

# TRANSICIONES CONFORMACIONALES EN CARRAGENANOS: EFECTO DE MEZCLA DE ESPECIES POLIMERICAS EN LA SOLUCIÓN POLIELECTROLITICA

Sergio Pantano G.\*, Rodolfo Porasso y Julio Benegas

Departamento de Física, IMASL, Univ. Nac. de San Luis-CONICET  
Ejercito de los Andes 950 - (5700) San Luis - Argentina

e-mail: spanta@unsl.edu.ar

Una extensión de la teoría de condensación de contraiones (CC) es desarrollada para soluciones conteniendo un polielectrolito aniónico y sales simples que aportan contraiones de distinta valencia. Se introduce aquí la posibilidad de ligadura química de coiones (aniones) monovalentes por parte del polielectrolito. Los resultados de este estudio son contrastados con datos de RMN de la velocidad de relajación longitudinal de protones de tetrametilamonio (TMA) en soluciones de D<sub>2</sub>O que contienen MnCl<sub>2</sub> y sales de TMA con diferentes tipos de carragenanos.

In this paper we develop an extension of the counterion-condensation (CC) theory of linear polyelectrolytes in solution with counterions of mixed valence. The possibility of chemical binding of one of the coion species to the polyelectrolyte is included. The model is used to analyze experimental results of the longitudinal NMR relaxation rate of tetramethylammonium (TMA) protons in D<sub>2</sub>O solutions containing MnCl<sub>2</sub>, TMA carragenates, and added TMA salts.

## I. INTRODUCCIÓN

Las transiciones conformacionales de polielectrolitos en solución inducidas por la variación de las características físico-químicas del medio tienen importancia tanto teórica como práctica. De ella dependen, por ejemplo, las propiedades reológicas de la solución, que determinan a su vez la aplicación tecnológica.

En el presente trabajo se estudiará el efecto de las impurezas poliméricas, es decir, la existencia en la solución, aún en pequeñas cantidades, de polímeros de distinta densidad de carga.

Se considera además en particular el caso en que la cadena polimérica puede ligar pequeños iones de carga de igual signo que la del polianión (coiones o similiones). Esta ligadura química de coiones debe ser lo suficientemente fuerte como para vencer la intensa repulsión coulombiana que tiene lugar al acercarse un anión al polianión. El modelo se desarrolla en el contexto de la teoría de condensación de contraiones para polielectrolitos lineales<sup>1-7</sup> (CC) y considerando que la solución polielectrolítica puede contener sales simples que aportan contraiones de distinta valencia. Un ejemplo típico del proceso considerado lo constituyen los carragenanos, familia de polisacáridos de distinta densidad de carga extraídos de las algas rojas, de amplio uso industrial.

Se analizan con este modelo los datos experimentales<sup>8</sup> de resonancia magnética nuclear de muestras de los polisacáridos sulfatados  $\iota$ -  $\kappa$ - y  $\lambda$ -carragenano, en solución con sales simples conteniendo contraiones de TMA<sup>+</sup> y Mn<sup>2+</sup> y diferentes coiones, entre ellos I<sup>-</sup>, el cual puede ligarse al  $\kappa$ -carragenano.

## II. TEORÍA

En el marco de la teoría de CC se considera que las cargas de los aniones ligados incrementan la densidad de carga estructural del polímero en una cantidad  $\sigma$  por grupo cargado, distribuida de manera uniforme a lo largo de la cadena lineal. Si la proyección sobre el eje del polímero de la distancia estructural entre dos cargas consecutivas es  $b_{est}$ , al ligarse aniones a la cadena esta cambia a:

$$b_{\sigma} = b_{est} / (1 + \sigma)$$

Consecuentemente el parámetro de densidad de carga estructural  $\xi_{est} = l_B / b_{est}$ , (donde  $l_B = e^2 / \epsilon kT$ , es la llamada longitud de Bjerrum, con  $e$  la carga del electrón,  $\epsilon$  la constante dieléctrica del solvente,  $k$  la constante de Boltzmann y  $T$  la temperatura absoluta) es incrementada al valor:

$$\xi_{\sigma} = \xi_{est} (1 + \sigma)$$

De acuerdo a la teoría de CC, si la densidad de carga del polielectrolito supera un cierto valor crítico  $\xi_c$ , se condensará sobre él una cantidad de contraiones  $r$  por carga estructural. En este caso:

$$r = r_i + r_j = r (x_i + x_j)$$

donde  $r_i$  es la cantidad de contraiones de valencia  $z_i$  condensados y su fracción del total es  $x_i$ .

La energía libre iónica total (en exceso respecto a la solución de referencia) de origen polielectrolítico, está dada por dos contribuciones:

$$G^{ion} = G^{el} + G^{mezo}$$

$G^{el}$  proviene de la interacción electrostática, mientras que el término de mezcla,  $G^{mezo}$ , es de origen puramente entrópico.

La energía libre reducida electrostática, calculada originalmente por Manning<sup>1-5</sup> (normalizada a su valor molar) está dada por:

$$g_{el} = -\xi_{\sigma} (1 + \sigma) (1 - r_i z_i - r_j z_j)^2 \ln(1 - e^{-x \cdot b})$$

Para la energía libre de mezcla se consideran las siguientes contribuciones:

$$G^{mez} = G_{i,j}^{cond} + G_{i,j}^{lib} + G^{coion} + G^{solv}$$

las cuales se refieren a los contraiones condensados y libres de las especies i y j, los coiones y al solvente, respectivamente.

Para el presente problema se incluyen en la energía libre total dos contribuciones no iónicas debidas a interacciones específicas.

$$g^{esp} = g^{afc} + g^{lg}$$

La afinidad catiónica relativa contribuye a la energía libre con:

$$g^{afc} = (1 + \sigma) r x_j g_0$$

El parámetro  $g_0$  da cuenta de la afinidad relativa del polielectrolito por los cationes de la especie de valencia  $z_j$  respecto de los de valencia  $z_i$ . Esta interacción es considerada no ligante y se supone que actúa a corta distancia, dentro del volumen de condensación  $V_p$ .

La ligadura (química) de aniones por grupo polimérico contribuye con:

$$g^{lg} = \sigma g_b$$

## II) Determinación de los parámetros r, x y $\sigma$ del modelo

Bajo la suposición de que  $\sigma$ , x y r son variables independientes, se impone la condición de minimización de la energía libre total con respecto los parámetros r y x:

$$\frac{\partial g^{tot}}{\partial r} = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial g^{tot}}{\partial x} = 0 \quad (2)$$

La ecuación (1) debe ser válida para cualquier concentración de polímero  $C_p$ . Para evitar la divergencia, en el límite de dilución infinita, cuando  $C_p$  tiende a cero, debe cumplirse:

$$r = \frac{1}{z_j - x_i(z_j - z_i)} \left[ 1 - \frac{1}{\xi_{\sigma} (1 + \sigma)(z_j - x_i(z_j - z_i))} \right] \quad (3)$$

Introduciendo (3) en la condición de minimización (1), se obtiene una expresión analítica para el volumen de condensación  $V_p$ .

Trabajando análogamente en la condición de minimización (2) se determina x conocido r.

Para la determinación de  $\sigma$  se aprovecha la similitud existente entre la captación de similiones por un polielectrolito y el conocido proceso de ionización de un políácido débil<sup>9,10</sup>. La ligadura de coiones incrementa la carga del polímero en una cantidad  $\sigma$  por

grupo polimérico, de la misma manera en que lo hace en una cantidad  $\alpha$  (grado de disociación) la disociación de protones en la ionización del políácido. Esto sugiere que las funcionalidades de  $\sigma$  y  $\alpha$  son similares.

En la ionización de un políácido débil el  $pK_{a(\alpha)}$  aparente esta dado por<sup>9,10</sup>:

$$pK_{a(\alpha)} = g_{dis} / 2.303 = pK_o + 0.434 g_{dis, ion(\alpha)}$$

donde

$$g_{dis, ion(\alpha)} = \frac{\tilde{c} \left( \frac{G^{ion}}{n_{rep} RT} \right)}{c \alpha} \quad (4)$$

donde  $n_{rep}$  es el número total de grupos ionizables en el políácido. El proceso de disociación se representa como:



con la constante de equilibrio:

$$K = \frac{a_H a_A}{a_{HA}}$$

es decir que el  $pK_a$  esta dado por:

$$pK_{a(\alpha)} = -\ln(a_H a_A / a_{HA}) =$$

$$= -\ln([H^+] \gamma_H) - \ln([A^-] / [HA]) - \ln(\gamma_A / \gamma_{HA}) \quad (5)$$

Donde las  $a_i$  son las actividades de los grupos ionizados ( $A^-$ ), no ionizados (HA) y de los protones ( $H^+$ ). Los respectivos coeficientes de actividad están indicados por  $\gamma_i$ . Suponiendo que el cociente entre los coeficientes de actividad de los grupos poliméricos ionizados y no ionizados es igual a 1, se obtiene la siguiente ecuación:

$$pK_{a(\alpha)} = pH - \log(\alpha / (1 - \alpha)) \quad (6)$$

Similarmente la ligadura de coiones se representa por:



La ecuación análoga a (5) del  $pK_a$  de disociación es:

$$g^{tot, as} = -\ln(a_P a_L / a_B)$$

Donde los subíndices P, L, B, se refieren a las actividades de los grupos del polímero, coiones libres y complejados al polímero respectivamente. Reemplazando por el valor de las actividades tenemos:

$$g^{tot, as} = -\ln((C_p (\sigma_{max} - \sigma) C_p \gamma^P (R_i - \sigma) \gamma^{R_i} / \sigma C_p \gamma^P)) \quad (7)$$

$\sigma_{max}$  es la máxima cantidad de aniones que puede ligarse por cada grupo ionizable, es decir la estequiometría del proceso de enlace. De la misma manera que en la eq. (4) se puede escribir:

$$g^{tot, as} = g^{tot, ion} \quad (8)$$

donde:

$$g^{tot, ion} = \frac{\partial \left( \frac{G^{ion}}{n_{rep} RT} \right)}{\partial \sigma}$$

Usando  $G^{ion}$  antes descripta y la ecuación (7), la igualdad (8) determina el valor de  $\sigma$  en función de los parámetros físico-químicos del sistema.

### III. RESULTADOS

Algunos resultados generales del modelo se muestran para el caso particular de una solución conteniendo contraiones mono y divalentes. El modelo incluye también la posibilidad de agregar una sal de soporte de concentración  $C_s$  y cuyos aniones no se ligan al polion. Esta sal sirve para modular la fuerza iónica de la solución. La figura 1 muestra la relación existente entre la fracción molar de aniones ligados  $\sigma$  y la concentración de sal 1:1,  $C_1$  (cuyos aniones se ligan al polímero) para distintos valores de la concentración de sal divalente.

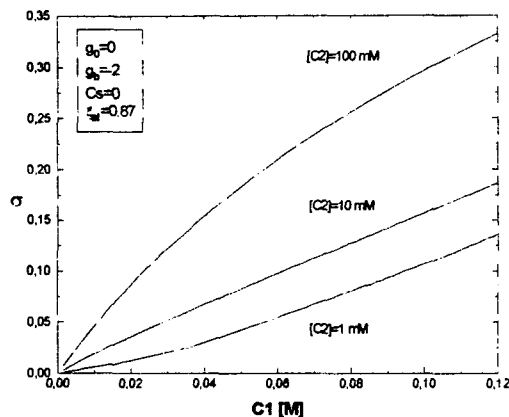


Figura 1, Fracción molar de coiones ligados vs. concentración de la sal 1:1 que contiene el coion ligante para distintas concentraciones de sal 1:2.

El efecto de la energía de enlace  $g_b$  se observa en la figura 2. En ella se grafica la fracción total de contraiones condensados  $r$ , versus  $C_1$  en presencia de 1 mM de sal divalente para diferentes valores del parámetro  $g_b$ .

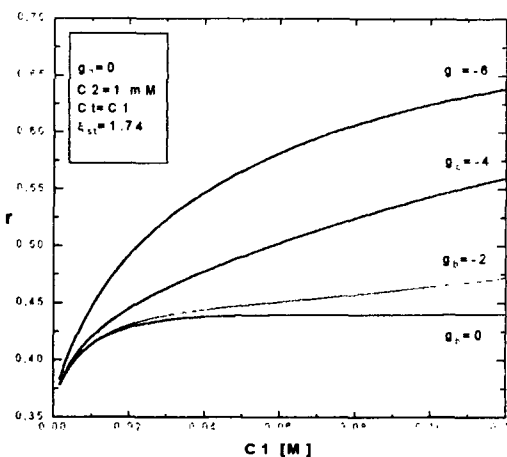


Figura 2. Fracción total de contraiones condensados vs. concentración de sal monovalente ligante.

La fracción  $r$  se incrementa sensiblemente con la captación de aniones, ya que esta eleva la densidad de

carga  $\xi_\sigma$  del polielectrolito, generando así una mayor condensación de los contraiones libres.

Puede conocerse también la dependencia de  $\sigma$  (y  $r$ ) con la temperatura, la constante dieléctrica del solvente y las concentraciones  $C_s$  y  $C_p$ .

El modelo es utilizado para describir los datos experimentales de Resonancia Magnética Nuclear de la velocidad de relajación longitudinal de los protones de tetrametilamonio (TMA) de muestras de los polisacárido sulfatado  $\iota$ - y  $\kappa$ -carragenano. En estos experimentos la señal de los protones de TMA<sup>+</sup> es influenciada por la vecindad de los contraiones divalentes de Mn<sup>2+</sup> sirviendo de sonda para las concentraciones de ambas especies en el volumen de condensación y por lo tanto para la densidad de carga  $\xi$  de las especies poliméricas. La evidencia experimental<sup>11</sup> sugiere que las unidades poliméricas pertenecientes a distintas especies se encuentran ubicadas en distintas cadenas o en una misma cadena secuencialmente ordenadas, y no en forma aleatoria. Consecuentemente, las unidades de distinto tipo o especie polimérica contribuyen por separado a la señal. De acuerdo a esto los cálculos para las dos especies de carragenanos se realizan por separado, sumando al final las contribuciones de cada especie con el factor de peso correspondiente a la fracción en que se encuentre en la solución polielectrolítica.

En la figura 3 se muestra la velocidad de relajación longitudinal de los protones de TMA en una solución con 1.82 mM de MnCl<sub>2</sub> y 2.1 mM de TMA- $\kappa$ -carragenano con un 18% de impurezas de  $\iota$ -carragenano, en función de la concentración de sal simple agregada TMAI o TMAcI. Las líneas de puntos corresponden a los cálculos de las distintas conformaciones propuestas para el  $\kappa$ -carragenano: doble hélice (2H s/I) con cloruro de magnesio (no ligante), doble hélice con ioduro de magnesio (2H c/I), simple hélice (1H c/I) con ioduro de magnesio (ligante en ambos casos) y hebra aleatoria (random coil) con cloruro o ioduro de magnesio (en esta conformación el  $\kappa$ -carragenano no presenta ligadura de aniones).

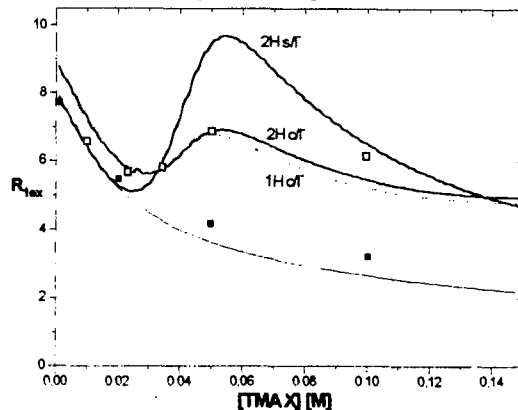


Figura 3, velocidad de relajación de protones de TMA en solución al 1% p.v de TMA- $\kappa$ -carr. (82%) y TMA- $\iota$ -carr. (18%) vs. concentración de TMAI o TMAcI.

Estas curvas han sido calculadas para los siguientes valores de los parámetros:  $\kappa$ -carragenano hebra aleatoria:  $\xi_{st}=0.69$ ,  $g_0=-1$ ; simple hélice:  $\xi_{st}=0.87$ ,  $g_0=-2$  y  $g_b=-3$ ; doble hélice:  $\xi_{st}=1.74$ ,  $g_0=-0.5$  y  $g_b=-0.8$ ;  $\iota$ -carragenano doble hélice:  $\xi_{st}=3.48$  y  $g_0=-2$ .

El máximo que se encuentra en el centro de la figura corresponde a una transición conformacional desorden-orden. Es importante notar que puede obtenerse un aceptable ajuste de los datos experimentales correspondientes a las dos conformaciones ordenadas propuestas para el  $\kappa$ -carragenano.

El estudio de las transiciones conformacionales es de gran interés tanto teórico como tecnológico. En la figura 4 se ha calculado la velocidad de relajación longitudinal que se tendía para muestras con diversos grados de impurezas. Los casos extremos corresponden a conformaciones puras de  $\iota$ - y  $\kappa$ -carragenano. Generalmente en el análisis de RMN de los datos experimentales, se asocia a los máximos de las curvas con transiciones conformacionales. Los dos máximos observados podrían ser considerados como una doble transición en un homopolímero, cuando lo que realmente ocurre es que las unidades de las dos especies componentes de la macromolécula realizan transiciones conformacionales por separado para distintas condiciones fisico-químicas en la solución.

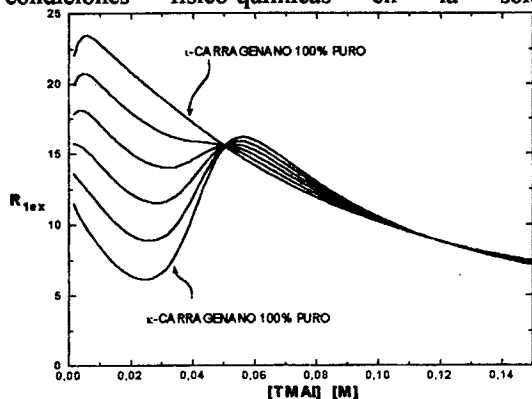


Figura 4, velocidad de relajación de protones de TMA en solución al 1% de TMA $\kappa$ -carr. con impurezas de TMA $\iota$ -carr. vs. concentración de TMAI. Curvas teóricas para conformación simple Hélice.

#### IV) Conclusiones

Se ha desarrollado un modelo que considera las interacciones de polielectrolitos lineales en solución conteniendo sales simples. Estas proveen a la solución de contraiones de distinta valencia y coiones. Una especie de estos últimos puede ser ligada químicamente por la cadena polielectrolítica.

El modelo ofrece una solución algebraica que puede ser evaluada fácilmente y permite el cálculo de diversas variables termodinámicas del sistema.

El modelo propuesto es capaz de describir adecuadamente, en base a interacciones fundamentales, los datos experimentales de velocidad de relajación de

los protones de TMA en una solución polielectrolítica. Del presente análisis se desprende que este tipo de resultados experimentales por si solos no son suficientes para discriminar entre las dos posibles formas ordenadas (simple o doble hélice) propuestas en la literatura para el  $\kappa$ -carragenano en soluciones diluidas. Por último el modelo resalta también la importancia del conocimiento del grado de pureza de las muestras usadas en el análisis de experimentos con este tipo de biopolímeros.

#### REFERENCIAS

- (1) Manning, G., *J. Chem. Phys.*, 51, 924-933 (1969)
- (2) Manning, G., *American Chemical Society*, 12, 443-449 (1976)
- (3) Manning, G., *American Chemical Society*, 12, 443-449 (1979)
- (4) Manning, G., *Bioph. Chem.*, 7, 95-101 (1977)
- (5) Manning, G., *J. Chem. Phys.*, 9, 65-70 (1978)
- (6) Cesàro, A., Delben, F., Flaibani, A., Paoletti, S., *Carbohydr. Res.*, 161 (1986)
- (7) Paoletti, S., Benegas, J., Cesàro A., Manzini, G., Fogolari, F., Crescenzi, V., *Biophysical Chemistry*, 41, 73-80, 1991
- (8) Kvam, J., Grasdalen, H., *Macromolecules*, Vol. 22, No. 10, 1989
- (9) Porasso R., Pantano S. Benegas J., En este mismo ejemplar.
- (10) Cesàro, A., Benegas, J., ICTP Report IC / 88 / 20- Trieste, Italia, 1988
- (11) Piculell, L., Hakansson, C., Nilson, S., *J. Biol. Macromol.*, 1987, Vol 9, 297