

BIO TECNOLOGIA

Ciência & Desenvolvimento

R\$ 5,00

ano 11 • número 8 • maio/junho de 1999

ESPECIAL

BACTÉRIAS LÁCTICAS

Transferência genômica parcial

Probióticos

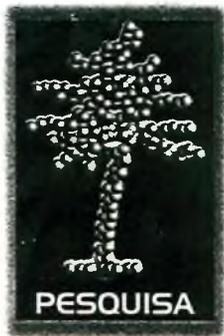
Algas

EFECIÊNCIAS DE ALGAS MARINHAS NOCIVAS

AIDS

UO DA BIOTECNOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE UMA VACINA VIVA ATENUADA MAIS SEGURA





SUBSTÂNCIAS TENSOATIVAS

**Mariéte Sueli Baggio
Brandão**

*Embraça Meio Ambiente
Ph.D. em Química pela Universidade
de Leeds, Inglaterra, onde recebeu o
prêmio J.B. Cohen de 1996/1997 pela
melhor tese de doutorado na escola de
química daquele ano e devido a
importante contribuição ao conheci-
mento na área de físico-química.*

Os fenômenos de autoconstrução e auto-organização de substâncias tensoativas e sua importância na agricultura e em biotecnologia

Substâncias tensoativas são ingredientes importantes em muitos produtos industrializados e possuem um papel de destaque em vários processos industriais. Além de sua presença em produtos de limpeza (detergentes, sabões, amaciantes de roupa, entre outros) e de higiene pessoal (shampoo, sabonete, pasta de dente, etc.), tensoativos naturais ou sintetizados pelo homem encontram uso em quase todos os ramos da produção industrial, como por exemplo: indústrias de alimentos, químicas, têxteis, de corantes, de tintas, de fibras, de processamento mineral, de plásticos, de produtos farmacêuticos e de agroquímicos. Substâncias tensoativas são também vitais em muitos sistemas biológicos. Por exemplo, tensoativos conhecidos como lipídeos formam o principal componente das membranas celulares, as quais devem a estes a sua estrutura.

Estudos de autoconstrução e auto-organização de moléculas tensoativas são importantes tanto do ponto de vista teórico quanto prático, uma vez que os modos de ação dessas substâncias dependem dos estados de agregação, em várias situações práticas, tais como: em detergência, emulsificação, na recuperação de petróleo, em biologia celular, entre outros. A busca da compreensão do fenômeno de autoconstrução e auto-organização de substâncias tensoativas por meio de estudos a respeito do comportamento de fase, estrutura e dinâmica dessas substâncias tem sido objeto de estudo de diversos autores (Kunze et al., 1997; van der Linden et al., 1996; Bergholtz e Wagner, 1996; Oberdisse et al., 1996; Jóhannesson et al., 1996; Fröba e Kalus, 1995; Petrov et al., 1995; Boden et al., 1995; Boden, 1994; Diat and Roux, 1993; Sein et al., 1993) nos últimos anos. Esses estudos abrem perspectivas que permitem o desenho e a síntese de novos materiais (novos fluidos comple-

xos) os quais se autoconstruam e se auto-organizem em fluidos funcionais previamente projetados, possibilitando o aparecimento de novas aplicações tecnológicas. O termo fluido complexo aqui utilizado abrange, além de soluções de tensoativos com estados altamente estruturados (monocamadas, micelas, microemulsões, cristais líquidos liotrópicos, membranas ou vesículas), também soluções de polímeros de polieletrólitos (proteínas e ácidos nucleicos), cristais líquidos termotrópicos

Figura 1. Representação esquemática de micelas do tipo: a) esféricas, b) cilíndricas e c) discóticas.



(tanto de baixo peso molecular quanto variedades poliméricas) e dispersões coloidais. Todos os materiais anteriormente citados constituem fluidos complexos, uma vez que apresentam uma estrutura não rígida, mas sim dinâmica, isto é, uma estrutura que evolui com o tempo (Boden, 1994 e 1990).

Nas áreas agrícola e de biotecnologia, a compreensão dos fenômenos de autoconstrução e auto-organização de substâncias tensoativas é fundamental para a obtenção de, por exemplo, formulações adequadas de princípios ativos à base de produtos naturais, quer de origem vegetal, quer de origem microbiana, obtidos de

processos fermentativos. Isto porque essas substâncias são ingredientes importantes em diversos tipos de formulação (pó molhável, concentrado emulsionável, suspensão concentrada, emulsões do tipo óleo em água ou água em óleo, microemulsões, entre outros), uma vez que interferem em propriedades físico-químicas importantes do ponto de vista de armazenamento e aplicação do produto como: molhabilidade, suspensibilidade, capacidade de emulsificação, etc. Os tensoativos interferem também em propriedades biológicas quando um microrganismo e/ou seus metabólitos são utilizados como ingredientes ativos. Por exemplo, uma associação química entre o tensoativo e a membrana do defensivo biológico deve ocorrer para que o organismo apresente uma maior molhabilidade em água. Porém, essa associação química pode causar incompatibilidade e perda de viabilidade ou capacidade antagônica do microrganismo. No trabalho de Angus e Luthy (1971) são apresentadas revisões bibliográficas a respeito da compatibilidade de diversos microrganismos: vírus, fungos e bactérias, frente a diferentes tensoativos em testes de laboratório e de campo. Diversos autores, destacando-se o trabalho de Rode e Foster (1960) demonstraram que tensoativos catiônicos e aniônicos afetam de maneira negativa a viabilidade de diversos microrganismos, enquanto estes últimos mostram-se indiferentes à presença de tensoativos não-iônicos.

O objetivo deste trabalho é fornecer uma revisão a respeito do comportamento de fase, estrutura e dinâmica dos principais tipos de substâncias tensoativas usualmente encontradas no mercado. Enfoque especial será dado à importância da geometria molecular e das interações intra e intermoleculares no processo de auto-organização e auto-associação de moléculas anfífilas, fatores responsáveis pela origem de uma grande variedade de estru-

turas dessas moléculas em soluções aquosas, de potencial interesse tecnológico. Entre essas estruturas, especial atenção será dada às perspectivas de uso de vesículas anfífilas nas áreas agrícola e de biotecnologia, entre outras.

Sabões convencionais e substâncias tensoativas do tipo sabão, como todas as moléculas anfífilas, consistem tipicamente de uma porção hidrofílica polar (iônica ou não-iônica), conhecida como "cabeça polar", ligada a uma cadeia hidrocarbônica hidrofóbica. Algumas substâncias anfífilas utilizadas como tensoativos estão indicadas na tabela 1. Essas características "opostas" associadas a uma mesma molécula conduzem a um fenômeno de auto construção das moléculas em soluções aquosas diluídas, de maneira a blindar a porção hidrofóbica do meio aquoso ao mesmo tempo que expõe a porção polar hidrofílica à água.

A formação de agregados por moléculas anfífilas, tais como tensoativos em um meio aquoso, é favorecida pelo efeito hidrofóbico, enquanto várias outras interações se opõem a isso, o que gera o conceito de forças opostas (Tanford, 1980; Israelachvili, 1992), que agem principalmente na região interfacial (interface água-cadeia hidrocarbônica) do agregado. Uma força - o efeito hidrofóbico - tende a diminuir a área interfacial por molécula (a área da cabeça polar) e a outra força tende a aumentar essa área (sendo esta última muito mais complicada já que resulta de vários tipos de interações, incluindo repulsão de hidratação, repulsão eletrostática entre cabeças polares e interações de impedimento estérico entre as porções polares ou hidrocarbônicas da molécula). Esse conceito sugere que há, nas condições de equilíbrio termodinâmico, uma área superficial ótima a_o , em que a energia de interação por molécula anfífila atinge um mínimo. Assumindo-se que cadeias hidrocarbônicas comportam-se como fluidos incompressíveis (ou seja, que seu volume v é constante a uma temperatura fixa), então é possível se definir um parâmetro adimensional denominado "parâmetro de empacotamento crítico" como $v/a_o l_c$, onde l_c é o comprimento efetivo máximo da cadeia, também conhecido como comprimento crítico. Uma vez especificado o valor desse parâmetro para uma dada molécula anfífila, é possível se determinar os tipos de agregados nos quais ela poderá se organizar. A tabela 2 ilustra as estruturas usualmente formadas por sabões, detergentes e fosfolípidos para vários valores de parâmetros de empacotamento críticos.

Substâncias tensoativas, quando diluí-

Tabela 1. Exemplos de algumas substâncias tensoativas.

Tensoativos de cadeia simples		
carga	fórmula	nome
aniônico	$C_{12}H_{25} - OSO_3^- Na^+$	Docilsulfato de sódio (SDS)
aniônico	$C_{15}F_{31} - COO^- NH_4^+$	Pentadecafluorooctanoato de amônio
catiônico	$C_{12}H_{25} - N^+(CH_3)_3 Cl^-$	Cloreto de dodeciltrimetilamônio
catiônico	$C_{16}H_{33} - N^+(CH_3)_3 Br^-$	Brometo de hexadeciltrimetilamônio
Não-iônico	$C_{12}H_{25} - (OCH_2CH_2)_5 OH$	Dodeciléter de pentaóxietileno

Fosfolípidos de cadeias duplas			
$R_1 =$ cadeia C_n saturada	$R_2 =$ cadeia C_n insaturada		
Cadeia hidrocarbônica		Cabeça polar	
cabeça polar	Cadeia hidrocarbônica	nome do fosfolípido	
zwitteriônico	$(CH_2)_2 - N^+(CH_3)_3$	di C_{17} : dimenstoil	Fosfatidilcolina (lecitina)
zwitteriônico	$(CH_2)_2 - NH_3^+$	di C_{12} : dilauroil	Fosfatidiletanolamina
Outros tensoativos de cadeia dupla			
aniônico	$C_4H_9 - CH(C_2H_5)CH_2 - COO - CH_2$		
	$C_4H_9 - CH(C_2H_5)CH_2 - COO - CH - SO_3^- Na^+$		Aerosol OT
catiônico	$C_{16}H_{33} - N^+(CH_3)_2 Br^-$		Brometo de dihexadecil dimetilamônio

das em água, inicialmente tendem a formar pequenos agregados denominados micelas, acima de uma certa temperatura (ponto "Krafft"), e concentração (concentração micelar crítica, cmc). Esses agregados podem assumir diferentes formas, tais como: esférica, cilíndrica (também denominada bastonete) ou discóica (vide figura 1). A topologia dos agregados depende, além da natureza da molécula anfífila (conforme ilustra a tabela 2), das condições da solução (concentração, tem-

peratura, pH, salinidade, entre outras). Essas estruturas são frequentemente formadas pela mesma molécula anfífila, sendo que uma transição de uma forma para outra é muitas vezes induzida por uma simples mudança na concentração do tensoativo em solução. Com o crescente aumento da concentração de tensoativo em solução, as micelas formadas tendem a se auto-organizarem, dando origem a diferentes fases líquido-cristalinas (também denominadas mesofases). Um aumento da

Tabela 2. Formas de empacotamento possíveis para moléculas de substâncias tensoativas em função de diferentes valores do parâmetro de empacotamento crítico. Adaptado de Israelachvili, 1992.

Tensoativo	Parâmetro de empacotamento Crítico (v/a_0l)	Forma do empacotamento Crítico	Estruturas formadas
Tensoativos de cadeia simples com áreas de cabeça polar grandes (ex.: SDS em presença de baixos teores de sal)	$< 1/3$	Cone	Micelas esféricas
Tensoativos de cadeia simples com áreas de cabeça polar pequenas (ex.: SDS em presença de altos teores de sal)	$1/3-1/2$	Cone truncado	Micelas cilíndricas
Tensoativos de cadeias duplas com áreas de cabeça polar grandes (ex.: fosfatidilcolina)	$1/2-1$	Cone truncado	Bicamadas flexíveis, vesículas
Tensoativos de cadeias duplas com áreas de cabeça polar pequenas (ex.: fosfatidiletanolamina)	≈ 1	Cilindro	Bicamadas planares
Tensoativos de cadeias duplas com áreas de cabeça polar pequenas (ex.: fosfatidiletanolamina)	> 1	Cone truncado invertido	Micelas inversas

concentração de tensoativo no sistema sabão convencional/água conduz a um diagrama de fase essencialmente universal, o qual é ilustrado esquematicamente na figura 2, em termos de temperatura (T) em função de fração de volume de tensoativo (Φ_A). Esse diagrama de fase genérico independe da estrutura da cabeça polar da molécula. Mesofases com ordem translacional unidimensional (lamelar), bidimensional (hexagonal e retangular) e tridimensional (cúbica) são formadas, porém fases nemáticas estão ausentes. A característica dominante é que a transição de uma mesofase para a próxima está associada a uma mudança dramática na topologia do agregado, conforme indica a figura 2.

Diferentemente do que ocorre com os sabões convencionais, quando fosfolípidios (ou outros tensoativos iônicos de cadeia hidrocarbônica dupla) são misturados com água, estruturas lamelares organizadas são formadas - muitas vezes denominadas "figuras de mielina" - mesmo a baixas concentrações de tensoativo em água. Os lipossomas de Bangham são uma forma particular de figuras de mielina, a qual corresponde a sistemas fechados

compostos de bicamadas esferoidais concêntricas e coerentes (vide figura 3a). Quando tais estruturas são obtidas por meio de moléculas anfífilicas sintéticas, usualmente elas são denominadas de "vesículas multilamelares" ou "estruturas do tipo cebola". Além de sistemas vesiculares multilamelares, vesículas unilamelares

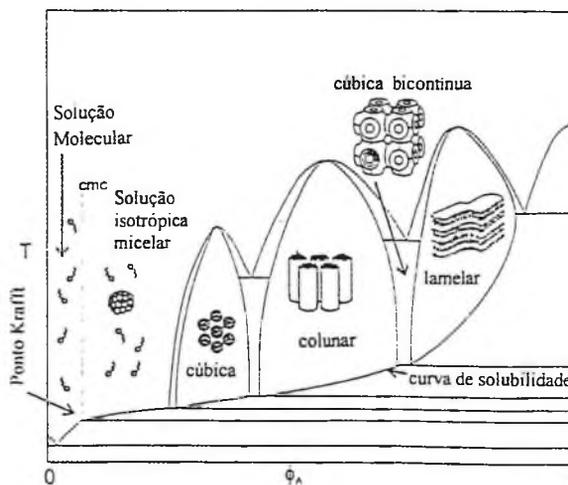


Figura 2. Diagrama de fase esquemático (Fração de volume de tensoativo Φ_A versus Temperatura T) para um tensoativo do tipo sabão em água.

também podem ser obtidas. Uma vesícula unilamelar clássica é formada quando uma única bicamada lipídica forma uma estrutura mais ou menos esférica completamente fechada, conforme indica a figura 3b. Um diagrama de fase típico observado para moléculas anfífilicas zwitteriônicas de cadeia dupla, tais como os fosfolípidios, está ilustrado na figura 4. No caso, essa figura representa o diagrama de fase parcial obtido para o sistema dimeristoilfosfatidilcolina/água (DMPC/água). A partir dessa figura, observa-se que a altas concentrações de DMPC, uma fase lamelar pura - $L\alpha$ - é formada, na qual as cadeias hidrocarbônicas adotam uma conforma-

ção fluida (semelhante a um líquido). À medida que se aumenta o conteúdo de água no sistema, mais água é incorporada entre as lamelas a fim de reduzir a repulsão entre as porções polares das bicamadas. Esse entumescimento continua até que as bicamadas lipídicas atinjam uma certa distância entre si, que permite a ocorrência de um balanço entre suas forças atrativas e repulsivas. Além do chamado "limite de hidratação", o excesso de água introduzido no sistema não pode mais ser incorporado entre as camadas lamelares e uma solução isotrópica se forma (a qual contém o excesso de água introduzido no sistema) em equilíbrio com a fase lamelar, dando origem a uma região bifásica no sistema, aqui representada por: $L\alpha + \text{água}$. A presença de uma região bifásica - solução isotrópica/fase lamelar - em uma grande faixa de concentração e temperatura, é característica dessas substâncias anfífilicas (fosfolípidios), onde a geometria do agregado é controlada por considerações sobre seu empacotamento e a transição para uma fase lamelar pura é determinada por interações interagregados. Conforme indicado na figura 4, fosfolípidios como DMPC formam vesículas

na região bifásica (L_{α} + água) quando a fase lamelar clássica L_{α} é dispersa na solução isotrópica diluída de DMPC. Ainda se considerando o diagrama de fase do sistema DMPC/água, observa-se que uma estrutura lamelar com cadeias hidrocarbônicas mais rígidas (com uma conformação do tipo sólida), denominada L_{β} , ocorre a baixas temperaturas e altas concentrações de DMPC. Essa estrutura é muitas vezes denominada gel, a qual tem uma organização de bicamadas lipídicas paralelas entre si, onde as cadeias hidrocarbônicas se encontram completamente estendidas, porém inclinadas com relação ao plano normal da bicamada, mas empacotadas em um retículo quase hexagonal distorcido. A estrutura P_{β} , indicada na figura 4, consiste de lamelas (formadas por bicamadas lipídicas) distorcidas por uma ondulação periódica no plano das lamelas, onde as cadeias hidrocarbônicas são rígidas e inclinadas porém parecem estar empacotadas em um retículo hexagonal regular, de acordo com Turnbull (1990).

Uma característica interessante dos fosfolípidios, que merece atenção, é que ao se reduzir o comprimento da cadeia hidrocarbônica de tais moléculas, estruturas vesiculares estáveis passam a não ser mais obtidas no sistema. No seu lugar, micelas cilíndricas ou esféricas passam a ser as estruturas preferidas, conforme observado, para lecitinas de cadeia dupla com 12 ou menos átomos de carbono por cadeia. Isso pode ser racionalizado em termos do efeito da cadeia hidrocarbônica no "modulus de curvatura" da estrutura da bicamada (Israelachvili, 1992). Por exemplo, as micelas para o sistema binário C₈-lecitina/água foram identificadas como sendo do tipo cilíndrico por Tausk et al. (1974), e foi observada a ocorrência de uma separação de fase líquido-líquido (muitas vezes denominada ponto de névoa - "cloud-point") exibindo um ponto crítico superior, ao ser construído o diagrama de fase deste sistema.

Grande número de pesquisadores tem-se dedicado ao estudo das propriedades físico-químicas de lipossomos desde a sua descoberta em 1965 (Bangham, 1983). Desde aquela data até os dias de hoje, o desenvolvimento e a diversificação de modelos de membrana a partir de lipossomos têm sido fascinantes. Eles têm sido utilizados como membranas-modelo para ação anestésica, "leitos- teste" para enzimas de membranas, carregadores de materiais encapsulados para o interior de células, como barreiras contra invasões de vírus e bactérias, antígenos para serem

atacados por anticorpos anti-lípidios, ligantes para drogas, substratos para testar canais iônicos, sistemas para liberação de drogas na área médica ou veterinária (Carmona-Ribeiro, 1992).

A partir de 1976, sistemas compostos

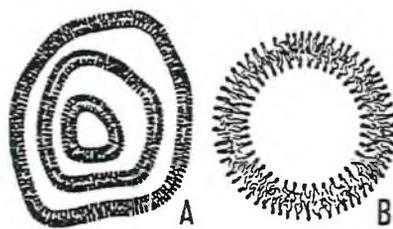


Figura 3. Ilustração esquemática de: a) uma vesícula multilamelar e b) uma vesícula unilamelar.

de moléculas anfífilas sintéticas iônicas com cadeias hidrocarbônicas duplas e longas, que imitam membranas, foram propostos dando origem a vesículas anfífilas sintéticas. De acordo com suas dimensões as vesículas podem ser classificadas como: a) pequenas: cujo tamanho varia de 0,02 a

cação ou dispersão de uma fase lamelar L_{α} numa solução isotrópica diluída de tensoativo, são aplicados para originar essas estruturas em solução, tais como o método de injeção (Lasic, 1988; Carmona e Chaimovich, 1983) e o método de depleção de detergente (Lasic, 1988; Nozaki et al., 1982). A formação espontânea de estruturas vesiculares é também relatada na literatura por diversos autores (Talmon, 1983; Ninham et al., 1983; Hoffmann et al., 1992) para certos lípidios biológicos, bem como para tensoativos sintéticos e suas misturas. De acordo com Talmon (1983) e Ninham et al. (1983), o tensoativo sintético com cabeça polar carregada - hidróxido de didodecildimetilamônio - organiza-se espontaneamente em vesículas unilamelares termodinamicamente estáveis em água, as quais são monodispersas e pequenas com um diâmetro médio de 300 Å. Atribui-se a espontaneidade à formação de vesículas por este último tensoativo, ao fato de que seus grupos OH encontram-se extremamente solvatados, dando origem a grandes áreas de cabeça polar em comparação com outros grupos, como brometo ou cloreto, e isso favorece a curvatura da bicamada e conduz à formação de vesículas. Kaler et al. (1989) relataram a ocorrência de formação espontânea de vesículas em misturas aquosas de tensoativos de cadeias simples aniônicas e catiônicas (por exemplo: dodecilbenzenosulfonato de sódio e tosilato de cetiltrimetilamônio). Acredita-se que a estabilidade de tais estruturas, nesse caso, é causada por uma diferença na razão de mistura dos dois surfactantes em cada monocamada da bicamada lipídica, o que proporciona um modo de controlar a curvatura dessa bicamada de maneira que a fase vesicular tenha uma menor energia livre que a fase lamelar (Safran et al., 1990).

Um exemplo interessante do uso de tensoativos estruturados na forma de vesículas é encontrado na área de pesquisa de pesticidas. A pressão de grupos de ecólogos em prol do ambiente em que vivemos tem demandado a remoção de alguns solventes prejudiciais à saúde humana e ao ambiente de certas formulações de alguns pesticidas (sobretudo aquelas do tipo concentrado emulsionável). Porém, muitas formulações convencionais à base de água para princípios ativos insolúveis ou pouco solúveis nesse meio, têm se mostrado ineficientes, exibindo baixa atividade, tempo de armazenamento não adequado para fins de comercialização dos produtos (vida de prateleira ruim) e/ou alta viscosidade. Para contornar

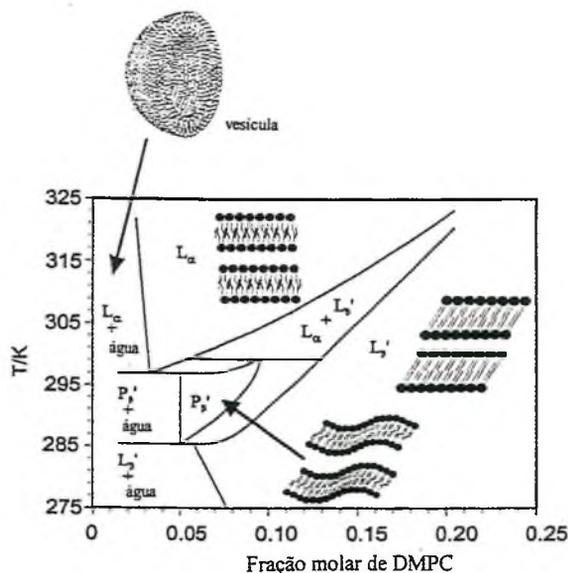


Figura 4. Diagrama de fase parcial do sistema dimeristoilfosfatidilcolina/água (DMPC/água). Adaptado de Janiak et al. (1979) e Turnbull (1990).

0,1 µm, b) grandes : com diâmetro variando de 0,1 a 1 µm e c) gigantes: com diâmetro de até 50 µm (Lasic, 1988). A ocorrência de vesículas grandes é relatada na literatura para uma grande variedade de substâncias tensoativas; contudo, usualmente, métodos mais sofisticados que o método convencional, baseado na sonifi-

esses problemas, uma formulação à base de tensoativos estruturados é citada na literatura (Newton et al., 1993), e consiste em uma suspensão de um pesticida sólido insolúvel em uma solução aquosa que contenha um tensoativo estruturado. Nesse tipo de formulação, estão presentes vesículas multilamelares (algumas vezes também denominadas de esferulitos) (vide figura 5). De acordo com Newton et al. (1993), as partículas de pesticidas estão suspensas entre os esferulitos (vide figura 5) e são assim impedidas de sedimentar. Desde que os esferulitos (ou vesículas) são deformáveis, a formulação escoar facilmente. Portanto, formulações à base de tensoativos estruturados têm propriedades reológicas excepcionais, combinando baixa viscosidade com boa estabilidade e longa vida de prateleira. Quando possível, os tensoativos são escolhidos para aumentar a molhabilidade e penetração dos pesticidas nos seus tecidos, assim melhorando sobremaneira sua atividade biológica. Formulações à base de tensoativos estruturados são aplicáveis a uma grande variedade de herbicidas, fungicidas e inseticidas.

Agradecimentos:

A autora deste trabalho agradece a bolsa de estudos, modalidade: Doutorado no Exterior, concedida pelo CNPq (Sub programa Biotecnologia-RHAE), que permitiu a pesquisa que deu origem a este artigo.

Referências bibliográficas:

Angus, T.A. e Luthy, P. (1971). "Formulation of Microbial Insecticides", in Burges and Hussey eds., *Microbial Control of Insects and Mites*, London Academic Press Inc., p.623-639.

Bangham, A.D. ed. (1983). "Liposome Letters", Academic Press, London.

Bergenholtz, J. e Wagner, N. J. (1996). Formation of AOT/Brine Multilamellar Vesicles. **Langmuir**, **12**, 3122-3126.

Boden, N. (1990). "Self-assembly and self-organization in fluids". **Chemistry in Britain**, 345-348.

Boden, N. (1994). Micellar Liquid Crystals. in "Micelles, Membranes, Microemulsions and Monolayers", Gelbart, W.M.; Ben-Shaul, A.; Roux, D. eds., Springer Verlag, capítulo 3.

Boden, N.; Harding, R.; Gelbart, W.M.; Ohara, P.; Jolley, K.W.; Heerden, A.P.; Parbhu, A.N. (1995). **J.Chem. Phys.** **103(13)**, 5712.

Carmona-Ribeiro, A.M. (1992). Synthetic Amphiphile Vesicles, **Chemical Socie-**

ty Reviews, **21(3)**, 209-214.

Carmona-Ribeiro, A.M. e Chaimovich, H. (1983). Preparation and Characterization of Large Dioctadecyldimethylammonium Chloride Liposomes and Comparison with Small Sonicated Vesicles, **Biochimica and Biophysica Acta**, **733**, 172-179.

Diat, O. and Roux, D. (1993). Preparation of monodisperse multilayer vesicles of controlled size and high encapsulation ratio; **J. Phys. II France** **3**, 9-14.

Fröba, G. e Kalus, J. (1995). The structure of the isotropic, nematic and lamellar phase of a solution of Tetramethylammoniumperfluorooctanoate in D₂O; **J. Chem. Phys.**, **99 (39)**, 14450-14467.

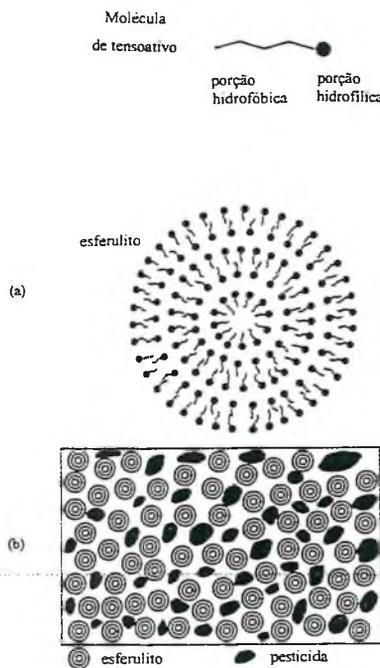


Figura 5. (a) esferulito, (b) formulação contendo um tensoativo estruturado (adaptado de Newton et al., 1993).

Hoffmann, H.; Thunig, C.; Munkert, U.; Meyer, H.W.; Richter, W. (1992). From vesicles to the L₃ (sponge) phase in Alkyldimethylaminoxide-Heptanol Systems, **Langmuir**, **8(11)**, 2629.

Israelachvili, J. N. (1992). "Intermolecular and Surface Forces", 2nd ed. Academic Press Ltd, capítulo 17.

Janiak, M.J.; Small, D.M.; Shipley, G.G. (1979). The Journal of Biological Chemistry, **254(13)**, 6076.

Jóhannesson, H.; Furó, I.; Halle, B. (1996). Orientational order and micelle size in the nematic phase of the cesium pentadecafluorooctanoate-water system from the anisotropic self-diffusion of water, **Physical Review E**, **53(4)**, 1-14.

Kaler, E.W.; Murthy, A.K.; Rodrigues,

B.E.; Zasadzinski, J.A.N. (1989). Spontaneous Vesicle Formation in Aqueous Mixtures of Single-Tailed Surfactants, **Science**, **245**, 1371-1374.

Kunze, B.; Kalus, J.; Boden, N.; Brandão, M.S.B. (1997). Transition from rod- to disk-like micelles in APFO/D₂O/NH₄Cl systems studied by SANS and SAXS, **Physica B**, **234-236**, 351-352.

Lasic, D.D. (1988). The mechanism of vesicle formation., **Biochem. J.**, **256**, 1-10.

Newton, J.E.; Sholl, J.; Pessala, B.; Caselle, J. (1993). **Pesticide Science**, **37**, 208.

Ninham, B.W.; Evans, D.F.; Wei, G.J. (1983). The Curious World of Hydroxide Surfactants. Spontaneous vesicles and Anomalous Micelles. **J. Phys. Chem.**, **87**, 5020-5025.

Nozaki, Y.; Lasic, D.D.; Tanford, C.; Reynolds, J.A. (1982). **Science**, **217**, 366-367.

Oberdisse, J.; Couve, C.; Appel, J.; Berret, J.F.; Ligoure, C.; Porte, G. (1996). Vesicles and onions from Charged Surfactant Bilayers: A neutron Scattering Study, **Langmuir**, **12**, 1212-1218.

Petrov, P.; Miklavcic, S.; Olsson, U.; Wennerström, H. (1995). A Confined Complex Liquid Oscillatory Forces and Lamellae Formation from an L₃ phase. **Langmuir**, **11**, 3928-3936.

Rode, L.J. e Foster, J.W. (1960). "The Action of Surfactants in Bacterial Spores", **Archiv. fur Mikrobiologie**, **36**, 67-94.

Safran, S.A.; Pincus, P.; Andelman, D. (1990). Theory of Spontaneous Vesicle Formation in Surfactant Mixtures, **Science**, **248**, 354-356.

Sein, A. e Engberts, J.B.F.N. (1993). Salt-induced Transition from a Micellar to a Lamellar Liquid Crystalline Phase in Dilute Mixtures of Anionic and Nonionic Surfactants in Aqueous Solution, **Langmuir**, **9**, 1714-1720.

Talmon, Y.; Evans, D.F.; Ninham, B.W. (1983). Spontaneous Vesicles Formed from Hydroxide Surfactants: Evidence from Electron Microscopy, **Science**, **221**, 1047-1048.

Tanford, C. (1980). The Hydrophobic Effect", 2nd ed., Wiley, New York, capítulo 7.

Tausk, R.J.M.; Oudshoorn, C.; Overbeek, J.Th.G. (1974). **Biophysical Chem.**, **2**, 53.

Turnbull, P.J.H. (1990). PhD Thesis, "The interaction of benzyl alcohol with lipid bilayers. School of Chemistry, University of Leeds, U.K.

Van der Linden, E.; Hogervorst, W.T.; Lekkerkerker, H.N.W. (1996). Relation between the Size of Lamellar Droplets in Onion Phases and Their Effective Surface Tension, **Langmuir**, **12**, 3127-3130.