modelo pode ser estudada por DSC. Castelli *et al.* (2000) [16] mostraram que a técnica de DSC é adequada para seguir a libertação de um fármaco (no presente caso um analgésico, anti-inflamatório não esteroide) a partir de um sistema polimérico tri-dimensional de libertação controlada para uma biomembrana modelo. Através de DSC foi possível demonstrar que as propriedades da estrutura polimérica (natureza, agente reticulante, grau de *crosslinking*, inchaço, etc.) assim como a temperatura (que actua sobre a solubilidade do fármaco e sobre a capacidade da bicamada lipídica em absorver o fármaco), influenciam a cinética de libertação do fármaco. Mais ainda, ao ser capaz de aplicar factores de correcção devido à partição do meio lipídico/aquoso do fármaco, a técnica de DSC permite ainda estudar a cinética da sua absorção pela membrana modelo.

Também Castelli *et al.* em 2004 [17] concluíram que micelas poliméricas migram através do meio aquoso, interagem com vesículas lipídicas e libertam o fármaco *in situ*. Deste modo, o fármaco aprisionado nas micelas pode ser libertado mais próximo do alvo biológico pretendido.

Conclusões

Actualmente, e devido ao facto de poder ser utilizado na concepção de aplica-

ções biomédicas inovadoras e na obtenção de moléculas modificadas para aplicação industrial, o conhecimento da estrutura dos polímeros biológicos reveste-se de particular importância.

Apesar de o uso de uma técnica isoladamente poder não ser suficiente para estudar um determinado sistema, os exemplos de aplicações práticas apresentados ilustram, ainda que de forma resumida, a vasta aplicabilidade e versatilidade das técnicas calorimétricas na análise de macromoléculas biológicas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Manuel Minas da Piedade pela leitura atenta do manuscrito e pelas sugestões propostas. M. H. Casimiro agradece uma bolsa da Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio (bolsa SFRH/BD/2862/2000).

Bibliografia

- 1 P. Relkin, *Thermochimica Acta* **246** (1994) 371-386.
- 2 S. Gaisford, G. Buckton, *Thermochimica Acta* **380** (2001) 185-198.
- 3 N. Yu Ignatieva, V.V. Lunin, S.V. Averkiev, A.F. Maiorova, V.N. Bagratashvili, E.N. Sobol, *Thermochimica Acta* **422** (2004) 43-48.
- 4 J. Lu, P.-S. Chow, K. Carpenter, *Progress in Crystal Growth and Characterization* **46** (2003) 105-129.
- 5 M.M. Pierce, C.S. Rama, B.T. Nall, *Methods* **19** (1999) 213-221.
- 6 S. Leavitt, E. Freire, *Current Opinion in Structural Biology* **11** (2001) 560-566.
- 7 M. Eftink, R. Biltonen in Biological Microcalorimetry, A.E. Beezer (ed.), Academic Press, San Diego (1980) 343-412.
- 8 B.M. Baker, K. P. Murphy, *Biophysical Journal* **71** (1996) 2049-2055.
- 9 M.F. Mazzobre, J.M. Aguilera, M.P. Buera, *Carbohydrate Research* **338** (2003) 541-548.
- 10 T. Furuki, *Carbohydrate Research* **323** (2000) 185-191.
- 11 S. Wissing, D.Q.M. Craig, S.A. Barker, W.D. Moore, *International Journal of Pharmacy* **199**, (2000) 141-150.
- 12 L.M. Ferreira, M.H. Casimiro, C. Oliveira, M.E. Cabeço Silva, M.J. Marques Abreu, A. Coelho, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **191** (2002) 675-679.
- 13 Y. Dong, Y. Ruan, H. Wang, Y. Zhao, D. Bi, *Journal of Applied Polymer Science* **93** (2004) 1553-1558.
- 14 R. Daik, A. Aziz, M.A. Ghani, N.I.N. Daud, B.M. Yamin, *Malaysian Journal of Chemistry* **6** (2004) 48-54.
- 15 R. Chadha, N. Kashid, D.V.S. Jain, *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis* **30** (2003) 1515-1522.
- 16 F. Castelli, G. Pitarresi, G. Giammona, *Biomaterials* **21** (2000) 821-833.
- 17 F. Castelli, C. Messina, E. Martinetti, M. Licciardi, E.F. Craparo, G. Titarressi, *Thermochimica Acta* **423** (2004) 19-28.

Actualidades Científicas

Água Hidrofóbica?

De acordo com investigadores do *Pacific Northwest National Laboratory* de *Washington State*, o velho ditado que afirma que água e óleo não se misturam pode também ser aplicado a água e água.

Greg Kimmel e seus colegas decidiram ignorar as habituais descrições teóricas sobre a forma como as moléculas de água interagem, baseadas em pontes de hidrogénio, para demonstrar que a molhagem não é uma propriedade universal da água. Assim, os investigadores observaram como uma película simples de água-gelo que se forma sobre uma superfície de platina repele moléculas de água livres, constituindo deste modo uma barreira à formação de camadas adicionais.

Como Kimmel explica, "As interações entre a água e superfícies estão omnipresentes na natureza e desempenham um papel importante em muitas aplicações tecnológicas nas áreas da catálise ou corrosão, por exemplo. Até ao momento, assumiu-se que, enquanto uma extremidade da molécula de água se liga à superfície metálica, na outra extremidade haveriam pontos de ligação que poderiam ser facilmente utilizados por hidrogénios dos átomos da camada seguinte". No entanto, teóricos da Universidade de Cambridge sugeriram que estes "grupos OH suspensos" não existem de facto, já que se contraem na direcção da superfície hexagonal do metal nobre.

Assim, Kimmel e seus colegas testaram esta teoria usando adsorção física de gases raros tendo concluído que apesar

de uma monocamada de água molhar a superfície de platina, não se formaram camadas subsequentes, o que implica que a primeira camada de água apresentava características hidrofóbicas.

As características hidrofóbicas da água sobre uma superfície metálica são mais do que uma curiosidade e podem constituir uma surpresa para muitos que assumem que os filmes aquosos cobrem uniformemente as superfícies. Centenas de experiências têm sido realizadas para o estudo de películas finas de água sobre superfícies metálicas para a verificação do seu efeito sobre outras moléculas e do papel que o calor, a luz e a radiação de alta energia podem ter nessas interações. (adaptado de *webzine Reactive Reports* 49, 2005).

Paulo Brito