



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Gonçalo Fernandes de Abreu

EFEITO DE CORANTES NAS PROPRIEDADES DE MICELIZAÇÃO DE SURFACTANTES IÓNICOS

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química, área de especialização em Controlo da Qualidade e Ambiente,
orientada pelo Professor Doutor Artur J. M. Valente e apresentada ao Departamento de Química
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

novembro de 2020

Departamento de Química

EFEITO DE CORANTES NAS PROPRIEDADES DE MICELIZAÇÃO DE SURFACTANTES IÓNICOS

Gonçalo Fernandes de Abreu

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química,
área de especialização em Controlo da Qualidade e Ambiente,
orientada pelo Professor Doutor Artur J. M. Valente e apresentada
ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia
da Universidade de Coimbra.

novembro de 2020

1 2  9 0

UNIVERSIDADE D
COIMBRA

“I see now that the circumstances of one's birth are irrelevant. It is what you do with the gift of life that determines who you are.”

Takeshi Shudo

Agradecimentos

Ao longo deste tempo, em que estive a realizar este projeto, tive a oportunidade de contar com o apoio de muitas pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do meu trabalho. A todos eles, o meu sincero obrigado.

Em primeiro lugar, quero dirigir os meus agradecimentos ao meu orientador, Doutor Artur José Monteiro Valente, pela contribuição para a minha formação profissional e pessoal com todo o seu saber. Pela sua ajuda e disponibilidade ao longo da realização deste projeto;

Ao Grupo de Macromoléculas, Coloides e Fotoquímica, por me receberem tão bem. Ao Gianluca, Roberto, Ana Cláudia e Joana, obrigado pela companhia e por todo os conselhos que me ajudaram ao longo desta luta;

Ao Grupo de Coloides, por me receberem bem, por toda a ajuda e pelos dias de cantorias;

À Doutora Andreia Alves, à Doutora Elodie Melro, à Doutora Ana Clara e a Mestre Cátia Santos, por estarem sempre lá para me ajudar e transmitirem o conhecimento essencial para conseguir fazer esta dissertação;

À minha equipa de Pólo-Aquático, onde tive o prazer de representar esta Academia por todo o país, que me ensinou tanto, onde cresci, aprendi a não desistir, independentemente do resultado. Aos meus velhos, aos meus meninos e ao meu Treinador Paulo Tejo um muitíssimo obrigado!

À minha Grande Família Universitária, Rui Barata, Eduardo Gomes, Mariana Albuquerque, Mariana Ribeiro, Kika, Telmo Gomes, Patrícia Frazão, Rita Félix, Sara Machado, Fábio, Jaime, Diogo, Ricardo, Mini, Paulinha, Maria Barreira, Francisco, Ulisses e Cátia Caratão e a tantos outros um muitíssimo obrigado pela amizade verdadeira que demonstraram ao longo de todo este tempo e por estarem sempre lá para ampararem as minhas loucuras e as minhas tristezas. Prometo que vos vou visitar a todos para pôr a conversa em dia.

Às minhas meninas e os meus meninos, Rita, Bea, Oce, Guedes, Tone, Zé, Carlitos e Duarte, pela amizade ao longo destes últimos anos, pelos desabafos e jantares, noites e dias, que nada disto se perca.

Ao Luís Veríssimo, palavras são poucas para te agradecer...obrigado pela companhia nas noites de trabalho no DQ, obrigado pelas palavras que me acalmaram ao longo deste processo todo, obrigado pela tua ajuda e obrigado pela grande pessoa que és.

A ti, Mariana, um muito obrigado por nunca desistires de mim, por acreditares em mim quando outros duvidaram, por me guiares e, sobretudo, por me ajudares a terminar com sucesso mais uma etapa da minha vida. Todos os “trabalha”, “está com atenção”, “só mais um esforço” valeram a pena... Agora já vamos poder ir passear, viajar e ir à Taberna Belga, sem pensar mais nisto. Quero-te bem e ao meu lado.

Que seja assim para sempre, com um Júlio à mistura!

Aos meus Pais, um muito obrigado por me terem proporcionado esta oportunidade, pela paciência, calma e por acreditarem sempre em mim. São tudo para mim, os melhores! Obrigado pelas boleias de dia e a más horas, pelas alegrias, por toda a compreensão de estar sempre fora de casa e pelo tempo que esperaram até este dia! Sem vocês nada disto era possível.

Índice

Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	x
Resumo	xiii
Abstract	xiv
CAPÍTULO I	1
1. Introdução	3
1.1. Surfactantes	3
1.1.1. Classificação de surfactantes	4
1.1.2. Tensão Superficial	6
1.1.3. Formação de agregados e Concentração Micelar Crítica	7
1.1.4. Termodinâmica do processo de micelização	11
1.2. Corantes	17
1.2.1. Azul de Metileno	18
1.2.2. Interações entre corantes e surfactantes	19
CAPÍTULO II	23
2. Procedimento Experimental	25
2.1. Objetivo	25
2.2. Método do anel de Du Noüy	25
2.2.1. Material e Equipamento	26
2.2.2. Procedimento Experimental	27
2.3. Condutimetria	27
2.3.1. Material e Equipamento	28
2.3.2. Procedimento Experimental	29
2.4. Espectroscopia de absorção Ultravioleta-Visível	29
2.4.1. Material e Equipamento	31
2.4.2. Procedimento Experimental	31
CAPÍTULO III	33
3. Resultados e Discussão	35
3.1. Estudo das interações do SDS-MB por tensiometria	35
3.2. Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria	44

3.3. Estudo do comportamento do SDS-MB por espectrofotometria de UV-Visível 46

CAPÍTULO IV	51
4. Conclusão.....	53
Referências	55

Índice de Figuras

Figura 1.1- Representação esquemática da estrutura das moléculas de surfactante na forma livre e após ocorrer a autoagregação; A – parte hidrofílica e B – parte hidrofóbica.....	4
Figura 1.2- Representação esquemática das diferentes classes de surfactantes, adaptada de 6.4	
Figura 1.3- Representação esquemática da estrutura do dodecilsulfato de sódio.	5
Figura 1.4- Exemplificação da força exercida pelas moléculas na interface e no interior do meio que demonstra a tensão superficial.	6
Figura 1.5- Tensão superficial em função da concentração de surfactante até a formação micelar ⁹	7
Figura 1.6- Estruturas típicas de uma micela: forma esférica (normal e invertida), forma lamelar e vesícula, (da esquerda para a direita).....	8
Figura 1.7- Ilustração do processo de micelização numa fase aquosa. ¹⁴	9
Figura 1.8- Representação da variação de diferentes parâmetros físicos em função da concentração de surfactantes, obtidos através de diferentes técnicas, e usados para a determinação da CMC, adaptado da ¹²	10
Figura 1.9- Fração de surfactante que incorpora a micela, $d(N[SN])/d([S]T)$, versus a concentração de surfactante total, $[S]T$, adaptado de ¹⁰	15
Figura 1.10- Estrutura química do azul de metileno.	18
Figura 1.11 - Formas canónicas do catião azul de metileno em solução aquosa ³¹	19
Figura 2.1- Esquema do funcionamento do método do anel de Du Noüy ³⁶	26
Figura 2.2- Imagem exemplificativa das transições eletrónicas.....	30
Figura 2.3- Exemplos de desvios a lei de Beer-Lambert originados por dispersão e reflexão da luz.	31
Figura 3.1- Tensão superficial de soluções aquosas de SDS a diferentes temperaturas. ...	35
Figura 3.2 - Gráficos da curva da tensão superficial de SDS e água ultrapura a a)15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.	36
Figura 3.3- Estudo tensiométrico do comportamento do sistema SDS-MB ($[MB] = 1,25 \times 10^{-3} M$).....	37
Figura 3.4- Gráfico das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[MB] = 1,25 \times 10^{-3} M$) a: a)15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.	38
Figura 3.5- Estudo do comportamento tensiométrico do sistema SDS-MB ($[MB] = 2,5 \times 10^{-3} M$).....	39
Figura 3.6- Gráficos das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[MB] = 2,5 \times 10^{-3} M$) a a)15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.	40
Figura 3.7- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB ($[MB] = 2,5 \times 10^{-2} M$).	41
Figura 3.8- Gráficos das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[MB] = 2,5 \times 10^{-2} M$) a a)15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.	42
Figura 3.9- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria, a 25 °C. .	44
Figura 3.10- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria a diferentes concentrações, à temperatura de 35 °C.	45
Figura 3.11- Estudo da absorvância do sistema MB-água.	47
Figura 3.12- Reta de calibração obtida através dos máximos da Figura 3.11.	48
Figura 3.13- Estudo do sistema SDS-MB por espectroscopia de UV-Vis.	49

Índice de Tabelas

Tabela 3.1- Resumo do efeito do MB na CMC de SDS, a diferentes temperaturas, por tensiometria	43
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Abreviaturas e Símbolos

ΔS_m^0	entropia de micelização
μ_m	potencial químico nas micelas
μ_u	potencial químico do surfactante na forma de unímero
K_n	constante de equilíbrio
$S_{N_{ag}}$	micela com número de agregação N_{ag}
n_{H_2O}	número de moles de água
n_S	número de moles de surfactante livre em solução
x_{CMC}	fração molar de surfactante
$x_{contra-ião}$	fração molar de contra íons
x_{livre}	fração de surfactantes livres
x_m	fração molar de surfactantes não livres
ΔG_m^0	variação de energia livre de Gibbs de micelização padrão
μ_m^0	potencial químico padrão nas micelas
μ_u^0	potencial químico padrão do unímero
A	área de eletrodo
A	absorvância
b	caminho ótico
c	concentração da substância
d	distância de eletrodo
HOMO	orbital molecular de menor energia
I	intensidade da radiação transmitida
I_0	intensidade da radiação incidente
LUMO	orbital molecular de maior energia
MB	corante azul de metileno
N	número de unímeros
N_{ag}	número de agregação
N_u	número de moléculas de surfactantes livres
R	constante dos gases ideais
R	resistência
S	molécula de surfactante

SDS	dodecil sulfato de sódio
T	temperatura absoluta
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
z	carga da micela
\mathcal{E}	absortividade molar
A	grau de ionização micelar
ΔH_m^0	entalpia de micelização
E	coeficiente de absortividade molar
Ka	condutividade específica
Σ	condutividade
ΔG_m^0	energia de Gibbs padrão de micelização
ρ	resistividade específica

Resumo

Neste projeto de dissertação de Mestrado em Química, foi investigada a interação entre o surfactante aniônico dodecilsulfato de sódio (SDS) e o corante azul de metileno (MB), em meio aquoso, a diferentes temperaturas

O sistema em estudo tem relevância aplicacional atendendo à versatilidade do MB, explorada em múltiplos campos de aplicação. O azul de metileno foi o primeiro fármaco sintético, aplicado no tratamento da malária e tuberculose ou como corante celular. O azul de metileno apresenta ação inibitória da reprodução do vírus SARS-CoV-2 *in vitro*, e tem demonstrado validade em outros quadros clínicos como a doença de Alzheimer, terapias fotodinâmicas e anticancerígenas. Assim, resulta interessante estudar o seu transporte e entrega integrado em estruturas micelares bem estudadas, como é o caso do SDS. Da mesma forma, conhecer as alterações do comportamento micelar do SDS, na presença do MB, permite estabelecer rotas de modulação que poderão demonstrar utilidade em futuras aplicações.

A caracterização instrumental foi realizada com três técnicas instrumentais – condutividade elétrica, tensão superficial espectroscopia de UV-Vis – fazendo variar as concentrações em solução.

Foi identificada evidência de encapsulamento do corante nas micelas de surfactante e estabelecidas as condições de formação de micelas em soluções ternárias, nomeadamente as tendências e diferenciais, medidos relativamente a soluções binárias de cada um dos reagentes estudados. Para cada sistema, são reportadas as respectivas CMC.

Abstract

In this Master's thesis in Chemistry project, the interaction between the anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS) and the methylene blue dye (MB), in aqueous medium, was investigated at different temperatures, in order to better understand the resulting micellation process.

The system under study has applicational relevance given the MB's versatility, exploited in multiple fields of application. Methylene blue was the first synthetic drug, used in the treatment of malaria and tuberculosis or as a cell dye. Methylene blue has an inhibitory effect on the reproduction of the SARS-CoV-2 virus *in vitro* and has shown validity in other clinical conditions such as Alzheimer's disease, photodynamic and anti-cancer therapies. Thus, it is interesting to study its transport and delivery integrated into well-studied micellar structures, as is the case with SDS. Likewise, knowing the changes in the micellar behavior of the SDS, in the presence of the MB, allows the establishment of modulation routes that may prove useful in future applications.

Instrumental characterization was performed with three instrumental techniques - electrical conductivity, surface tension and UV-Vis spectroscopic measurements - varying the concentrations in solution.

Evidence of dye encapsulation in surfactant micelles was identified and conditions for micelle formation in ternary solutions were established, namely trends and differentials, measured in relation to binary solutions of each of the studied reagents. For each system, the respective CMC are reported.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1. Surfactantes

A palavra surfactante é um acrónimo da expressão em inglês “*surface active agente*”, e caracteriza moléculas que apresentam a capacidade de diminuir a força interfacial ou de superfície¹⁻⁴. São também conhecidos por tensoativos.

Os surfactantes são moléculas presentes no quotidiano, tendo aplicações tanto a nível científico como a nível industrial e doméstico. Estas moléculas são utilizadas em larga escala na indústria química, participando, por exemplo, na produção de detergentes, produtos de limpeza doméstica e industrial, cosméticos, produtos de lubrificação, tintas, revestimentos e adesivos, servindo como agentes para solubilizar compostos, co-catalizadores de reações químicas, entre várias outras aplicações⁵.

Os tensoativos são moléculas anfifílicas, constituídas por duas regiões distintas: uma parte hidrofílica e polar, a cabeça do tensoactivo, com afinidade com a água, e outra parte hidrofóbica, a sua cauda, e por isso, apolar, não apresentando afinidade para com a água (Figura 1.1)¹. Em função da presença destes diferentes grupos na mesma molécula, os surfactantes tendem a distribuir-se e a agregar-se nas interfaces de forma a diminuir a energia de superfície. No caso da interface água-ar, estes agregam-se à superfície de forma a minimizar o contacto entre a água e os grupos hidrofóbicos, diminuindo a tensão superficial e interfacial. Isto é, a parte hidrofílica permanece orientada para a água, enquanto a parte hidrofóbica adquire uma orientação no sentido da fase gasosa. Desta forma, as moléculas de surfactante associam-se, de forma a reduzir a tensão superficial, podendo formar uma variedade de estruturas dependendo da estrutura molecular, concentração e composição do sistema⁴.

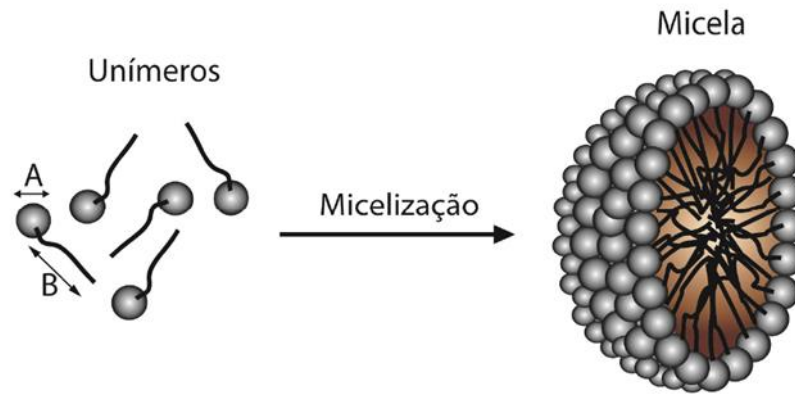


Figura 1.1- Representação esquemática da estrutura das moléculas de surfactante na forma livre e após ocorrer a autoagregação; A – parte hidrofílica e B – parte hidrofóbica.

1.1.1. Classificação de surfactantes

A classificação dos surfactantes é baseada, em grande parte, pela presença ou ausência de carga na região polar das moléculas anfifílicas, o que determina a maioria das propriedades físico-químicas dos surfactantes.

As cadeiras hidrocarbonadas presentes no grupo hidrofóbico ou “cauda” dos surfactantes podem variar significativamente de tamanho, comprimento e grau de saturação. Geralmente, este grupo contém um número de átomos de carbono variável entre os 6 e os 18, e podem ser alifáticas, aromáticas ou mistas. Contudo, a natureza dos surfactantes está dependente do grupo hidrofílico, sendo possível distinguir quatro classes principais: iônicos, isto é, catiónicos e aniônicos, não-iônicos e anfotéricos (zwitteriônicos) (Figura 1.2)^{4,6}.

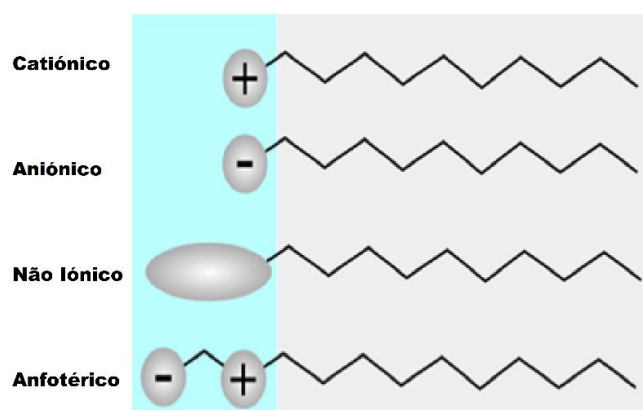


Figura 1.2- Representação esquemática das diferentes classes de surfactantes, (adaptada de ⁶).

Nos surfactantes iónicos existe um grupo carregado positivamente ou negativamente, enquanto nos surfactantes não-iónicos, o grupo hidrofílico é neutro.

Os surfactantes catiónicos apresentam um grupo funcional carregado positivamente na parte hidrofílica, com um contra-íão, de modo a neutralizar as cargas. Neste tipo de surfactante, a interação com moléculas de água é realizada através desta carga positiva. Os grupos mais comuns neste tipo de tensioativos são os grupos amina na forma de amónio (sal quaternário).

Os surfactantes aniónicos são os mais comuns e o seu grupo funcional está carregado negativamente, apresentando um catião como contra-íão. Dentro desta categoria de surfactantes encontra-se o dodecilsulfato de sódio (SDS) (Figura 1.3).

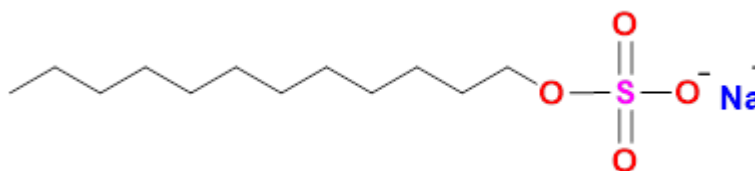


Figura 1.3- Representação esquemática da estrutura do dodecilsulfato de sódio.

O SDS é composto por uma cadeia de 12 carbonos, representando a parte apolar da molécula, ligado a um grupo sulfato, parte polar, sendo também constituído por um catião associado, o sódio, de modo a neutralizar as cargas e tornar a sua estrutura estável. Apresentando, a uma temperatura de 25 °C um valor reportado na literatura de $8,3 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de Concentração Micelar Crítica (CMC)⁷. Este tipo de surfactante tem uma gama de aplicações muito alargada, nomeadamente em pasta dos dentes, champôs, géis de banho, produtos de barbear, detergentes e aspirinas solúveis.

Os surfactantes anfotéricos caracterizam-se pela presença de dois grupos com cargas opostas na parte hidrofílica da molécula, isto é, um grupo carregado positivamente e outro grupo carregado negativamente, apresentando propriedades combinadas de tensioativos iónicos e não-iónicos. Devido à sua estrutura, estes tensioativos, quando em solução aquosa, apresentam propriedades de tensioativos catiónicos e aniónicos, dependendo do pH da solução. Isto é, a elevados valores de pH têm características de tensioativos aniónicos e a

baixos valores comportam-se como tensoativos catiónicos, sendo, com isto, perceptível que apresentem atividade máxima em meios onde o pH é neutro.

1.1.2. Tensão Superficial

A tensão superficial é uma propriedade termodinâmica que caracteriza uma camada superficial de um fluido e que permite inferir sobre a superfície do líquido um comportamento como, por exemplo, uma membrana elástica. Isto ocorre como resultado de um fenómeno físico causado pelas forças de coesão entre moléculas semelhantes numa interface líquido-líquido ou líquido-ar, conforme abordado anteriormente⁸.

As moléculas abaixo da superfície do líquido exercem uma força atrativa sobre as moléculas acima fazendo com que o mesmo assumam uma forma de menor área superficial (Figura 1.4). A tensão superficial resultante deste conjunto de forças estabilizadoras da superfície dos líquidos pode ser observada como a força exercida na sequência dessa atração.

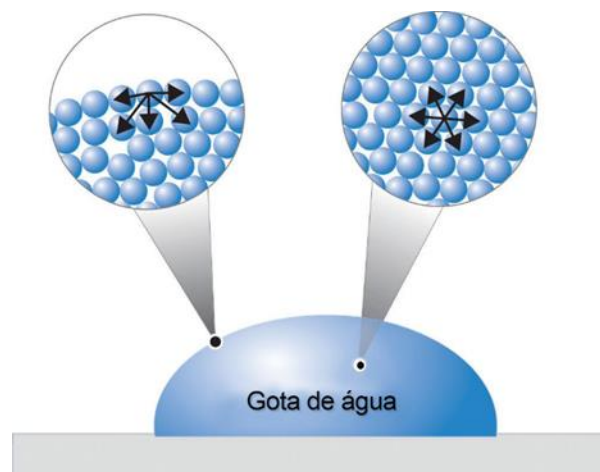


Figura 1.4- Exemplificação da força exercida pelas moléculas na interface e no interior do meio que demonstra a tensão superficial.

A adição de surfactantes em água reduz a tensão superficial desta até atingir um limite. Este limite ocorre quando a superfície se encontra saturada com uma monocamada de surfactante e se inicia a formação de agregados, que se denominam de micelas, na solução.

As micelas são agregados coloidais nano-estruturados. Em solução diluída, os surfactantes atuam como eletrólitos fortes, porém, com o aumento da concentração,

observam-se mudanças das propriedades físico-químicas da solução. Esta concentração é definida como concentração micelar crítica (CMC)⁴.

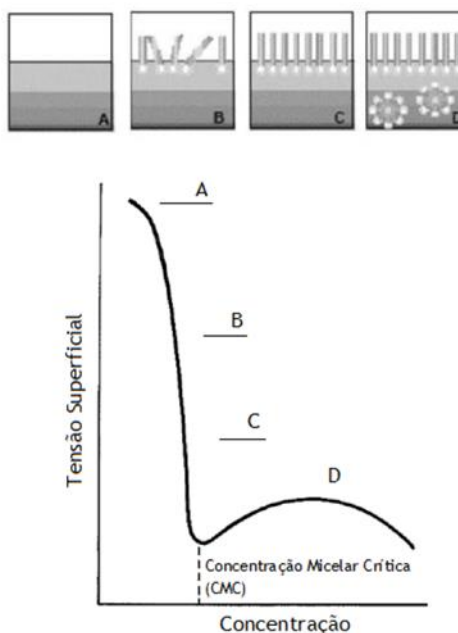


Figura 1.5- Tensão superficial em função da concentração de surfactante até a formação micelar⁹.

Sabendo que um surfactante faz diminuir a tensão da superfície com a qual entra em contacto, percebe-se que, à medida que a concentração de surfactante aumenta, a tensão superficial da solução diminui rapidamente (A, B, C). A uma determinada concentração, isto é, na CMC, a tensão superficial deixa de diminuir e, portanto, inicia-se assim o início da formação de agregados (D). A concentrações acima da CMC, todos os surfactantes possuem propriedade solubilizadoras, estando presentes unímeros e micelas dispersos em toda a solução (Figura 1.5).

1.1.3. Formação de agregados e Concentração Micelar Crítica

A formação de agregados, denominados micelas, é um processo espontâneo, e é uma das características mais comuns a todos os surfactantes que, devido à sua particular estrutura, apresentam uma grande capacidade de autoagregação, rearranjando-se espontaneamente de forma a adquirirem uma conformação termodinamicamente estável. Este fenómeno deve-se à ação do efeito hidrofóbico, uma vez que a elevada organização das moléculas de água promovem a agregação das caudas hidrofóbicas dos unímeros¹⁰.

Dependendo do tipo de surfactante e das suas propriedades, os agregados micelares podem apresentar diferentes formas, desde uma forma esférica, cilíndrica ou lamelar, a uma estrutura invertida ou uma vesícula (Figura 1.6). Normalmente, a estrutura dos agregados modifica-se com o aumento da concentração do surfactante.



Figura 1.6- Estruturas típicas de uma micela: forma esférica (normal e invertida), forma lamelar e vesícula, (da esquerda para a direita).

O processo de autoagregação depende de fatores como a natureza/estrutura do surfactante, temperatura, concentração e composição das soluções. Assim, a formação de micelas, para cada temperatura, ocorre a uma determinada concentração, CMC^{11} .

A formação de micelas confere grande importância aos surfactantes, uma vez que uma das suas propriedades mais importantes é a capacidade de solubilizar solutos de diferentes características através de forças electrostáticas e do efeito hidrofóbico, ou seja, ao interagirem com o soluto, as moléculas hidrofóbicas são capturadas para dentro da micela onde são solubilizadas¹².

O efeito hidrofóbico é o fator mais importante para a organização do tensioativo em meio aquoso estando, por isso, na origem do processo de agregação. Sabendo que a variação de energia livre total é negativa, o processo de agregação ocorre espontaneamente. Numa primeira abordagem, ao serem adicionados à água, compostos com grupos hidrofóbicos, reorganizam a sua configuração, causando uma diminuição de entropia e também uma diminuição da estabilidade de todo o sistema⁸. Contudo, de forma a minimizar a distorção e diminuir a energia de Gibbs do sistema, estes posicionam-se à superfície com o grupo hidrofóbico orientado para o exterior do solvente, sendo este o processo associativo atribuído ao importante aumento da entropia^{2,3}. Este aumento é resultado da necessidade de reorganização das moléculas de água, como consequência da desidratação das cadeias hidrofóbicas. A estabilidade da rede de ligações de hidrogénio da água torna difícil a

dissolução de compostos hidrofóbicos no solvente aquoso, o que origina uma diminuição de entropia e também uma diminuição da estabilidade de todo o sistema. A partir do ponto da concentração correspondente à CMC qualquer tensoativo adicionado irá agregar-se em micelas, visto que, a partir desta concentração, as interações hidrofóbicas unímero-unímero se sobrepõem às interações hidrofílicas unímero-solvente (Figura 1.7). O movimento de unímeros da solução para a agregação das micelas induz alguma perda de liberdade, devido ao confinamento na estrutura, contribuindo como termo positivo para a energia de Gibbs do sistema e, portanto, desfavorecendo a micelização^{4,5,13}.

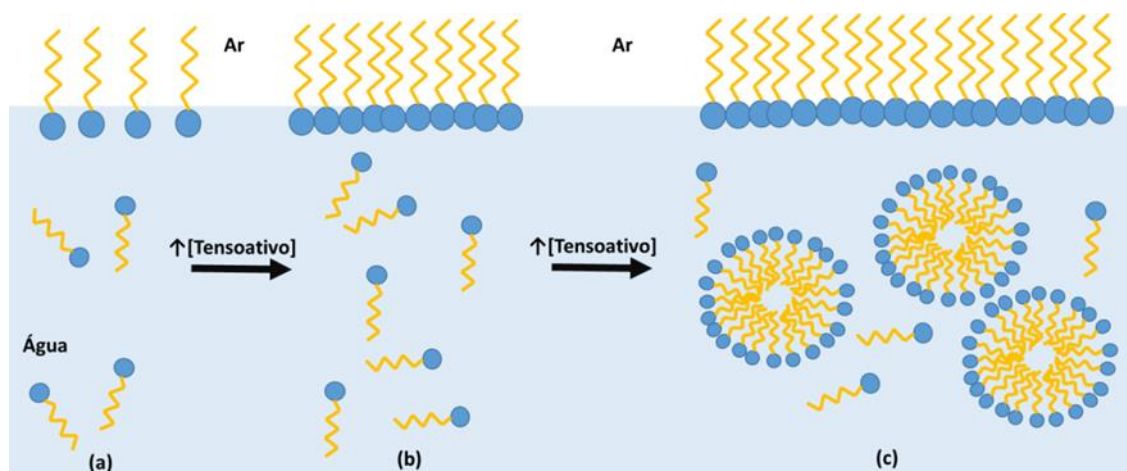


Figura 1.7- Ilustração do processo de micelização numa fase aquosa¹⁴.

O efeito hidrofóbico, que promove a agregação, é, assim, controlado entropicamente. De uma forma resumida, pode considerar-se que a micelização ocorre para que haja uma diminuição da área de contacto entre a zona hidrofóbica do surfactante e a solução, sendo esta a forma de diminuir as interações não favoráveis entre o tensoativo e o solvente, reduzindo, desta forma, a energia livre do sistema através essencialmente do fator entrópico¹.

Contudo, a repulsão originada pela aproximação entre os grupos hidrofílicos aquando da formação da micela, contraria, de certa forma, a formação desses agregados, existindo dois tipos diferentes de repulsão, dependendo da sua natureza. Isto é, para surfactantes iónicos, a repulsão é eletrostática. No caso dos surfactantes não iónicos, a repulsão é originada essencialmente pelo impedimento estérico. Assim, a maior ou menor repulsão entre estes grupos de surfactante influencia diretamente o número de agregação, N e o grau de dissociação dos contra-íons (no caso dos surfactantes iónicos). É definido como número médio de moléculas que formam o agregado e depende da natureza do surfactante, ou seja,

das características do grupo polar, e ainda da sua concentração, temperatura e da presença, ou não, de outros solutos em solução.

A formação de micelas ocorre a partir do momento em que se atinge a CMC, ou seja, a concentração inferiores, o tensioativo presente na solução está em forma de unímeros. A agregação dos unímeros na solução, para a formação de micelas, só acontece a partir de uma dada temperatura, denominada Temperatura de Krafft (TK), que pode ser definida como a temperatura mínima a partir do qual a solubilidade do tensioativo iguala a CMC.

Cada tensioativo tem uma CMC característica que poderá ser influenciado através de diversos fatores tais como as propriedades do solvente, a temperatura, pela presença de outros eletrólitos ou de outras substâncias como corantes ou ainda de outros tensioativos.⁴

É a partir da CMC que a redução da tensão superficial atinge o seu pico, não se verificando mais a sua redução. Uma vez que a formação de micelas provoca variações nas propriedades físico-químicas das soluções, é possível determinar a CMC das mesmas através de várias técnicas, tais como a pressão osmótica, turbidez, tensão superficial, condutibilidade elétrica, fluorescência ou espectroscopia de ressonância magnética nuclear (Figura 1.8)¹⁵.

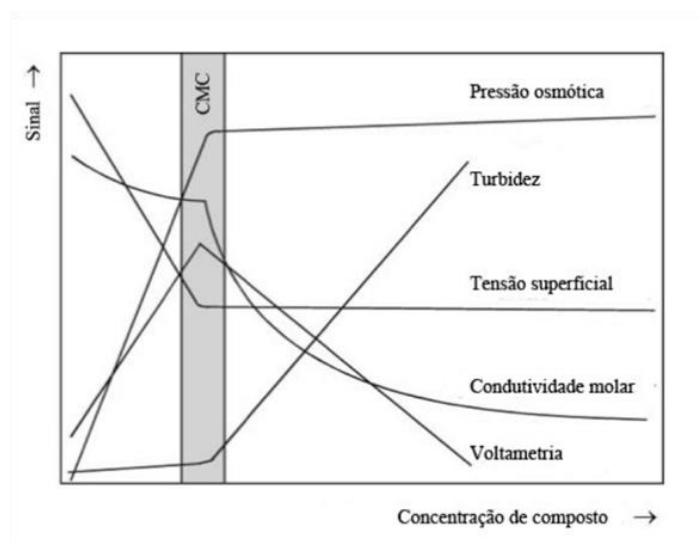


Figura 1.8- Representação da variação de diferentes parâmetros físicos em função da concentração de surfactantes, obtidos através de diferentes técnicas, e usados para a determinação da CMC, adaptado da ¹².

A compreensão do fenómeno de autoagregação dos surfactantes é fundamental, uma vez que o comportamento das moléculas de surfactante, e a interação das mesmas com os restantes solutos presentes em solução, varia bastante quer o surfactante esteja na forma de unímeros ou na forma de micelas.

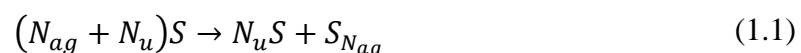
1.1.4. Termodinâmica do processo de micelização

Ao analisar termodinamicamente soluções de surfactantes é possível avaliar os fatores predominantes do processo de micelização. Este processo é dominado por dois fatores importantes, o efeito hidrofóbico, explicado anteriormente, que controla a associação, e as repulsões entre os grupos polares ou iónicos.

De modo a determinar os diferentes parâmetros termodinâmicos intrínsecos a este processo são normalmente utilizados dois modelos, modelo da “pseudoseparação de fases” e o modelo da “ação de massas”¹⁰.

O modelo da “pseudoseparação de fases” é baseado na comparação do início da formação da micela (orientado pelo efeito hidrofóbico) e o processo de separação de fases¹⁰. Pode-se considerar que as micelas formam uma nova fase, tal como a fase existente entre a água e o gelo.

Assim, na região pós micelar podemos escrever



Onde N_{ag} é o número de agregação, N_u é o número de moléculas de surfactantes livres, unímeros, S representa a molécula de surfactante e $S_{N_{ag}}$ a micela com número de agregação N_{ag} .

Assumindo que unímeros e micelas coexistem e, sendo a concentração dos unímeros igual à CMC, o potencial químico do surfactante na forma de unímeros, μ_u , é descrito como:

$$\mu_u = \mu_u^0 + RT \ln(\text{CMC}) \quad (1.2)$$

onde μ_u^0 é o potencial químico padrão do unímero, R é a constante dos gases ideais e T a temperatura absoluta. Neste modelo, as micelas são consideradas como sendo uma fase diferente (condensada). Então o potencial químico nas micelas, μ_m , é igual ao potencial químico padrão nas micelas, μ_m^0 , ou seja:

$$\mu_m = \mu_m^0 \quad (1.3)$$

Estando em equilíbrio, pode escrever-se

$$\mu_m = \mu_u \quad (1.4)$$

E das equações 1.2 e 1.4, vem a equação 1.5

$$\mu_m^0 = \mu_u^0 + RT \ln(\text{CMC}) \quad (1.5)$$

A energia livre de Gibbs padrão de micelização, ΔG_m^0 , é representada pela diferença dos potenciais químicos de formação da micela μ_m e do monómero μ_u e pode ser escrita como

$$\Delta G_m^0 = \mu_m^0 - \mu_u^0 = RT \ln(x_{\text{CMC}}) \quad (1.6)$$

A Equação 1.6 é uma aproximação útil para obter ΔG_m^0 .

A fração molar de surfactante na CMC (x_{CMC}) é dada por:

$$x_{CMC} = \frac{n_S}{n_S + n_{H_2O}} \quad (1.7)$$

Onde n_S é o número de moles de surfactante livre em solução e n_{H_2O} é o número de moles de água. Para surfactantes de iónicos a expressão anterior é reescrita como

$$\Delta G_m^0 = (2 - \alpha)RT \ln(CMC) \quad (1.8)$$

Para se ter em conta a presença dos contra-íões. Nesta expressão α é o grau de ionização micelar, R é a constante dos gases ideais e T a temperatura absoluta.

Uma das limitações do modelo da “pseudoseparação de fases” é o facto de apenas descrever o mecanismo inicial do processo e não o mecanismo final de autoagregação.

O outro modelo utilizado, o modelo da “ação de massas”, tem como parâmetro fundamental o número de agregação. Esta forma de modelar o processo de micelização considera que um número de agregação específico, N_{ag} , domina sobre os outros fatores. Neste caso, as micelas e os monómeros livres são considerados em equilíbrio químico, podendo ser representados por:



ao qual corresponde uma constante de equilíbrio, K_n ,

$$K_n = \frac{[S_{N_{ag}}]}{[S]^{N_{ag}}} \quad (1.10)$$

De um modo simples, considera-se a razão das atividades semelhante à razão das concentrações. Tendo apenas unímeros e N_{ag} agregados, a concentração total de tensoativo expressa em moles de unímero, é:

$$[S]_T = N [S_{N_{ag}}] + [S] = NK_{N_{ag}} [S]^{N_{ag}} + [S] \quad (1.11)$$

A fração de tensioativo adicionado que incorpora a micela é definida através de

$$\frac{d(N[SN])}{d([S]T)} \quad (1.12)$$

e poderá ser quantificada através da resolução das Equações 1.5 a 1.7.

Neste modelo define-se a variação de energia livre de Gibbs de micelização para surfactantes não-iónicos como

$$\Delta G_m = RT \left[\left(1 - \frac{1}{N_{ag}} \right) \ln (x_{CMC}) + f(N_{ag}) \right] \quad (1.13)$$

Onde $f(N_{ag})$ é dado por

$$f(N_{ag}) = \frac{1}{N_{ag}} \left\{ \ln \left[N_{ag}^2 \left(\frac{2N_{ag} - 1}{N_{ag} - 1} \right) \right] + \ln \left[\frac{N_{ag}}{2} \left(\frac{2N_{ag} - 1}{N_{ag}^2 - 1} \right) \right]^{N_{ag} - 1} \right\} \quad (1.14)$$

O efeito da concentração total de tensioativo na equação 1.12, para diferentes valores de N , encontra-se exemplificado na Figura 1.9. Para as variações de N temos três hipóteses: quando N aumenta, quando tende para infinito e quando está representado por valores finitos; quando N aumenta, o valor de $d(N[SN])/d([S]T)$ sofre uma variação drástica desde zero até um e quando N tende para infinito, obtém-se o resultado do modelo de “Separação de fases”, com uma descontinuidade de $d(N[SN])/d([S]T)$, para $[S]T = CMC$.

Para valores finitos de N , o processo de agregação é gradual e, por definição, a CMC será obtida no ponto onde $d(N[SN])/d([S]T) = 0,5$.

Concluindo, a CMC representa a concentração onde existe igual probabilidade de ao adicionar um monómero este ficar em solução ou incorporar a micela¹⁰.

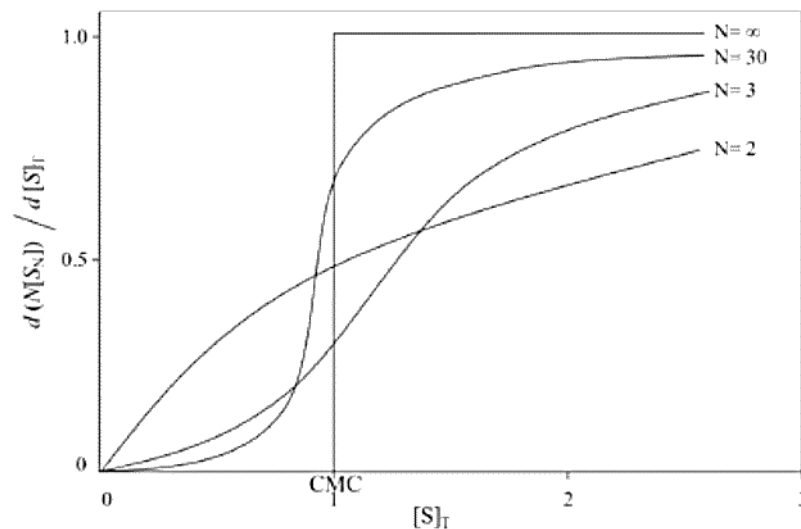


Figura 1.9- Fração de surfactante que incorpora a micela, $d(N[S_N])/d([S]_T)$, versus a concentração de surfactante total, $[S]_T$, adaptado de ¹⁰.

Os dois modelos descritos anteriormente, são utilizados para processos de micelização com surfactantes não iônicos.

Para surfactantes iônicos, é necessário ter em consideração a presença de contra-íons na micela. Com isto, as equações 1.9 e 1.10 terão de ser escritas considerando o equilíbrio entre os unímeros de surfactantes, S^- , os contra-íons, C^+ , e as micelas, S_N^z :



Sendo a constante de equilíbrio deste equilíbrio definida através da equação:

$$K_N = \frac{[S_N^{z-}]}{[S^-]^N [C^+]^{N-z}} \tag{1.16}$$

onde z^- é a carga da micela. Na adição de N unímeros, a micela conterá $N-z$ contra-íons e o grau de dissociação destes na micela, α , será obtido através de:

$$\alpha = \frac{z}{N} \quad (1.17)$$

Então, a variação de energia livre de Gibbs de micelização padrão é dada por:

$$\Delta G_m^0 = \frac{\Delta G^0}{N_{ag}} = -\frac{RT}{N_{ag}} \ln \left[\frac{x_m}{(x_{livre})^{N_{ag}} + (x_{contra-ião})^{N_{ag}-\alpha N_{ag}}} \right] \quad (1.18)$$

Onde x_m é a fração molar de surfactantes não livres que formam as micelas, x_{livre} é a fração de surfactantes livres e $x_{contra-ião}$ é a fração molar de contra iões

A equação 1.13 passa a coincidir com a equação 1.6 no limite de N_{ag} , quando $f(N_{ag}) \rightarrow 0$. Tal como a equação 1.18 passa a coincidir com a equação 1.8. Quando $N_{ag} \approx 100$, que é a ordem de grandeza do número de surfactantes que constitui uma micela típica, podemos assumir a equivalência das equações dos dois modelos.

O modelo de separação de fases e o modelo de ação de massas diferenciam-se no modo de se calcular as suas frações molares. No primeiro modelo, o número total de moles leva em conta o número de moles de água, de iões de surfactante, de contra-iões livre e de micelas. Diferentemente, no segundo modelo o número total de moles presentes na CMC leva em conta o número total de moles de água e surfactante.

A contribuição relativa da entalpia possibilita uma avaliação da dependência da CMC com a temperatura. Combinando as expressões anteriores para a energia de Gibbs com a equação de Gibbs-Helmholtz, é possível obter uma equação que permite o cálculo da entalpia do processo de micelização (ΔH_m^0) para surfactantes iónicos:

$$\Delta H_m^0 = -RT^2 \left[(2 - \alpha) \frac{d \ln(\text{CMC})}{dT} + \ln \text{CMC} \frac{d(1 - \alpha)}{dT} \right] \quad (1.19)$$

Recorrendo à equação de Gibbs, após o cálculo da energia de Gibbs de micelização e da entalpia de micelização, pode-se calcular a entropia de micelização (ΔS_m^0):

$$\Delta S_m^0 = \frac{\Delta H_m^0 - \Delta G_m^0}{T} \quad (1.20)$$

Utilizando as equações 1.8, 1.19 e 1.20 é permitido determinar os parâmetros termodinâmicos de micelização de um surfactante iónico, possibilitando avaliar os efeitos destes quando o surfactante se encontra em solução aquosa ou na presença de outros sais¹⁶.

1.2. Corantes

Os corantes são substâncias naturais ou sintéticas, utilizadas para conferir cor ou alterar a cor de qualquer tipo de substância, através da absorção seletiva de luz. Apresentam variadíssimas aplicações, desde os têxteis e ao papel, revestimentos e tintas, à construção, plásticos e vidros, automóveis, cosméticos e comida.

Estas substâncias são solúveis em água e/ou solventes orgânicos, devendo possuir uma afinidade específica com o substrato onde são aplicados. As suas propriedades associadas à cor dependem exclusivamente à sua estrutura química¹⁷. São caracterizados pela capacidade de absorver ou emitir luz dentro da faixa espectral do visível, entre os 400 e 800 nm, e podem conter conjugações π , grupos cromóforos e grupos auxóchromos que contribuem significativamente para o valor total da absorção da molécula, isto é, o seu coeficiente de absorvidade molar, ϵ .

Desde a evolução de corantes sintéticos estes podem ser classificados pelo seu comportamento, estrutura e aspetos fenomenológicos.

1.2.1. Azul de Metileno

O azul de metileno (IUPAC cloreto de 3,7-bis (dimetilamino) -fenotiazin-5-io, CAS: 122965-43-9), tem a fórmula molecular $C_{16}H_{18}ClN_3S$ e a estrutura representada na Figura 10, sendo fornecido, geralmente, na sua forma hidratada.

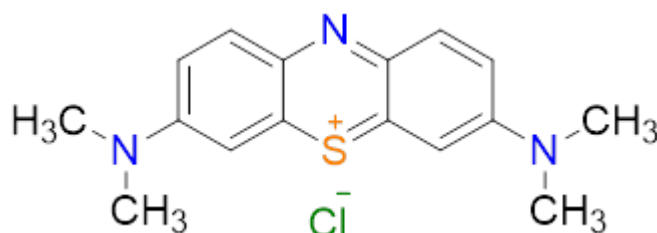


Figura 1.10-. Estrutura química do azul de metileno.

O azul de metileno foi o primeiro fármaco sintético, tendo sido Heinrich Caro o químico que o primeiro o sintetizou, em 1876^{18,19}. Em 1891 foi aplicado no tratamento da malária por Guttman e Ehrlich, estratégia que ainda tem validade^{20,21}. A descoberta da bactéria da tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, por Robert Koch²² e a organização estrutural dos tecidos nervosos, por Cajal²³, estão também ligados às características de corante celular do azul de metileno. Ehrlich relacionou a afinidade celular preferencial com a toxicidade, iniciando assim a história da síntese farmacológica. Os termos droga e corante eram usados como sinónimos até à Primeira Guerra Mundial (1914-1918). O azul de metileno apresenta ação inibitória da reprodução do vírus SARS-CoV-2 *in vitro*²⁴, e tem demonstrado validade em outros quadros clínicos como a doença de Alzheimer, terapias fotodinâmicas e anticancerígenas.

O azul de metileno é útil na área da catálise, na área da cosmética e na área têxtil^{21,25-27}. Devido à sua forte adsorção em suportes sólidos, este corante é também utilizado como composto modelo para a remoção de corantes e de contaminantes orgânicos a partir de soluções aquosas²⁸.

Quimicamente, o azul de metileno é um corante aromático heterocíclico, solúvel em água ou em álcool. É um corante considerado pouco tóxico, que absorve intensamente na região do UV-Vis ($\lambda_{\text{max}} = 664 \text{ nm}$, em água)^{29,30}.

Em solução aquosa, a dissociação iônica produz um catião que apresenta três formas canônicas (Figura 1.11).

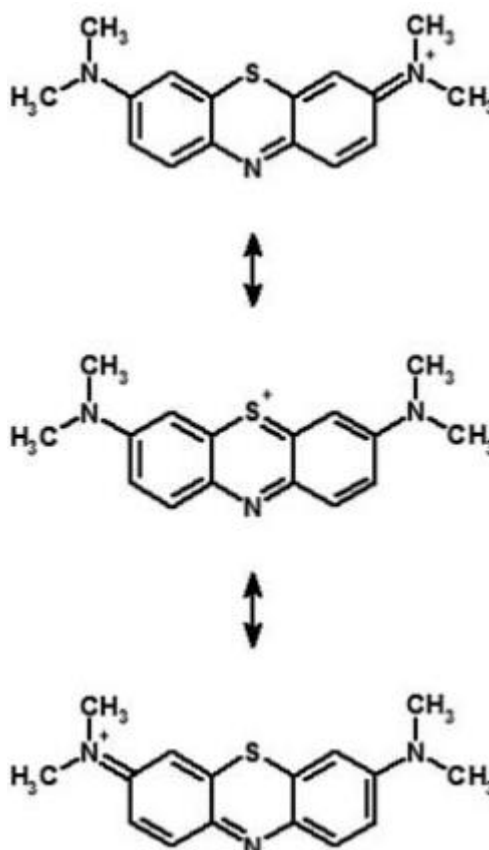


Figura 1.11 - Formas canônicas do catião azul de metileno em solução aquosa³¹.

1.2.2. Interações entre corantes e surfactantes

Estudos sobre interações corante-surfactante têm vindo a prover informações essenciais para aplicações industriais, investigação e processos de tingimento e separação de corantes³².

Devido à grande possibilidade de variações quer na estrutura do surfactante quer na estrutura do corante, a natureza das forças que leva à ligação de moléculas de corante com agregados de surfactante depende, em grande parte, de fatores tais como o caráter catiónico, aniónico ou não iónico de um surfactante, a absorção e/ou o comportamento de fluorescência a concentrações pré- e pós-micelares, temperatura, entre outros³³. Ao solubilizar uma pequena quantidade de surfactante, dependendo da sua natureza, este é dissolvido em entidades individuais e comporta-se tipicamente como um eletrólito. Por outro lado, a partir de uma certa quantidade estes vão-se comportar de maneira diferente e, após atingirem um certo limite (CMC), começam a formar agregados, dando origem a micelas.

Na região pré-micelar as moléculas individuais de surfactante (unímeros) interagem com as moléculas de corante formando complexos de associação iónica, enquanto na região pós-micelar, com a adição de surfactante, as caudas hidrofóbicas dos unímeros dos surfactantes, ao interagirem com as moléculas de surfactante, formam estruturas tridimensionais e absorvem as moléculas de corante para o seu interior (A) ou adsorvem as moléculas de corante que ficam localizadas na superfície da micela (B) (Figura 1.12).

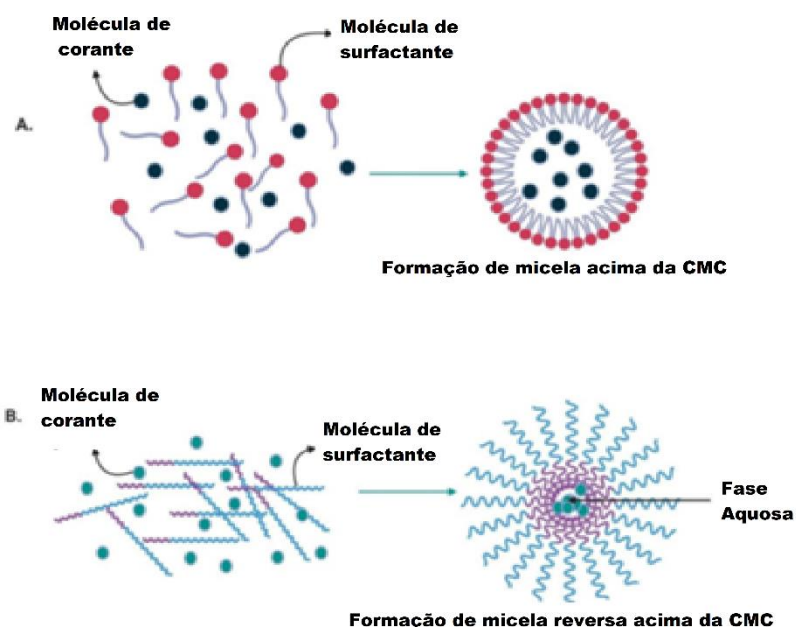


Figura 1.12- Ilustração das interações pré- e pós-micelar de moléculas de corante e de surfactantes.

A solubilização dos corantes é afetada pela forma, dimensão, distribuição pelo meio, tamanho da cauda da molécula de surfactante e da massa molecular do corante³⁴. O tamanho e forma da micela vão depender do número de unímeros em agregação, sendo normalmente esféricas, retendo o corante no interior³³.

Com as interações entre moléculas de surfactante e de corante, as propriedades físicas das soluções podem ser afetadas, como, por exemplo, a tensão superficial, condutividade, viscosidade e a difração de luz.

CAPÍTULO II

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2. Procedimento Experimental

2.1. Objetivo

Neste trabalho investigamos de que forma a presença do corante azul de metileno, pode afetar as propriedades de micelização do surfactante dodecilsulfato de sódio (SDS). As propriedades estudadas experimentalmente foram a CMC, o grau de dissociação de contra-íons e o número de agregação. Para isso, estudou-se o efeito da concentração do corante em sistemas coloidais, através da utilização de métodos como a condutividade elétrica, tensão superficial e medidas espectroscópicas de UV-Vis.

2.2. Método do anel de Du Noüy

As forças de coesão entre moléculas líquidas são responsáveis pelo fenómeno conhecido como tensão superficial. As moléculas da superfície, não tendo vizinhança similar em todos os lados, ligam-se mais fortemente às moléculas que estão ao seu lado, formam uma película que torna mais difícil a penetração de objetos no líquido. Para medir estas forças de coesão utilizou-se o Método do anel de Du Noüy. Este método usa a interação de um anel de platina com a superfície do líquido para medir estas forças de coesão entre as partículas da superfície em micro Newton por metro (mN.m^{-1}).

O Método do anel de Du Noüy pode ser considerado o mais comum de todos os métodos baseados no princípio de balanço de força. Neste método (Figura 2.1), um anel de platina é suspenso de uma balança e o líquido é colocado num recipiente que se eleva até que o anel fique submerso (1). O recipiente com a amostra é depois descido até que o filme de líquido formado na sua superfície seja distendido pelo anel (2). A força é medida durante a descida do recipiente, enquanto o filme é esticado (3). Ao atingir a força máxima, o vetor da força é exatamente paralelo à direção do movimento e o ângulo de contacto entre o líquido e a superfície do anel, θ , é 0° (4-5). Ao realizar a medição aumenta-se a distância entre o líquido que está contido no recipiente e o anel (6), até que a área da força máxima seja ultrapassada (7), o recipiente é de novo elevado de modo a que o ponto de força máxima seja novamente atingido (8). Durante a medição da força a quebra da superfície da água é evitada. É possível, então, afirmar que a força aplicada para elevar o anel no ponto de força máxima

é igual ao peso do anel mais o peso do líquido elevado, como podemos observar pela seguinte equação:

$$\sigma = \frac{F_{m\acute{a}x} - F_v}{L \times \cos \theta} \quad (2.1)$$

Onde $F_{m\acute{a}x}$ é a força máxima, F_v o peso do volume de líquido elevado, L o comprimento humedecido e θ o ângulo de contacto com a superfície³⁵.

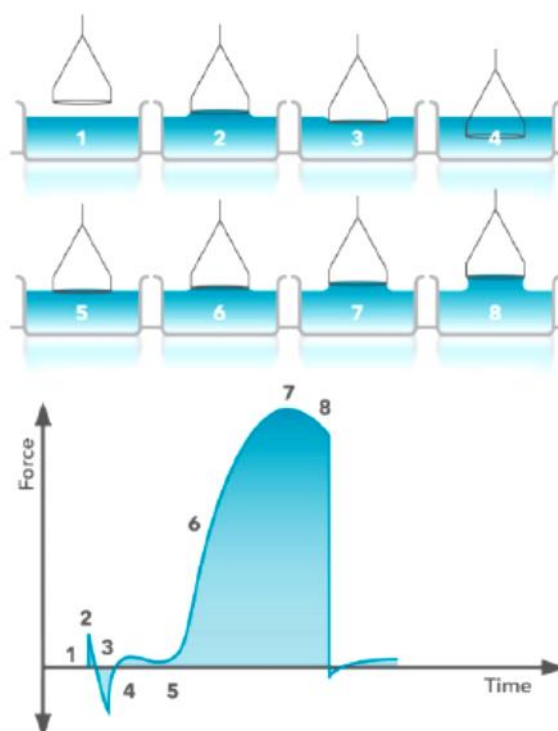


Figura 2.1- Esquema do funcionamento do método do anel de Du Noüy³⁶.

2.2.1. Material e Equipamento

Neste método foram utilizados como reagentes o dodecilsulfato de sódio (*purum* >96%, CAS: 151-21-3) e o azul de metileno (*for clinical diagnosis*, CAS: 61-75-4), ambos em estado sólido. Estes reagentes foram fornecidos pela Fluka e ParReack Appli Chem, respetivamente.

As soluções aquosas foram preparados com água ultra-pura Tipo I, produzida localmente (*Millipore*, mod. Direct Q® 3UV-R, 18,2 Ω m a 25 °C).

O equipamento utilizado foi o tensiómetro (*Biolin Scientific*, sigma 702), que apresenta uma resolução de 0,01 mN.m⁻¹ numa escala de 0-1000 mN.m⁻¹. A densidade pode ser medida entre 0-2,2 g.cm⁻³, com uma resolução de 0,0001 g.cm⁻³. Para as medidas deste trabalho, o equipamento apresenta uma resolução da força medida de 0,1 μ N e a massa de amostra é medida com resolução de 0,01 mg, para um funde de escala de 5 g.

2.2.2. Procedimento Experimental

Num balão volumétrico de 100 mL foi preparada uma solução de SDS de concentração 0,05 M, utilizando água ultrapura. Também em balões volumétricos, a partir desta solução, foram preparadas soluções de 25 mL de SDS de concentrações entre 2×10^{-3} e $11,2 \times 10^{-3}$ M separadas entre si por uma concentração de 4×10^{-4} M. A tensão superficial de cada uma das soluções foi medida a diferentes temperaturas, a 15 °C, 25 °C e 35 °C (± 1 °C), à pressão atmosférica, de forma a perceber o comportamento do SDS com a variação de temperatura.

Após estas medições foram adicionadas, às soluções anteriormente referidas, concentrações conhecidas do corante azul de metileno (5×10^{-6} M e 1×10^{-4} M), retiradas de uma solução inicial de concentração 0,1 M, sendo posteriormente medida a respetiva tensão superficial, nas temperaturas descritas acima, de modo a estabelecer a sua CMC. Entre medidas, o anel de Du Nuöi foi limpo com acetona e água ultrapura.

2.3. Condutimetria

A condutimetria permite saber qual a CMC de uma solução de surfactante pela relação entre a sua condutividade e concentração. Ao aplicar uma diferença de potencial entre dois elétrodos imersos numa solução, os iões dissolvidos migram para os elétrodos. Esta migração é a base do fluxo de corrente elétrica através da solução. A corrente elétrica criada depende do número de iões presentes e da velocidade com que estes se movem.

A resistência oferecida à passagem de corrente por um dado volume de solução contido entre dois elétrodos de área A (cm^2), à distância de d (cm) é dada pela equação 2.2

$$R = \rho \frac{d}{A} \quad (2.2)$$

variando com a geometria da célula, onde R é a resistência (Ω) e ρ é a resistividade específica ($\Omega \cdot \text{m}$).

A grandeza (d/A) denomina-se constante da célula, a partir de medições das áreas dos elétrodos e da distância entre eles. Dado que o campo elétrico não é homogêneo e não é limitado ao volume da solução entre os elétrodos, torna-se quase impossível determinar a constante da célula, das células usadas em química analítica. Por consequência, a constante da célula, tem de ser determinada por medição da resistência de uma solução para a qual se conheça ρ .

A condutividade, σ , de uma solução é o inverso da sua resistência, podendo ser descrita pela seguinte equação:

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \frac{A}{d} = \kappa \frac{A}{d} \quad (2.3)$$

onde κ é a condutividade específica ($\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$).

Este tipo de análises deve ser efetuada em células termostalizadas, uma vez que a resistividade é uma função da temperatura e esta influencia a viscosidade da solução e o grau de hidratação dos iões, afetando o seu tamanho e, conseqüentemente a sua mobilidade em solução³⁷.

2.3.1. Material e Equipamento

Neste método foi utilizado um medidor LCR automático (*Wayne-Kerr*, modelo 4265), com banda útil de 10 Hz – 100 kHz e precisão 0,1%.

A titulação foi realizada com um titulador automático (*Metrohm*, modelo 765), com erro aleatório máximo, em volume, de 0,07% (ISO 8655-3).

Para controlo de temperatura foi usado um banho termostático (*Thermo Scientific*, Phoenix II). Este equipamento tem campo de controlo de temperaturas de 30-250 °C, com resolução de 0,01 °C. É comandado com software integrado no equipamento.

2.3.2. Procedimento Experimental

Para a realização da análise condutimétrica foi utilizado o medidor automático e uma célula de condutância *dip-type*, com uma constante de célula de 0,1178 cm⁻¹. Foi preparada uma solução de 500 mL de SDS, com concentração de 0,1 M, sendo posteriormente colocada numa frasco de vidro âmbar de 1 L. Este frasco foi conectado ao titulador automático, que adicionava volumes específicos de solução de surfactante para uma célula termoestabilizada, com temperaturas de 25 °C e 35 °C, que continha 20 mL de água ultrapura ou de soluções de azul de metileno, de concentrações que variavam entre 5×10^{-5} e 1×10^{-4} M. Cada adição foi realizada com um intervalo de 3 minutos e as medidas de condutância recolhidas por um *software* específico³⁸.

2.4. Espectroscopia de absorção Ultravioleta-Visível

A técnica da espectroscopia do UV-Vis consiste em fazer incidir radiação eletromagnética na região de comprimento de onda de 200 a 800 nm (região do ultravioleta e do visível) sobre matéria capaz de a absorver. Nesta faixa de comprimento de onda, a absorção de radiação é limitada a um determinado tipo de grupos funcionais, os cromóforos. Devido à interação entre a radiação e as moléculas, são induzidas transições entre diferentes estados eletrónicos que ocorrem quando a energia da radiação eletromagnética, que incide sobre a molécula, é igual à diferença de energia entre o estado eletrónico fundamental e o estado excitado da molécula. Tendo isto em consideração, a espectroscopia de absorção no UV-Vis promove a passagem de um eletrão desde uma orbital molecular de menor energia (HOMO) para uma orbital de maior energia (LUMO), onde são observadas várias transições no espectro de absorção. Esta é, então, uma técnica que se baseia na energia de excitação (ou comprimento de onda) que é necessária para a transição de eletrões entre orbitais moleculares. A probabilidade de transição é medida em termos de absorvância e o coeficiente de absorção molar³⁹.

A quantidade de luz absorvida quando um feixe de radiação monocromática atravessa o meio absorvente pode ser obtida recorrendo à Lei de Beer-Lambert, descrita na equação abaixo, sendo que, depende da concentração do meio absorvente, do coeficiente de absorção molar e do percurso ótico da radiação. A absorvância de uma espécie química depende diretamente da sua concentração na amostra em estudo, sendo, por isso considerada uma técnica quantitativa.

$$A = \frac{I_0}{I} = \epsilon bc \quad (4.4)$$

Onde A é a absorvância, I e I_0 são a intensidade da radiação transmitida e a intensidade da radiação incidente respetivamente; o ϵ é o coeficiente de absorção molar ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$), b o caminho ótico (cm) e c é a concentração da substância ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)⁴⁰.

No caso dos ligandos, as bandas de absorção são correspondentes a transições de eletrões em orbitais não ligantes, n , ou ligantes, π , para orbitais anti-ligantes ($n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$) (Figura 2.1)⁴¹.

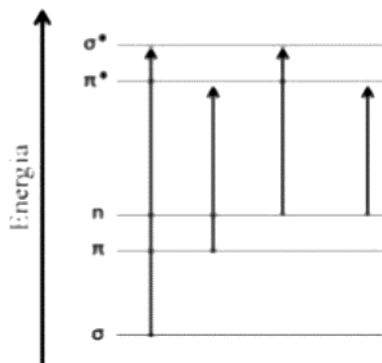


Figura 2.2- Imagem exemplificativa das transições eletrônicas.

O feixe de radiação eletromagnética, que atravessa o meio absorvente, pode ser atenuado devido a processos de absorção, reflexões e fenómenos de dispersão (Figura 2.3.).

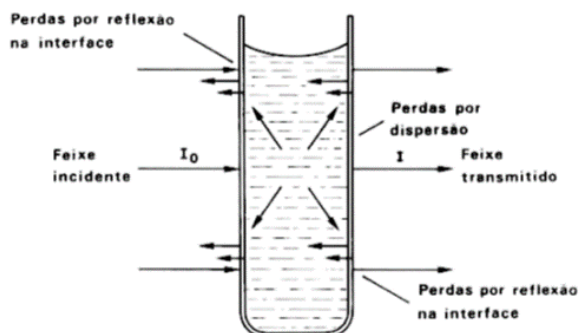


Figura 2.3- Exemplos de desvios a lei de Beer-Lambert originados por dispersão e reflexão da luz.

A lei de Beer-Lambert é válida apenas para soluções diluídas, usualmente para concentrações inferiores a 10^{-3} M. Esta lei pode apresentar desvios, uma vez que as medidas de absorvância não apresentam linearidade para todas as faixas de concentrações. Os desvios que esta lei apresenta podem ter diversas origens: devido a interações que envolvem os centros absorventes; desvios reais; desvios relativos à variação do índice de refração com a concentração; desvios químicos (quando ocorrem reações entre a espécie absorvente e o solvente) e desvios instrumentais (relacionados com a instabilidade da fonte, radiações estranhas que atingem o detetor e originam sobreposições de bandas de absorção)⁴².

2.4.1. Material e Equipamento

Neste método utilizou-se um espectrofotómetro UV-Vis de duplo feixe (*Shimadzu*, UV-2450), com banda útil 190-900 nm e resolução de 0,1 nm. O controlo, registo e tratamento de sinal foram realizados com software específico, do mesmo fornecedor. Para os ensaios, foram usadas células quartzo com percurso ótico de 10,0 mm.

2.4.2. Procedimento Experimental

Os espectros de absorção UV-Vis foram obtidos a temperatura ambiente e nos comprimentos de onda compreendidos entre 200 e 800 nm.

Inicialmente, para fazer a reta de calibração, numa cuvete 2 mL de água ultrapura e foram-se aferindo alíquotas de uma solução mãe de azul de metileno de concentração de

1×10^{-5} M. Após concluída a reta de calibração foi escolhido um ponto intermédio para o nosso estudo.

Foram, então, preparadas 7 soluções, em balões de 10 mL, a partir da solução mãe de azul de metileno com a concentração definida anteriormente e adicionou-se a cada uma delas uma percentagem de solução de SDS para perfazer 0,2, 0,5, 0,7, 1, 2, 5 e 10 vezes o valor da CMC de modo a observar o comportamento da solução na região pré- e pós-micelar.

CAPÍTULO III

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. Resultados e Discussão

Neste capítulo vamos abordar os resultados obtidos experimentalmente, através da tensiometria, seguindo-se o estudo por condutividade elétrica e, por fim, o método de espectrofotometria ultravioleta e visível.

3.1. Estudo das interações do SDS-MB por tensiometria

Inicialmente estudamos, por tensiometria, o comportamento do surfactante dodecilsulfato de sódio (SDS) em solução aquosa a três temperaturas diferentes, 15 °C, 25 °C e 35 °C, de modo a comparar, de seguida, com o comportamento desta solução com adição de azul de metileno no sistema SDS-MB. Os resultados experimentais obtidos são os apresentados na Figura 3.1.

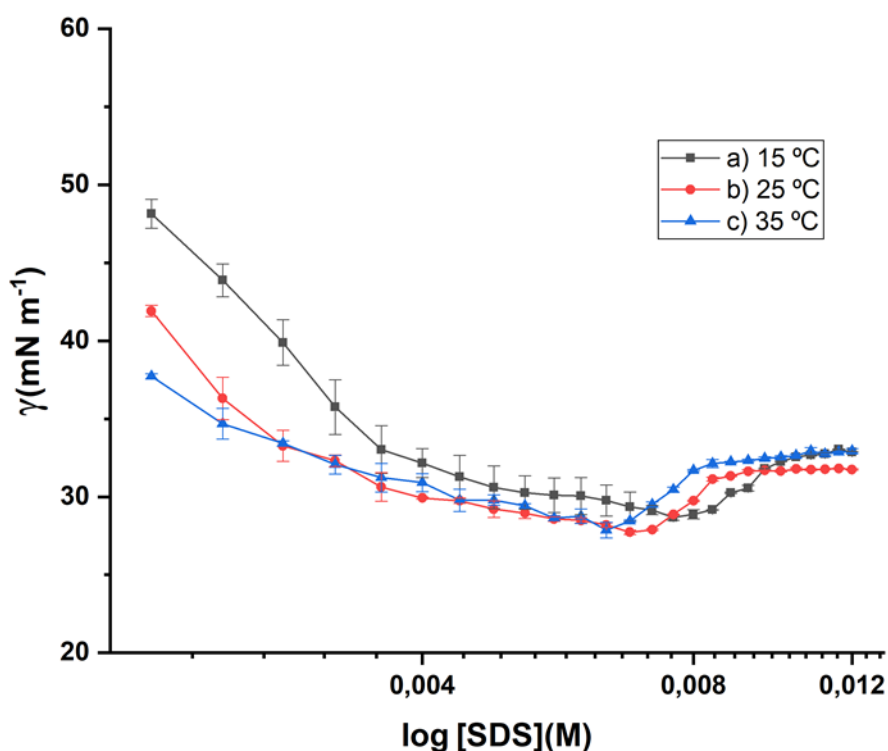


Figura 3.1- Tensão superficial de soluções aquosas de SDS a diferentes temperaturas.

Observando a Figura 3.1, podemos verificar que há uma variação significativa da tensão superficial com a variação da temperatura. De forma a analisar o efeito da temperatura na concentração micelar crítica, foi usado o método da intersecção de retas, tal como está representado na Figura 3.2.

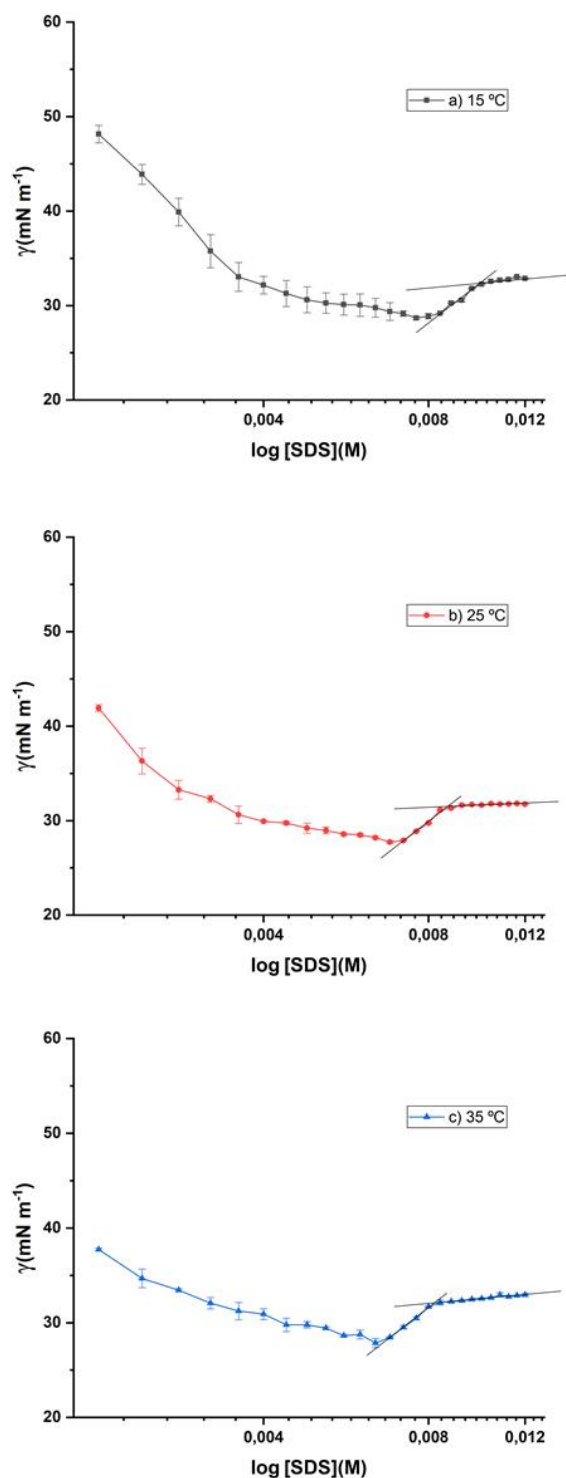


Figura 3.2 - Gráficos da curva da tensão superficial de SDS e água ultrapura a a) 15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.

Pela determinação da CMC, é de notar que, à medida que a temperatura aumenta, a solução atinge a sua CMC a menor concentração. Os valores das concentrações micelares críticas obtidos são: $9,69 \times 10^{-3}$ M, $8,51 \times 10^{-3}$ M e $8,08 \times 10^{-3}$ M, para as temperaturas de 15 °C, 25 °C e 35 °C, respetivamente.

Podemos ainda verificar que a uma temperatura mais elevada o valor da tensão superficial tem uma variação mais acentuada devido à maior entropia da solução.

Após esta primeira abordagem estudamos o comportamento do SDS em soluções com azul de metileno a diferentes concentrações. Na Figura 3.3, são apresentados os resultados do estudo tensiométrico do sistema SDS-MB, tendo-se mantida constante a concentração de azul de metileno a $1,25 \times 10^{-3}$ M, de forma semelhante ao estudo anterior o efeito da temperatura foi também estudado.

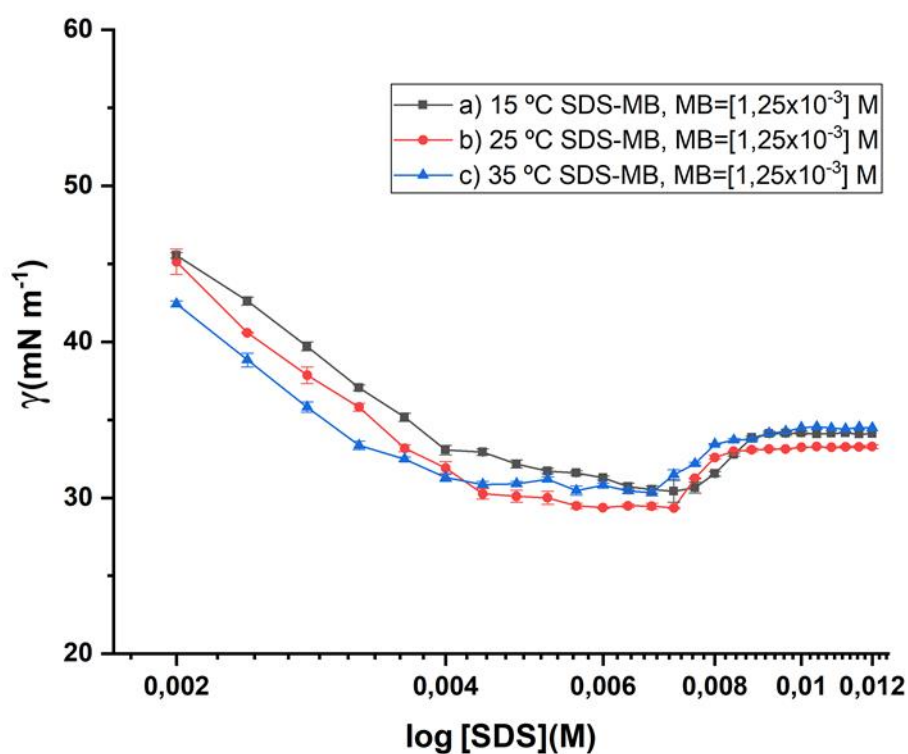


Figura 3.3- Estudo tensiométrico do comportamento do sistema SDS-MB ([MB] = $1,25 \times 10^{-3}$ M).

Destes resultados podemos concluir que a inclusão do MB, na concentração indicada, reduz a tensão superficial no sistema SDS-MB em relação ao sistema SDS, ou seja, verifica-se uma tensão superficial inferior no sistema SDS-MB do que apenas no SDS. A análise de

cada temperatura foi feita de forma individualizada e determinada a sua CMC, tal como se apresenta na Figura 3.4.

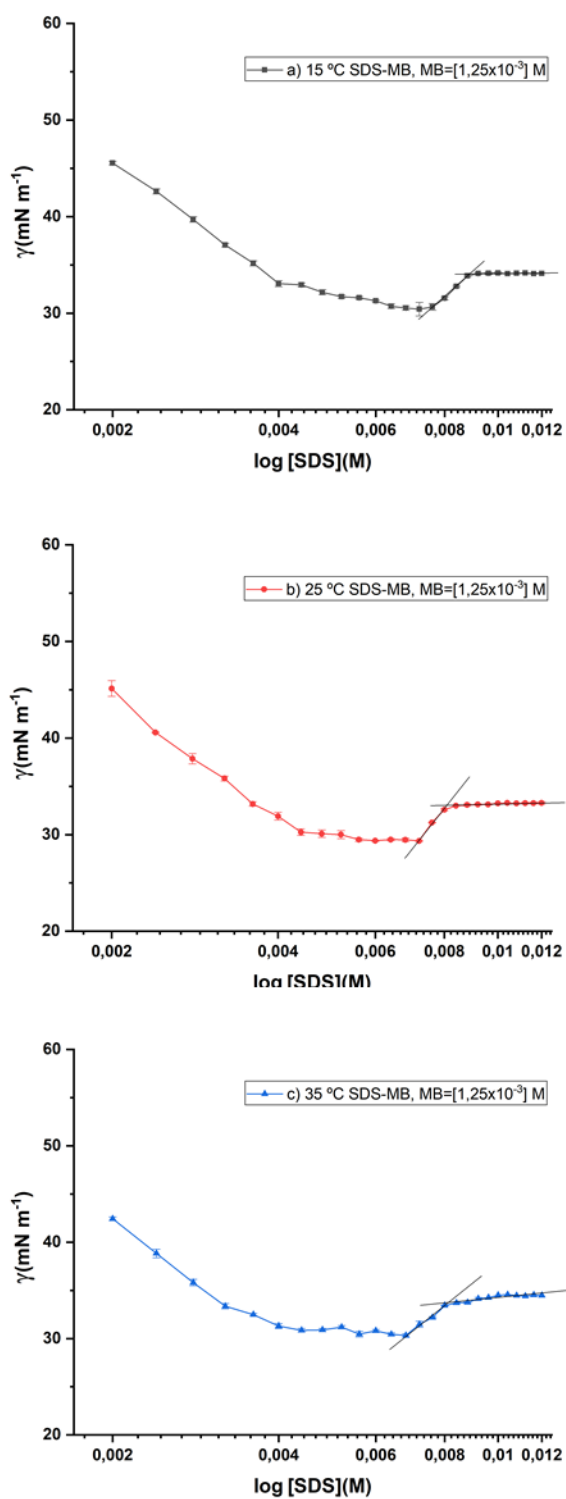


Figura 3.4- Gráfico das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[\text{MB}] = 1,25 \times 10^{-3}$ M) a) 15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.

Podemos concluir que, para a temperatura de 15 °C, a CMC é $9,17 \times 10^{-3}$ M, a 25 °C é $8,37 \times 10^{-3}$ M e a 35 °C é $8,16 \times 10^{-3}$ M.

Na Figura 3.5 são apresentados os resultados do estudo tensiométrico do sistema SDS-MB, na concentração $2,5 \times 10^{-3}$ M de azul de metileno, a diferentes temperaturas.

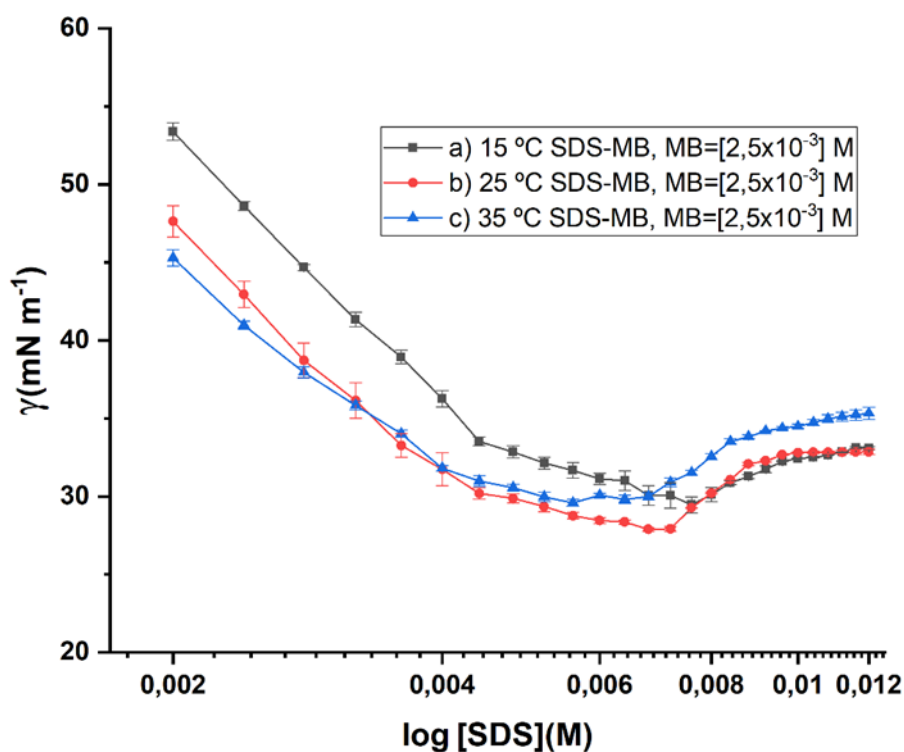


Figura 3.5- Estudo do comportamento tensiométrico do sistema SDS-MB ($[\text{MB}] = 2,5 \times 10^{-3}$ M).

Da observação do gráfico experimental, podemos verificar que a 35 °C se atinge a CMC sendo necessário menos concentração de SDS. Podemos observar o comportamento individualizado de cada reta na Figura 3.6.

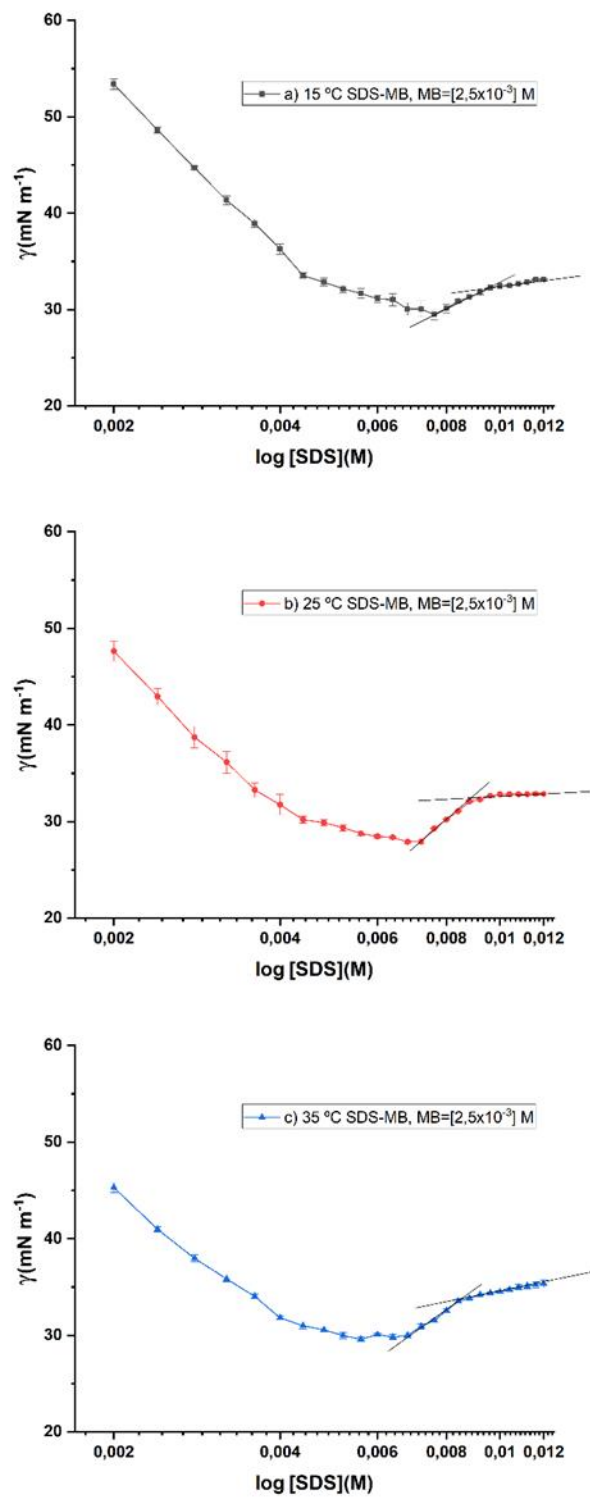


Figura 3.6- Gráficos das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[\text{MB}] = 2,5 \times 10^{-3} \text{ M}$) a) 15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.

Podemos concluir que, para a temperatura de 15 °C, a CMC é $9,53 \times 10^{-3}$ M, a 25 °C é $8,88 \times 10^{-3}$ M e a 35 °C é $8,72 \times 10^{-3}$ M.

Na Figura 3.7 são apresentados os resultados do estudo tensiométrico do sistema SDS-MB, na concentração $2,5 \times 10^{-2}$ M de azul de metileno, a diferentes temperaturas.

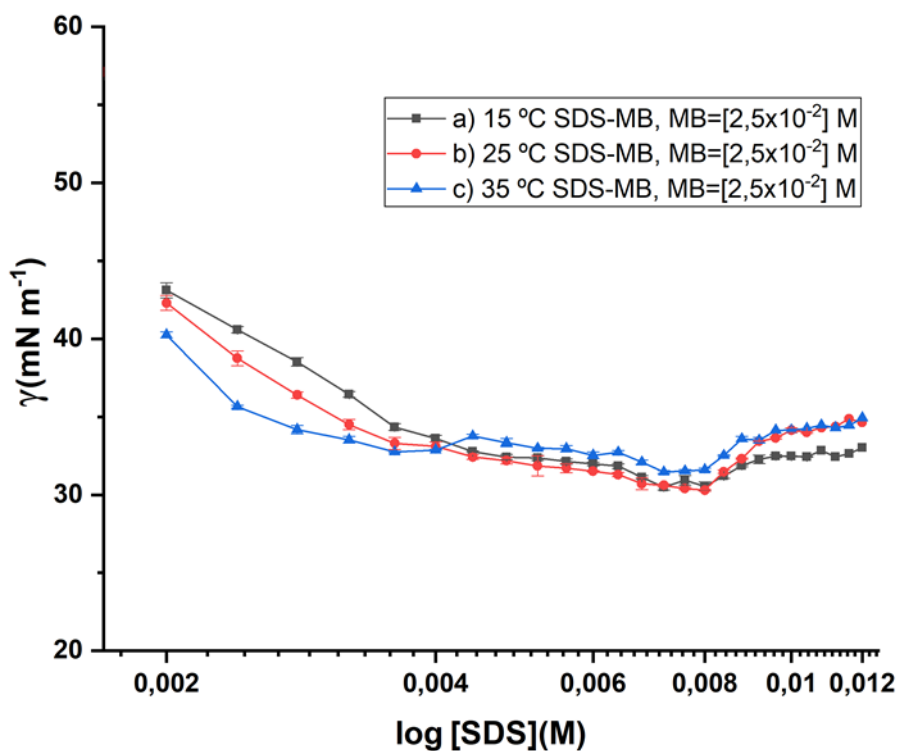


Figura 3.7- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB ($[\text{MB}] = 2,5 \times 10^{-2}$ M).

Dos resultados obtidos, é de notar que existe uma menor diferença no comportamento das curvas, a qual se pode dever à maior concentração de azul de metileno. Tal como podemos observar na Figura 3.8.

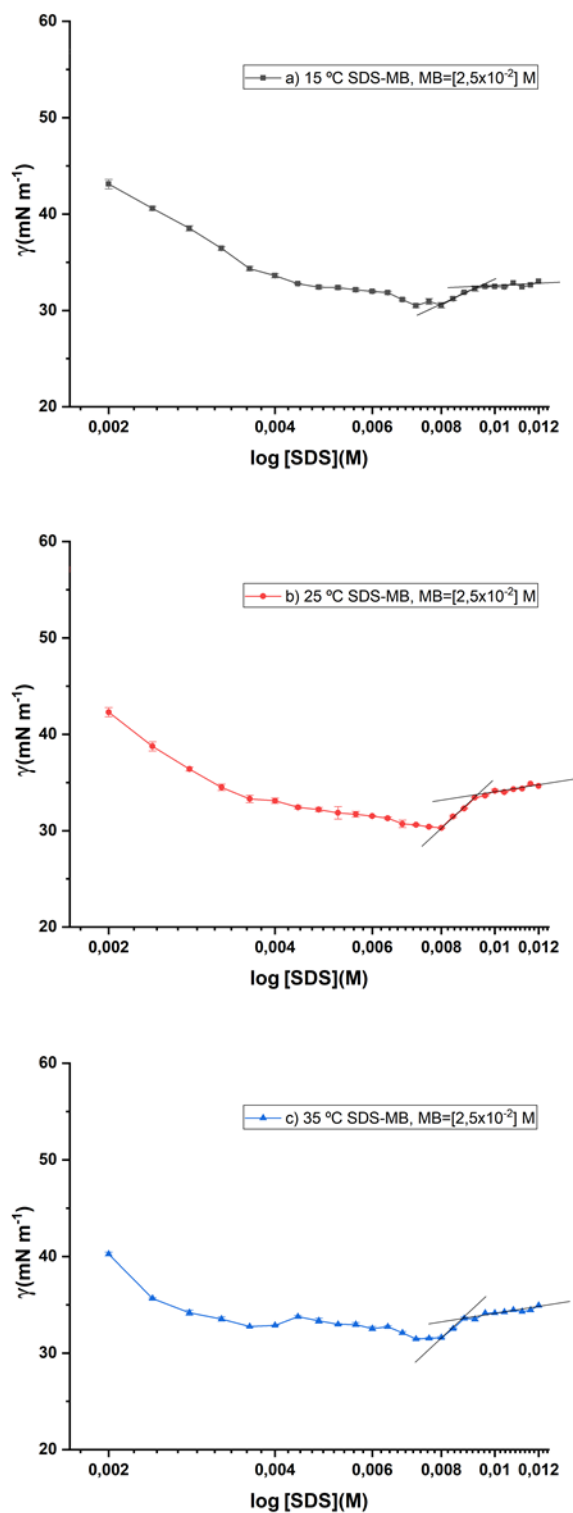


Figura 3.8- Gráficos das curvas da tensão superficial do sistema SDS-MB ($[\text{MB}] = 2,5 \times 10^{-2}$ M) a a) 15 °C, b) 25 °C e c) 35 °C.

Podemos concluir que, para a temperatura de 15 °C, a CMC é $8,87 \times 10^{-3}$ M, a 25 °C é $9,28 \times 10^{-3}$ M e a 35 °C é $8,86 \times 10^{-3}$ M.

Nos gráficos de tensiometria acima, podemos concluir que o azul de metileno, para a temperatura mais baixa, 15 °C, vai aumentar a estabilidade da micela, ou seja, quanto mais micelas se formarem, menor vai ser a tensão superficial da solução; ao contrário do que acontece às temperaturas mais elevadas, 25 °C e 35 °C, onde o aumento da estabilidade da micela corresponde a uma CMC mais elevada.

Observamos que, a uma temperatura mais elevada, os valores da tensão superficial vão diminuir, isto é, vai existir uma maior entropia. Contrariamente, a uma temperatura mais baixa, a tensão superficial tem valores mais elevados com o aumento da concentração de SDS.

Observamos também que, com a adição de corante, a tensão superficial varia de forma com a quantidade de SDS na solução. Isto é, quanto maior a concentração de corante e maior a temperatura, também menor é a tensão superficial.

Com o aumento da concentração de corante e temperatura, a concentração de SDS necessário para atingir a CMC vai ser menor. É também de notar que as concentrações da CMC, para as diferentes temperaturas utilizadas, tendem para uma concentração de 9×10^{-3} M.

Na tabela abaixo, apresentam-se os resultados em síntese deste capítulo.

Tabela 3.1- Resumo do efeito do MB na CMC de SDS, a diferentes temperaturas, por tensiometria.

Sistema	CMC/M		
	15 °C	25 °C	35 °C
SDS + H ₂ O	$9,69 \times 10^{-3}$	$8,52 \times 10^{-3}$	$8,08 \times 10^{-3}$
SDS + $1,25 \times 10^{-3}$ M MB	$9,17 \times 10^{-3}$	$8,17 \times 10^{-3}$	$8,26 \times 10^{-3}$
SDS + $2,5 \times 10^{-3}$ M MB	$9,53 \times 10^{-3}$	$8,88 \times 10^{-3}$	$8,72 \times 10^{-3}$
SDS + $2,5 \times 10^{-2}$ M MB	$8,78 \times 10^{-3}$	$9,23 \times 10^{-3}$	$8,87 \times 10^{-3}$

3.2. Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria

Neste estudo fez-se a medição da condutimetria estabelecendo a condutividade das várias soluções SDS e SDS-MB a diferentes concentrações e temperaturas.

No estudo a temperatura de 25 °C obtiveram-se os seguintes resultados apresentados na Figura 3.9.

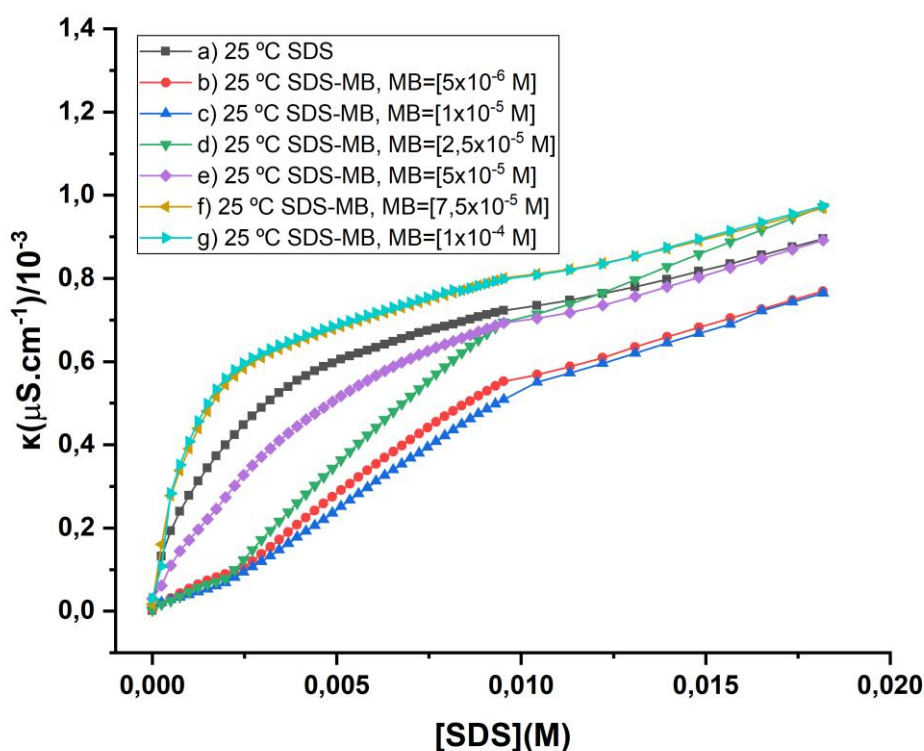


Figura 3.9- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria, a 25 °C.

Da análise da Figura 3.9, concluímos que com uma maior concentração de MB a condutividade do sistema vai aumentar, sendo atingido o patamar da CMC mais rapidamente, como podemos observar na curva da solução g) SDS-MB, [MB]=1 × 10⁻⁴ M. Podemos também concluir que nas concentrações a) SDS-MB, [MB]=5 × 10⁻⁶ M, c) SDS-MB, [MB]=1 × 10⁻⁵ M e d) SDS-MB, [MB]=2,5 × 10⁻⁵ M existem dois pontos de alteração da reta o que se deve, muito provavelmente, a interações eletrostáticas do corante MB, com

o SDS. A concentração micelar crítica foi idêntica para as três retas escolhidas sendo igual $9,51 \times 10^{-3}$ M.

Este comportamento pode ser interpretado considerando que quando a concentração de SDS é baixa existem mais monómeros livres do que agregados e, portanto, a condutividade será maior. À medida que a concentração aumenta a tendência para formar agregado micelar vai aumentando logo existiram menos monómeros livres e, portanto, a condutividade vai diminuindo, diminuindo também o declive da reta.

Os dados restantes não foram considerados devido a não estarem de acordo com a literatura, apresentando uma curva em vez de uma reta com uma mudança de declive após a CMC.

De seguida fez-se o estudo a 35 °C cujos resultados se apresentam de seguida na Figura 3.10.

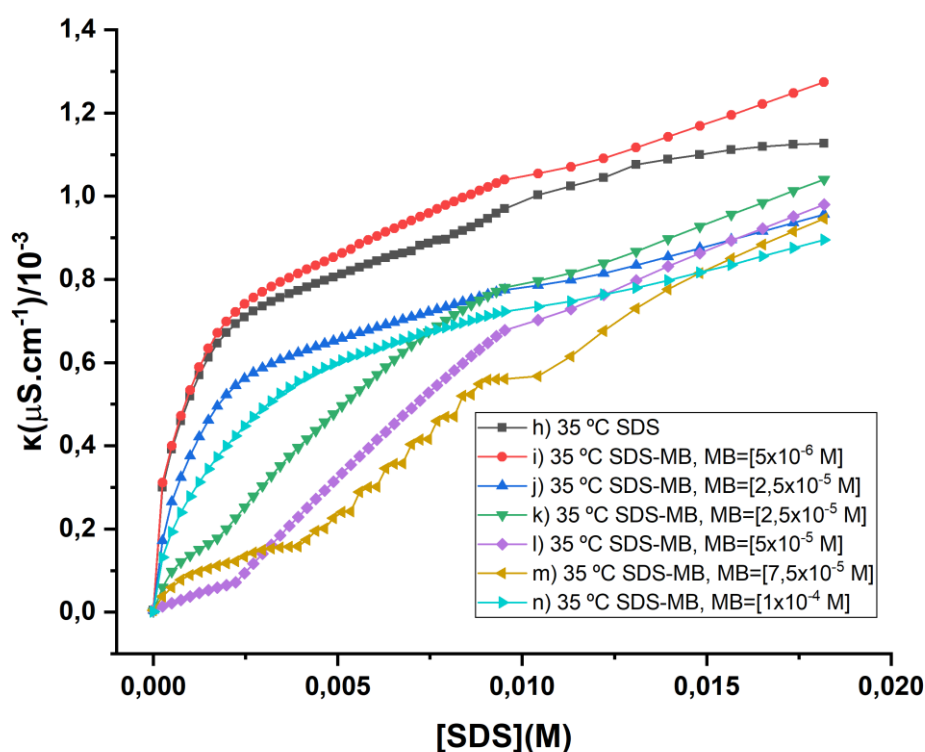


Figura 3.10- Estudo do comportamento do sistema SDS-MB por condutimetria a diferentes concentrações, à temperatura de 35 °C.

Neste estudo a uma temperatura mais elevada, 35 °C observamos que com o aumento da concentração de SDS a tendência para formar agregado micelar vai aumentar, logo teremos menos monómeros livres e, portanto, a condutividade diminui. Com o aumento da temperatura o equilíbrio entre a forma monomérica livre e a forma micelar tende no sentido da forma desagregada (monomérica) o que corresponde a uma maior condutividade em concentrações de MB menores.

Vemos que continuam a existir evidências de interações entre o MB e o SDS a baixas concentrações nos gráficos j) SDS-MB, [MB]= $2,5 \times 10^{-6}$ M, l) SDS-MB, [MB]= 5×10^{-5} M e m) SDS-MB, [MB]= $7,5 \times 10^{-6}$ M. Este último gráfico demonstra um comportamento irregular ao longo das adições de SDS o que poderá ser causado por instabilidades no banho térmico ou no titulador automático.

A CMC obtida neste gráfico estão coincidentes no valor $9,58 \times 10^{-3}$ M.

3.3. Estudo do comportamento do SDS-MB por espectrofotometria de UV-Visível

O sistema SDS-MB foi analisado por espectrofotometria de UV-Vis. Numa primeira abordagem estudaram-se as variações de absorvância medidas no intervalo de 200 a 800 nm para as soluções de concentração crescente em MB por adições sucessivas a partir da solução mãe de concentração de 1×10^{-5} mM tal como se apresenta na Figura 3.11.

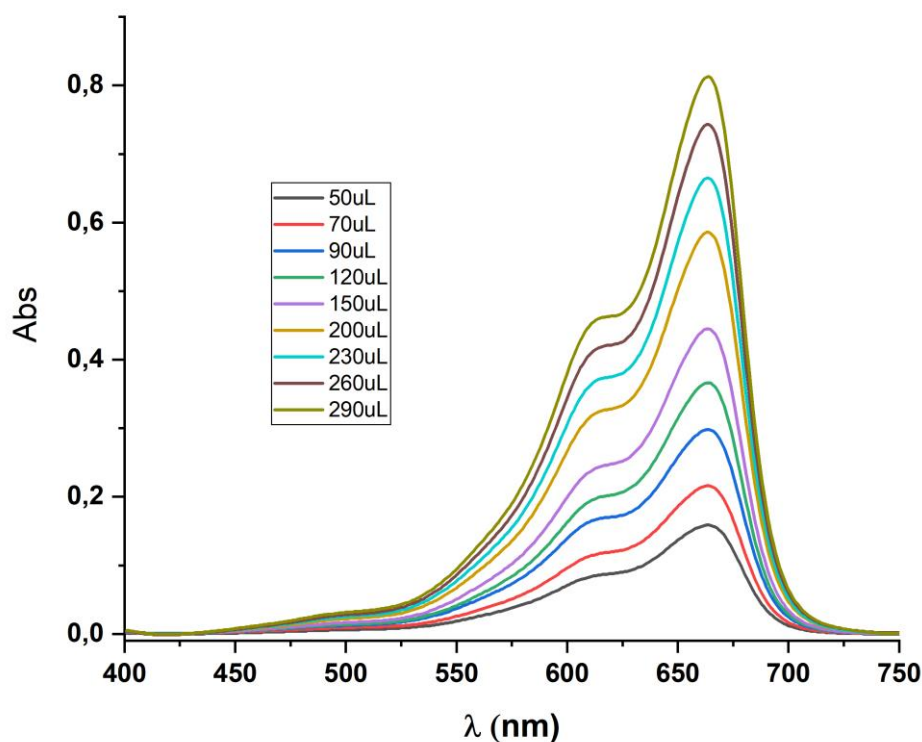


Figura 3.11- Estudo da absorvância do sistema MB-água.

São apresentados resultados da banda de 400 a 750 nm que contem toda a informação obtida.

Tal como esperado observa-se um aumento da absorvância com o aumento da concentração. De notar a presença de um ombro na zona dos 608 nm e um pico máximo no comprimento de onda de 664 nm, sendo este o escolhido para a construção da reta de calibração seguinte, obtendo-se desta forma a melhor sensibilidade analítica e um dos critérios para a adesão à lei de Beer-Lambert.

A partir dos valores das absorvâncias e das concentrações das soluções respetivas foi feita a regressão linear e determinados os parâmetros da reta, nomeadamente o declive que correspondente ao coeficiente de absorvância molar (ϵ), tal como se mostra na Figura 3.12.

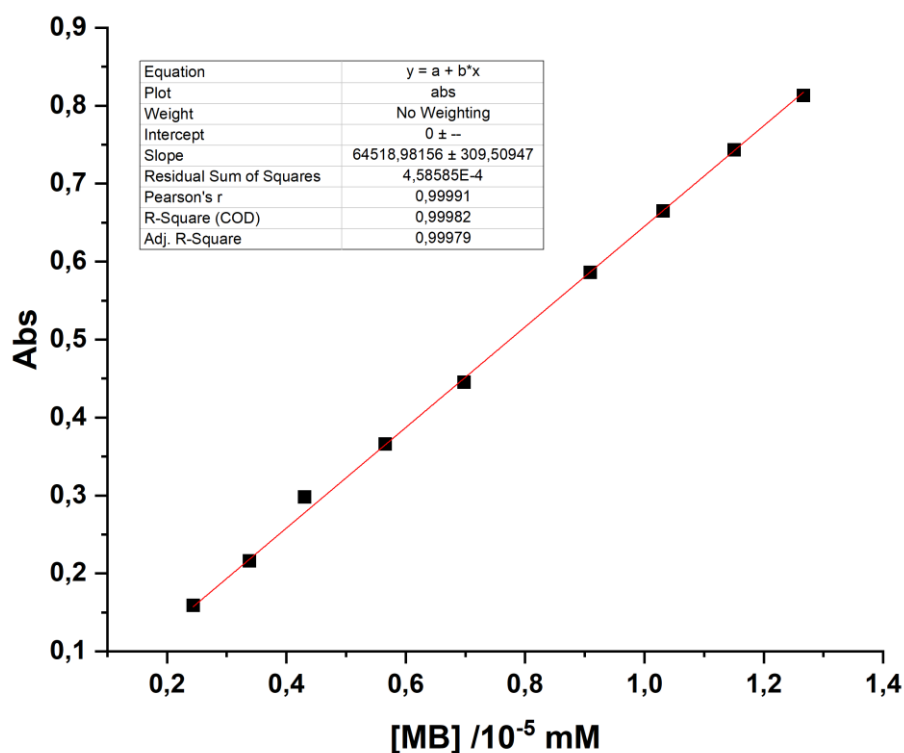


Figura 3.12- Reta de calibração obtida através dos máximos da Figura 3.11.

O resultado obtido para o \mathcal{E} foi de $64519 (\pm 309) \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Para continuar o estudo foi selecionado o valor de absorvância de 0,6, correspondente à concentração $9,3 \times 10^{-6} \text{ M}$, uma vez que se trata de um valor intermédio na reta de calibração, o que nos permite fazer o estudo do sistema SDS-MB. Fez-se o varrimento do espectro de absorvância no intervalo dos 400 aos 800 nm, para a solução inicial e para as restantes soluções de concentrações crescentes em SDS, no intervalo de 0,2 CMC a 10 CMC, tal como se apresenta na Figura 3.13.

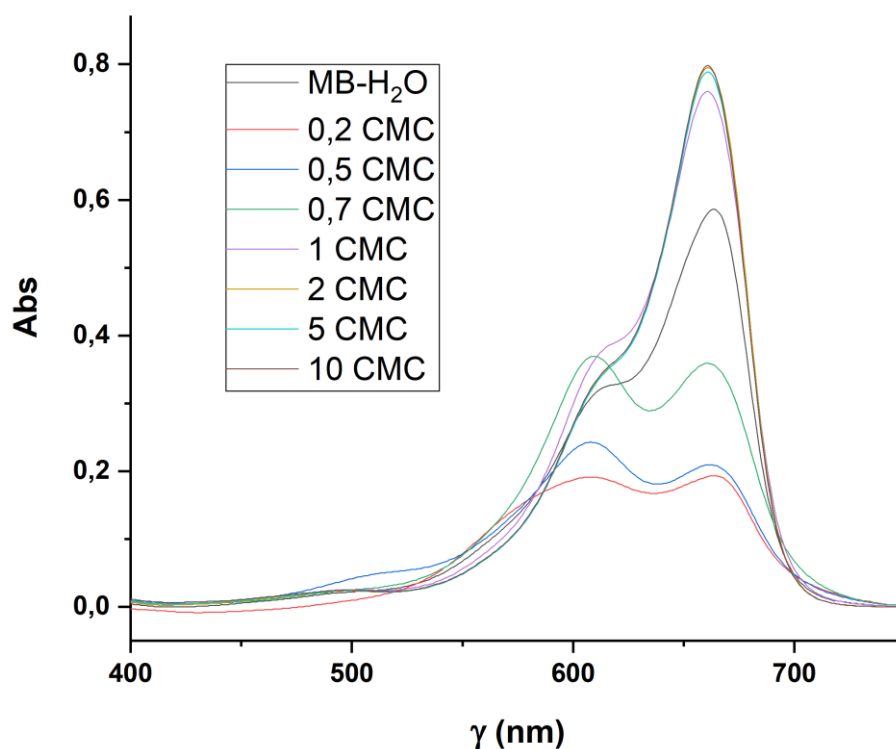


Figura 3.13- Estudo do sistema SDS-MB por espectroscopia de UV-Vis.

Nos varrimentos iniciais, na zona pré-micelar, pode observar-se a presença de dois picos praticamente idênticos, nos comprimentos de onda 608 nm e 662 nm. Aumentando o pico do comprimento de onda 662 nm, quando se atinge a concentração micelar e pós-micelar, o que pode indicar a existência e coordenação de monómeros de SDS e os cátions do azul de metileno, as quais se encontram no estado livre. Quando a concentração da CMC é atingida, os íons do corante ficam retidos dentro das micelas, fazendo com que exista pouca ou nenhuma interação com os monómeros livres, ficando assim a banda equivalente à de H₂O-MB, existindo, portanto, evidências de uma integração do corante com a formação de micelas.

Também podemos ver um ligeiro desvio das bandas do sistema de SDS-MB, aos 662 nm, em relação a amostra com MB-H₂O que se encontrava nos 664 nm o que deve ocorrer graças a presença de SDS na solução.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÃO

4. Conclusão

Neste projeto de dissertação de Mestrado em Química, foi investigada a interação entre o surfactante SDS e o corante MB, em meio aquoso, a diferentes temperaturas. Para tal, recorreu-se a três técnicas instrumentais, condutividade elétrica, tensão superficial e medidas espectroscópicas de UV-Vis, fazendo variar as concentrações em solução.

O sistema em estudo é relevante pois o corante MB tem, desde a sua descoberta, extensa aplicação em múltiplos campos de aplicação, sendo interessante poder fazer o seu transporte e entrega integrado em estruturas micelares bem estudadas, como é o caso do SDS. Da mesma forma, conhecer o comportamento micelar do SDS na presença do MB, permite estabelecer rotas de modulação que poderão demonstrar utilidade em futuras aplicações.

Conforme planeado, foi identificada evidência de encapsulamento do corante nas micelas de surfactante e estabelecidas as condições de formação de micelas em soluções ternárias, nomeadamente as tendências e diferenciais, medidos relativamente a soluções binárias de cada um dos reagentes estudados.

Usando técnicas tensiométricas, foram experimentalmente estudadas as CMC em três temperaturas diferentes para o sistema SDS-MB, com três diferentes concentrações de MB e um branco. Por condutimetria, foram estudados seis sistemas SDS-MB e um branco, a duas temperaturas. Finalmente, por espectroscopia de UV-Vis, foi estudada a variação de concentração de SDS, em sete ensaios, na presença de uma concentração fixa de MB.

O projeto de investigação, integrado no curriculum do Mestrado em Controlo e Qualidade do Ambiente, foi uma oportunidade de vivenciar o trabalho de laboratório e ultrapassar os obstáculos experimentais, numa época de muitas limitações, sendo uma mais-valia marcante no meu percurso académico.

Referências

- (1) Shaw, D. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, Fourth edi.; Butterworth-Heinemann, 2013.
- (2) Chatterjee, A.; Moulik, S. P.; Sanyal, S. K.; Mishra, B. K.; Puri, P. M. Thermodynamics of Micelle Formation of Ionic Surfactants: A Critical Assessment for Sodium Dodecyl Sulfate, Cetyl Pyridinium Chloride and Dioctyl Sulfosuccinate (Na Salt) by Microcalorimetric, Conductometric, and Tensiometric Measurements. *J. Phys. Chem. B* 2001, *105* (51), 12823–12831. <https://doi.org/10.1021/jp0123029>.
- (3) Dubey, N. Micellar Properties and Related Thermodynamic Parameters of Aqueous Anionic Surfactants in the Presence of Monohydric Alcohols. *J. Chem. Eng. Data* 2011, *56* (8), 3291–3300. <https://doi.org/10.1021/je101358p>.
- (4) Holmberg, K.; Jönsson, B.; Kronberg, B.; Lindman, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, Second Edi.; Holmberg, K., Jonsson, B., Kronberg, B., Lindman, B., Eds.; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, West Sussex PO19, 2002. <https://doi.org/10.1002/0470856424>.
- (5) Tadros, T. F. *Applied Surfactants: Principles and Applications*; Wiley-VCH, 2005.
- (6) Dave, N.; Joshi, T. A Concise Review on Surfactants and Its Significance. *Int. J. Appl. Chem.* 2017, *13* (3), 663–672.
- (7) Valente, A. J. M.; Burrows, H. D.; Pereira, R. F.; Ribeiro, A. C. F.; Pereira, J. L. G. C.; Lobo, V. M. M. Effect of Europium(III) Chloride on the Aggregation Behavior of Sodium Dodecyl Sulfate. *Langmuir* 2006, *22* (13), 5625–5629. <https://doi.org/10.1021/la060285e>.
- (8) Barnes, G. T.; Gentle, I. R. *Interfacial Science: An Introduction*, Second Edi.; Oxford University Press: Oxford, 2011.
- (9) Carvalho, N. A. Suporte Técnico à Produção e Comercialização de Produtos Cosméticos e Detergentes, Universidade Nova de Lisboa, 2009.
- (10) Evans, F. D.; Wennerstrom, H. *The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet*, Second Edi.; Wiley-VCH: New York, 1999.
- (11) Tanford, C. *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Second Edi.; Wiley–Blackwell, 1980.
- (12) Folmer, B. M.; Kronberg, B. Effect of Surfactant-Polymer Association on the Stabilities of Foams and Thin Films: Sodium Dodecyl Sulfate and Poly(Vinyl Pyrrolidone). *Langmuir* 2000, *16* (14), 5987–5992.

- <https://doi.org/10.1021/la991655k>.
- (13) Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena*, Third Edit.; John Wiley & Sons, Inc: New Jersey, 2004; Vol. 40. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(89\)80030-7](https://doi.org/10.1016/0166-6622(89)80030-7).
- (14) Aum, Y. K. P. G. *Sistemas Microemulsionados Visando à Remoção de Depósitos Parafínicos*, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2016.
- (15) Nesměrāk, K.; Němcová, I. Determination of Critical Micelle Concentration by Electrochemical Means. *Anal. Lett.* 2006, 39 (6), 1023–1040. <https://doi.org/10.1080/00032710600620302>.
- (16) Pereira, R. F. *Interações Entre Iões Metálicos e Surfactantes Aniônicos*, Universidade de Coimbra, 2011.
- (17) Gürses, A.; Açıkyıldız, M.; Güneş, K.; Gürses, M. S. *Dyes and Pigments*, Firts.; Springer International Publishing: Springer, 2016.
- (18) H, C. Verfahren Zur Darstellung Blauer Farbstoffe Aus Dimethylanilin Und Anderen Tertiären Aromatischen Monoaminen, 1877.
- (19) H, C. Improvement in the Production of Dyestuffs from Methyl-Aniline. US Patent 204796, 1878.
- (20) Guttman, P., and P. E. Ueber Die Wirkung Des Methylenblau Bei Malaria. Berlin Klin. *Berlin Klin. Wochenschr.* 1891, No. 28, 1891.
- (21) Schirmer, R. H.; Coulibaly, B.; Stich, A.; Scheiwein, M.; Merkle, H.; Eubel, J.; Becker, K.; Becher, H.; Müller, O.; Zich, T.; et al. Methylene Blue as an Antimalarial Agent. *Redox Rep.* 2003, 8 (5), 272–275. <https://doi.org/10.1179/135100003225002899>.
- (22) Koch, R. Die Aetiologie Der Tuberkulose. *Klin. Wochenschr.* 1932, 11 (12), 490–492.
- (23) S, C. Les Épines Collatérales Des Cellules Du Cerveau Colorées Au Bleu de Méthylène. *Rev. Rev. Trim. Microg.* 1896, 1, 5–19.
- (24) Gendrot, M.; Andreani, J.; Dufлот, I.; Boxberger, M.; Bideau, M. Le; Mosnier, J.; Jardot, P.; Fonta, I.; Rolland, C.; Bogreau, H.; et al. Methylene Blue Inhibits the Replication of SARS-Cov-2 in Vitro. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2020, 106202. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106202>.
- (25) Junqueira, H. C.; Severino, D.; Dias, L. G.; Gugliotti, M. S.; Baptista, M. S. Modulation of Methylene Blue Photochemical Properties Based on Adsorption at Aqueous Micelle Interfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2002, 4 (11), 2320–2328.

- (26) Wondrak, G. T. NQO1-Activated Phenothiazinium Redox Cyclers for the Targeted Bioreductive Induction of Cancer Cell Apoptosis. *Free Radic. Biol. Med.* 2007, 43 (2), 178–190. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.035>.
- (27) Simmons, R.; Thevarajah, S.; Brennan, M. B.; Christos, P.; Osborne, M. Methylene Blue Dye as an Alternative to Isosulfan Blue Dye for Sentinel Lymph Node Localization. *Ann. Surg. Oncol.* 2003, 10 (3), 242–247. <https://doi.org/10.1245/ASO.2003.04.021>.
- (28) Liu, T.; Li, Y.; Du, Q.; Sun, J.; Jiao, Y.; Yang, G.; Wang, Z.; Xia, Y.; Zhang, W.; Wang, K.; et al. Adsorption of Methylene Blue from Aqueous Solution by Graphene. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2012, 90 (1), 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.10.019>.
- (29) Maurya, N. S.; Mittal, A. K.; Cornel, P.; Rother, E. Biosorption of Dyes Using Dead Macro Fungi: Effect of Dye Structure, Ionic Strength and PH. *Bioresour. Technol.* 2006, 97 (3), 512–521. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.045>.
- (30) Wang, X. S.; Zhou, Y.; Jiang, Y.; Sun, C. The Removal of Basic Dyes from Aqueous Solutions Using Agricultural By-Products. *J. Hazard. Mater.* 2008, 157 (2–3), 374–385. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.01.004>.
- (31) Cooksey, C. J. Quirks of Dye Nomenclature. 8. Methylene Blue, Azure and Violet. *Biotech. Histochem.* 2017, 92 (5), 347–356.
- (32) Simončič, B.; Kert, M. A Study of Anionic Dye-Cationic Surfactant Interactions in Mixtures of Cationic and Nonionic Surfactants. *Dye. Pigment.* 2002, 54 (3), 221–237. [https://doi.org/10.1016/S0143-7208\(02\)00046-3](https://doi.org/10.1016/S0143-7208(02)00046-3).
- (33) Garcia, M. E. D.; Sanz-Medel, A. Dye-Surfactant Interactions: A Review. *Talanta* 1986, 33 (3), 255–264.
- (34) Bielska, M.; Sobczyńska, A.; Prochaska, K. Dye-Surfactant Interaction in Aqueous Solutions. *Dye. Pigment.* 2009, 80 (2), 201–205.
- (35) Du Nouy, P. L. A New Apparatus for Measuring Surface Tension. *J. Gen. Physiol.* 1919, 521–524.
- (36) Scientific, B. *Surface and Interfacial Tension and Their Measurement Techniques*.
- (37) Ohlweiler, O. A. Capítulo 13 - Condutometria. In *Fundamentos de Análise Instrumental*; Rio de Janeiro, 1981; pp 327–345.
- (38) Almeida, C. M. R.; Nascimento, B. F. O.; Pineiro, M.; Valente, A. J. M. Thermodynamic Study of the Interaction between 5,10,15,20-Tetrakis-(N-Methyl-4-Pyridyl)Porphyrin Tetraiodine and Sodium Dodecyl Sulfate. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2015, 480, 279–286.

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.12.030>.

- (39) Owen, T. *Fundamentals of Modern UV-Visible Spectroscopy*; Hewlett-Packard, 1996.
- (40) Menger, F. M.; Littau, C. A. Gemini Surfactants: Synthesis and Properties. *J. Am. Chem. SOC* 1991, *113* (2), 1451–1452.
- (41) Gonçalves, M. de L. S. S. *Métodos Instrumentais Para Análise de Soluções : Análise Quantitativa*, 4. ed.; Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- (42) Howell, J. A.; Hargis, L. G. Ultraviolet and Light Absorption Spectrometry. *Anal. Chem.* 1994, *66* (12), 445–461. <https://doi.org/10.1021/ac00084a017>.

