Universidade de São Paulo

Instituto de Física

ESTUDO DA ESTRUTURA E ORDEM LOCAL DE SISTEMAS COMPLEXOS (DNA E PLPC) NA FASE ISOTRÓPICA CONCENTRADA

Valeria Castelletto

Tese de Doutorado

SERVIÇO DE SAO SERVIÇO DE SERVIÇO DE SIBLIOTECA E INFORMAÇÃO O A STUTO DE FISICA

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Aldo F. Craievich (IFUSP)

Prof. Dr. Eduardo E. Castellano (IFSC-USP)

Profa. Dra. Lia Q. do Amaral (IFUSP)

Prof. Dr. Paulo S. Santos (IQUSP)

Profa. Dra. Vera B. Henriques (IFUSP)

Orientador: Profa. Dra. Lia Queiroz do Amaral

Aos meus pais, Flora e Roberto.

Agradecimentos

Um número muito grande de pessoas contribuiu à realização deste trabalho, e quero agradecer a todas elas a sua colaboração. Porém, existe um grupo dessas pessoas as quais não posso deixar de manifestar meus agradecimentos em forma explícita:

- -À Profa. Lia Q. do Amaral pela minha acolhida no grupo de Cristalografia do IFUSP, orientação desta tese e discussões mantidas ao longo deste trabalho.
- -À Profa. Rosangela Itri pelo seu permanente interesse neste trabalho, sugestões, apoio e estímulo.
- -Aos Profs. Diomar R. Bittencourt e Ourides Santin pelas discussões referidas a este trabalho.
- -Ao Sr. Sérgio A. da Silva pela assistência aos problemas técnicos, especialmente pelo preparo das fotografias apresentadas nesta tese.
 - -Ao Prof. Carlos Carvalho e ao Sr. Sandro Sini pela ajuda nos problemas computacionais.
 - -À Srta. Rita T. dos Santos pela ajuda no preparo das amostras.
- -À Cilâine pela sua amizade, e a todos os membros do grupo de Cristalografia do IFUSP pelo seu coleguismo.
- -Ao Pacheco pelas suas inapreciáveis provas de amizade e apoio, bem como pela sua constante boa disposição.
 - -À minha familía por ter sido sempre a minha fonte de estímulo.
 - -Ao CNPq pelo apoio financiero.

Resumo

São apresentados resultados sobre dois sistemas com interações interparticulares, obtidos utilizando espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). Estes sistemas são fragmentos de DNA em água, que representa uma solução de partículas carregadas com simetria cilíndrica, e palmitoil lisofosfatidil colina (PLPC) em água, que corresponde a uma solução de agregados micelares sem carga.

As soluções de DNA são estudadas no regime semi-diluído da fase isotrópica (I) até a transição de fase I \rightarrow colestérica. A posição do pico nas curvas de SAXS como função da concentração ajusta uma curva "universal" com expoente $\frac{1}{2}$, que já ajustou dados relacionados a soluções de outros polieletrólitos carregados, para um comprimento efetivo de fragmento $L_p=340$ Å. A função distribuição de distâncias da seção transversal, $p_c(r)$, é calculada para a solução menos concentrada utilizando o Método de Transformação Indireta, mostrando-se que os efeitos de interferência não estão presentes no intervalo de ângulo de espalhamento medido. O fator de forma P(q) é obtido para essa concentração. Esta função bem como a $p_c(r)$ estão em bom acordo com a forma B do DNA.

As curvas de interferência para as soluções de DNA mais concentradas são derivadas experimentalmente dividindo a curva de SAXS, corrigida do efeito do perfil do feixe incidente, pelo fator de forma da partícula. O método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco é utilizado para obter a curva de SAXS corrigida. A modelagem das curvas de interferência com funções gaussianas está de acordo com teorías recentes para interações entre as partículas em soluções de polieletrólitos cilíndricos carregados.

O alargamento do pico $[\beta]_g$ expresso como $(L_p[\beta]_g)$ em função da concentração também ajusta uma curva de expoente $\frac{1}{2}$. Este ajuste demonstra que no regime semi-diluído, para uma força iônica $\sim (10^{-3} \cdot 10^{-2})$ M, a ordem local é um pouco maior do que primeiros vizinhos. É visto por comparação com dados da literatura que o decréscimo da força iônica da solução até $\sim (10^{-7} \cdot 10^{-5})$ M, aumenta a ordem local para segundos vizinhos.

O sistema PLPC/água é estudado na fase I até a transição I \rightarrow cúbica micelar (Q²²³). A função distribuição de distâncias p(r) é calculada para as concentrações mais baixas utilizando o Método de Transformação Indireta e demonstra que as micelas estão presentes na solução na forma de elipsoides prolatos inomogêneos de pequena anisometria.

Para as concentrações mais altas, a curva de SAXS é modelada pelo produto P(q)S(q) convoluído com o efeito do perfil do feixe incidente, com S(q) calculado na Aproximação da Esfera Média e utilizando um potencial de interação coulombiano blindado repulsivo entre as partículas. Os resultados desta análise mostram que a forma das micelas permanece estável e de pequena anisometria no intervalo de concentrações estudado, e estão em bom acordo com resultados fornecidos pela p(r).

Baseando-se nas informações obtidas a partir da modelagem das curvas de SAXS, é proposto um mecanismo para descrever a transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$ em termos da formação de uma estrutura cúbica local na fase I concentrada.

Abstract

Results obtained by small angle X-ray scattering (SAXS) for two systems with interparticle interactions are presented. These systems are DNA fragments in water, which represent a solution of charged particles with cylindrical simmetry, and palmitoyl lysophosphatidyl choline (PLPC) in water, which corresponds to a solutions of micelar aggregates without charge.

DNA solutions are studied in the isotropic (I) phase in the semidilute regime until the I \rightarrow cholesteric phase transition. The peak position on the SAXS curves as a function of concentration fits an "universal" curve with exponent $\frac{1}{2}$, which has previously fitted data from other charged polyelectrolyte solutions, for an effective rod length $L_p=340$ Å. The cross section distance distribution function, $p_c(r)$, is calculated for the less concentrated solution using the Indirect Transformation Method, showing that interference effects are not present in the measured range of scattering angle. The form factor P(q) is obtained for this concentration. This function, together with the $p_c(r)$ function, is in good agreement with the B form of the DNA.

The interference curves for the more concentrated DNA solutions are experimentally derived by dividing the SAXS curve, corrected from the effect of the incident beam profile, by the particle form factor. The Indirect Transformation Method in Reciprocal Space is used to get the corrected SAXS curve. Modelling of the interference functions with gaussian functions compares well with recent theories for interparticle interactions on solutions of charged rodlike polyelectrolytes.

The peak broadening $[\beta]_g$ expressed as $(L_p[\beta]_g)$ in function of concentration also fits a curve with exponent $\frac{1}{2}$. This fitting shows that the short range order for rods in the semidilute regime, for an ionic force $\sim (10^{-3} \cdot 10^{-2})$ M, has a correlation length slightly above first neighbours. Through comparison with literature data, it is observed that for a lowering of the solution ionic force up to $\sim (10^{-7} \cdot 10^{-5})$ M, the local order grows up to second neighbours.

The PLPC/water system is studied at the I phase until the I \rightarrow cubic (Q²²³) phase transition. The distance distribution function, p(r), is calculated for the less concentrated solutions using the Indirect Transformation Method and shows that micelles are present in the solution as inhomogeneous prolate ellipsoids with small anisometry.

For higher concentrations the SAXS curves are fitted with the product P(q)S(q) convoluted with the incident beam profile, with S(q) calculated in the Mean Spherical Approximation and using a screened Coulomb repulsive potential to describe the interactions between the particles. The results from this analysis show that the micelles shape remains stable and with a small anisometry within the concentration range studied, and are in good agreement with the results provided by the p(r).

On the basis of the information obtained from the modelling of the SAXS curves, it is proposed a mechanism to describe the $I\rightarrow Q^{223}$ phase transition in terms of the formation of a local cubic structure at the concentrated I phase.

$\bf \acute{I}ndice$

1	Introdução				
	1.1	Estrut	tura do DNA	2	
	1.2	Diagra	ama de Fases do DNA	5	
1.3 Estrutura do PLPC: Formação Micelar				6	
	1.4	ama de Fases do PLPC	7		
	1.5	ivos do Trabalho	8		
		1.5.1	Sistema DNA/Água	8	
		1.5.2	Sistema PLPC/Água	10	
		1.5.3	Estrutura da Tese	11	
2	Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos de Soluções Coloidais				
	2.1	Soluçõ	oes Coloidais de Partículas Monodispersas não Interagentes	17	
		2.1.1	Região de Guinier	17	
		2.1.2	Função Distribuição de Distâncias	18	
		2.1.3	Fator de Forma de Micelas com Simetria Elipsoidal	20	
		2.1.4	Fator de Forma de Partículas com Simetria Cilíndrica	23	
	2.2	Soluçõ	ses Coloidais de Partículas Monodispersas Interagentes	24	
		2.2.1	Cálculo de Fator de Interferência de Soluções Isotrópicas com Partículas		
			Esféricas	24	
		2.2.2	Fator de Estrutura Analítico para Soluções de Macroíons Esféricos:		
			Método de Hayter e Penfold	20	

		2.2.3	Cálculo do Fator de Interferência de Soluções Isotrópicas de Partícul	las							
			com Simetria Cilíndrica		3 1						
3	Resultados Experimentais										
	3.1	Difrat	ômetro de Baixo Ângulo		33						
	3.2	Efeito	s Instrumentais		35						
	3.3	Métod	lo Fotográfico de Laue		37						
	3.4	Amost	tras		38						
		3.4.1	Sistema DNA/Água		38						
		3.4.2	Sistema PLPC/Água		39						
	3.5	Tratar	mento dos Dados		39						
	3.6	Aprese	entação dos Resultados		41						
		3.6.1	Sistema DNA/Água	•	41						
		3.6.2	Sistema PLPC/Água		46						
4	Análise de Dados de Espalhamento a Baixo Ângulo de Sistemas Intera-										
	gentes Utilizando Métodos de Transformação Indireta										
	4.1	Descri	ição do Método de Transformação Indireta		54						
	4.2	Descri	ição do Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco		56						
	4.3	Result	tados e Discussão		56						
5	Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo do DNA Fragmentado: Fatores										
	de l	de Forma e de Interferência									
	5.1	Fator	de Forma da Partícula		64						
	5.2	Função	o de Interferência		66						
	5.3	Discus	ssão		71						
6	Est	udo da	Ordem de Curto Alcance no Regime Semi-diluído		75						
	6.1	Result	ados		76						
	6.2	Discus	ssão dos Resultados		86						

7	Agregados Micelares Perto da Formação de uma Fase Cúbica Líquido-					
	Cris	stalina	93			
	7.1	Método	94			
	7.2 Resultados					
		7.2.1 Modelagem das Curvas de SAXS através da Função Distribuição de				
		Distâncias $p(r)$	99			
		7.2.2 Modelagem do Produto $P(q)S(q)$ nas Curvas de SAXS	102			
	7.3	Discussão	115			
8	8 Análise da Transição de Fase Isotrópica→ Cúbica Líquido-Cristalina e					
	Solı	uções Aquosas Contendo PLPC	1 2 0			
	8.1	Estudo da Fase \mathbb{Q}^{223}	121			
	8.2	Método de Estudo da Fase I Concentrada	125			
	8.3	Resultados e Discussão	126			
9	O Conclusões Finais		L 32			
	9.1	Sistema DNA/Água	132			
	9.2	Sistema PLPC/Água	134			
A		1	136			
В		1	L 3 9			
	Ribliografia.					

Capítulo 1

Introdução

Este trabalho concentra-se no estudo da fase isotrópica do DNA fragmentado em água no regime semi-diluído próximo à transição de fase isotrópica-colestérica, e no estudo de soluções aquosas de palmitoil lisofosfatidil colina (PLPC) em torno da transição isotrópica-cúbica. O DNA fragmentado apresenta-se em solução aquosa como um polieletrólito altamente carregado, moderadamente flexível e de simetria cilíndrica. O PLPC pertence ao grupo dos anfifilicos, e em solução aquosa se auto-associa em uma ampla variedade de agregados sem carga, que podem transformar-se de um para o outro quando as condições da solução são alteradas.

A técnica experimental empregada no estudo de ambos os sistemas é o espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) [1-2]. Como os processos de espalhamento envolvem uma relação inversa entre o tamanho da partícula espalhadora e o ângulo de espalhamento, partículas de tamanho coloidal (entre dezenas e centenas de angstrom) espalham no intervalo angular de baixo ângulo ($2\theta < 10^{\circ}$, 2θ : ângulo de espalhamento). A análise do espalhamento em baixo ângulo é usualmente realizada para sistemas de partículas coloidais, idênticas e que estejam suficientemente afastadas umas das outras, para que não exista nenhuma interação entre elas. A partir da curva de espalhamento a baixo ângulo é possível determinar vários parâmetros relacionados com a forma da partícula que espalha. Por outro lado, a técnica de SAXS vem sendo também utilizada cada vez com maior freqüência no estudo de sistemas coloidais interagentes. Os dois sistemas acima mencionados serão estudados neste trabalho

como sistemas interagentes, embora eles possam ser tratados como sistemas de partículas não interagentes quando os efeitos de interferência entre as partículas não são observados nos dados de SAXS.

Em continuação serão dadas as caraterísticas estruturais dos compostos a serem estudados, bem como a sua conformação em solução e o seus respectivos diagramas de fase.

1.1 Estrutura do DNA

As unidades fundamentais do DNA são os desoxirribonucleotídeos. Estes contêm três componentes características: uma base nitrogenada, uma pentose e um ácido fosfórico, ligadas como está mostrado na figura 1.1 [3].

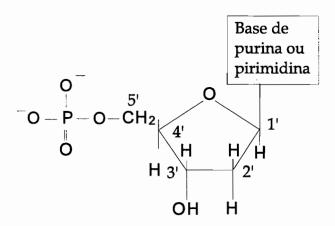


Figura 1.1: estrutura geral de um desoxirribonucleotídeo. Os átomos de carbono da pentose são numerados 1', 2', etc, para distinguirlos dos átomos da base.

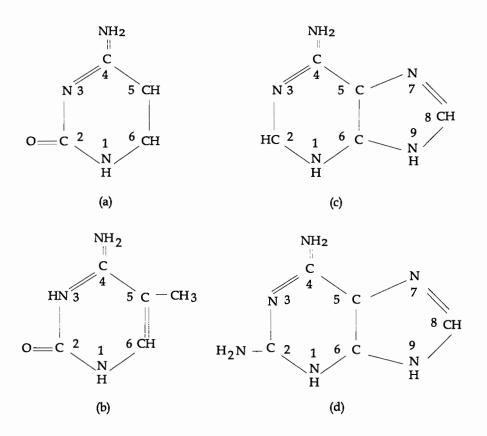


Figura 1.2: estrutura das principais bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos. Pirimidinas: (a) citosina, (b) timina. Purinas: (c) adenina, (d) guanina. Os átomos de carbono são numerados 1, 2, etc.

As bases nitrogenadas são derivadas de dois compostos originais: a pirimida e a purina. Na figura 1.2 [3] se apresentam as bases púricas do DNA, a adenina (A) e a guanosina (G), e as bases pirimídicas, a citocina (C) e a timina (T).

Os desoxirribonucletídeos estão unidos, em forma sucessiva, através de pontes do grupo fosfato, formando uma fita de DNA. O grupo hidroxila 5' da pentose de uma unidade desoxirribonucleotídica é ligado ao grupo hidroxila 3' da pentose do próximo desoxirribonuclotídeo por uma ligação fosfodiéster, como se mostra na figura 1.3 [3]. As fitas de DNA possuem uma orientação específica porque todas as ligações fosfodiésteres internucleotídicas possuem a mesma orientação ao longo da cadeia. Por causa desta polaridade, cada fita de DNA possui uma extremidade 5' e uma extremidade 3'.

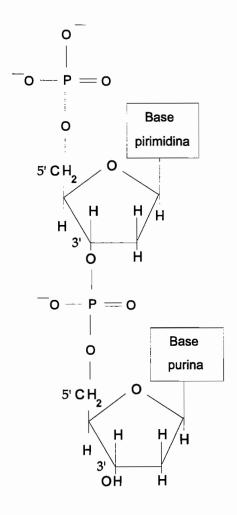


Figura 1.3: estrutura do esqueleto covalente do DNA.

A estrutura tridimensional do DNA consiste em duas destas fitas enroladas ao longo de um mesmo eixo para formar uma dupla hélice. Na hélice, as duas fitas são antiparalelas (suas ligações fosfodiésteres internucleotídicas correm em direções opostas). O seu esqueleto está formado por grupos fosfato e pentose alternantes negativamente carregados e portanto altamente polares, que estão no exterior da dupla hélice de frente a água circundante. As bases hidrofóbicas purinas e pirimidinas de ambas as fitas estão empilhadas dentro da dupla hélice de forma tal que as moléculas das bases aproximadamente planares estão muito próximas, formando pontes de hidrogênio, e perpendiculares ao longo do eixo da dupla hélice. Os pares permitidos são sempre A-T ou G-C.

A dupla hélice do DNA, chamada tipo B, tem 20 Å de espessura enquanto que a chamada tipo Z, tem 18 Å de espessura. As bases empilhadas dentro da dupla hélice estão afastadas 3.4 Å na direção do eixo da dupla hélice, e existem aproximadamente 10 desoxirribonucleotídeos em cada turno completo da dupla hélice.

1.2 Diagrama de Fases do DNA

Em soluções aquosas o DNA fragmentado forma múltiplas fases líquido-cristalinas [4-10]. A formação da fase líquido-cristalina acontece para uma concentração em particular que depende da força iônica da solução e do comprimento dos fragmentos de DNA. Por exemplo, esta concentração é de 160 g/l [8] para fragmentos de DNA de 500 Å de comprimento aproximadamente, em condições de sal fisiológico (força iônica da solução 0.15 M). Esta concentração crítica para a formação da fase anisotrópica não se modifica notávelmente pelo decréscimo da força iônica da solução a partir de 0.15 M até 10⁻² M [4-5]. Pelo contrário, o decréscimo do comprimento dos fragmentos de DNA é um fator que retarda a formação da fase líquido-cristalina [4-5]. Em linhas gerais, a evolução do sistema DNA/água para fragmentos de DNA de 500 Å aproximadamente, pode se resumir da seguinte maneira [10]:

A fase H é caracterizada por uma ordem colunar longitudinal e por uma ordem lateral hexagonal: as duplas hélices de DNA estão alinhadas em paralelo, formando um arranjo hexagonal. Cada macromolécula está livre para fazer uma rotação em torno do seu eixo [7].

Na fase Ch, as moléculas de DNA estão arranjadas em substratos perpendiculares ao eixo colestérico. Em cada um destes planos as duplas hélices de DNA estão alinhadas

paralelamente, mas a sua orientação gira de um plano para o outro [10].

A forma dos germens colestéricos do DNA fragmentado usualmente reflete o comportamento das duplas hélices de DNA na interface I-Ch. As moléculas exclusivamente paralelas à interface (substratos colestéricos concêntricos) produzem germens esféricos. Entretanto, diferentes orientações possíveis na interface (orientação uniforme dos substratos colestéricos) favorecem a elongação dos germens [10].

A fase I se divide em um regime diluído, para concentrações $C < C^*$, e num regime semi-diluído para $C > C^*$ (C^* : concentração crítica do sistema= [1 macromolécula de DNA]/[comprimento da macromolécula de DNA]³).

1.3 Estrutura do PLPC: Formação Micelar

O PLPC é um lipídeo polar, formado por duas classes diferentes de grupos: uma cabeça polar, hidrofílica, e uma cadeia hidrocarbonada não polar, hidrofóbica (figura 1.4). Em solução aquosa, o PLPC não possui carga, mas a cabeça apresenta um momento dipolar elétrico.

$$\begin{array}{c} \odot \\ \text{CH}_3^- \, (\text{CH}_2)_{14}^- \text{COO} - \text{CH}_2^- \, \text{CH}_2^- \text{CH}_2^- (\text{PO}_4) - \text{CH}_2^- \, \text{CH}_2^- \, \text{N}(\text{CH}_3)_3 \\ \text{OH} \end{array}$$

Figura 1.4: molécula de palmitoil lisofosfatidil colina: na solução aquosa, o momento dipolar é formado entre o oxigênio do grupo ácido fosfórico e o nitrogênio do grupo alcoólico da cabeça polar. A cadeia hidrocarbonada corresponde ao grupo CH₃-(CH₂)₁₄.

Para concentrações mais altas do que a concentração micelar crítica (c.m.c.= 10⁻⁴ M para 25 ° C [11]), as moléculas de PLPC estão presentes na solução formando agregados micelares. Devido a que a carga efetiva das moléculas de PLPC é zero, estas micelas não estão carregadas. As forças mais importantes que definem a formação micelar derivam da interação hidrofóbica na interface água-hidrocarboneto, que induz as moléculas de PLPC a se auto-associarem, e da natureza hidrofílica dos grupos da cabeça, que impõem o requerimento oposto de que elas estejam em contato com a água [12].

O volume da cadeia hidrocarbonada v e o seu comprimento crítico l_c (l_c : máximo comprimento efetivo da cadeia hidrocarbonada totalmente estendida) estabelecem os limites de empacotamento das cadeias hidrofóbicas dentro de um agregado micelar. Entretanto, a conformação média micelar depende de v, l_c e da área ótima interfacial por cabeça de molécula de PLPC exposta à água, a_o . Por exemplo, foi demonstrado [12] que lipídeos tal que o valor do parâmetro $p_0 = \frac{v}{a_o l_c} < \frac{1}{3}$ formam somente micelas esféricas e que esta estrutura corresponde a um tamanho mínimo de agregado, no qual todos os lipídeos têm a mínima energia livre.

1.4 Diagrama de Fases do PLPC

A figura 1.5 corresponde ao diagrama de fases do sistema PLPC/água [13].

As fases H e cúbica (Q²²³) são fases micelares do tipo I [14]: as micelas estão embebidas em uma matriz de água e preenchidas pelas cadeias hidrocarbonadas das moléculas de PLPC. Estas duas fases caracterizan-se pela conformação desordenada das suas cadeias parafínicas.

A fase H consiste de um arranjo hexagonal bi-dimensional de micelas cilíndricas [14]. Na fase Q²²³, micelas globulares estão distribuidas nas posições especiais a e c do grupo espacial Pm3n [15].

Para baixas concentrações, assim como todas as lisofosfatidilcolinas, o PLPC forma uma fase I contendo soluções isotrópicas não micelares ou micelares para concentrações menores ou maiores, respectivamente, do que a c. m. c.

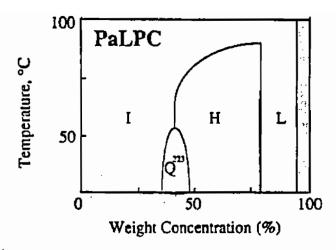


Figura 1.5: diagrama de fases do sistema PLPC/ água (figura extraída da referência [14]; utilizou-se a notação PalPC para fazer referência ao palmitoil lisofosfatidil colina).

1.5 Objetivos do Trabalho

1.5.1 Sistema DNA/Água

As moléculas de DNA em solução apresentam características típicas comuns a vários polieletrólitos biológicos ou sintéticos na forma de cilindros compridos.

Soluções isotrópicas de DNA são caracterizadas por um máximo na intensidade a baixos ângulos na curva de espalhamento devido a efeitos causados pelas interações eletrostáticas entre os cilindros. Foi observado experimentalmente [16] que a posição angular deste máximo, como para muitos outros polieletrólitos cilíndricos carregados [17-20], varia com a concentração C de partículas como $C^{-\frac{1}{3}}$ para $C < C^*$ (regime diluído) e como $C^{-\frac{1}{2}}$ para $C > C^*$ (regime semi-diluído), onde C^* é a concentração crítica, definida no item 1.2., que no caso geral se reduz a $C^* = [1 \text{ polieletrólito}/\ L_p^3]$ (L_p : comprimento do polieletrólito).

Curvas de SAXS correspondentes à soluções semi-diluídas de DNA foram estudadas focalizando-se na influência da adição de sal na solução [16], o que destrói o máximo na

intensidade a baixos ângulos na curva de espalhamento devido à blindagem das interações coulombianas entre as partículas carregadas. Também foi estudada a distribuição de contraíons do DNA em soluções isotrópicas diluídas, na presença ou na ausência de sal desprezando os efeitos de interferência entre as partículas, utilizando técnicas de SAXS [21] e espalhamento de neutrons a baixo ângulo (SANS) [22].

Este máximo de interferência a baixos ângulos está associado ao fator de interferência entre as partículas S(q). O fator de interferência entre cilindros carregados foi derivado experimentalmente para vários polieletrólitos [17-18,20], mas é difícil de calcular a partir das teorías de líquidos conhecidas. Lamentávelmente, até o presente não existe uma solução analítica como a que foi desenvolvida para coloides de esferas carregadas dentro da Aproximação de Esfera Média (MSA), resolvendo a equação de Ornstein-Zernicke [23-24].

As tentativas iniciais para obter uma função aproximada S(q) para cilindros carregados não conseguiram reproduzir o máximo de correlação observado experimentalmente [25]. Posteriormente, trabalhos realizados por Klein e colaboradores, utilizando método de simulação de Monte Carlo e teoría de perturbações, conseguiram reproduzir funções S(q) com picos [26-28]. Um modelo de segmento DLVO (Derjaguin- Landau-Verwey-Overbeek)-Yukawa foi utilizado para descrever a interação. Os resultados obtidos por teoría de simulações de Monte Carlo coincidem com os da teoría de perturbações somente para concentrações $C \leq C^*$ [27] e um bom acordo com os dados experimentais foi somente comprovado pelo método de Monte Carlo na região da transição do regime diluído ao semi-diluído [28].

O DNA fragmentado em solução aquosa foi escolhido como objeto de estudo, por ser um bom exemplo para estudar as interações entre as partículas nesta classe de sistemas. Isto apresenta-se particularmente importante tendo em vista que não existem na literatura trabalhos sobre S(q) correspondente a soluções aquosas semi-diluídas de DNA. Não será adicionado sal às soluções estudadas para atingir a situação física mais simples do sistema e para facilitar a comparação com resultados teóricos recentes que foram obtidos para soluções livres de sal. A realização deste trabalho alias significa uma colaboração entre o nosso Laboratório e o Departamento de Química Orgânica "A. Mangini" da Universidade de Bolonha, que forneceu a amostra.

1.5.2 Sistema PLPC/Água

A escolha do sistema PLPC/água como objeto de estudo, deve-se à transição de fase $I \rightarrow Q^{223} \rightarrow H$ por ele apresentada (figura 1.5). A presença da fase Q^{223} nesta seqüência não obedece ao comportamento típico das soluções de anfifílicos, sendo sensitiva ao comprimento da cadeia hidrocarbonada e também à natureza do contra-íon no caso de compostos iônicos [29-30].

A fase Q²²³ foi observada por Balmbra [29] no sistema cloreto de dodecyltrimetilamonio/água, por Tardieu [31] em alguns sistemas lipídeos (lisolecitina de ovo e laurildecaetilglicol)/água e em sistemas de sabões/solventes orgânicos (p-hexileno, decano, heptano)/água, e por Arvidson [13] em vários sistemas de lisofosfatidilcolinas (1-lauril-sn-glicerol-3-fosfocolina, 1-miristoil-glicerol-3-fosfocolina)/água.

A fase Q²²³ é uma fase cúbica micelar e não deve ser incluida no conjunto de fases cúbicas bicontinuas observadas para conteúdos menores de água em sistemas formados por surfactantes ou lipídeos biológicos, e usualmente posicionada entre a fase H e a lamelar. Foi demonstrado, por NMR [32] e espalhamento de raios-X [33-34], que estas últimas fases consistem de agregados contínuos em distâncias coloidais e foram propostas estruturas em termos de redes tridimensionais ou bidimensionais de cilindros. Por outro lado, estudos também utilizando NMR [35-36] e técnica de espalhamento de raios-X [15], demonstraram que a estrutura da fase Q²²³ está formada por micelas próximas centradas nas posições especiais a e c do grupo espacial Pm3n.

Com base em experimentos de espalhamento de raios-X, Vargas [15] descreveu as micelas posicionadas em a e c como esféricas e com forma de disco respetivamente. Mas Eriksson [35-36], concluiu a partir de resultados de NMR que tanto as micelas em a como em c são de forma esferocilíndrica.

Portanto, está claro que não existe até o presente uma conclusão definitiva sobre a forma dos elementos estruturais da fase Q²²³. Também, embora tenha sido feita uma tentativa

para determinar os fatores que levam a formação da fase Q^{223} [30,36], o mecanismo para a transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$ não foi estudado como tampouco existe algum modelo teórico para explicar a transição $I \rightarrow Q^{223} \rightarrow H$.

Visando obter informação sobre a forma dos elementos estruturais da fase Q^{223} , neste trabalho será estudada a forma das micelas do sistema PLPC/água na fase I até a transição $I \rightarrow Q^{223}$. Como a fase Q^{223} é micelar é de se esperar que a sua estrutura esteja influenciada pelas características estruturais da fase I. Posteriormente será estudado o mecanismo da transição $I \rightarrow Q^{223}$. Isto apresenta-se particularmente importante já que significa uma continuidade com o trabalho iniciado no nosso Laboratório em colaboração com o Instituto de Física Médica da Universidade de Ancona, que conseguiu explicar o mecanismo da transição $Q^{223} \rightarrow H$ utilizando relações epitaxiais entre as duas estruturas [14].

1.5.3 Estrutura da Tese

Uma vez explicadas as características dos sistemas e das questões a serem estudadas, é necessário especificar o conteúdo dos próximos capítulos.

O capítulo 2 contem um resumo sobre teoría do espalhamento e sobre o método utilizado na modelagem do fator de forma das partículas e da função de interferência entre as partículas, relacionados aos sistemas estudados nesta tese.

No capítulo 3 apresentam-se os arranjos experimentais usados neste trabalho e os resultados obtidos, que serão analisados nos capítulos 4-8.

No capítulo 4 será explicada a implementação do Método de Transformação Indireta e do Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco no estudo de soluções aquosas de DNA fragmentado no regime I semi-diluído até as proximidades da transição I → Ch. Em especial, o Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco será utilizado na correção do perfil do feixe de curvas de SAXS que apresentan efeitos de interferência entre as partículas. Este trabalho corresponde à publicação Castelletto, Itri & Amaral [37].

No capítulo 5 os resultados obtidos no capítulo 4 serão utilizados na obtenção do fator

de forma da partícula P(q) e da função de interferência S(q) como função da concentração do sistema DNA/água. A ordem de curto alcance no regime semi-diluído para soluções de polieletrólitos cilíndricos carregados será discutida a partir destes resultados. Este trabalho coresponde à publicação Castelletto, Itri, Amaral & Spada (1995) [38].

No capítulo 6 será estudada a influência da força iônica da solução e da carga superficial dos polieletrólitos na solução sobre a ordem de curto alcance, para soluções aquosas semidiluídas livres de sal de polieletrólitos carregados com simetria cilíndrica.

No capítulo 7 serão analizadas as curvas de espalhamento de raios-X a baixos ângulos de soluções aquosas de PLPC, na fase I concentrada até a transição I \rightarrow Q²²³. Será modelado nestas curvas o produto do fator de forma das partículas pela função de interferência do sistema, calculada dentro da aproximação MSA supondo que as micelas interagem através de um potencial de Coulomb blindado [23-24]. A formação da fase Q²²³ será discutida em termos destes resultados e de previsões teóricas sobre a estabilidade da conformação micelar [39], através da comparação com dados previamente obtidos no estudo da transição I \rightarrow H do sistema SLS/água [40-42].

No capítulo 8 será realizado um estudo da transição de fase I \rightarrow Q²²³ do sistema PLPC/água. Será discutida a ordem local das micelas na fase I concentrada e a evolução desta ordem para a estrutura correspondente à fase Q²²³, utilizando os resultados obtidos no capítulo 7.

O capítulo 9 resume as conclusões obtidas nesta tese.

Os apêndices A e B contêm informações adicionais aos capítulos 4 e 7.

Capítulo 2

Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos de Soluções Coloidais

Quando o feixe de raios-X incide em um sistema de partículas coloidais idênticas centrosimétricas, cada partícula age como um centro espalhador. A radiação é espalhada pelos elétrons destas partículas, sendo necessário que exista uma inomogeneidade na densidade eletrônica da amostra para que o espalhamento seja observado, porém utilizaremos os átomos como elemento básico para a descrição do espalhamento de um grupo de tais partículas. A intensidade espalhada é [1]:

$$I(\vec{q}) = I_p \sum_{k} \sum_{j} [\sum_{l} f_{kl} exp(-i\vec{q}.\vec{r}_{kl})] [\sum_{m} f_{jm} exp(i\vec{q}.\vec{r}_{jm})] exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_k - \vec{R}_j)] \qquad (2.1)$$

 $\mid \vec{q} \mid = \frac{4\pi sen(\theta)}{\lambda}$: vetor de espalhamento; 2θ ângulo de espalhamento; λ : comprimento de onda da radiação.

 $I_p(\theta) = \{I_f 7, 9.10^{-26}[1+cos^2(2\theta)]\}/(2t^2) \sim I_p$: no intervalo angular de baixo ângulo pode se aproximar por uma constante proporcional à intensidade do feixe incidente, independente de θ (I_f : intensidade primária do feixe e t: distância do objeto ao ponto de registro).

Devido a que as partículas são indistinguíveis, as seguintes definições relacionadas ao átomo l-ésimo da partícula k-ésima, se estendem ao átomo m-ésimo da partícula j-ésima. f_{kl} : fator de espalhamento do átomo l-ésimo na partícula k-ésima.

 \vec{r}_{kl} : vetor que une o centro de gravidade da partícula k-ésima ao centro do átomo l-ésimo.

 \vec{R}_k : vetor que une uma origem arbitrária ao centro de gravidade da partícula k-ésima.

 $\vec{R}_k - \vec{R}_j$: vetor que une os centros de gravidade das partículas k-ésima e j-ésima.

 $\sum_{l} f_{kl} exp(-i\vec{q}.\vec{r}_{kl}) = F_k(\vec{q})$: fator de estrutura da partícula k-ésima.

 $\sum_{l} f_{kl} exp(i\vec{q}.\vec{r}_{kl}) = F_{k}^{*}(\vec{q})$: fator de estrutura conjugado da partícula k-ésima.

Separando a somatória sobre os termos com k = j da somatória sobre os termos com $k \neq j$ na equação 2.1:

$$I(\vec{q}) = I_p \{ \sum_k F_k^2(\vec{q}) + \sum_k \sum_{j \neq k} F_k(\vec{q}) F_j^*(\vec{q}) exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_k - \vec{R}_j)] \}$$
 (2.2)

A intensidade da equação 2.2 corresponde somente a uma configuração do conjunto de partículas. Esta configuração muda constantemente devido à variação das orientações das partículas, e portanto unicamente são observadas intensidades médias:

$$< I(\vec{q}) > = < I_p \{ \sum_k F_k^2(\vec{q}) + \sum_k \sum_{j \neq k} F_k(\vec{q}) F_j^*(\vec{q}) exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_k - \vec{R}_j)] \} >$$
 (2.3)

Se o conhecimento das posições relativas de duas partículas não modificar as probabilidades das suas respetivas orientações, então [1]:

$$< I(\vec{q}) > = I_p \{ < N > < F^2(\vec{q}) > + < F(\vec{q}) >^2 < \sum_k \sum_{i \neq k} exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_k - \vec{R}_j)] > \}$$
 (2.4)

onde < N > é o número médio de partículas no volume irradiado V.

Assumindo que o grupo de partículas é isotrópico e não existe uma ordem de longo alcance no sistema, é possível introduzir a função de correlação de pares g(r) (função distribuição radial). Esta função representa a probabilidade de encontramos uma partícula a uma distância r do centro de uma outra partícula tomada como referência. É possível demonstrar que [1]:

$$<\sum_{k}\sum_{j\neq k}exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_{k}-\vec{R}_{j})]> = < N > 4\pi n_{p}\int_{0}^{\infty}rac{sen(q.r)}{q.r}(g(r)-1)r^{2}dr \qquad (2.5)$$

onde n_p é a densidade numérica média de partículas. Utilizando esta igualdade, a equação 2.4 se reduz a:

$$< I(q)> = I_p < N > \{ < F^2(q) > + < F(q) >^2 4\pi n_p \int_0^\infty {sen(q.r) \over q.r} (g(r)-1) r^2 dr \} ~~(2.6)$$

Definindo

$$\langle F^2(q) \rangle = P(q) \tag{2.7}$$

como o fator de forma da partícula, e

$$S(q) = 1 + \left[4\pi n_p < F(q) >^2 / P(q)\right] \int_0^\infty (g(r) - 1) \frac{sen(q.r)}{q.r} r^2 dr$$
 (2.8)

como a função de interferência do sistema:

$$\langle I(q) \rangle = I'_{p} P(q) S(q) \tag{2.9}$$

onde $I'_{p} = I_{p} < N >$.

Existem três casos que são do nosso particular interesse:

a) Sistema formado por partículas idênticas com geometria esférica ou de baixa anisometria.

Neste caso a expressão da equação 2.9 se simplifica através da relação [1] :

$$P(q) = \langle F(q)^2 \rangle = \langle F(q) \rangle^2$$
 (2.10)

b) Sistema com distribuição contínua dos tamanhos de partículas.

A equação 2.9, escreve-se [43]:

$$< I(q) >= I'_{p}P(q)S'(q)$$
 (2.11)

onde:

$$S'(q) = 1 + \beta(q) < \sum_{k} \sum_{j \neq k} exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_k - \vec{R}_j)] >$$
 (2.12)

e

$$\beta(q) = \langle F(q) \rangle^2 / \langle F^2(q) \rangle$$
 (2.13)

A média na equação 2.13 (e implícitamente no fator P(q) na equação 2.11), é realizada sobre todas as possíveis orientações das partículas bem como sobre a distribuição de tamanhos das partículas.

 $\beta(q)$ é um fator que oscila entre 0 e 1, o qual suprime as oscilações do termo da dupla somatória na equação 2.12. Foi demonstrado [43] que é possível aproximar esta dupla somatória com a solução obtida a partir da equação de Ornstein Zernicke utilizando um potencial efetivo de interação entre as partículas.

c) Sistema formado por partículas cilíndricas carregadas.

Vamos supor que cada partícula tem um comprimento muito maior do que o diâmetro da sua seção transversal. $F_k = F_k(\vec{q}, \vec{u}_k)$ corresponde ao fator de estrutura da k-ésima partícula tal que \vec{u}_k é o vetor unitário que indica a orientação do eixo do cilindro [1-2]. Para este sistema, a equação equivalente à equação 2.4 é:

$$\langle I(\vec{q}) \rangle = I_{p} \{ \langle N \rangle \langle F^{2}(\vec{q}, \vec{u}) \rangle +$$

$$\langle \sum_{j} \sum_{k \neq j} F_{k}(\vec{q}, \vec{u}_{k}) F_{j}^{*}(\vec{q}, \vec{u}_{j}) exp[-i\vec{q}.(\vec{R}_{k} - \vec{R}_{j})] \rangle \}$$

$$(2.14)$$

Para desenvolver o segundo término da equação 2.14, análogamente à função distribuição radial introduzida na equação 2.5, deve-se definir a função correlação de pares $g(\vec{r}, \vec{u}_k, \vec{u}_j)$ que representa a probabilidade de encontramos uma partícula cilíndrica con orientação \vec{u}_k e centro de gravidade em \vec{r} , tal que existe uma outra partícula com orientação \vec{u}_j e centro de gravidade no origem. Utilizando esta função na equação 2.14 [26-28]:

$$\langle I(q) \rangle = I_p' \{ \langle F^2(\vec{q}, \vec{u}) \rangle + n_p \int \int \int F(\vec{q}, \vec{u}_k) F^*(\vec{q}, \vec{u}_j)$$

$$[g(\vec{r}, \vec{u}_k, \vec{u}_j) - 1] exp(-i\vec{q}.\vec{r}) d\vec{u}_k d\vec{u}_j d\vec{r} \}$$
(2.15)

A igualdade 2.9 é válida, onde agora temos que:

$$P(q) = \langle F^2(\vec{q}, \vec{u}) \rangle \tag{2.16}$$

e:

$$S(q) = 1 + [n_p/P(q)] \int \int \int F(\vec{q}, \vec{u}_k) F^*(\vec{q}, \vec{u}_j) [g(\vec{r}, \vec{u}_k, \vec{u}_j) - 1] exp(-i\vec{q}.\vec{r}) d\vec{u}_k d\vec{u}_j d\vec{r} \quad (2.17)$$

Se a distância média entre as partículas é muito maior do que o seu comprimento, é possível desprezar as correlações entre as orientações das partículas k-ésima e j-ésima e a

distância \vec{r} entre os seus centros de gravidade. Ou seja, não existe correlação entre $F(\vec{q}, \vec{u}_k)$ e $F(\vec{q}, \vec{u}_j)$. Nestas condições, na equação 2.17 temos [26-28]:

$$S(q) = 1 + n_p [\langle F(\vec{q}, \vec{u}) \rangle^2 / P(q)] \int [\bar{g}(\vec{r}) - 1] exp(-i\vec{q}.\vec{r}) d\vec{r}$$
 (2.18)

onde:

$$\overline{g}(\vec{r}) = \int \int g(\vec{r}, \vec{u}_k, \vec{u}_j) d\vec{u}_k d\vec{u}_j \qquad (2.19)$$

é a integração da função de correlação de pares sobre os seus graus de liberdade rotacionais. No caso de um sistema altamente diluído, $S(q) \sim 1$ nas equações 2.8 e 2.17-18, e portanto:

$$\langle I(q) \rangle = I_p' P(q) \tag{2.20}$$

Em continuação, embora os títulos dos items 2.1 e 2.2 abranjam uma ampla variedade de temas, estes estarão restringidos somente aos pontos de interesse deste trabalho. Para adotar uma notação mais conveniente, no resto deste trabalho < I(q) > será substituido por I(q).

2.1 Soluções Coloidais de Partículas Monodispersas não Interagentes

2.1.1 Região de Guinier

A intensidade de espalhamento no límite de q muito pequenos, para soluções isotrópicas diluídas de partículas de pequena anisometria, é dada pela aproximação universal estabelecida pela lei de Guinier [1-2]:

$$\lim_{q \to 0} I(q) = n_e^2 e^{-\frac{q^2 R_g^2}{3}} \tag{2.21}$$

onde n_e é o número total de elétrons da partícula e o raio de giro R_g da partícula é o único parâmetro. Análogamente à mecânica clássica R_g define-se como a distância quadrâtica

média do centro de gravidade onde o papel de "massa" corresponde aos elétrons.

2.1.2 Função Distribuição de Distâncias

No caso de soluções isotrópicas altamente diluídas, define-se a função distribuição de distâncias p(r), relacionada à amplitude de espalhamento e que contem toda a informação acessível do meio espalhador.

É necessário introduzir a função distribuição de probabilidade de distância ou função característica da partícula $\gamma(r)$ definida, para uma partícula de densidade eletrônica $\varrho(\vec{x}_k)$ tal que \vec{x}_k é a posição de um ponto da partícula, como a convolução quadrada tri-dimensional da diferença de densidades eletrônica ϱ , mediada sobre todas as direções no espaço [1-2]:

$$\gamma(r) = rac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} \int_V arrho(ec{x}_k) arrho(ec{x}_k + ec{r}) dV_k dw$$
 (2.22)

A partir de $\gamma(r)$ define-se [1-2]:

$$p(r) = \gamma(r)r^2 \tag{2.23}$$

esta função é a função distribuição de distâncias p(r) a qual representa (multiplicada por um fator 4π), para partículas homogêneas, o número de linhas com comprimento r que são encontradas na combinação de qualquer pequeno elemento de volume i com qualquer outro de volume k dentro de uma partícula. Para partículas inomogêneas, deve ser considerada a diferença de densidade eletrônica dos elementos de volume. Nesse caso, p(r) é proporcional ao número de pares de elétrons diferença separados pela distância r que são encontrados na combinação de qualquer pequeno elemento de volume i com qualquer outro elemento de volume k dentro de uma partícula. O número de pares de elétrons diferença é igual ao número de pares de elementos de volume multiplicados pelo produto do número de elétrons diferença n_i e n_k posicionados nos correspondentes elementos de volume. Duas regiões com densidade eletrônica de diferente sinal dão contribuições negativas à p(r).

A relação entre a função p(r) e a intensidade de espalhamento está dada por:

$$I(q) = 4\pi \int_0^\infty p(r) \left[\frac{sen(q.r)}{q.r}\right] dr$$
 (2.24)

e a transformada inversa da equação 2.24, permite calcular a função p(r) a partir da intensidade espalhada:

$$p(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty I(q)(q.r)sen(q.r)dq \qquad (2.25)$$

A função p(r) fornece informação sobre a forma da partícula e sobre a sua dimensão máxima, pois:

$$p(r) = 0, r > D (2.26)$$

onde D é a dimensão máxima da partícula. A partir desta função é também possível calcular R_g , de uma maneira muito mas exata do que a fornecida pela lei de Guinier, já que neste caso é utilizada a curva de espalhamento completa [2, 44]:

$$R_g^2 = \frac{\int_0^\infty p(r)r^2 dr}{2\int_0^\infty p(r)dr}$$
 (2.27)

No caso de um sistema de partículas de estrutura cilíndrica, é interessante realizar o cálculo da função distribuição de distâncias da seção transversal. Estes cálculos assumem às partículas homogêneas na direção do eixo do cilindro. Portanto [2, 45]:

$$\varrho(\vec{r}) = \varrho_0 \varrho_c(\vec{r}_c) \tag{2.28}$$

onde ϱ_0 é uma constante e \vec{r}_c é um vetor no plano da seção transversal perpendicular ao eixo do cilindro. Neste caso, a função de correlações da seção transversal, se define como:

$$\gamma_c(r) = \langle \varrho_c(\vec{r}_c) \star \varrho_c(-\vec{r}_c) \rangle \tag{2.29}$$

onde a média <> é realizada sobre todas as direções no plano da seção transversal da partícula e \star significa a operação de convolução. A função distribuição de distâncias da seção transversal $p_c(r)$ define-se como [2, 45]:

$$p_c(r) = r\gamma_c(r) \tag{2.30}$$

A conexão entre a função $p_c(r)$ e a intensidade espalhada, é dada por:

$$I(q) = (\frac{\pi L}{q})F_c^2(q) = 2\pi^2 L \int_0^\infty \frac{p_c(r)J_0(q.r)}{q}dr$$
 (2.31)

onde L é o comprimento do cilindro, $J_0(q)$ é a função de Bessel de ordem zero e $F_c^2(q)$ é a intensidade de espalhamento referida à seção transversal do cilindro, a qual será tratada mais detalhadamente no item 2.1.4. A transformada inversa desta equação permite o cálculo de $p_c(r)$ a partir de $F_c^2(q)$:

$$p_c(r) = rac{1}{2\pi} \int_0^\infty F_c^2(q) q.r J_0(q.r) dq$$
 (2.32)

As informações obtidas a partir da função $p_c(r)$ são análogas as mencionadas para a função p(r), mas relacionadas à seção transversal da partícula. O raio de giro da seção transversal $R_c(r)$ é calculável a partir da equação 2.27 substituindo p(r) por $p_c(r)$.

2.1.3 Fator de Forma de Micelas com Simetria Elipsoidal

Vamos começar a nossa exposição considerando uma solução diluída de partículas esféricas de volume V_{esf} e raio R_{esf} . Assumindo uma distribuição contínua de pontos de espalhamento para cada partícula bem como para o solvente, é possível definir ϱ e ϱ_0 como as densidades eletrônicas constantes da partícula e do solvente respetivamente. Somente a diferença $\Delta \varrho = (\varrho - \varrho_0)$ é relevante à difração de raios-X, sendo que [1-2]:

$$F(\vec{q}) = \Delta \rho \int_{V_{ext}} exp(-i\vec{q}.\vec{r})dV$$
 (2.33)

O valor médio de $exp(-i\vec{q}.\vec{r})$ sobre todas as possíveis orientações de \vec{r} fornece [1-2]:

$$\langle exp(-i\vec{q}.\vec{r}) \rangle = \frac{sen(q.r)}{(q.r)}$$
 (2.34)

e utilizando a equação 2.34 na equação 2.33, expressa em coordenadas esféricas, temos:

$$F(q) = \Delta \varrho \int_{0}^{2\pi} \int_{0}^{\pi} \int_{0}^{R_{esf}} r^{2} sen(\theta) \frac{sen(q.r)}{(q.r)} dr d\theta d\varphi =$$

$$= 3\Delta \varrho V \{ [sen(q.R_{esf}) - (q.R_{esf})cos(q.R_{esf})]/(q.R_{esf})^{3} \} =$$

$$= 3\Delta \varrho V \phi(q.R_{esf})$$

$$= 3\Delta \varrho V \phi(q.R_{esf})$$
(2.35)

Em particular, foi demonstrado que para qualquer orientação de um elipsoide de revolução de anisometria ν_e com semi-eixos a_1 e a_2 ($a_2=a_1\nu_e$), F(q) será equivalente ao de uma esfera

com raio R_{eq} [2]:

$$R_{eq} = (a_1^2 cos^2 \varpi_1 + a_2^2 sen^2 \varpi_1)^{1/2}$$
 (2.36)

onde ϖ_1 é o ângulo entre o eixo de revolução do elipsoide e o vetor \vec{q} . Nestas condições, temos para o elipsoide de revolução:

$$F(q, \varpi_1) = 3\Delta \varrho V \phi(q.(a_1^2 cos^2 \varpi_1 + a_2^2 sen^2 \varpi_1)^{1/2})$$
 (2.37)

Entre os modelos mais simples e usados de micelas encontra-se o de elipsoide de revolução, formado por um caroço parafínico, que contem as cadeias hidrocarbonadas hidrofóbicas, e por uma região polar, que contem as cabeças hidrofílicas. Existem duas geometrias possíveis de elipsoides de revolução, e a seção transversal de ambas está apresentada na figura 2.1. A região parafínica central tem densidade eletrônica ϱ_{par} , semi-eixo menor l_{par} e semi-eixo maior νl_{par} ou $\nu^{-1}l_{par}$ dependendo da geometria do elipsoide (l_{par} : comprimento da cadeia hidrocarbonada, ν : anisometria da região parafínica). Esta região está rodeada de uma camada polar de espessura d e densidade eletrônica ϱ_{pol} .

As duas geometrias do elipsoide mencionadas são as seguintes:

a) elipsoide de revolução prolato: obtem-se pela rotação em torno do eixo maior do elipsoide (a) da figura 2.1, dado por $[2\ (l_{par}\nu+d)]$ tal que $\nu>1$. Os parâmetros são os semi-eixos $(l_{par},\ l_{par},\ \nu l_{par})$ para a parte parafínica e $(l_{par}+d,\ l_{par}+d,\ \nu l_{par}+d)$ para a micela completa. Neste caso, definindo $(l_{par}+d)=R_{pol}$ e se ζ é o ângulo entre o eixo longo do elipsoide e o vetor \vec{q} , a equação 2.37 se transforma em [46]:

$$F(q,\zeta) = 3V_{par}(\varrho_{par} - \varrho_{pol})\phi(ql_{par}g_1(\zeta)) + 3V_{pol}(\varrho_{pol} - \varrho_o)\phi(q.R_{pol}g_2(\zeta))$$
(2.38)

aplicando a igualdade 2.35:

$$F(q,\zeta) = 3V_{par}(\varrho_{par} - \varrho_{pol})\{sen[ql_{par}g_1(\zeta)] - [ql_{par}g_1(\zeta)]cos[ql_{par}g_1(\zeta)]\}/[ql_{par}g_1(\zeta)]^3(2.39)$$

$$+3V_{pol}(\varrho_{pol} - \varrho_o)\{sen[q.R_{pol}g_2(\zeta)] - [q.R_{pol}g_2(\zeta)]cos[q.R_{pol}g_2(\zeta)]\}/[q.R_{pol}g_2(\zeta)]^3$$

onde $V_{par}=\frac{4}{3}\pi l_{par}^3 \nu$ é o volume do caroço parafínico, $V_{pol}=\frac{4}{3}\pi (l_{par}+d)^2 (\nu l_{par}+d)$ é o volume micelar total, e $g_1(\zeta)$ e $g_2(\zeta)$ correspondem a:

$$g_1(\zeta) = (\cos^2 \zeta + \nu^2 sen^2 \zeta)^{\frac{1}{2}}$$

 $g_2(\zeta) = (\cos^2 \zeta + \Upsilon^2 sen^2 \zeta)^{\frac{1}{2}}$ (2.40)

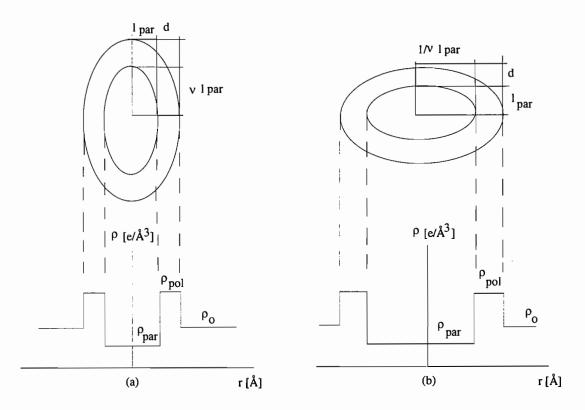


Figura 2.1: seção transversal do modelo de duas camadas para micela elipsoidal: (a) elipsoide prolato, (b) elipsoide oblato.

onde $\Upsilon = \frac{\nu l_{par} + d}{l_{par} + d}$.

Nestas condições:

$$P(q) = \langle F^{2}(q,\zeta) \rangle = \int_{0}^{\frac{\pi}{2}} [F(q,\zeta)]^{2} cos\zeta d\zeta$$
 (2.41)

b) elipsoide de revolução oblato: obtem-se pela rotação do elipsoide (b) da figura 2.1 em torno do eixo menor, dado por $2(l_{par}+d)$. Os parâmetros da parte parafínica são os semi-eixos $(l_{par}, \frac{l_{par}}{\nu}, \frac{l_{par}}{\nu})$ e da parte polar $(l_{par}+d, \frac{l_{par}}{\nu}+d, \frac{l_{par}}{\nu}+d)$, tal que $\nu<1$. A expressão do P(q) é dada pela correspondente ao elipsoide de revolução prolato substituindo [46]: $\Upsilon=\nu\frac{l_{par}+d}{l_{par}+\nu d}$, $V_{par}=\frac{4}{3}\pi\frac{l_{par}^3}{\nu^2}$ e $V_{pol}=\frac{4}{3}\pi(\frac{l_{par}}{\nu}+d)^2(l_{par}+d)$.

Finalmente, é importante definir o número de agregação micelar médio \overline{n} através das

equações:

$$\overline{n}v = \frac{4}{3}\pi\nu l_{par}^3$$
 para elipsoides prolatos
$$\overline{n}v = \frac{4}{3}\pi\frac{1}{\nu^2}l_{par}^3$$
 para elipsoides oblatos (2.42)

onde v é o volume da cadeia hidrocarbonada.

2.1.4 Fator de Forma de Partículas com Simetria Cilíndrica

Vamos considerar uma solução diluída de partículas cilíndricas de volume V_{cil} . O fator de estrutura correspondente a uma destas partículas é dado por [2]:

$$F(\vec{q}) = \Delta \varrho \int_{V_{cil}} exp(-i\vec{q}.\vec{r})dV$$
 (2.43)

assumindo-se uma distribuição contínua de centros espalhadores para a partícula e para o solvente. Definindo \vec{z} como a componente do vetor \vec{r} na direção do eixo do cilindro e \vec{r}_c como a componente do vetor \vec{r} no plano da seção transversal do cilindro [2]:

$$F(\vec{q}) = \Delta \varrho \int_{-L/2}^{L/2} \int_{A} exp[-i\vec{q}.(\vec{r_c} + \vec{z})] dA dz \qquad (2.44)$$

para um cilindro de comprimento L e seção transversal de área A. Se \vec{u}_z é o vetor unitário na direção do vetor \vec{z} :

$$F(\vec{q}) = F(\vec{q}, \vec{u}_z) = \Delta \varrho \int_{-L/2}^{L/2} exp(-i\vec{q}.\vec{u}_z z) dz \int_A exp(-i\vec{q}.\vec{r}_c) dA$$

$$= \Delta \varrho L \{ sen[\vec{q}.\vec{u}_z(\frac{L}{2})] / [\vec{q}.\vec{u}_z(\frac{L}{2})] \} \int_A exp(-i\vec{q}.\vec{r}_c) dA$$
(2.45)

onde não foi colocada em evidência a dependência do fator de estrutura com \vec{r}_c porque esta função não depende desse vetor (equação 2.48). Portanto, se ξ é o ângulo entre os vetores \vec{q} e \vec{u}_k :

$$P(q) = \langle F^2(\vec{q}, \vec{u}_z) \rangle = \langle F^2(q, \xi) \rangle = \int F^2(q, \xi) d\xi$$
 (2.46)

O fator de estrutura da equação 2.45 corresponde ao produto de um termo relacionado a L e um outro relacionado a A. Se $L\gg 2R_{cil}$, sendo $2R_{cil}$ o diâmetro de A, o termo

relacionado a L somente contribuirá para $\xi \sim 90$ ° [2]. Nestas condições, os dois fatores podem se considerar independentes e as suas médias com respeito a ξ podem se calcular em forma separada.

O fator relacionado a L fornece:

$$< F_L^2(q,\xi)> = L^2 \int_0^\infty \{[sen(qrac{L}{2}.(cos\xi))]/[qrac{L}{2}.(cos\xi)]\}^2 d(cos\xi) = Lrac{\pi}{q}$$
 (2.47)

O fator relacionado a A não depende de ξ e portanto não se precisa calcular a média com respeito a esta variável, somente quadrar:

$$F_c^2(q) = [\Delta \rho \int_A exp(-i\vec{q}.\vec{r}_c)dA]^2 = [2A\Delta \rho (\frac{J_1(q.R)}{q.R})]^2$$
 (2.48)

onde J_1 é a função de Bessel de primeira ordem. A partir das equações 2.47 e 2.48 obtem-se:

$$P(q) = \langle F_L^2(q,\xi) \rangle F_c^2(q) = L \frac{\pi}{q} [2A\Delta\varrho(\frac{J_1(q,R)}{q,R})]^2$$
 (2.49)

2.2 Soluções Coloidais de Partículas Monodispersas Interagentes

2.2.1 Cálculo do Fator de Interferência de Soluções Isotrópicas com Partículas Esféricas

A função de correlação de pares, introduzida na equação 2.5, é de principal importância na teoría de líquidos em equilibrio. A relação desta função com o potencial total agindo no líquido, em uma solução isotrópica formada por N partículas coloidais esféricas, é [47]:

$$g(\vec{r}_1, \vec{r}_2) = g(|\vec{r}_1 - \vec{r}_2||) = g(r) = \frac{V^2 \int d\vec{r}_3 ... d\vec{r}_N exp[-\frac{1}{K_B T} U(\vec{r}_1, ..., \vec{r}_n)]}{\int d\vec{r}_1 ... d\vec{r}_N exp[-\frac{1}{K_B T} U(\vec{r}_1, ..., \vec{r}_n)]}$$
(2.50)

onde $K_B=1.38\times 10^{-23}~\mathrm{J/mol^oK}$ é a constante de Boltzmann, T é a temperatura do sistema e $U(\vec{r_1},...,\vec{r_n})$ é o potencial total de interação.

A função de correlação total se define através de:

$$h(r) = g(r) - 1 \tag{2.51}$$

Para compreender o significado desta função, é conveniente decompo-la nas suas componentes diretas e indiretas. Isto é realizado através da equação de Ornstein-Zernicke [48]:

$$h(r_{12}) = c(r_{12}) + n_p \int h(r_{23})c(r_{13})d(r_3)$$
 (2.52)

Neste caso:

 r_{12} : distância entre as partículas 1 e 2.

 r_{13} : distância entre as partículas 1 e 3.

 r_{23} : distância entre as partículas 2 e 3.

 r_3 : posição da partícula 3.

A equação 2.52 define a função de correlação direta, $c(r_{12})$. É importante notar que para um sistema de N partículas, $h(r_{12})$ não tem o significado físico para um par de partículas isoladas: deve ser relacionada à presença das (N-2) partículas restantes. De acordo com a equação 2.52, a correlação total entre duas partículas vem do efeito direto da partícula 1 sobre a partícula 2, expresso por $c(r_{12})$, isto modificado indiretamente através do efeito total de uma partícula representativa 3 sujeita a sua correlação com a partícula 2, expresso por $h(r_{23})$.

No caso de partículas esféricas, a função de interferência introduzida na equação 2.8, é simplesmente a Transformada de Fourier de h(r):

$$S(q) = 1 + 4\pi n_p \int_0^\infty h(r) \frac{sen(q.r)}{(q.r)} r^2 dr = 1 + n_p h(q)$$
 (2.53)

enquanto que a relação inversa corresponde a:

$$h(r) = \frac{1}{2\pi^2 n_p} \int_0^\infty [S(q) - 1] \frac{sen(q.r)}{(q.r)} q^2 dq$$
 (2.54)

A Transformada de Fourier da equação 2.52, com a ajuda do teorema de convolução, fornece:

$$h(q) = c(q) + n_p c(q) h(q)$$
 (2.55)

pelas equações 2.53 e 2.55:

$$S(q) = \frac{1}{1 - n_p c(q)} \tag{2.56}$$

portanto S(q) é obtida através do conhecimento de c(q), a qual obtem-se pela transformada de Fourier de $c(r_{12})$. Mas é necessária uma relação de clausura entre h(r) e c(r) para que a equação 2.52 seja uma formulação autoconsistente para estas duas funções.

A relação de clausura entre h(r) e c(r) utilizada no nosso trabalho é a MSA:

$$c(r) = -\frac{1}{K_B T} U(r), \qquad r > \sigma$$

$$h(r) = -1, \qquad r < \sigma \qquad (2.57)$$

onde U(r) é o potencial de pares que descreve a interação direta entre as partícula 1 e 2 e σ é o diâmetro destas partículas.

A segunda parte da equação 2.57, deduce-se a partir da equação 2.51 e do significado da função g(r), a qual satisfaz:

$$g(r) = 1,$$
 $r \to \infty$ (2.58)
 $g(r) = 0,$ $r \le \sigma$

A primeira parte da equação 2.58 significa que a uma distância muito grande da partícula referência, a densidade das partículas não se distingue da densidade média. Entretanto, a segunda parte da equação 2.58 corresponde à condição de "esfera dura" e impõe que as partículas não conseguem se interpenetrar.

Para compreender o significado físico da primeira parte da equação 2.57, deve-se relacionar à função g(r) com um potencial de força média hipotético, $\Psi(r)$, através da relação de Boltzmann [47]:

$$g(r) = exp[-\Psi(r)/K_BT]$$
 (2.59)

Este potencial de força média pode ser escrito como:

$$\Psi(r) = U(r) + W(r) \tag{2.60}$$

Para pequenas separações, quando o potencial de pares domina a estrutura do fluido, $\Psi(r) \to U(r)$. Entretanto, para separações maiores, os efeitos das restantes (N-2) partículas

dominam e $\Psi(r) \to W(r)$ pois esta última função representa o efeito médio das restantes partículas.

A partir da equação 2.52:

$$h(r) \rightarrow c(r), \qquad n_p \rightarrow 0$$
 (2.61)

ou seja:

$$g(r) \rightarrow 1 + c(r), \qquad \qquad n_p \rightarrow 0$$
 (2.62)

Nestas condições, $\Psi(r) \to U(r)$, sendo que:

$$g(r) = exp[-\Psi(r)/K_BT] \rightarrow exp[-U(r)/K_BT] \rightarrow 1 + c(r)$$
 (2.63)

onde:

$$c(r) \sim exp[-U(r)/K_BT] - 1 \tag{2.64}$$

e:

$$-K_BTc(r) \sim U(r) \qquad K_BT \gg U(r) \qquad (2.65)$$

recuperando-se a primeira parte da equação 2.57.

Vamos definir agora o potencial de pares utilizado no nosso trabalho.

Se a intensidade de espalhamento de uma solução micelar medida em uma experiência, depende principalmente da contribuição das micelas, esta solução pode ser pensada como um plasma de macroíons (representados pelas micelas), sendo os contra-íons das micelas e as moléculas de solvente um fundo uniforme neutralizador que determina a blindagem do sistema.

Nas condições estabelecidas no parágrafo anterior, a estabilidade da solução micelar tem a sua origem nas forças eletrostáticas repulsivas por meio das quais as micelas interagem, e estas interações são descritas por um potencial de pares efetivo que mede essencialmente as interações entre os macroíons.

Como será explicado em continuação, o potencial de interação entre os macroíons utilizado neste trabalho para a obtenção da expressão analítica de S(q) foi desenvolvido para macroíons esféricos. Apesar disto, as micelas em solução podem adotar formas elipsoidais,

como foi explicado no item 2.1.3. Para modelar S(q) para uma solução de micelas elipsoidales é necessário transformar as micelas anisométricas em micelas esféricas de volume parafínico equivalente cujo raio efetivo é dado por:

$$R_{ef}^3 = \nu l_{par}^3$$
 para elipsoides prolatos $R_{ef}^3 = \frac{l_{par}^3}{\nu^2}$ para elipsoides oblatos (2.66)

Portanto, o diâmetro de macroíon esférico equivalente está dado por:

$$\sigma = 2(R_{ef} + d) \text{ Å} \tag{2.67}$$

No cálculo do potencial de interação DLVO entre dois macroíons esféricos, são desprezadas as interações entre os contra-íons (considerando os pequenos contra-íons como pontuais) e assume-se uma fraca interação entre os macroíons e os contra-íons. Este potencial de pares será adotado neste trabalho, desprezando a componente atrativa devida à força de Van der Waals já que as partículas raramente se aproximam a ponto de senti-la, em uma forma simplificada da calculada por Verwey e Overbeek [49] para o potencial repulsivo entre dois macroíons esféricos de diâmetro σ :

$$U(r) = \pi \epsilon \epsilon_0 \phi_0^2 \sigma^2 \frac{exp[-k_D(r-\sigma)]}{r}, \qquad r > \sigma$$
 $U(r) = \infty, \qquad r < \sigma$ (2.68)

onde r é a distância interiônica centro-centro, ϵ é a constante dielétrica do solvente ($\epsilon_{\acute{a}gua\ pura}$ = 78.3), ϵ_0 = 8.2854 × 10 $^{-12}$ C²/ Nm² é a permissividade do espaço livre, ϕ_0 é o potencial de superfície relacionado à carga eletrônica do macroíon z_m por:

$$\phi_0 = z_m/\pi\epsilon\epsilon_0\sigma(2+k_D\sigma)$$
 (2.69)

e k_D é a distância inversa de blindagem de Debye-Hückel dada por:

$$k_D = (4\pi L_B \sum_{i \neq 0} \psi_i Z_i^2)^{1/2}$$
 (2.70)

onde Z_i e ψ_i são a carga e concentração dos pequenos íons (contra-íons e co-íons, no caso de eletrólito adicionado) e L_B é o tamanho de Bjerrum:

$$L_B = e^2 / 4\pi \epsilon \epsilon_0 K_B T \tag{2.71}$$

onde e: carga elétrica= 1.6×10^{-19} C. L_B está também relacionada à força iônica I da solução através de [50]:

$$k_D = (0.0151 L_B I)^{\frac{1}{2}} (2.72)$$

onde I, está dado por:

$$I = \text{c.m.c} + (\text{sal adicionado}) + \alpha \frac{[\phi]}{2}$$
 (2.73)

tal que α : coeficente de ionização= $\frac{z_m}{\overline{n}}$ e $[\phi]$: concentração molar da solução.

A relação de clausura MSA fornece, no caso do potencial da equação 2.68, a solução analítica da equação de Ornstein-Zernicke. O método para achar esta solução foi desenvolvido por J. B. Hayter e J. Penfold [23].

2.2.2 Fator de Estrutura Analítico para Soluções de Macroions Esféricos: Método de Hayter e Penfold

O método começa pela reformulação do sistema em unidades adimencionais [23]:

$$x = r/\sigma,$$
 $k = k_D \sigma,$ $Q = q \sigma$ (2.74)

Utilizando esta transformação, a expressão para U(r) fica dada por:

$$\frac{1}{K_BT}U(x) = \varepsilon exp(-k.x)/x, \qquad x > 1$$

$$\frac{1}{K_BT}U(x) = \infty, \qquad x < 1 \qquad (2.75)$$

onde $\varepsilon=\frac{1}{K_BT}\pi\epsilon\epsilon_0\phi_0^2\sigma exp(k),$ e a condição MSA que fornece a relação de clausura:

$$c(x) = -\frac{1}{K_B T} U(x), \quad x > 1$$
 $h(x) = -1, \quad x < 1$ (2.76)

Neste método a função de correlação direta c(x) obtem-se resolvendo a equação de Ornstein-Zernicke dentro da aproximação MSA:

$$c(x) = A + Bx + \frac{1}{2}\eta Ax^3 + \frac{Csenh(kx)}{x} + \frac{F[cosh(k.x) - 1]}{x} \qquad x < 1$$

$$c(x) = -\varepsilon exp(-k.x)/x \qquad x > 1 \qquad (2.77)$$

onde $\eta = \frac{\pi n_p \sigma^3}{6}$ é a fração volumétrica. As constantes são dadas por:

$$C = -(w_{16}F^2 + w_{15}F + w_{14})/(w_{13}F + w_{12})$$

$$B = b_1 + b_2C + b_3F$$

$$A = a_1 + a_2C + a_3F$$
(2.78)

onde F é a raíz de

$$w_4 F^4 + w_3 F^3 + w_2 F^2 + w_1 F + w_0 = 0 (2.79)$$

Os coeficentes das equações 2.77-79 estão listados no apêndice A [23].

Procede-se então da seguinte maneira:

- i) Calculam-se todas as raízes reais da equação 2.79
- ii) Para cada valor de c(x) calculado a partir dos resultados do item i), obtem-se S(Q) através da relação 2.56. O resultado é:

$$S(Q) = 1/[1 - 24\eta a(Q)] \tag{2.80}$$

onde a expressão para a(Q) está dada no apêndice A.

iii) A função radial correspondente à equação 2.80, é calculada a partir da equação 2.54:

$$g(x) = 1 + \frac{1}{12\pi\eta x} \int_0^\infty [S(Q) - 1] Q sen(Q.x) dQ$$
 (2.81)

iv) A raíz que satisfaz g(x) = 0 para x < 1 (equivalente à condição da equação 2.57 para h(x)), é escolhida como a solução física correta.

No limites nos quais $\varepsilon \to 0$ ou $k \to \infty$ as equações 2.52 e 2.57 fornecem o resultado para o caso de esferas duras, previamente calculado por Perkus e Yevick [51].

2.2.3 Cálculo do Fator de Interferência de Soluções Isotrópicas de Partículas com Simetria Cilíndrica

A função de interferência S(q) correspondente a uma solução isotrópica de partículas cilíndricas carregadas foi derivada experimentalmente para vários polieletrólitos, mas não existe uma teoría equivalente à apresentada na seções 2.2.1 e 2.2.2 para o cálculo de S(q) no caso de soluções de macroíons cilíndricos semiflexíveis.

A maior dificultade para achar uma solução analítica para S(q) reside em que esta função está relacionada à função correlação de pares entre duas partículas cilíndricas, $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$, a qual depende dos vetores \vec{u}_1 e \vec{u}_2 paralelos aos eixos dos cilindros e da distância \vec{r} entre os seus centros de gravidade.

A relação de $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$ com o potencial que descreve as interações entre as partículas que formam o sistema é [26]:

$$g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2) = \frac{V^2 4\pi \int d\vec{r}_3 d\vec{u}_3 ... d\vec{r}_N d\vec{u}_N exp[-\frac{1}{K_B T} \sum_{i < j} U(\vec{r}_{ij}, \vec{u}_i, \vec{u}_j)]}{\int d\vec{r}_1 d\vec{u}_2 ... d\vec{r}_N d\vec{u}_N exp[-\frac{1}{K_B T} \sum_{i < j} U(\vec{r}_{ij}, \vec{u}_i, \vec{u}_j)]}$$
(2.82)

Para relacionar os dados experimentais obtidos pela intensidade de espalhamento com as propriedades das partículas cilíndricas, deve-se determinar analíticamente a função S(q) a partir de um potencial dado de interação. Nos últimos anos equações integrais, teorías das pertubarções e cálculos de Monte Carlo foram desenvolvidos para fluidos de partículas anisotrópicas [25-28]. Como $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$ é uma função muito mais complicada do que a g(r) correspondente a partículas esféricas, todo o trabalho geralmente começa a partir de uma representação das funções dependentes da orientação em termos de expansões de invariantes rotacionais.

Existe na literatura um método analítico para calcular S(q) a partir da solução da equação de Ornstein e Zernicke, mas é somente válido para sistemas fracamente interagentes no regime diluído e não reproduz os picos observados experimentalmente para as funções S(q) da região mais concentrada deste regime [25].

Trabalhos utilizando o método de simulação de Monte Carlo conseguiram reproduzir funções S(q) que confirmaram os resultados experimentais para $0.52 \le \frac{C}{C^*} \le 1.51$ [28]. Nestes

estudos foi utilizado um modelo de Yukawa de n-centros, com potencial de pares correspondente à interação entre duas partículas cilíndricas carregadas, de comprimento finito L e raio R. O potencial de interação entre dois cilindros é dado por um "centro duro" cilíndrico de diámetro 2R e comprimento L quando existe sobreposição entre os dois cilindros, e por uma parte eletrostática quando não existe sobreposição. A parte eletrostática é obtida somando sobre todos os possíveis pares de interações (n^2) entre sitios individuais (segmentos) em cilindros diferentes. Cada segmento em um cilindro com carga $\frac{Q}{n}$ interage com o outro através de um potencial de Coulomb blindado. Portanto:

$$U(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2) = \frac{(Q/n)^2 \exp(k_D 2R)}{4\pi \epsilon \epsilon_0 (1 + k_D 2R)^2} \sum_{\alpha, \beta = 1}^n \frac{exp(-k_D r_{\alpha\beta})}{r_{\alpha\beta}}, \text{ sem sobreposição}$$

$$U(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2) = \infty, \text{ com sobreposição} \quad (2.83)$$

onde $r_{\alpha\beta}$ é a separação entre o segmento α no cilindro 1 e o segmento β no cilindro 2.

Capítulo 3

Resultados Experimentais

Todos os resultados experimentais deste trabalho e apresentados neste capítulo foram obtidos com equipamentos instalados no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da Universidade de São Paulo. Em continuação serão dados detalhes sobre estes equipamentos, bem como sobre os efeitos instrumentais que sua utilização provoca no resultado experimental. Finalmente serão apresentados os resultados obtidos, sendo explicado o tratamento dos mesmos.

3.1 Difratômetro de Baixo Ângulo

Para o estudo das curvas de espalhamento de raios-X a baixo ângulo foi utilizado um difratômetro de baixo ângulo da Rigaku-Denki, com geometria de colimação de fendas linha. Foi empregado um tubo de raios-X com alvo de cobre, e radiação $CuK\alpha$ (λ = 1.54 Å).

A figura 3.1 apresenta o arranjo normal sem monocromador.

O sistema de colimação, no caso do sistema de alta resolução utilizado em nosso trabalho, compreende o seguinte conjunto de fendas:

 F_1 : fenda de seção transversal fixa (largura u= 0.2 mm e altura h= 10 mm).

 F_2 : fenda de seção transversal fixa (u= 0.1 mm e h= 10 mm). Como o feixe incidente toca

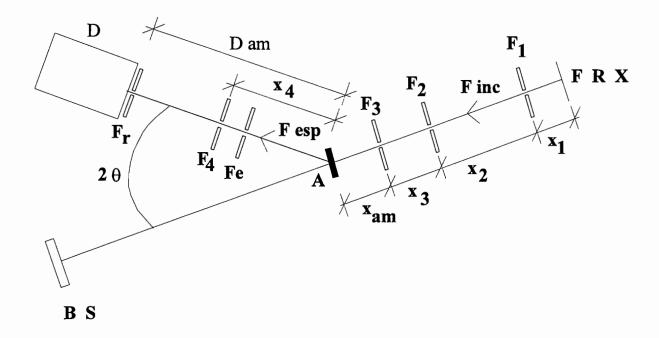


Figura 3.1: arranjo normal em geometria de foco linha sem monocromador. FRX: fonte de raios-X, A: amostra, F inc: feixe incidente na amostra, F esp: feixe espalhado pela amostra, 2θ : ângulo de espalhamento, BS: bloqueador do feixe direto, D: detetor, $x_1 = 28.5$ mm, $x_2 = 239.5$ mm, $x_3 = 60.5$ mm, $x_{am} = 40$ mm, $x_{am} = 350$ mm e $x_4 = 282$ mm. $x_4 = 282$ mm.

as bordas de F2, esta fenda se transforma em uma fonte de espalhamento parasita.

 F_3 : fenda lábios (u variável, h fixa). F_3 elimina o espalhamento parasita ocasionado por F_2 , suas bordas se aproximam mas não tocan o feixe incidente.

 F_e : fenda de espalhamento com seção transversal fixa (u= 0.1 mm e h= 15 mm).

 F_4 : fenda de recepção com seção transversal fixa (u= 0.05 mm e h= 15 mm). O alinhamento de F_4 com F_e é crítico.

 F_r : fenda de recepção do detetor com seção transversal fixa (u= 0.8 mm e h= 15 mm) A distância entre as fendas está indicada na figura 3.1.

No arranjo experimental da figura 3.1 foi montado um monocromador de cristal de grafite

[0002] para monocromatizar o feixe espalhado pela amostra, sobre o braço goniométrico, na frente do detetor. O ângulo de rotação do monocromador correspondente à classe de cristal e à radiação utilizados no nosso trabalho, é 13.28°.

O espalhamento da amostra é medido por um detetor de cintilação, o qual está acoplado a um sistema automático de coleta de dados.

3.2 Efeitos Instrumentais

Devido ao sistema de colimação utilizado na montagem apresentada no item anterior, a seção transversal do feixe primário incidente na amostra é retangular. Isto faz com que a intensidade espalhada medida experimentalmente esteja distorcida.

 $I_0(x,y)$ é a distribuição retangular de intensidades do feixe primário, onde y é a coordenada desde o centro do feixe primário na direção paralela à fenda e x a coordenada perpendicular a y.

No caso em que a distribuição de intensidade ao longo da direção vertical seja semelhante para todos os valores da coordenada horizontal, a função de distribuição do feixe pode ser escrita como o produto de duas distribuições independentes [1]:

$$I_0(x,y) = I_1(x)I_2(y)$$
 (3.1)

onde $I_1(x)$ e $I_2(y)$ são as distribuições do perfil de largura (perfil horizontal) e de altura (perfil vertical), respetivamente, do feixe de raios X incidente.

a) Efeito de largura do feixe.

A figura 3.2.a mostra a seção transversal do feixe primário no plano de registro. A(x,y) é um ponto do feixe primário. As coordenadas deste ponto no plano de registro são:

$$egin{align} rac{\overline{OA_x}}{t} &= tg(2 heta) \sim 2 heta \ x &= rac{4\pi sen heta}{\lambda} \sim rac{4\pi heta}{\lambda} \ A_x &= x &= rac{2\pi}{\lambda} rac{\overline{OA_x}}{t} \ \end{pmatrix} \ (3.2)$$

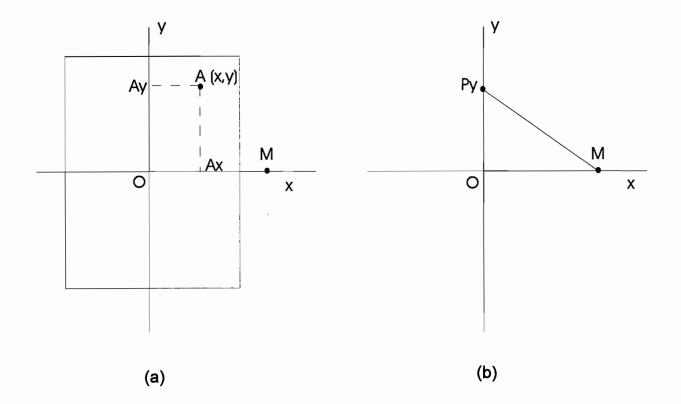


Figura 3.2: (a) projeção do feixe primário no plano de registro: A(x,y) é um ponto do feixe primário. (b) projeção do feixe primário infinitamente estreito e com uma certa altura no plano de registro: P(y) é um ponto do feixe primário. Nas figuras (a) e (b), y é a coordenada desde o centro do feixe primário na direção paralela à fenda e x é a coordenada perpendicular a y; M é o ponto de observação.

$$egin{align} rac{\overline{OA_y}}{t} &= tg(2 heta) \sim 2 heta \ y &= rac{4\pi sen heta}{\lambda} \sim rac{4\pi heta}{\lambda} \ A_y &= y &= rac{2\pi}{\lambda} rac{\overline{OA_y}}{t} \ \end{pmatrix} \ (3.3)$$

onde t é a distância entre a amostra e o plano de registro.

 $J_1(q)$ é a intensidade espalhada que sería medida no ponto de observação M se o feixe incidente fosse infinitamente estreito, com uma distribuição proporcional a $I_2(y)$ na direção

da coordenada y. O efeito da largura do feixe faz com que a intensidade espalhada pela amostra, medida no ponto M, seja:

$$I_m(q) = \int_{-\infty}^{\infty} I_1(x) J_1(q-x) dx = I_1 \star J_1$$
 (3.4)

b) Efeito de altura do feixe.

Uma vez realizada a correção pelo efeito de largura do feixe, vamos assumir que o feixe incidente é infinitamente estreito mas com uma certa altura na direção y. Nestas condições, o gráfico da figura 3.2.a correspondente à seção transversal do feixe primário no plano de registro, deve ser trocado pelo gráfico da figura 3.2.b. A posição do ponto P(y) no feixe direto, agora está definida através de:

$$egin{aligned} \overline{OP_y} \ \overline{t} &= tg(2 heta) \sim 2 heta \ y &= rac{4\pi sen heta}{\lambda} \sim rac{4\pi heta}{\lambda} \ P_y &= y &= rac{2\pi}{\lambda} rac{\overline{OP_y}}{t} \end{aligned}$$
 (3.5)

 $J_2(q)$ é a intensidade de espalhamento da amostra medida no ponto M para um feixe incidente de raio infinitamente pequeno que passasse pelo ponto O. O efeito de altura do feixe faz com que a intensidade espalhada pela amostra medida em M seja:

$$J_1(q) = \int_{-\infty}^{\infty} I_2(y) J_2(\sqrt{q^2 + y^2}) dy = 2 \int_{0}^{\infty} I_2(y) J_2(\sqrt{q^2 + y^2}) dy$$
 (3.6)

já que a função $I_2(y)$ sempre pode-se transformar em uma função par.

As distribuições $I_1(x)$ e $I_2(y)$ foram medidas experimentalmente [52] e estão listadas na tabela 3.1.

3.3 Método Fotográfico de Laue

Foi utilizado o método fotográfico de Laue com geometria de transmissão: um filme sensível a raios-X é colocado posterior a amostra, perpendicularmente ao feixe ponto incidente bem colimado.

A radiação empregada foi $CuK\alpha$ com filtro de Ni e a distância amostra-filme utilizada foi de 10 cm.

Tabela 3.1: perfil de largura e altura do feixe de raios-X incidente na amostra (resultados extraídos da referência [52]).

q	Perfil de largura	\boldsymbol{q}	Perfil de altura
	(direção horizontal)		(direção vertical)
$[\mathring{\mathbf{A}}^{-1}]$	[cps]	$[\mathring{A}^{-1}]$	[cps]
0.0000	26500	0.0000	26500
0.0071	20	0.0388	26500
0.0140	0	0.0777	26500
0.0210	0	0.1165	26500
-	-	0.1341	8000
-	-	0.1553	40
-	-	0.2330	0

3.4 Amostras

3.4.1 Sistema DNA/Água

Foi utilizada uma amostra de Calf Thymus DNA fragmentado, fornecida pelo Departamento de Química Orgânica "A. Mangini" da Universidade de Bolonha, com uma distribuição de pesos moleculares de aproximadamente 120 pares de bases. Isto corresponde a um comprimento médio de fragmento de 408 Å e a um peso molecular de 85000. O alargamento da distribuição de comprimentos é aproximadamente de 20%. A concentração para cada amostra foi calculada como C = [g de DNA/ 1 de solução]. Utilizando como guia o diagrama de fases da referência [5], as soluções foram preparadas no intervalo $10 \text{ g/l} \leq C \leq$

202 g/l, misturando quantidades controladas de DNA fragmentado e água bidestilada deionizada. Cada solução foi deixada a 5° C por um período de 24 horas até alcançar o equilibrio, examinada a temperatura ambiente (22± 1 °C) e novamente guardada a 5° C, para prevenir contaminação bacteriológica. Para proceder a seu exame, cada amostra foi colocada dentro de um capilar de vidro selado, com 1mm de diâmetro interno.

3.4.2 Sistema PLPC/Água

Foi estudada uma amostra de PLPC comercial da Sigma de pureza aproximada de 99 % e peso molecular 495.

As soluções aquosas foram preparadas misturando quantidades controladas de PLPC e água fresca bidestilada. A concentração C de cada amostra foi calculada como a porcentagem da concentração em peso C'=[g de PLPC/ g de solução]. O valor de $[\phi]$ correspondente a cada C está listada na tabela 3.3. Foi estudado o intervalo $5 \le C \le 40$ % w/w de PLPC, baseando-se no diagrama de fases da figura 1.5. As amostras foram deixadas a temperatura ambiente (22 ± 1 °C) até que o equilibrio foi alcançado, examinadas a essa temperatura e depois guardadas a 5°C para prevenir contaminação bacteriológica.

Para seu exame, as amostras com $5 \le C \le 37.5$ % w/w de PLPC foram condicionadas em capilares de vidro selados de 1mm de diâmetro interno. Entretanto, devido a sua excepcionalmente alta viscosidade, a amostra de 40 % w/w de PLPC foi montada em uma cela fechada ao vácuo, entre dois filmes finos de mylar.

3.5 Tratamento dos Dados

Todas as curvas de SAXS foram obtidas com o equipamento apresentado no item 3.1. operando com 40 KV/30 mA. A radiação de espalhamento, J_{obs} , foi corrigida de acordo com a equação:

$$J_{obs} = (J - B_g) - (J_0 - B_g)Tr (3.7)$$

onde J corresponde à radiação medida experimentalmente, J_0 é o espalhamento medido sem amostra (feixe direto), B_g é o ruido eletrônico (proveniente do sistema de adquisição de dados) que resultou ser igual a (0.767 ± 0.022) e Tr é a transmissão da amostra. Os pontos experimentais para ângulos de espalhamento $2\theta < 0.4^{\circ}$ ($q < 0.029 \text{ Å}^{-1}$) foram abandonados devido à forte influência do feixe direto. O erro de cada ponto na curva de SAXS corresponde ao desvio padrão da equação 3.7. A transmissão da amostra foi medida de acordo com a equação (tabelas 3.2-3):

$$Tr = \frac{J_1}{J_{0'}} \tag{3.8}$$

onde J_1 e $J_{0'}$ são, respetivamente, a intensidade transmitida através da amostra e do feixe direto medidas com o sistema operando a 40 KV/10mA, $2\theta = 0$ ° e com um filtro de alumínio de 0.04 mm de espessura colocado na frente do detetor.

Tabela 3.2: valores de transmissão Tr das amostras estudadas do sistema $DNA/\acute{a}gua$ como função da concentração C.

C	Tr		
[g/l]			
10	$0.285{\pm}0.012$		
20	$0.243{\pm}0.009$		
40	$0.244{\pm}0.031$		
60	$0.233{\pm}0.015$		
80	$0.220{\pm}0.002$		
100	$0.221{\pm}0.001$		
145	$0.224{\pm}0.001$		
202	$0.217{\pm}0.007$		

Tabela 3.3: valores de transmissão Tr das amostras estudadas do sistema PLPC /água como função da concentração C e da concentração molar $[\phi]$.

C	$[\phi]$	Tr
[% w/w de PLPC]	[M]	
5	0.10	0.268 ± 0.005
10	0.20	0.256 ± 0.006
15	0.30	0.253 ± 0.006
20	0.40	0.220 ± 0.006
25	0.50	0.294 ± 0.004
30	0.60	0.204 ± 0.005
33	0.66	0.217 ± 0.003
35	0.70	0.236 ± 0.005
37.5	0.75	0.204 ± 0.004

3.6 Apresentação dos Resultados

3.6.1 Sistema DNA/Água

As figuras 3.3-4 apresentam as curvas de SAXS estudadas no intervalo 10 a 202 g/l divididas pela concentração C. O decréscimo da intensidade para baixos ângulos é devido a efeitos crescentes de interferência entre as partículas. Os resultados mostram que a curva de 10 g/l é pouco ou nada influenciada pela interferência. A curva de SAXS para 10 g/l não apresenta nenhuma estrutura; um pico de interferência começa a aparecer na curva de espalhamento para concentrações mais altas se deslocando para ângulos maiores com concentração crescente.

Estas amostras pertencem à fase I: nem as observações por microscópio ótico de luz polarizada como tampouco as curvas de SAXS, demonstraram a formação de dominios líquidos-cristalinos dentro da solução. Strzelecka e Rill [6] encontraram o primeiro indicio de formação de um dominio de fase fracamente birrefringente em co-existência com a fase I para 133 g/l em soluções com baixa concentração de sal para fragmentos de DNA de 500 Å. O comprimento dos nossos fragmentos é mais curto e isto provávelmente aumenta a sua liberdade de rotação para uma concentração determinada, aumentando a concentração para formação da fase anisotrópica. Isto foi confirmado pela observação de pequenos esferulites em co-existência com a fase I pela evaporação da amostra de 202 g/l (figura 3.5). O método de Laue foi utilizado somente para estudar as amostras com $202 \le C \le 80$ g/l, porque não conseguiu medir o espalhamento muito fraco das amostras com as concentrações mais baixas. A figura 3.6 corresponde à fotografia obtida pelo método de Laue para 202 g/l, o halo isotrópico corresponde ao pico de espalhamento da curva de SAXS.

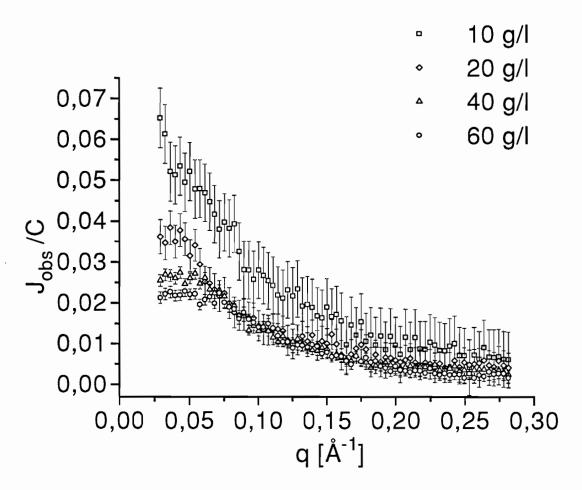


Figura 3.3: curvas de SAXS correspondentes a soluções aquosas semi-diluídas de DNA, normalizadas com respeito a $C\colon 10,\ 20,\ 40\ e\ 60\ g/l.$

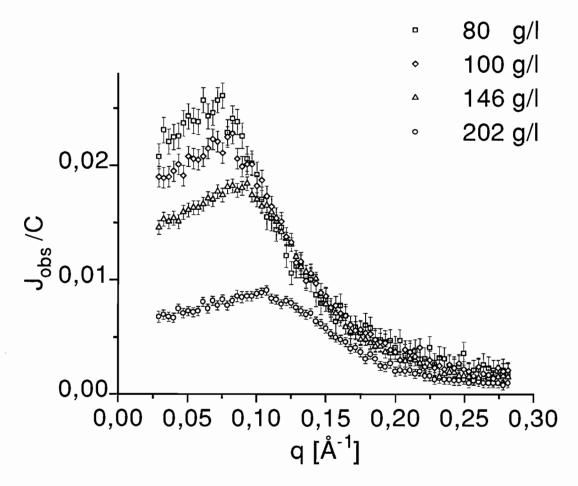


Figura 3.4: curvas de SAXS correspondentes a soluções aquosas semi-diluídas de DNA, normalizadas com respeito a C: 80, 100, 146 e 202 g/l.

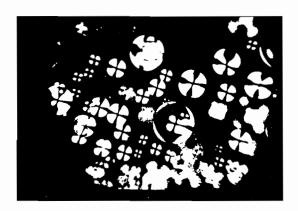


Figura 3.5: pequenos esferulites em co-existência com a fase I obtidos pela evaporação da amostra de 202 g/l, observados por microscópio polarizado.

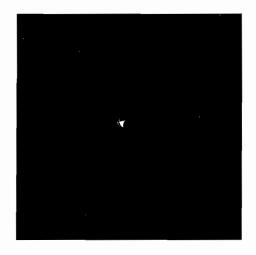


Figura 3.6: fotografia obtida pelo método de Laue correspondente a 202 g/l.

3.6.2 Sistema PLPC/Água

As figuras 3.7-9 apresentam as curvas de SAXS obtidas no intervalo de concentrações $5 \le C \le 37.5 \%$ w/w de PLPC, pertencentes à fase I. Para $C \le 15 \%$ w/w de PLPC (figura 3.7) as curvas de SAXS apresentam um único pico centrado em $s^{-1} = 50 \text{ Å}$ ($s = [q/2\pi]$). Para 20 % w/w de PLPC (figura 3.7) este pico começa a deslocar-se para valores menores de q, aparecendo um segundo pico nos valores mais altos de q para 25 % w/w de PLPC (figura 3.8). Para $C \ge 28 \%$ w/w de PLPC (figuras 3.8-9) os dois picos estão bem definidos.

Foram realizadas medidas pelo método de Laue para $5 \le C \le 37.5 \%$ w/w de PLPC. De acordo com os resultados obtidos nas curvas de SAXS, observou-se somente um pico de espalhamento para $C \le 25 \%$ w/w de PLPC e dois picos bem definidos para $C \ge 28 \%$ w/w de PLPC. A figura 3.10 apresenta a medida obtida pelo método de Laue para 37.5 % w/w de PLPC: os dois halos isotrópicos correspondem aos picos de espalhamento da curva de SAXS.

A amostra de 40 % w/w de PLPC, pertencente à fase Q^{223} , foi estudada somente pela técnica de Laue (figura 3.11-12). Foi possível evitar manchas nos aneis de espalhamento, devidas a eventuais monodominios macroscópicos, utilizando longos tempos de exposição da amostra à radiação (na ordem de 30 horas). Na região de alto ângulo do diagrama de espalhamento mediu-se uma banda difusa perto de $s^{-1} \sim 4.5$ Å, o que indica que a conformação das cadeias hidrocarbonadas é altamente desorganizada, e uma linha fina para $s^{-1} \sim 5.31$ Å devido ao espalhamento das láminas de mylar do porta-amostras. Na região de baixo ângulo mediram-se sete picos de espalhamento os quais, como será discutido no capítulo 8, foram indexados como reflexões da fase Q^{223} . As figuras 3.11-12 são reproduções de uma única fotografia de Laue, para cada uma das quais foi utilizado um contraste diferente com o propósito de enfatizar os diferentes picos de espalhamento.

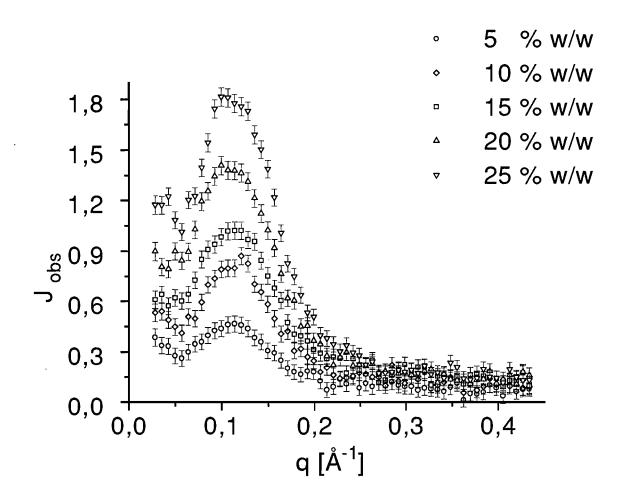


Figura 3.7: curvas de SAXS correspondentes ao sistema PLPC /água: 5, 10, 15, 20 e 25 % w/w de PLPC.

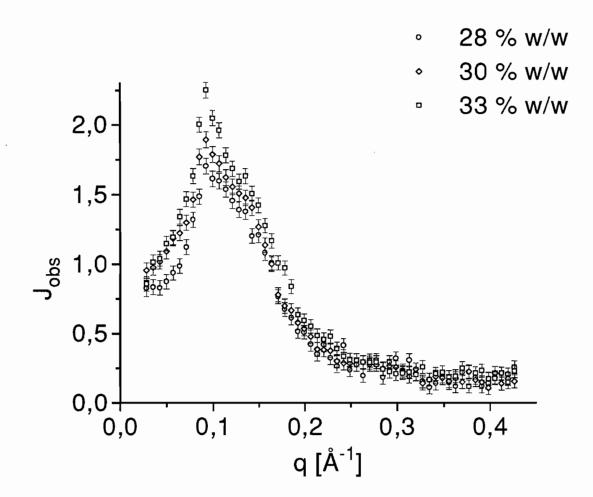


Figura 3.8: curvas de SAXS correspondentes ao sistema PLPC /água: 28, 30 e 33 % w/w de PLPC.

- 35 % w/w
- 37.5 % w/w

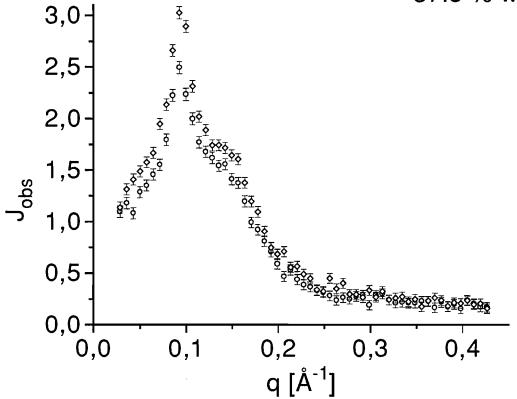


Figura 3.9: curvas de SAXS correspondentes ao sistema PLPC /água: 35 e 37.5 % w/w de PLPC.

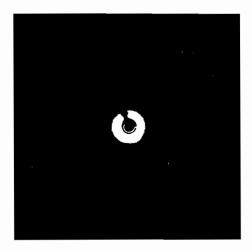


Figura 3.10: fotografia obtida pelo método de Laue correspondente a 37.5 % w/w de PLPC.

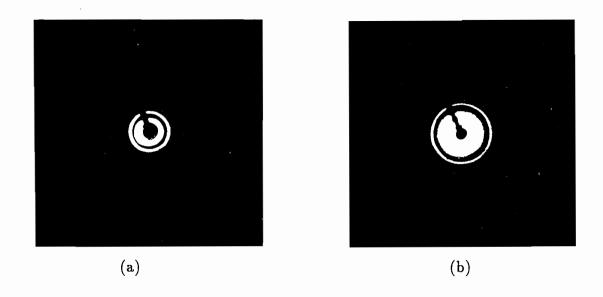


Figura 3.11: reproduções da fotografia obtida pelo método de Laue para 40 % w/w de PLPC utilizando contrastes diferentes com o propósito de enfatizar diferentes reflexões (picos de espalhamento de acordo com a indexação da tabela 8.3): (a) ênfase nos picos s_{211}^{-1} e s_{222}^{-1} muito próximos e intensos e (b) ênfase nos picos s_{400}^{-1} e s_{440}^{-1} .

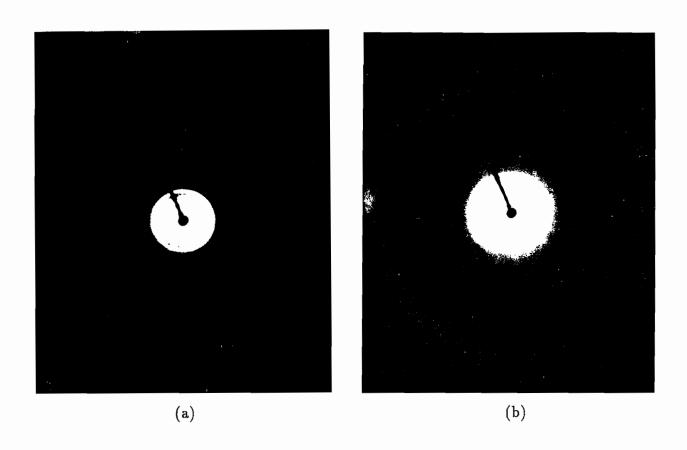


Figura 3.12: reproduções da fotografia obtida pelo método de Laue para 40 % w/w de PLPC utilizando contrastes diferentes com o propósito de enfatizar diferentes reflexões (picos de espalhamento de acordo com a indexação da tabela 8.3): (a) ênfase nos picos s_{444}^{-1} , $s_{811}^{-1} - s_{741}^{-1} - s_{554}^{-1}$ e s_{852}^{-1} e (b) ênfase na banda difusa perto de $s^{-1} \sim 4.5$ Å, relacionada às cadeias hidrocarbonadas, e no pico de espalhamento das láminas de mylar do porta-amostra.

Capítulo 4

Análise de Dados de Espalhamento a Baixo Ângulo de Sistemas Interagentes Utilizando Métodos de Transformação Indireta

Como foi discutido no capítulo 3, as curvas de SAXS coletadas pela montagem de baixo ângulo apresentada na figura 3.1, estão influenciadas pelo efeito do sistema de colimação utilizado. Isto faz com que as medidas experimentais sejam diferentes daquelas que seríam obtidas com as condições ideais, ou seja, com o uso de um feixe ponto incidente. Em conseqüência, a intensidade de espalhamento deve ser corrigida do alargamento experimental.

Até o presente, poucos esquemas de correção para partículas interagentes foram sugeridos para calcular a intensidade corrigida J_{desm} . Strobl [53] desenvolveu uma aproximação aplicável para qualquer distribuição do feixe primário incidente, mas o método é complicado pela necessidade de determinar várias funções intermediárias antes de chegar ao resultado final. Singh e colaboradores [54] sugeriram um outro processo de correção (Método Direto). Este está relacionado ao método de Vonk [55], que pode ser instável quando se trabalha com dados reais, e foi implementado somente para efeito de largura de feixe desprezível. Gla-

tter e Gruber [56] desenvolveram um esquema para correção de efeito de altura e largura do feixe e de policromaticidade (Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco). Este método trabalha bem com dados experimentais e simulados, mas os resultados podem apresentar erros sistemáticos para ângulos muito pequenos.

Por outro lado existe um conjunto de métodos de correção que são somente aplicáveis quando a curva de espalhamento está dominada pelo fator de forma da partícula. Estes métodos trabalham em termos da Transformação Indireta de Fourier (IFT). Este processo calcula a função distribuição de distâncias da partícula p(r), a qual não pode ser definida se a intensidade observada apresenta efeitos de interferência entre as partículas. Os métodos de Glatter [57] (Método de Transformação Indireta), Moore [58], Svergun e colaboradores (programa GNOM) [59] e Hansen e Skov Pedersen [60] (método de Entropía Máxima) estão entre os procedimentos que realizam IFT de dados de SAS que encontraram maior número de aplicações práticas. No caso de partículas cilíndricas, os métodos IFT fornecem a função distribuição de distâncias da seção transversal, $p_c(r)$.

Neste capítulo serão estudadas soluções aquosas de DNA fragmentado no regime I semidiluído até as proximidades da transição I — Ch mostrando-se como é que os métodos de Transformação Indireta são utilizados na análise das correspondentes curvas de SAXS quando as interações entre as partículas estão presentes ou não na curva experimental.

O método de Transformação Indireta foi utilizado no nosso trabalho para calcular $p_c(r)$ para a concentração mais baixa, tanto como para obter J_{desm} , já que, como será demonstrado no item 4.3, os efeitos de interferência não são pronunciados na curva de SAXS. Entretanto, o método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco foi usado para calcular J_{desm} para as concentrações mais altas.

Será dado em continuação um resumo sobre o formalismo destes dois métodos.

4.1 Descrição do Método de Transformação Indireta

A relação entre a intensidade espalhada, e a função p(r) está dada por uma transformada de Fourier, de acordo com a equação 2.24. Chamaremos a esta transformação T_1 .

A intensidade medida experimentalmente pode estar afetada por efeitos de policromaticidade, no caso de ter sido medida com radiação policromática. Nesse caso, a intensidade medida experimentalmente $J_m(q)$ está ligada à intensidade teórica I(q) de espalhamento de radiação monocromática de comprimento de onda λ_0 , através de [1-2]:

$$J_m(q) = \int_0^\infty W(\lambda') I(\frac{q}{\lambda'}) d\lambda' \tag{4.1}$$

onde $\lambda' = \frac{\lambda}{\lambda_0}$ e $W(\lambda')$ é a distribuição de radiação policromada. Chamaremos à equação 4.1 transformação T_2 .

Os efeitos do perfil do feixe sobre a intensidade medida experimentalmente correspondem às equações 3.4 e 3.6, e nos referiremos a estas como transformações T_4 e T_3 respectivamente. Expressando à intensidade teórica I(q) através da equação 2.24, as correções pelos efeitos relacionados às transformações $T_2 - T_4$, podem ser expressos em uma única fórmula. Nesse caso, a intensidade observada J_m , está dada por [2]:

$$J_m(q) = \left[8\pi \int_{-\infty}^{\infty} dx \int_0^{\infty} dy \int_0^{\infty} d\lambda' \int_0^{\infty} dr I_1(x) I_2(y) W(\lambda') p(r) \frac{sen\beta}{\beta}\right]$$
(4.2)

onde

$$\beta = \frac{r[(q-x)^2 + y^2]^{\frac{1}{2}}}{\lambda'} \tag{4.3}$$

O método de Transformação Indireta é utilizado para resolver a equação integral 4.2. Começa-se a partir da hipótese de que um valor máximo de D pode ser estimado. Chamando a este valor máximo estimado como D_m , a função p(r) é aproximada, no intervalo $0 \ge r \ge D_m$, por uma combinação linear de N_b funções b-splines $\varphi_{\nu}(r)$ [57]:

$$p(r) = \sum_{\nu=1}^{N_b} c_{\nu} \varphi_{\nu}(r) \tag{4.4}$$

onde os coeficentes c_{ν} são desconhecidos.

As funções transformadas por T₁, representam intensidades sem efeitos de colimação:

$$\gamma_{\nu}(q) = T_1 \varphi_{\nu}(r) \tag{4.5}$$

As intensidades afetadas pelo alargamento instrumental são dadas por :

$$\chi_{\nu}(q) = T_4 T_3 T_2 T_1 \varphi_{\nu}(r) \tag{4.6}$$

Os coeficientes c_{ν} são determinados através da condição de estabilidade:

$$(L' + \lambda N_{c'}) = \min_{i \in \mathcal{N}}$$
 (4.7)

onde

$$N_{c'} = \sum_{\nu=1}^{N_b-1} (c_{\nu+1} - c_{\nu})^2 \tag{4.8}$$

e L' é o desvio médio por ponto experimental:

$$L' = \sum_{i=1}^{M_{exp}} [J_m(q_i) - \sum_{\nu=1}^{N_b} c_{\nu} \chi_{\nu}(q_i)]^2 / \sigma^2(q_i)$$
 (4.9)

onde M_{exp} é o número de pontos experimentais e $\sigma(q_i)$ é o erro estimado do ponto experimental i-ésimo.

O multiplicador de Lagrange λ , na equação 4.7, permite estabelecer quando é que $N_{c'}$ ou L' estão preferencialmente minimizadas. A solução correspondente à λ_{opt} , determinado pelo método do ponto de inflexão [57, 61] que está detalhado no apêndice B, é escolhida como a correta. Portanto, os coeficentes c_{ν} resultantes da equação 4.7 com o uso de λ_{opt} , definem a solução no espaço real de acordo com a equação 4.4, enquanto a curva aproximada à curva experimental é dada por:

$$J_{sm}(q) = \sum_{\nu=1}^{N_b} c_{\nu} \chi_{\nu}(q) \tag{4.10}$$

e a curva corrigida do alargamento experimental é definida pela equação:

$$J_{desm}(q) = \sum_{\nu=1}^{N_b} c_{\nu} \gamma_{\nu}(q) \tag{4.11}$$

No caso de partículas com simetria cilíndrica, o método de Transformação Indireta oferece uma maneira particularmente conveniente de calcular a função $p_c(r)$ a partir dos dados experimentais, simplesmente substituindo a equação 2.31 pela transformação T_1 [45].

4.2 Descrição do Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco

O pre-requisito essencial para o método de Transformação Indireta é uma função limitada em um intervalo do espaço real, representada por p(r). Para sistemas parcialmente ordenados, em geral não existe este limite, e uma outra aproximação deve ser utilizada.

Portanto, o cálculo começa no espaço recíproco. Se começa pela aproximação da curva corrigida por uma combinação linear de N_b funções b-splines φ_k [56]:

$$J_{desm}(q) = \sum_{k=1}^{N_b} c_k \varphi_k(q)$$
(4.12)

onde os coeficentes c_k são desconhecidos.

Os efeitos de alargamento instrumental expressos pelas transformações T_2 - T_4 , são aplicados sobre cada função φ_k em particular, para obter a intensidade afetada pelo alargamento instrumental ψ_k :

$$\psi_k(q) = 2 \int_0^\infty d\lambda' \int_{-\infty}^\infty dx \int_0^\infty dy W(\lambda') I_1(x) I_2(y) \varphi_k(\frac{[(q-x)^2 + y^2]^{\frac{1}{2}}}{\lambda'})$$
(4.13)

E a soma

$$J_{sm}(q) = \sum_{k=1}^{N_b} c_k \psi_k(q)$$
 (4.14)

aproxima à curva experimental.

Se não existem picos estreitos na curva de espalhamento, os coeficentes c_k são achados pela condição de estabilidade 4.7 onde agora L' está dado por:

$$L' = \sum_{i=1}^{M_{exp}} [J_m(q_i) - \sum_{k=1}^{N_b} c_k \psi_k(q_i)]^2 / \sigma^2(q_i)$$
(4.15)

e a solução correta é selecionada pelo método do ponto de inflexão [57, 61].

4.3 Resultados e Discussão

As figuras 3.3-4 apresentam as curvas de SAXS divididas pela concentração.

Como o pico de interferência está fora do intervalo de q medido, a curva de espalhamento de 10 g/l está dominada pelo fator de forma da partícula. Portanto, o programa do Método de Transformação Indireta (ITP) [57] e o programa do Método de Transformação Indireta no Espaço Recíproco (ITR) [56] foram utilizados para realizar a correção da curva experimental J_{obs} do efeito de largura e altura de fenda. É essencial mencionar que a rotina para partículas cilíndricas foi utilizada para todos os cálculos realizados com ITP [45].

A figura 4.1 apresenta a curva de SAXS para 10 g/l junto a J_{desm} e J_{sm} calculadas utilizando os programas ITP e ITR. $N_b = 15$ funções b-spline foram utilizadas para o cálculo com ITP e $N_b = 30$ funções b-spline foram utilizadas para o cálculo com ITR, para obter uma descrição suficientemente detalhada de J_{desm} . Para os dois cálculos, a solução mais estável foi escolhida de acordo com o método do ponto de inflexão [57, 61]. As tabelas e os gráficos de estabilidade encontram-se no apêndice B, a tabela e o gráfico B1 correspondem ao cálculo com ITP enquanto que a tabela B3 e o gráfico B5-a correspondem ao cálculo com ITR.

O método ITR começa o seu cálculo no espaço recíproco. Em consequência, isto tem a vantagem de que, dentro do erro experimental, J_{sm} parece ajustar-se melhor a J_{obs} do que o método ITP. Mas, isto pode produzir oscilações artificiais em J_{sm} que ficam mais pronunciadas em J_{desm} , derivando em um pico de interferência que pode ser na verdade devido a oscilações de ruido.

O método ITP foi utilizado para calcular a função $p_c(r)$ para 10 g/l. Foi necessário medir pontos até q=0.065 Å⁻¹ para obter uma boa resolução nos nossos resultados. Na tabela de estabilidade correspondente (tabela B1, apêndice B), o valor de L' resultou ser quase constante a partir de $\log \lambda = 1$ até 7.5. Neste intervalo o seu valor permaneceu mais baixo do que o valor ideal da unidade, devido a uma superestimação dos erros dos dados experimentais [61]. $\log N_{c'}$ resultou ser quase constante a partir de $\log \lambda = 6.5$ até $\log \lambda = 8$. De acordo com o método do ponto de inflexão [57, 61], foi selecionado o valor de $\log \lambda = 7$. A figura 4.2 mostra a função $p_c(r)$ obtida: um fundo extra e pontos para q < 0.039 Å⁻¹ foram desprezados para evitar efeitos de fundo e de concentração, e não se observa evidência de alguma inomogeneidade na distribuição de densidade de carga na seção transversal do cilindro.

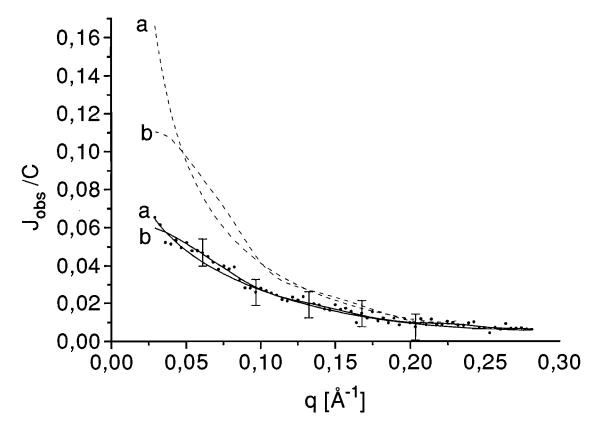


Figura 4.1: (•) curva de SAXS para 10 g/l: (-) curva suavizada, J_{sm} (--) curva corrigida do alargamento experimental, J_{desm} : (a) resultados utilizando o programa ITP; (b) resultados utilizando o programa ITR. Para simplificar o gráfico, as barras de erro estimadas estão mostradas somente para cada 10° ponto.

 $p_c(r)$ desvía-se levemente de zero para r=0 Å devido ao alto valor do erro, espalhamento do fundo ou resolução limitada; mas se anula para $r=D_{max}=(21.7\pm0.3)$ Å e fornece um valor de $R_c=7.9$ Å, em bom acordo com a forma B do DNA (o valor de R_c para o DNA na forma B é $R_c=20$ Å/ $[2\sqrt{2}]=7.1$ Å; tal que 20 Å é a espessura da dupla hélice). O erro em D_{max} está dado como a diferença com o valor que é obtido quando o número de pontos no espaço real NR utilizados para calcular $p_c(r)$ é escolhido igual ao seu valor limite (ou seja NR=161; programa ITP-92) alcançando-se portanto a melhor resolução possível. Em efeito, a expressão analítica de $p_c(r)$ para um cilindro homogêneo circular infinito com seção

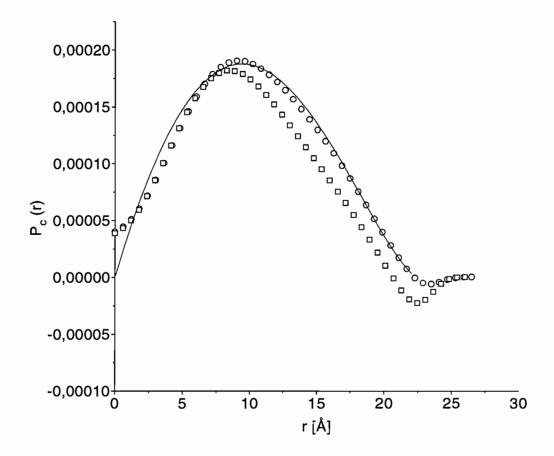


Figura 4.2: comparação da função $p_c(r)$ para (\circ) 10 ($\log \lambda_{opt} = 7$) e (\square) 20 g/l ($\log \lambda_{opt} = 7.5$); (-) função $p_c(r)$ teórica correspondente a um cilindro homogêneo circular infinito com raio R [62]: $p_c(r) = constante[arccos(r/2R - (r/2R)(1 - (r/2R)^2)]$ calculada para 2R = 22 Å.

transversal de raio R, dada por Porod [62]:

$$p_c(r) = \text{constante}\left[\arccos\frac{r}{2R} - \frac{r}{2R}(1 - \frac{r}{2R}^2)\right]$$
 (4.16)

fornece um bom acordo com a $p_c(r)$ calculada para 2R=22 Å (figura 4.2). Pelo contrário, R_c apresenta uma variação no quarto decimal para NR=161, e portanto este erro não foi considerado por não ser significativo aos efeitos da nossa análise.

A diferença entre os resultados para valores pequenos de q para J_{desm} e J_{sm} calculados pelos métodos de ITP e ITR para a curva de 10 g/l é devida à rotina especial para partículas cilíndricas usada no ITP. Mas, de qualquer jeito, os resultados referentes a $p_c(r)$ confirmam

que os efeitos de interferência são desprezíveis nessa curva de SAXS e portanto indicam que o pico obtido em J_{desm} com o programa ITR é devido na verdade a oscilações de ruido experimental. Conclui-se portanto que para a concentração mais baixa (10 g/l), ITP fornece a melhor solução possível, ja que carrega a informação sobre a forma da partícula.

Também foi calculada a $p_c(r)$ para 20 g/l (figura 4.2) com ITP [57]. O número de funções b-splines utilizadas foi $N_b = 15$. Como para 10 g/l, foi necessário medir pontos até q = 0.065 Å⁻¹ para atingir uma boa resolução nos nossos resultados. Na tabela de estabilidade (tabela B1, apêndice B), L' resultou ser practicamente constante a partir de $\log \lambda = 4$ até $\log \lambda = 8.5$. $\log N_{c'}$ permaneceu estável a partir de $\log \lambda = 7$ até $\log \lambda = 8$. O valor de λ_{opt} foi escolhido para $\lambda_{opt} = 7.5$. Como já foi discutido, um valor de L' constante e menor do que a unidade foi observado, o que pode estar relacionado a uma superestimação dos erros dos dados experimentais [61].

Um fundo extra foi substraído para evitar o seu efeito na função $p_c(r)$. Para chegar a uma boa p(r) foi necessário desprezar pontos com q < 0.083 Å⁻¹, onde o pico de interferência é mais pronunciado. De qualquer jeito, os efeitos de interferência estão ainda presentes como é mostrado pela oscilação negativa no final desta função [61].

A partir da figura 4.2 é claro que a interseção com a abscissa está deslocada para valores maiores de r com respeito a $p_c(r)$ para 10 g/l e a posição do mínimo de $p_c(r)$ para 20 g/l quase coincide com igual valor do que D_{max} para 10 g/l. O desvio em r=0 Å pode ser novamente atribuído à vários fatores tais como o alto valor do erro nessa distância, ou espalhamento de fundo ou a resolução limitada. Deve ser sublinhado que não foi possível obter J_{desm} para 20 g/l pelo programa ITP devido aos pontos desprezados para valores de q muito pequenos.

Os erros propagados das funções $p_c(r)$, tanto para 10 como para 20 g/l, foram da ordem de 10^{-4} . Este valor excessivamente alto mostra que na verdade estão superestimados e portanto foram omitidos da figura 4.2. A superestimação do desvio padrão dos nossos dados está demonstrada pelo baixo valor de L' nas tabelas de estabilidade: isto contribui, em parte para aumentar o valor do erro de $p_c(r)$. Mas, na verdade foi demonstrado que o ITP por si mesmo superestima os erros devido a sua determinação através da matriz covariante [63]. O método de Svergun e colaboradores implementado no programa GNOM fornece uma p(r)

em bom acordo com aquela do ITP, mas com barras de erros mais reduzidas já que são calculadas pelo método de Monte Carlo [63].

Como o método ITP não é mais apropriado, utilizamos o programa ITR [56] para corrigir as curvas de 20 até 202 g/l dos efeitos de altura e de largura das fendas. Para cada concentração, $N_b = 30$ funções b-spline foram utilizadas para realizar o cálculo.

Cada solução estável foi escolhida de acordo com método do ponto de inflexão [57, 61] com a ajuda da tabela e do gráfico de estabilidade correspondente (tabelas B3-B6 e gráfico B5, apêndice B). Na tabela de estabilidade para 60 g/l foi observado somente um ponto de inflexão no intervalo de L' constante mas, nas tabelas das concentrações restantes, foram observados vários pontos de inflexão no intervalo de L' constante e λ_{opt} foi escolhido para 2 a d (log $N_{c'}$)= mínimo, de acordo com o estabelecido pelo método para desvios do comportamento padrão [61]. A figura 4.3 mostra as curvas de SAXS junto às curvas de J_{desm} e J_{sm} correspondentes às soluções mais estáveis.

Foi observado depois de vários testes, que não existe dificuldade em corrigir o pico, indicando a posição mais provável de distância entre as partículas em uma curva de SAXS utilizando o programa ITR. Mas, como foi previamente mencionado, podem acontecer erros sistemáticos para ângulos muito pequenos em J_{desm} [56].

Observamos na figura 4.3, quando o pico não está ainda definido na curva de SAXS, que J_{desm} tende a um plateau para valores muito pequenos de q. Este comportamento é o produto de erros sistemáticos no processo de correção e não está relacionado a nenhum significado físico.

Deve ser finalmente ressaltado que são observadas oscilações artificias geradas pelo algoritmo do processo de correção no final das curvas da figura 4.3. Para evitar estas flutuações, pontos com q > 0.157 Å⁻¹ para 20 até 60 g/l e com q > 0.199 Å⁻¹ para 80 até 202 g/l serão abandonados na posterior utilização destas curvas.

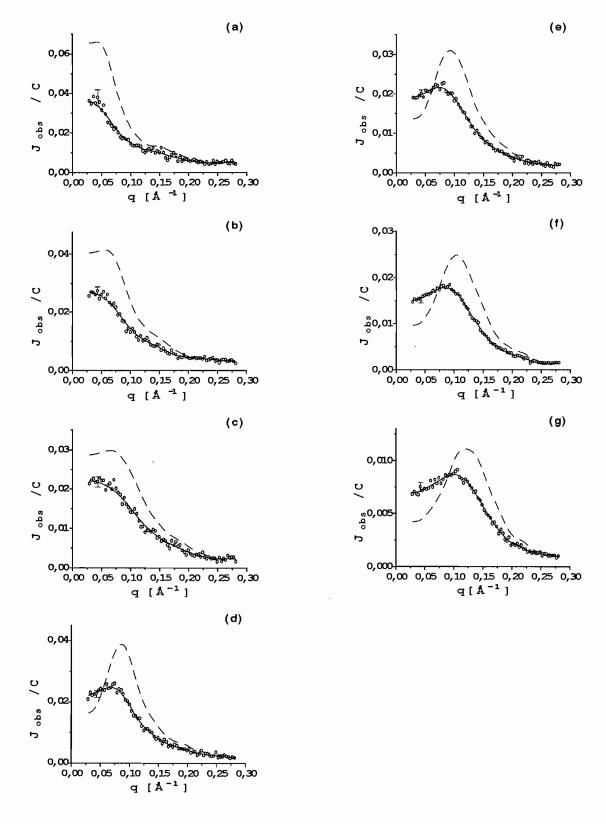


Figura 4.3: (o) curva de SAXS; (-) curva suavizada, J_{sm} ; (- -) curva corrigida aproximada, J_{desm} : (a) 20, (b) 40, (c) 60, (d) 80, (e) 100, (f) 146 e (g) 202 g/l. Para simplificar o gráfico, as barras de erro estimadas estão mostradas somente para cada 10° ponto.

Capítulo 5

Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo do DNA Fragmentado: Fatores de Forma e de Interferência

No capítulo 4 foi determinada uma espessura de 21.7 Å para a dupla hélice dos fragmentos de DNA. Isto faz com que, no contexto da teoría de SAXS, o fragmento de DNA possa ser aproximado por um "cilindro infinito" uma vez que $\frac{L}{2R} = 408$ Å/21.7 Å= 18.8 (a condição para cilindros infinitos é perdida no intervalo $\frac{L}{2R} \leq 12$). Alias, este "cilindro infinito" pode ser aproximado como rígido pois o comprimento de um fragmento de DNA de 120 pares de bases corresponde aproximadamente ao seu comprimento de persistência e portanto é usualmente descrito como rígido [16].

Uma solução isotrópica semi-diluída de tais fragmentos, corresponde a um sistema de partículas interagentes.

Se a curva de SAXS não apresenta efeitos de interferência entre as partículas, a intensidade de espalhamento obedece à equação 2.20. Considerando as aproximações especificadas no primeiro parágrafo, o fator de forma dos fragmentos está dado pela equação 2.49. A expressão da equação 2.20, pode então ser modelada na curva de SAXS, permitindo que o raio do cilindro seja o parâmetro livre. Aos efeitos de trabalhar com dados experimentais,

 $I_{p'}$ deve ser substituída por uma constante que incluia n_p bem como efeitos instrumentais.

Para ângulos de espalhamento muito pequenos, $F_c^2(q)$ na equação 2.49 satisfaz a lei de Guinier (previamente discutida no item 2.1.1 para o caso geral) [2]:

$$\lim_{q \to 0} F_c^2(q) = A^2 (\Delta \varrho)^2 e^{-\frac{q^2 R_c^2}{2}}$$
 (5.1)

e o valor de R_c pode ser obtido através do gráfico de $\log[F_c^2(q)]$ vs q^2 (gráfico de Guinier).

No caso da curva de SAXS apresentar efeitos de interação entre as partículas, a intensidade espalhada obedece à equação 2.9. Na introdução e no item 2.2.3, já foi mencionado que não existe uma expressão analítica que permita modelar S(q) na curva de espalhamento. Entretanto, S(q) pode ser derivada experimentalmente dividindo I(q) na equação 2.9 pelo fator de forma previamente calculado.

Este capítulo está focalizado na obtenção do fator de forma do DNA fragmentado e da função de interferência do sistema como função da concentração, relacionados ao conjunto de amostras estudadas no capítulo 4. Será seguida a metodología acima explicada e neste processo serão utilizados parte dos resultados obtidos no capítulo 4.

5.1 Fator de Forma da Partícula

As interações entre as partículas estão presentes em todo o intervalo de concentrações estudado, e não é possível obter P(q) a partir de $J_{obs}(q)$ já que $S(q) \neq 1$. De todas maneiras, o pico de interferência para a concentração mais baixa está fora do intervalo de q medido (figura 3.3), e portanto a aproximação S(q)=1 pode ser testada nesse intervalo.

No capítulo anterior foi obtida a função $p_c(r)$ para 10 g/l. A figura 5.1 apresenta o gráfico de Guinier da curva de espalhamento J_{desm} para 10 g/l, obtida pelo programa İTP e apresentada na figura 4.1.

Este gráfico fornece um valor de $R_c = (8.4 \pm 0.4)$ Å, em acordo com resultados previos achados por este método [64]. Este valor é mais inexato e difere em 6% do calculado a partir do análise da $p_c(r)$, mas a diferença está dentro do erro experimental.

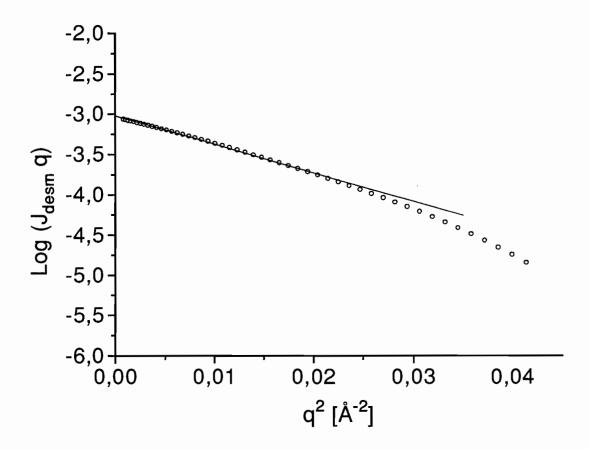


Figura 5.1: gráfico de Guinier para 10 g/l.

A dupla hélice de DNA foi modelada como um "cilindro infinito" na curva de espalhamento para 10 g/l, utilizando o fator de forma da equação 2.49 convoluído com o efeito de altura do feixe. O raio da seção transversal foi escolhido como o parâmetro livre, e a melhor modelagem foi conseguida para R=10.84 Å (figura 5.2), dentro do erro do valor obtido pela análise de $p_c(r)$. Para modelar a intensidade espalhada foi utilizado um código computacional desenvolvido e instalado no sistema VAX 6330 do IFUSP [52].

Os resultados da modelagem da curva de espalhamento para 10 g/l demonstram que evidentemente os fragmentos de DNA estão presentes na solução como "cilindros infinitos", devido a que $\frac{L}{2R} = 408 \text{ Å}/[10.84 \times 2] \text{ Å} = 18.8.$

O procedimento utilizado nos dados relacionados à concentração mais baixa para obter o fator de forma da partícula, derivou em bons resultados. O fator básico que permite esta

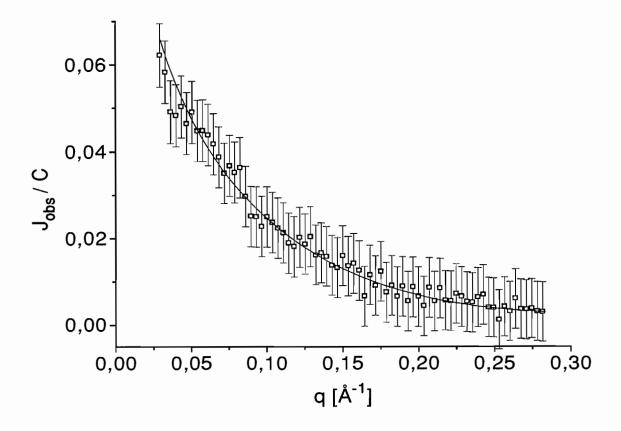


Figura 5.2: (\square) curva de SAXS para 10 g/l: (-) P(q) de acordo com a equação 2.49 convoluido com o efeito de altura de fenda (para realizar a modelagem foi retirado o espalhamento do solvente da curva experimental).

aproximação é a não-existência de efeitos de interferência no intervalo de q medido, junto a cuidadosas técnicas de correção da curva de SAXS do efeito do perfil do feixe incidente.

5.2 Função de Interferência

No capítulo 4, o método ITR foi utilizado para corrigir as curvas de SAXS dos efeitos de altura e largura do feixe para $C \ge 20$ g/l, quando começam a aparecer os efeitos de interferência nas curvas medidas.

As curvas resultantes corrigidas já foram apresentadas na figura 4.3. A posição do pico de interferência s_0^{-1} $(q_m=2\pi s_0)$ foi medido a partir de todas as curvas corrigidas

de SAXS e para as concentrações mais altas também foi medido a partir da técnica de Laue (figura 3.6). Os valores de s_0^{-1} estão listados na tabela 5.1 e são ajustados por:

$$s_0^{-1} = (587 \pm 72)C^{-(0.46 \pm 0.03)} \tag{5.2}$$

Como era de esperar-se, a relação $s_0^{-1} \propto C^{-\frac{1}{2}}$ é válida na equação 5.2 dentro do erro experimental.

Tabela 5.1: valores da posição do pico de interferência e valores dos parâmetros obtidos modelando o primeiro pico na curva S(q) experimental utilizando uma função gaussiana.^a

C	$[\mathbf{s}_0^{-1}]_L$	$[\mathbf{s}_0^{-1}]_{dec}$	$\overline{s_0^{-1}}$	$[\mathbf{s}_0]_g^{-1}$	$[eta]_g$
[g/l]	[Å]	[Å]	[Å]	[Å]	$[\mathring{A}^{-1}]$
20	**	145 ± 10	**	110	0.052
40	**	109 ± 6	**	82	0.064
60	**	92 ± 4	**	69	0.089
80	76 ± 2	73 ± 3	75 ± 3	63	0.068
100	67 ± 2	70 ± 2	68 ± 2	55	0.085
146	57 ± 1	61 ± 2	59 ± 2	48	0.092
202	50 ± 2	52 ± 1	51 ± 2	41	0.101

^a Os valores correspondem a: concentração da amostra C, posição do pico de interferência medido pelo método de Laue $[\mathbf{s}_0^{-1}]_L$, posição do pico de interferência corrigido do efeito do perfil do feixe $[\mathbf{s}_0^{-1}]_{dec}$, valor médio $\overline{\mathbf{s}_0^{-1}}$, posição do pico da função gaussiana $[\mathbf{s}_0]_g^{-1}$ e largura na altura média da função gaussiana $[\beta]_g$.

Resultados com igual expoente foram sido observados experimentalmente para soluções de DNA de 500 Å no regime semi-diluído utilizando técnica de SAXS [16] e na transição I \rightarrow Ch e na fase Ch usando SANS [9], demonstrando que este comportamento persiste através da transição de fase e dentro da fase Ch. Um único e largo pico de interferência com o comportamento $s_0^{-1} \propto C^{-\frac{1}{2}}$ foi também observado a baixos ângulos para a curva de espalhamento de soluções sem sal de vários polieletrólitos no regime semi-diluído [18,20].

A figura 5.3 mostra a curva $q_m L_p$ como função de $\frac{C}{C^*}$, que ajustou resultados previos de DNA e de outros sistemas de cilindros [16,18,20,27-28]:

$$q_m L_p = 7.00 \left(\frac{C}{C^*}\right)^{\frac{1}{2}} \tag{5.3}$$

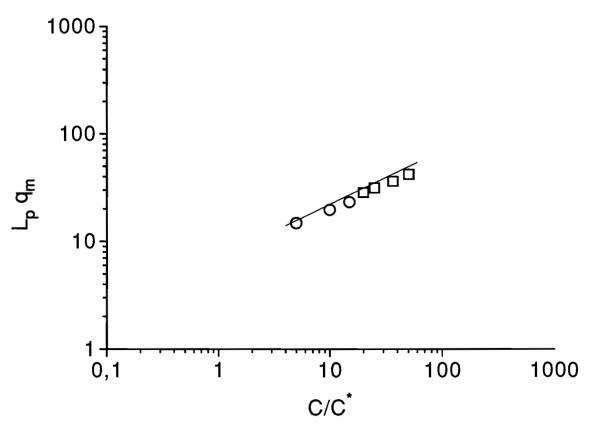


Figura 5.3: posição do pico de espalhamento, s_0^{-1} , como função da concentração C: (\circ) valores $[s_0^{-1}]_{dec}$; (\square) valores médios entre $[s_0^{-1}]_L$ e $[s_0^{-1}]_{dec}$, (-) equação de ajuste 5.3.

Um acordo razoável entre os nosso dados e a curva universal é obtido utilizando $L_p=340$ Å (100 pares de bases) como valor efetivo para a distribuição dispersa de comprimentos de cilindros. Este valor é usado para obter nossos valores $q_m L_p$, apresentados na figura 5.3. Com este valor de L_p , a concentração crítica da nossa amostra é $C^* = \frac{2.544 \times 10^{20} \text{fragmentos de DNA}}{l} \sim 4 \text{ g/l}$, e o nosso intervalo de concentrações é 2.5 $C^* \geq C \geq 50.5$ C^* .

No intervalo de concentrações 20-202 g/l, S(q) foi experimentalmente obtido, dividindo J_{desm} , normalizado em relação a C, pelo fator de forma modelado para 10 g/l. Como foi mencionado no final do capítulo 4, pontos com q > 0.157 Å⁻¹ para 20-60 g/l e com q > 0.199Å⁻¹ para 80-202 g/l não foram usados para calcular S(q) devido a flutuações em J_{desm} . A figura 5.4 amostra as funções S(q) derivadas.

Funções gaussianas e lorentzianas foram testadas para modelar os picos de S(q), de acordo com as equações:

$$S(q) \propto exp[-2.77(\frac{q - 2\pi[s_0]_g}{[\beta]_q})^2]$$
 (5.4)

para a forma gaussiana, onde $[\beta]_g$ e $[s_0]_g$ são os valores na altura média e a posição do pico da curva gaussiana, e para a forma lorentziana:

$$S(q) \propto \frac{1}{4[\beta]_{Lo}^{-2}(q - 2\pi[s_0]_{Lo})^2 + 1}$$
 (5.5)

onde $[\beta]_{Lo}$ e $[s_0]_{Lo}$ são os valores na altura média e a posição do pico da curva lorentziana.

Para concentrações mais altas, uma melhor modelagem da parte interna da curva foi atingida utilizando funções gaussianas, como se mostra na figura 5.4 para a curva de S(q) para 80-202 g/l. Isto não foi observado entre 20-60 g/l porque pontos com $q < 0.029 \text{ Å}^{-1}$ foram abandonados devido a forte influência do feixe direto, e a informação para estes ângulos tão baixos onde este efeito é observado, foi perdida.

A modelagem do primeiro pico dos fatores de estrutura experimentais com funções gaussianas e lorentzianas está graficada junto as curvas S(q) correspondentes na figura 5.4. A tabela 5.1 também lista os valores dos parâmetros obtidos a partir desta modelagem. Os valores $[s_0^{-1}]_g$ também apresentam uma depêndencia com a concentração com um expoente $\frac{1}{2}$ dentro do erro experimental.

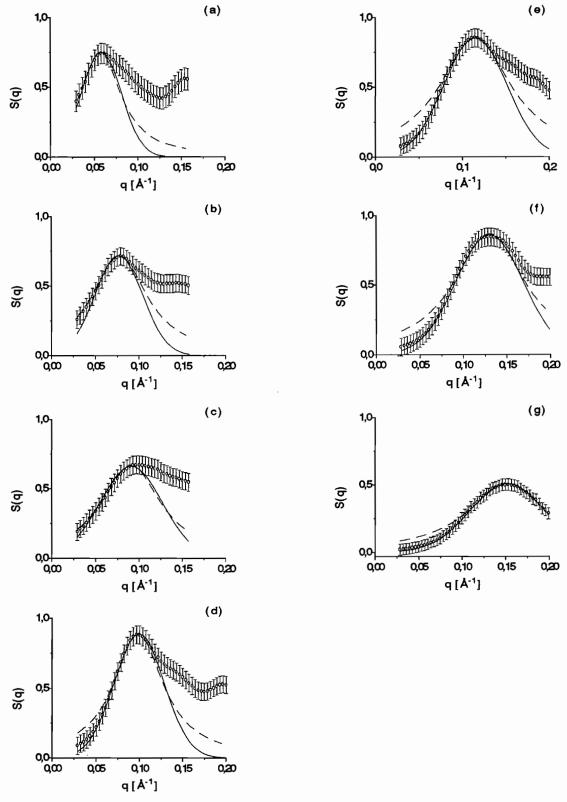


Figura 5.4: $[\circ]$ fator de estrutura experimental S(q), $[\cdot]$ modelagem obtido com a função gaussiana da equação 5.4 (os parâmetros da modelagem estão listados na tabela 5.1), $[\cdot \cdot]$ modelagem com a função lorentziana da equação 5.5: (a) 20, (b) 40, (c) 60, (d) 80, (e) 100, (f) 146 e (g) 202 g/l.

Deve ser mencionado que, embora os valores de $[\beta]_g$ aumentam progressivamente com C na tabela 5.1, o valor para 60 g/l está fora desta seqüência. É importante discutir aqui porque que isto aconteceu.

Foi discutido no capítulo 4 que para valores muito pequenos de q, as curvas J_{desm} da figura 4.3 tendem a um plateau que é o produto de erros sistemáticos no processo ITR. Este plateau derivou em um pico de interferência mais largo do esperado para 60 g/l. Mas não influenciou notávelmente os picos de interferência para 20 e 40 g/l devido ao alto valor do fator de forma da partícula nos ângulos muito baixos onde este efeito é observado em J_{desm} . Deve ser notado que J_{desm} para 60 g/l tem aproximadamente igual queda do que o fator de forma para $0.1 \text{ Å}^{-1} < q < 0.125 \text{ }^{-1}$, e isto também contribui para que o fator de estrutura seja mais largo do que o esperado para esta concentração em particular.

No referente ao pico de interferência para 20 g/l, é mais pronunciado até $q \sim 0.083 \text{ Å}^{-1}$, exatamente na região que foi necessário desprezar para chegar a uma boa função $p_c(r)$. Isto confirma a consistência do método ITR na análise de efeitos de interferência em curvas de SAS.

5.3 Discussão

Compararemos agora nossas curvas de S(q) com dados obtidos tanto experimental como teóricamente para soluções semi-diluídas de partículas cilíndricas.

O pico principal das curvas de S(q) se alarga com concentração crescente, como pode ser inferido a partir dos parâmetros das funções gaussianas que ajustam estas curvas, listados na tabela 5.1. Um alargamento com concentração crescente foi também observado utilizando espalhamento de luz estático, para o vírus fd ($L_p = 8800 \text{ Å}, 2R = 60 \text{ Å}, C^* = 0.04 \text{ g/l}$) [18].

Canessa e colaboradores [27] calcularam simulações de Monte Carlo para soluções de polieletrólitos carregados modelados de acordo com o vírus mosaico do tabaco (TMV, L_p = 3000 Å, 2R= 18 Å, C^* = 2.45 g/l) com $0.05C^* \ge C \ge 4$ C^* , utilizando o potencial da equação 2.83 para descrever as interações entre as partículas.

Uma análise dos resultados obtidos para S(q) por Canessa e colaboradores demonstraram que a posição do pico varía como $C^{-\frac{1}{3}}$ no regime diluído. No regime semi-diluído, os resultados de Monte Carlo apresentam um desvio que obedece o comportamento $C^{-\frac{1}{2}}$. Entretanto, os resultados por teoría de perturbações permanecem com o comportamento $C^{-\frac{1}{3}}$.

Os resultados de Monte Carlo demonstraram que o desvio de $C^{-\frac{1}{3}}$ é devido à depêndencia da interação com o comprimento do cilindro; o efeito das correlações angulares torna necessário levar em conta harmonicos esféricos mais altos na função de correlação de pares, que começam a contribuir significativamente para $C \geq C^*$ e não estão presentes na aproximação de perturbações.

Os dados da figura 5.5 foram extraídos da referência [27] e correspondem ao fator de estrutura de Monte Carlo graficado como função de qL_p no regime semi-diluído $(\frac{C}{C^*}=4)$.

Existe uma forte semelhança entre os nossos resultados para $5 \le \frac{C}{C^*} \le 50.5$ (figura 5.4) e os resultados de Monte Carlo para $\frac{C}{C^*} = 4$ (figura 5.5): um único e não completamente bem definido pico de interferência é observado na curva de S(q), e a modelagem da parte interna desta curva utilizando uma função gaussiana é melhor que aquela utilizando uma lorentziana. Chegamos a iguais resultados testando funções gaussianas e lorentzianas para modelar o pico de interferência nas curvas experimentais de S(q) para soluções semi-diluídas de vírus fd.

Para todos estes casos, a forma gaussiana do fator de estrutura assegura que a função de correlação não tem um simples decaimento exponencial com o aumento da distância média entre os cilindros, de acordo com o potencial utilizado para descrever as interações entre as partículas nas simulações de Monte Carlo, discutido no item 2.2.3.

Para ter uma maneira de comparar os dados obtidos para S(q) relacionados a diferentes comprimento de cilindros e a diferentes concentrações, foi procurado um gráfico mais universal. A figura 5.6 apresenta a depêndencia de $L_p[\beta]_g$ com $\frac{C}{C^*}$ para os nossos resultados de DNA e para o vírus fd na região semi-diluída, bem como o ajuste com expoente $\frac{1}{2}$:

$$L_p[\beta]_g = (5.6 \pm 0.7)(\frac{C}{C^*})^{\frac{1}{2}}$$
(5.6)

A partir das equações 5.3 e 5.6, é possível obter uma relação direta entre $[\beta]_g$ e q_m ,

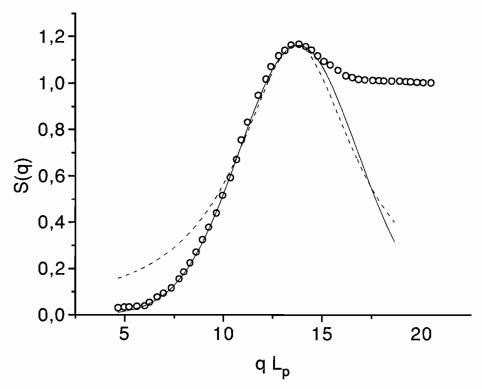


Figura 5.5: $[\circ]$ fator de estrutura teórico de simulações de Monte Carlo realizadas para uma solução aquosa do vírus mosaico do tabaco ($\frac{C}{C^*}$ = 4, L_p = 3000 Å, 2R = 180 Å; dados extraídos da referência [27]): $[\cdot]$ modelagem com a função gaussiana da equação 5.4, $[\cdot]$ modelagem com a função lorentziana da equação 5.5.

independente de L_p e da concentração, válida no regime semi-diluído:

$$[\beta]_g = (0.8 \pm 0.2)q_m \tag{5.7}$$

Vamos definir o alcance de correlação l, fazendo-se uma analogia com o caso no qual S(q) é ajustada por uma função lorentziana ($l=2\pi/[\beta]_{Lo}$). Temos então:

$$l = 2\pi/[\beta]_g \tag{5.8}$$

Utilizando a equação 5.7 na 5.8 temos:

$$l = (1.3 \pm 0.2)s_0^{-1} \tag{5.9}$$

Este resultado estabelece que a correlação difere levemente de primeiros vizinhos, mas não alcança totalmente segundos vizinhos. É também claro que o alargamento do pico de interação com a concentração é um resultado direto da depêndencia da posição do pico com $C^{-\frac{1}{2}}$ e não de alguma mudança no grau da ordem com a concentração.

A figura 5.6 também apresenta uma leve tendência de desvio para um alargamento menor com concentração crescente. Isto podería indicar um aumento no grau da ordem de curto alcance perto da transição de fase I \rightarrow Ch, mas a disperssão em $[\beta]_g$ nas concentrações menores é muito grande para chegar-se a alguma conclusão com respeito a este ponto.

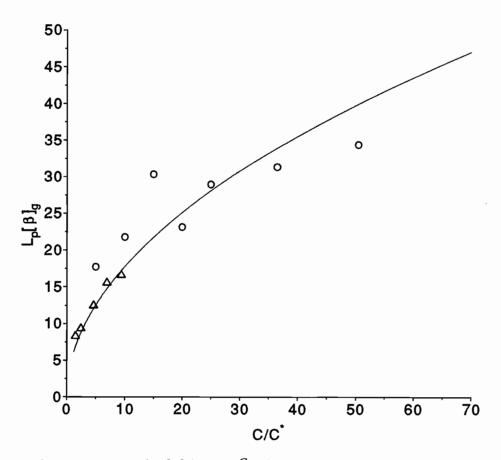


Figura 5.6: dependência de $(L_p[\beta]_g)$ com $\frac{C}{C^*}$: (\circ) DNA e (\triangle) vírus fd; (-) equação de ajuste 5.6.

Capítulo 6

Estudo da Ordem de Curto Alcance no Regime Semi-diluído

Ao longo deste trabalho, foram citados vários estudos experimentais focalizados na obtenção da função S(q) de soluções aquosas livres de sal de polieletrólitos de simetria cilíndrica [16-20]. Também foram mencionados trabalhos que utilizam o método de Monte Carlo para obter a função S(q) destes sistemas [26-27].

Um resultado comum a todos estes trabalhos, é a observação de um pico largo, para valores muito pequenos de q, na função S(q) [16-20,26-27] (figuras 5.4-5).

Na fase I, a estrutura da solução depende da força iônica da solução e da carga superficial do polieletrólito na solução, através das modificações que as variações destes fatores ocasionan sobre o pico de S(q).

O conceito de estrutura para uma solução de polieletrólitos envolve as distâncias médias entre os objetos e o alcance de correlação. Neste capítulo estudaremos a ordem de curto alcance no regime semi-diluído como função da força iônica da solução e da carga superficial dos polieletrólitos na solução. Pretende-se neste processo estender a comparação feita com o vírus fd no capítulo 5, para outros resultados da literatura.

No nosso estudo vamos nos restringir a variações de força iônica muito pequenas, relacionadas somente à contribuição dos contra-íons para soluções livres de sal. Estas variações não provocam uma alteração apreciável da posição do pico de S(q), q_m [16-18,27-28].

Na nossa análise utilizaremos dados relacionados ao DNA fragmentado ($L_p = 340$ Å), vírus fd ($L_p = 8800$ Å) e vírus TMV ($L_p = 3000$ Å) cujas cargas totais superficiais são 202 \bar{e} [3], ~ 10000 \bar{e} [65] e ~ 1000 \bar{e} [65] respetivamente.

6.1 Resultados

Serão utilizadas as funções de interferência correspondentes a seis conjuntos de resultados teóricos e experimentais.

Na tabela 6.1 se especifica o nome dado a cada conjunto de resultados, as amostras sobre as quais estes resultados foram obtidos, o regime destas amostras e a classe de resultado (teórico ou experimental).

As funções de interferência dos conjuntos AM6 e AM7 foram calculadas pelo método de Monte Carlo, utilizando o potencial da equação 2.83 para descrever as interações entre os polieletrólitos. Neste potencial, o valor da força iônica da solução, definido como:

$$I = 1/2 \sum \psi_i Z_i^2 \tag{6.1}$$

está contido em k_D (equação 2.70), enquanto que o valor da carga do polieletrólito na solução, está dado por Q.

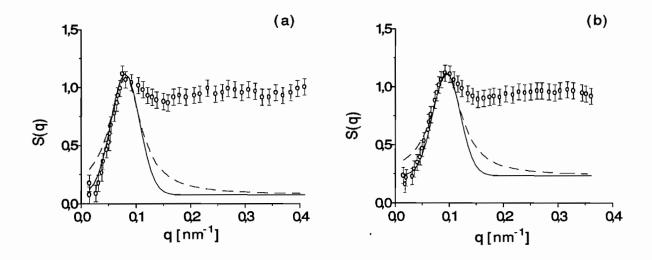
O primeiro pico das funções de interferência dos conjuntos AM1-AM7 foi modelado com formas gaussianas e lorentzianas, de acordo com as equações 5.4 e 5.5. As modelagems correspondentes a AM1 foram apresentadas na figura 5.4. As figuras 6.1-6.6 apresentam as modelagems correspondentes a AM2-AM7: a qualidade da modelagem para valores muito pequenos de q concorda com o discutido no item 5.2.

Os valores de $[\beta]_g$ obtidos na modelagem de S(q) refentes a AM1 correspondem à tabela 5.1, e os referentes a AM2-AM7 estão listados na tabela 6.2. Estes valores, multiplicados por L_p , são mostrados na figura 6.7 como função de $\frac{C}{C^*}$.

Tabela 6.1: nome dos conjuntos de resultados utilizados neste capítulo, sistema aos quais correspondem estes conjuntos, regime do sistema e classe de resultado.^a

Conjunto	Sistema	Regime do sistema	Classe de resultado
AM1	DNA/água	Semi-diluído	Experimental
			(este trabalho)
AM2	vírus TMV/água	Semi-diluído	Experimental [20]
AM3	vírus fd/água	Semi-diluído	Experimental [18]
AM4	vírus fd/água/	Semi-diluído	Experimental [18, 28]
	/resina de intercambio de íons		
AM5	vírus TMV/água/	Diluído	Experimental [17]
	/resina de intercambio de íons		
AM6	vírus fd/água/	Diluído/Semi-diluído	Teórico [28]
	/resina de intercambio de íons		
AM7	vírus TMV/água/	Diluído/Semi-diluído	Teórico [27]
	/resina de intercambio de íons		

^a O conjunto AM1 compreende às funções de interferência da figura 5.4. O conjunto AM3 compreende às funções de interferência utilizadas para realizar o gráfico da figura 5.6.



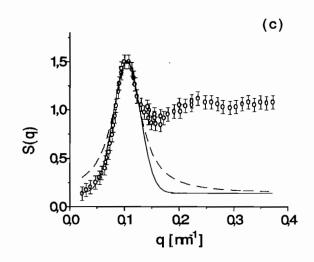


Figura 6.1: conjunto AM2: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (--) modelagem com função lorentziana: (a) 14.3, (b) 21.8 e (c) 26.7 g/l.

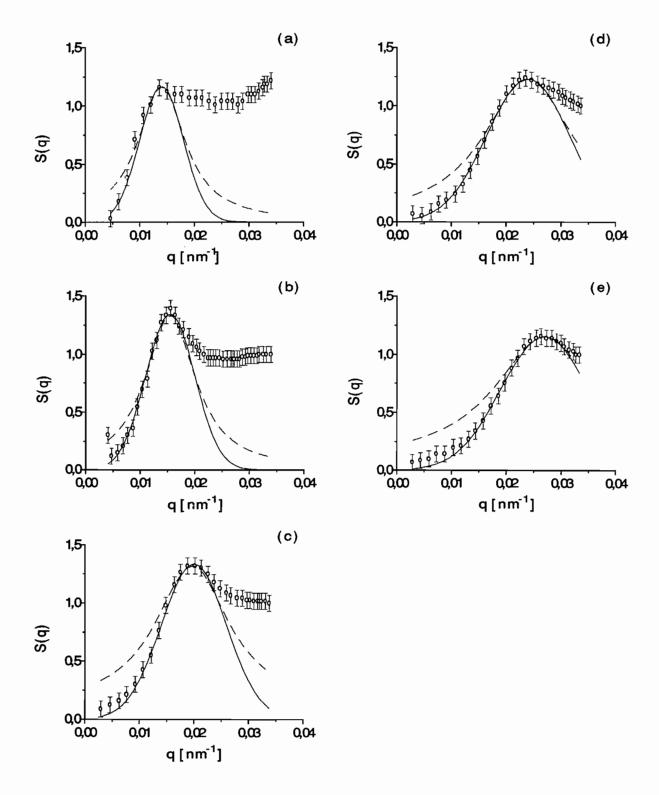


Figura 6.2: conjunto AM3: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (- -) modelagem com função lorentziana: (a) 0.059, (b) 0.097, (c) 0.184, (d) 0.275 e (e) 0.375 g/l.

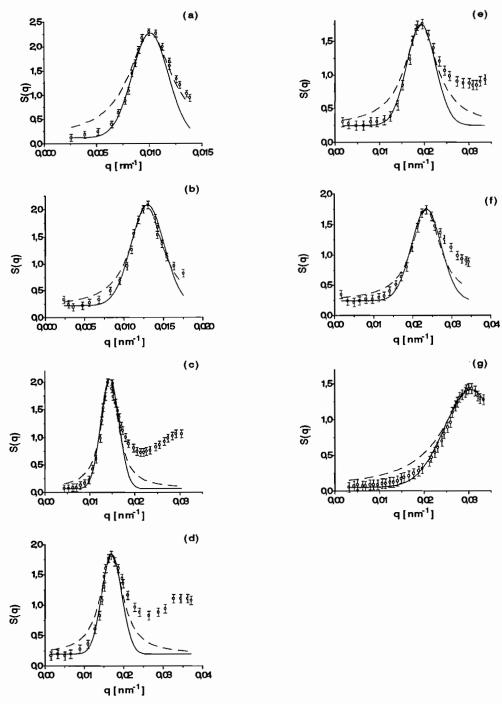


Figura 6.3: conjunto AM4: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (- -) modelagem com função lorentziana: (a) 0.051, (b) 0.091, (c) 0.128, (d) 0.163, (e) 0.238, (f) 0.33 e (g) 0.564 g/l.

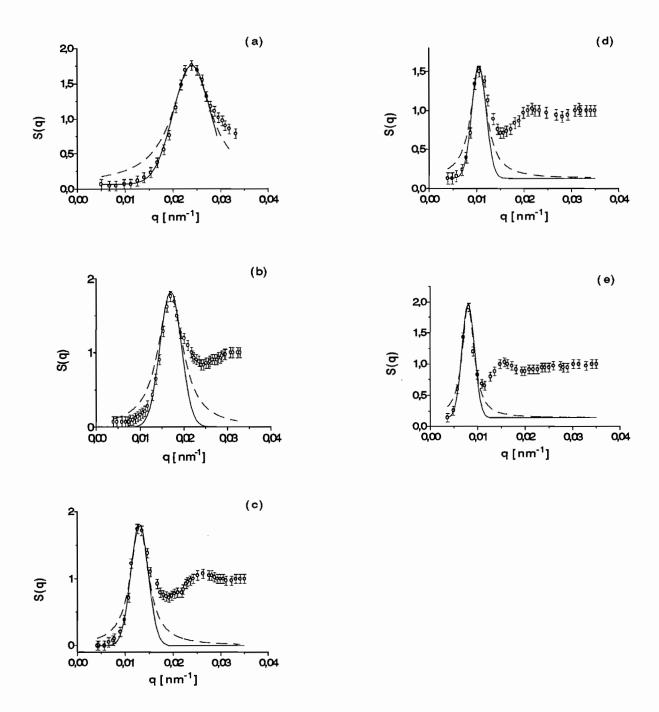
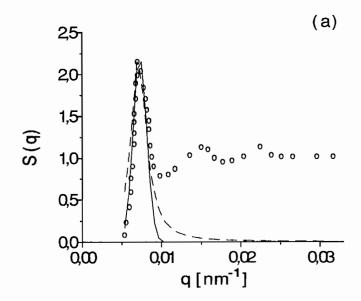


Figura 6.4: conjunto AM5: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (--) modelagem com função lorentziana: (a) 0.11, (b) 0.27, (c) 0.43, (d) 1.05 e (e) 2.07 g/l.



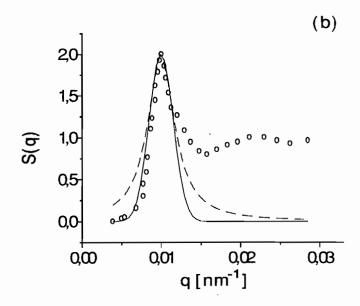
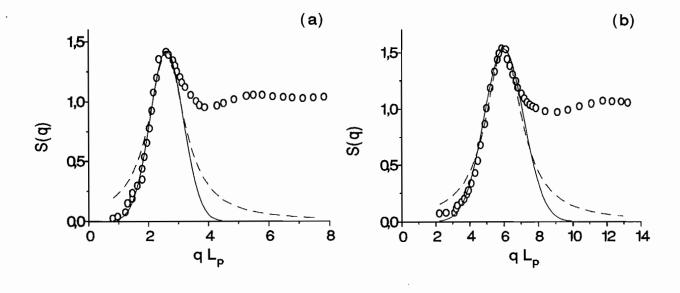


Figura 6.5: conjunto AM6: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (--) modelagem com função lorentziana: (a) 0.0208 e (b) 0.0604 g/l.



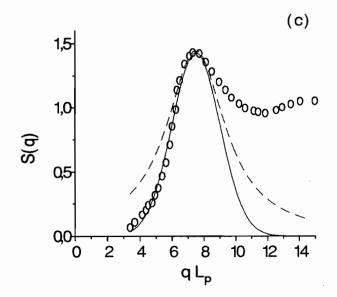


Figura 6.6: conjunto AM7: (\circ) função de interferência S(q), (-) modelagem com função gaussiana, (--) modelagem com função lorentziana: (a) 0.1225, (b) 1.225 e (c) 2.45 g/l (os resultados para 9.8 g/l correspondem à figura 5.5).

Tabela 6.2: valores dos parâmetros obtidos modelando o primeiro pico de S(q) dos conjuntos AM2-AM7 utilizando a função gaussiana da equação 5.4: concentração da amostra C, concentração crítica C^* , fração $\frac{C}{C^*}$, largura na altura média da função gaussiana $[\beta]_g$ (a unidade $[nm^{-1}]$ facilita a observação dos ajustes apresentados nas figuras 6.1-6.6) e comprimento do polieletrólito L_p .

	C [g/1]	C* [g/1]	C/C*	$[eta]_g$ [1/nm]	L_p [λ]
	14.3		5.84	0.0683	
AM2	21.8	2.45	8.898	0.0706	3 000
	26.7		10.898	0.0542	
	0.059		1.475	0.0094	
	0.097		2.425	0.0106	
AM3	0.184	0.04	4.6	0.0141	8800
	0.275		6.875	0.0177	
	0.375		9.375	0.0188	
	0.051		1.275	0.0040	
	0.091		2.275	0.0049	
AM4	0.128		3.2	0.0047	
	0.163	0.04	4.075	0.0059	8800
	0.238		5.95	0.0075	
	0.33		8.25	0.0089	
	0.564		14.1	0.0141	
	0.11		0.045	0.0031	
	0.27		0.11	0.0035	
AM5	0.43	2.45	0.176	0.0042	3000
	1.05		0.428	0.0052	
	2.07		0.8448	0.0094	
AM6	0.0208	0.04	0.52	0.0024	8800
	0.0604		1.51	0.0047	
	0.1225		0.05	0.0043	_
AM7	1.225	2.45	0.5	0.0086	3000
	2.45		1	0.0118	
	9.8		4	0.0236	

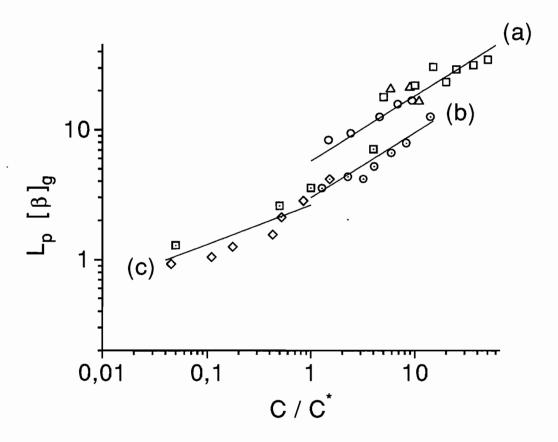


Figura 6.7: depêndencia de $([\beta]_g L_p)$ com $\frac{C}{C^*}$. Dados obtidos pela modelagem das curvas de interferência S(q) dos diferentes conjuntos de amostras: (\Box) AM1, (\triangle) AM2, (\circ) AM3, (\odot) AM4, (\diamond) AM5, (\diamond) AM6 e (\boxdot) AM7. Ajustes fornecidos pela equação 6.2.: (a) $A=(5.7\pm0.7), x=1/2$; (b) $A=(2.9\pm0.1), x=1/2$ e (c) $A=(2.7\pm0.5), x=1/3$.

6.2 Discussão dos Resultados

No caso de partículas cilíndricas, $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$ depende da posição dos centros de gravidade e das orientações das partículas (equação 2.15). Nas curvas de SAS, a mudança da dependência de q_m com a concentração de $C^{\frac{1}{3}}$ para $C^{\frac{1}{2}}$ quando o regime transita do diluído para o semi-diluído, é uma evidência experimental da influência da forma dos cilindros na interação entre os polieletrólitos. Isto foi explicado através de cálculos de Monte Carlo como devido a uma maior significância, no regime semi-diluído do que no diluído, das correlações angulares na expansão de $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$ em invariantes rotacionais [27-28].

Os nossos resultados mostraram que a dependência de $[\beta]_g$ com C é semelhante à observada para q_m . A partir do gráfico 6.7, é possível inferir que $[\beta]_g$ depende também de algum outro parâmetro além de C. Duas curvas de expoente $\frac{1}{2}$ ajustam os nossos resultados no regime semi-diluído, e outra curva de expoente $\frac{1}{3}$ ajusta os nossos resultados no regime diluído, de forma que este comportamento pode ser resumido em uma fórmula geral:

$$L_p[\beta]_g = A(\frac{C}{C^*})^x \tag{6.2}$$

onde os valores de A e x correspondentes a cada ajuste, estão listados na tabela 6.3 (em particular, o coeficente da equação 6.2 que ajusta os dados AM1-AM3 coincide dentro do erro com o coeficente da equação 5.6 que ajustou os dados AM1-AM2).

Existe uma tendência dos resultados teóricos (AM6 e AM7) darem valores superiores aos experimentais para baixas forças iônicas. Entretanto, esta tendência não tem significado absoluto em função dos erros envolvidos.

Como foi mencionado anteriormente, as variações de força iônica entre os conjuntos AM1-AM7, não provoca uma alteração apreciável de q_m . Podemos então reescrever a equação 5.3, que ajusta os valores de q_m para AM1-AM4 e AM6-AM7 no regime semi-diluído:

$$q_m L_p = 7.00 \left(\frac{C}{C^*}\right)^{\frac{1}{2}} \tag{6.3}$$

Entretanto, os valores de q_m para AM5-AM7, são ajustados no regime diluído por [16-18,20,27-28]:

$$q_m L_p = 6.9 \left(\frac{C}{C^*}\right)^{\frac{1}{3}} \tag{6.4}$$

É possível então obter-se o alcance de correlação, como feito no capítulo 5. A partir da equação 6.2, calculada para A=2.9 e x=1/2, e da equação 6.3 obtem-se (tabela 6.3):

$$l = (2.4 \pm 0.1)s_0^{-1} \tag{6.5}$$

entretanto, a equação 6.2, calculada para A=2.7 e x=1/3, e a equação 6.4 fornecem (tabela 6.3):

$$l = (2.6 \pm 0.5)s_0^{-1} \tag{6.6}$$

O valor de l obtido a partir da equação 6.2, calculada para A=5.7 e x=1/2, e da equação 6.3, coincide dentro do erro com o l calculado no capítulo 5 (equação 5.9). O número de vizinhos próximos associado aos valores do alcance de correlação obtidos estão mostrados na tabela 6.3.

Como $[\beta]_g$ está associado à ordem local do sistema, e esta ordem por sua vez depende de I e de \mathbb{Q} , estes últimos serão escolhidos como os parâmetros relevantes da nossa análise e como instrumentos para explicar o significado físico dos resultados da tabela 6.3.

Tabela 6.3: dados relacionados ao ajuste da equação 6.2: conjunto de dados que ajusta, coeficente da equação A, expoente da equação x, força iônica estimada das soluções do conjunto de dados I, valor da carga superficial do polieletrólito na solução Q e número de vizinhos próximos (a notação O(X) faz referência á ordem da magnitude da quantidade X).

Conjunto	A	\boldsymbol{x}	I	Q	nro. de vizinhos próximos
			[M]	[e]	
AM1-AM3	(5.7 ± 0.7)	1/2	$\sim (10^{-3} \text{-} 10^{-2})$	O (10)	$(1.2 \pm 0.2~)$
AM4, AM6-AM7	(2.9 ± 0.1)	1/2	$\sim (10^{-5} \text{-} 10^{-7})$	O (100)	(2.4 ± 0.1)
AM5-AM7	(2.7 ± 0.5)	1/3	$\sim (10^{-5} \text{-} 10^{-7})$	O (100)	(2.6 ± 0.5)

6.2.1 Estimativa do Valor da Força Iônica das Soluções e do Valor da Carga Superficial dos Polieletrólitos na Solução

Como os parâmetros relevantes da nossa análise são I e Q, é portanto necessário estabelecer os seus valores para cada um dos conjuntos de amostras apresentados na tabela 6.1.

a) Conjunto AM1.

Em uma solução aquosa de polieletrólitos cilíndricos carregados, a acumulação dos contraíons perto da superfície das partículas resulta em um fenómeno chamado "condensação
da carga" [16, 21]. A consequência desta condensação é que os contra-íons condensados
neutralizam as unidades equivalentes dos grupos da superfície do polieletrólito, de forma
tal que este último pode ser tratado como se tivese uma carga efetiva menor. A teoría de
condensação é um modelo que divide os contra-íons em dois grupos: uma fração está "ligada"
ao polieletrólito e o resto permanece livre, formando uma nuvem de Debye-Hückel ao redor
do polieletrólito.

De acordo com esta teoría, quando em uma solução de polieletrólitos cilíndricos carregados com contra-ions monovalentes é válida a relação:

$$ZL_B > 1 (6.7)$$

onde Z= [carga do polieletrólito/ L_p] e $L_B=$ 7.1 Å [16], uma fração (1- $\frac{1}{ZL_B}$) da carga do polieletrólito está neutralizada pelos contra-íons "ligados" (ou condensados) e uma fração $\frac{1}{ZL_B}$ do contra-íons permanece livre na solução.

A partir deste resultado é possível calcular o número de contra-ions não condensados presentes na solução e a sua contribuição à força iônica da mesma através da equação 6.1.

A força iônica das soluções do conjunto AM1 será calculada como a resultante da contribuição dos contra-íons Na⁺ do DNA presentes na solução pelo efeito de "condensação carga".

Para o DNA fragmentado de 340 Å de comprimento, $ZL_B=4.19$ ($Z=202 \ \overline{e}/340 \ Å=0.59 \ \overline{e}/Å$). Então, 76 % da carga de cada fragmento de DNA é neutralizada pelos contra-íons Na⁺ condensados. A fração dos contra-íons não condensados (24 %), contribuem à força iônica da solução.

A tabela 6.4 lista para cada concentração o valor da força iônica da solução devido à contribuição dos contra-íons Na⁺ não condensados, calculada pela equação 6.1. Conclui-se, a partir da tabela 6.4 que I está no intervalo:

$$I \sim (10^{-3} - 10^{-2})$$
M (6.8)

Sendo que 24% da carga do DNA não neutralizada pelos contra-íons de Na $^+$, representam um valor de Q= 48 \overline{e} .

Tabela 6.4: força iônica das amostras AM1: concentração da amostra C, força iônica da solução I calculada segundo a equação 6.1.

6	C [g/l]	20	40	60	80	100	146	202
	<i>I</i> [M]	$5,65.10^{-3}$	$1,13.10^{-2}$	$1,69.10^{-2}$	$2,\!25.10^{-2}$	$2,82.10^{-2}$	$4,12.10^{-2}$	$5,71.10^{-2}$

b) Conjuntos AM2-AM7.

Os vírus TMV e fd têm na sua superfície grupos carboxila ionizáveis, os quais produzem na solução aquosa os grupos H₃O⁺ que são aos contra-íons destes polieletrólitos [65]. Devido à distância entre os grupos ionizáveis, o fenómeno de "condensação da carga" não tem lugar [65]. Ao invés disto, o grau de dissociação dos contra-íons depende do pH da solução e por isso não é possível conhecer com precisão a carga efetiva de cada vírus.

Para manter a força iónica da solução no seu mínimo valor, usualmente se adiciona resina de intercambio de ions às soluções aquosas destes vírus. A função da resina consiste em remover todas as impurezas da solução. Nestas condições, foi estabelecido que a dissociação dos contra-íons deriva em um valor de Q da ordem de umas poucas centenas de \bar{e} para concentrações próximas a C^* [65]. Se não se adiciona a resina de intercambio de ions, a força iônica da solução está aumentada pela absorção de CO_2 durante a preparação da amostra. Apesar de que a contribuição do CO_2 à força iônica da solução é extremadamente baixa, neutraliza parte da carga superficial dos polieletrólitos [65].

A manifestação experimental disto é um marcado afinamento da função S(q), para um valor de C determinado, quando é adicionada a resina de intercambio de ions à solução [65].

De acordo com o estabelecido acima, o valor de Q para os conjuntos AM4-AM5 (tabela 6.3) foi estimado na literatura como da ordem de centenas de \overline{e} . O valor da força iônica, devida na sua totalidade aos contra-íons dissociados, foi estimado como $I \sim 10^{-6}$ M [17-18,28].

Nos cálculos de Monte Carlo dos conjuntos AM6-AM7, a força iônica da solução foi calculada através da equação 6.1 como devida somente aos contra-íons dissociados dos polieletrólitos [27-28]. Ou seja, para um valor de C determinado, existe uma correspondência unívoca entre Q e I: a concentração de contra-íons dissociados determinam o valor de I, e esta concentração de contra-íons dissociados depende por sua vez de C e Q.

No conjunto AM6 utilizou-se um valor de Q= 408 \overline{e} para 0.0208 g/l , o que corresponde a $I\sim 10^{-7}$ M. Para 0.0604 g/l empregou-se Q= 360 \overline{e} , o que corresponde a $I\sim 10^{-6}$ M [28].

No conjunto AM7 utilizou-se um valor de Q= 150 \overline{e} [27]: isto corresponde a $I\sim 10^{-7}$ M para 0.1225 g/l, a $I\sim 10^{-6}$ M para 0.225 e 2.45 g/l e a $I\sim 10^{-5}$ M para 9.8 g/l .

Os resultados para AM4-AM7 são ajustados pela equação 6.2 tal que A=2.9 e x=1/2 no regime semi-diluído e tal que A=2.7 e x=1/3 no regime diluído.

Pode inferir-se (tabela 6.3) que a equação 6.2 calculada com A= 2.9 e x=1/2 ajusta dados correspondentes a soluções semi-diluídas de $I \sim (10^{-5} \cdot 10^{-7})$ M tal que o valor de Q é da ordem de centenas de \bar{e} e que alias nestas condições a ordem de curto alcance é um pouco maior do que segundos vizinhos. Entretanto, a equação 6.2 calculada com A= 2.7 e x=1/3 ajusta dados correspondentes a soluções diluídas com magnitudes similares de I, Q e l.

Nos conjuntos AM2-AM3 não foi adicionada a resina de intercambio de íons à solução: de acordo com o esperado o valor de $[\beta]_g$ é maior do que para o conjunto AM4 (tabela 6.2 e figura 6.7). Os resultados para AM1-AM3 são ajustados pela equação 6.2 tal que A= 5.6 e x=1/2. Isto sugere que os valores de I e Q são similares para AM1-AM3.

Portanto, (tabela 6.3) a equação 6.2 calculada com A= 2.6 e x=1/2 ajusta dados correspondentes a soluções semi-diluídas de $I \sim (10^{-3} \cdot 10^{-2})$ M tal que o valor de Q é da ordem de

dezenas de \overline{e} . Nestas condições a ordem de curto alcance é um pouco maior do que primeiros vizinhos.

6.3 Conclusões

A partir dos resultados listados na tabela 6.3 e apresentados no gráfico 6.7, é possível concluir que o aumento da força iônica do sistema está acompanhado pelo decréscimo da carga superficial do polieletrólito na solução. Isto se manifesta em um alargamento de $[\beta]_g$ e deriva em um decréscimo da ordem local do sistema no regime semi-diluído. Em particular, considerando resultados relacionados a dados experimentais e teóricos no regime semi-diluído (AM1-AM4, AM6-AM7), quando a força iônica do sistema aumenta de $\sim (10^{-5} - 10^{-7})$ M até $\sim (10^{-3} - 10^{-2})$ M e a carga superficial do polieletrólito na solução decresce em uma ordem de magnitude, a ordem local decresce de segundos até primeiros vizinhos.

Também foi estabelecido que existe uma ordem local um pouco maior do que segundos vizinhos no regime diluído para $I \sim (10^{-5} - 10^{-7}) \,\mathrm{M}$ e Q da ordem de centenas de \overline{e} .

Na figura 6.7, observa-se para os dados (AM4-AM7), uma transição aparentemente descontínua em $\frac{C}{C^*}=1$ na dependência de $(L_p[\beta]_g)$ com $\frac{C}{C^*}$. A tabela 6.3 mostra entretanto que esta discontinuidade está dentro do erro do ajuste.

Capítulo 7

Agregados Micelares Perto da Formação de uma Fase Cúbica Líquido-Cristalina

Não existem na literatura muitos estudos focalizados na obtenção de um modelo micelar na fase I de sistemas de anfifílico/água que apresentam uma transição de fase $I \rightarrow Q^{223} \rightarrow H$. É de se esperar que este modelo, especialmente na fase I concentrada, seja fundamental para a compreenssão do mecanismo da transição $I \rightarrow Q^{223}$ e para clarificar a incoerência na informação sobre a forma dos objetos estruturais na fase Q^{223} , previamente discutida na introdução.

Somente foi realizado um trabalho experimental, utilizando técnica de NMR [30] para estudar a fase I de um conjunto de soluções aquosas de lisofosfatidilcolinas que apresentam esta transição. Neste estudo concluiu-se que as micelas permanecem pequenas e globulares na fase I.

Por outro lado, foi determinado, como parte de um exaustivo estudo sobre propriedades da lisolecitina [11], que os monómeros de lisolecitina se auto-associam em micelas de aproximadamente 180 moléculas de lisolecitina.

As soluções aquosas de PLPC figuram entre os sistemas que apresentam [13] a transição

 $I \rightarrow Q^{223} \rightarrow H$ (figura 1.5). Neste capítulo serão estudadas por técnica de SAXS as características estruturais destas micelas na fase I até as vizinhanças da fase Q^{223} . Para isso, será utilizada parte da teoría aprensentada no capítulo 2. Para facilitar a compreenssão da nossa análise, será detalhada em continuação a aplicação desta teoría ao nosso sistema de estudo.

7.1 Método

A intensidade de espalhamento em baixo ângulo I(q) de uma solução isotrópica de partículas monodispersas esféricas ou de esferoides de baixa anisometria está dada pela equação 2.9 obedecendo à igualdade 2.10.

As micelas de PLPC serão supostas de forma elipsoidal, e formadas por duas camadas de densidades eletrônicas diferentes: uma camada interna com densidade eletrônica $\varrho_{par}=0.275~e/{\rm \AA}^3$ e uma camada externa, envolvendo à anterior, com densidade eletrônica ϱ_{pol} . A camada interna, ou caroço parafínico, contem as cadeias hidrocarbonadas das moléculas de PLPC. O semi-eixo menor desta região é igual ao comprimento da cadeia hidrocarbonada l_{par} enquanto que o comprimento do semi-eixo maior está definido como νl_{par} ou $\nu^{-1} l_{par}$ dependendo da geometria do elipsoide. A camada externa contem as cabeças hidrofílicas das moléculas de PLPC bem como as moléculas de água ligadas a elas, e tem uma espessura d. Na equação 2.9, a função P(q) que descreve este modelo micelar corresponde às equações 2.38-2.41 no caso de elipsoides prolatos, devendo ser feitas as substituções especificadas no item 2.1.3 no caso de tratarse de elipsoides oblatos.

A função S(q) na equação 2.9 será calculada supondo que as micelas interagem através de um potencial de esfera dura, já que o PLPC forma agregados que não apresentam carga efetiva. Sob estas condições, usualmente é utilizada a aproximação de Percus-Yevick [51] para calcular S(q). No nosso caso, será utilizado o procedimento desenvolvido por Hayter e Penfold para sistemas com um potencial de interação repulsivo blindado coulombiano dentro da aproximação MSA [23-24], explicado no item 2.2.2. Como já foi discutido, quando a carga superficial é zero, este procedimento fornece um resultado igual ao que sería achado

utilizando o formalismo de Perkus e Yevick [51]. A escolha do procedimento foi baseada na posibilidade de utilizar um código computacional instalado no sistema VAX 6330 do IFUSP o qual foi previamente desenvolvido para realizar o estudo da fase I do sistema SLS/água [52].

A equação 2.9 convoluida com o efeito do feixe incidente (largura desprezível), com P(q) e S(q) calculadas de acordo ao estabelecido nos dois parágrafos anteriores, será modelada à curva experimental J_{obs} . Como foi mencionado no capítulo 5, $I_{p'}$ deve ser substituída por uma constante proporcional a n_p e aos efeitos instrumentais. Os parâmetros livres desta modelagem serão l_{par} , ν e d.

Para cada valor de l_{par} , ν e d encontrados desta maneira, o valor correspondente de ϱ_{pol} é calculado a partir de:

$$\varrho_{pol} = \frac{\overline{n} \times (n_{e,c} + n_H n_{e,H2O})}{V_{pol}} \tag{7.1}$$

onde V_{pol} é o volume da camada externa, $n_{e,c}$: número de elétrons da cabeça da molécula de PLPC= 151 e $n_{e,H2O}$: número de elétrons da molécula de água= 10. O parâmetro \overline{n} calcula-se de acordo com as equações 2.42 tal que o volume da cadeia hidrocarbonada da molécula de PLPC é 431 Å³ [66], e o número de hidratação n_H está dado por:

$$n_H = \frac{\left(\frac{V_{pol}}{\tilde{n}}\right) - V_c}{V_{H2O}} \tag{7.2}$$

onde V_c : volume da cabeça da molécula de PLPC= 327.5 Å 3 e V_{H2O} : volume da molécula de água= 30.3 Å 3 .

Para soluções suficientemente diluídas ou em condições tais que não exista interferência, $S(q) \sim 1$ na equação 2.9, e I(q) está relacionada à função de distribuição de distâncias da partícula p(r) através de uma Transformada de Fourier (equação 2.24). O método ITP foi utilizado no nosso trabalho para calcular p(r) para as duas concentrações mais diluídas. O algoritmo deste método foi descrito no capítulo 4.

É importante definir a concentração em volume das cadeias parafinicas $C_{v,par}$ [67]:

$$C_{v,par} = 1 - \frac{n_{e,l} + c_e(\varrho_{H20}V_c - n_{e,l})}{n_{e,l} + c_e(\varrho_{H20}V_l - n_{e,l})}$$
(7.3)

onde ϱ_{H20} : densidade eletrônica da água= 0.327 $e/\text{Å}^3$, $n_{e,l}$: número de elétrons na molécula de PLPC= 272, V_l : volume médio da molécula de PLPC= 758.5 Å^3 e c_e é a concentração

eletrônica calculada como o número de elétrons de lipídeo por número de elétrons da solução [68]:

$$c_e = \frac{\vartheta n_{e,l} P M_{H2O}}{\vartheta n_{e,l} P M_{H2O} + (1 - \vartheta) n_{e,H2O} P M_l}$$
(7.4)

onde PM_{H2O} : peso molecular da água= 18, PM_l : peso molecular do PLPC= 495 e $\vartheta = (C-c.m.c.)$, esta última quantidade calculada em unidades de $\frac{g}{g}$ com o valor correspondente à c.m.c. dado no item 1.3.

A concentração em volume do anfifilico C_v define-se como [69]:

$$C_v = \left[1 + \frac{\overline{v}_w(1-c)}{\overline{v}_l c}\right]^{-1} \tag{7.5}$$

onde \overline{v}_w é o volume parcial especifico da água, \overline{v}_l é o volume parcial especifico do anfifílico e c = [anfifílico / (anfifílico + água)].

7.2 Resultados

A figuras 3.7-9 apresentam as curvas de SAXS do sistema PLPC/água obtidas no intervalo de concentrações C estudado, e a tabela 7.1 contem os valores medidos das posições dos picos de espalhamento de raios-X medidos nas fotografias de Laue (figura 3.10).

As curvas de SAXS junto ao estudo paralelo das amostras pelo método fotográfico de Laue, revelaram que para $C \le 15 \%$ w/w de PLPC (figura 3.7) existe um pico centrado em $s^{-1}=50 \text{ Å}$ (tabela 7.1). Como este pico não muda com a concentração, deduce-se que ele provem do fator de forma da micela inomogênea de forma análoga ao que ocorre com o SLS [40].

Para $C \ge 28 \%$ w/w de PLPC (tabela 7.1, figuras 3.8-9), um pico de interferência torna-se bem definido, também de forma análoga ao SLS [40].

A figura 7.1 apresenta a posição do pico de interferência micelar s_0^{-1} , medido pelo método fotográfico de Laue e listado na tabela 7.1, como função de $C_{v,par}$, calculado segundo a equação 7.3, para concentrações maiores do que 25 % w/w de PLPC.

Tabela 7.1: posição dos picos de espalhamento de raios-X medidos nas fotografias de Laue (figura 3.10) como função da concentração de PLPC: concentração da amostra C, concentração em volume das cadeias parafinicas $C_{v,par}$ e posição do pico de espalhamento s^{-1} .

C	$C_{v,par}$	s^{-1}
[% w/w de PLPC]		[Å]
5	0.026	51.0 ± 2.3
10	0.052	49.17 ± 0.8
15	0.078	49.64 ± 1.1
20	0.104	51.02 ± 0.5
25	0.131	52.4 ± 0.94
28	0.148	67.7 ± 1.0
		41.95 ± 0.32
30	0.159	65.7 ± 2.1
		41.5 ± 0.8
33	0.175	64.5 ± 1.7
		41.1 ± 0.7
35	0.186	63.5 ± 2.2
		39.64 ± 0.71
37.5	0.199	62.0 ± 1.3
		39.5 ± 1.2

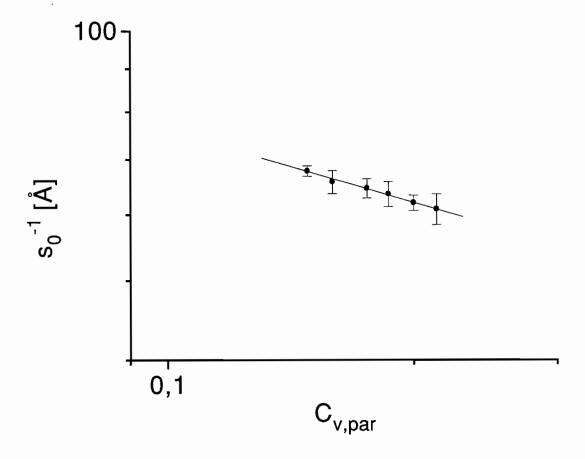


Figura 7.1: (•) posição do pico de interferência intermicelar s_0^{-1} como função da concentração em volume das cadeias parafínicas $C_{v,par}$ (o valor para a concentração mais alta corresponde à reflexão s_{211}^{-1} da fase Q^{223} segundo a indexação da tabela 8.3): (-) melhor ajuste obtido de acordo com a equação 7.6.

Este ajuste fornece:

$$s_0^{-1} = (38.79 \pm 5.17) C_{v,par}^{-(0.29 \pm 0.07)}$$
(7.6)

Note-se que a posição do segundo pico medido no Laue não coincide exatamente com o segundo pico da curva de espalhamento devido ao efeito do feixe linha.

O ponto de valor mais alto de $C_{v,par}$ na figura 7.1 corresponde à reflexão s_{211}^{-1} da fase Q^{223} , como será discutido no capítulo 8.

Deve ser enfatizado que o incremento de s_0^{-1} com $C_{v,par}$ foi somente medido pela técnica de Laue. O incremento total de s_0^{-1} medido desta maneira no intervalo $28 \le C \le 37.5 \%$ w/w de

PLPC, corresponde a $\Delta q = 0.009$ Å⁻¹. Esta é uma variação muito pequena para ser observada alguma mudança nas posições angulares dos picos das curvas de SAXS correspondentes (figuras 3.8-9), já que medidas de SAXS do sistema SLS/água para $26.25 \le C \le 33$ % w/w de SLS demonstraram previamente que [40] não conseguiu-se medir nenhuma alteração na posição angular do pico de espalhamento nas curvas de SAXS para um incremento dado de $\Delta q = 0.012$ Å⁻¹ medido pela técnica de Laue.

De acordo com a informação mencionada no começo deste capítulo sobre os agregados das lisofosfatidilcolinas e da lisolecitina, a equação 7.6 dá suporte à idea da análise das curvas de SAXS en termos de agregados "finitos" já que o comportamento $C_{v,par}^{-\frac{1}{3}}$ é típico de partículas com tamanho constante e com volume entre as partículas decrescendo nas três dimensões [70]. Entretanto, é permitido algum crescimento das partículas já que o expoente é menor do que $\frac{1}{3}$ [71].

7.2.1 Modelagem das Curvas de SAXS através da Função Distribuição de Distâncias p(r)

A função p(r) foi calculada para 5 % w/w de PLPC. Foram utilizados $N_b=15$ funções b-splines com simetria esférica. A tabela e o gráfico de estabilidade correspondentes estão apresentados no apêndice B (tabela B2, figura B3). Na figura B3 observa-se que o valor de L' permanece aproximadamente constante a partir de $log\lambda=1.5$ até $log\lambda=6$. De acordo com o discutido no capítulo 4, o valor constante de L' menor do que a unidade observado na tabela B2, pode-se relacionar a uma superestimação dos erros dos dados experimentais [61]. $logN_c$ é aproximadamente constante a partir de $logN_c=5$ até $logN_c=6$. De acordo com o método do ponto de inflexão [57, 61], foi seleccionado $log\lambda_{opt}=5.5$. Substraindo um fundo conveniente, chegou-se a uma função p(r) que se anula para r=0 Å e para $r=D_{max}=(99.73\pm0.25)$ Å (figura 7.2). A figura 7.3 apresenta a curva de espalhamento calculada afetada pelo alargamento instrumental com a geometria do feixe, graficada junto à curva

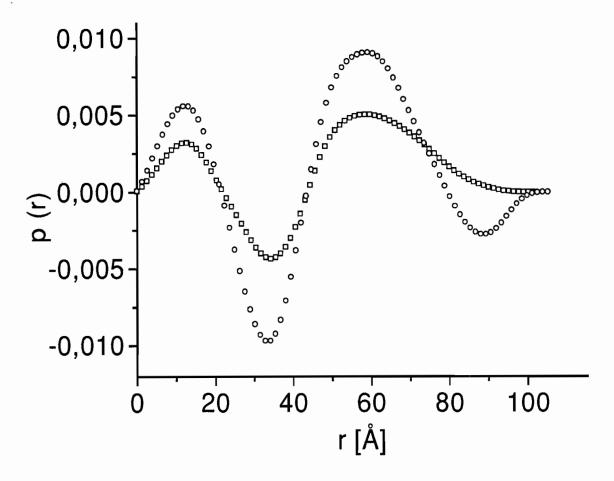


Figura 7.2: comparação das funções calculadas p(r): (\Box) 5 $(log\lambda_{opt} = 5.5)$ e (\circ) 10 % w/w de PLPC $(log\lambda_{opt} = 5)$.

experimental.

Para avaliar o erro de D_{max} , calculou-se como o intervalo em D_{max} para o qual p(r) não está afectada por erros sistemáticos.

A função p(r) foi também calculada para 10 % w/w de PLPC. O número de funções b-splines utilizadas foi N_b =15. A tabela e o gráfico de estabilidade correspondentes estão apresentados no apêndice B (tabela B2, figura B4). Na figura B4, L' é praticamente constante a partir de $log\lambda$ = 1.5 até $log\lambda$ = 6 enquanto que $logN_c$ é estável a partir de $log\lambda$ = 4.5 até $log\lambda$ = 5.5. Do mesmo modo que no cálculo da função p(r) para 5 % w/w de PLPC, a tabela B2 mostra que no intervalo de L' o seu valor permanece mais baixo do que o valor ideal da

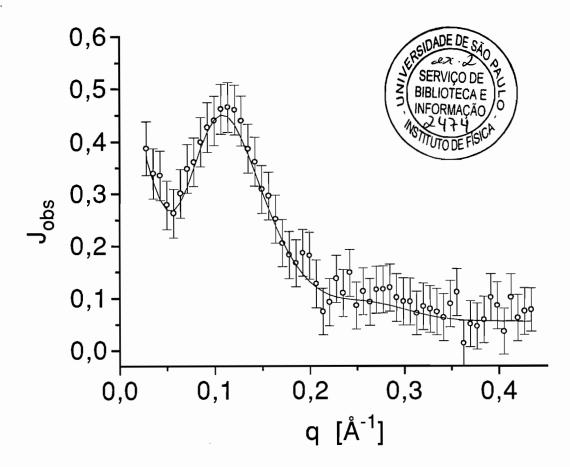


Figura 7.3: (\circ) curva de SAXS para 5 % w/w de PLPC; (-) curva de espalhamento suavizada J_{sm} calculada pelo método ITP.

unidade [61]. O valor de λ_{opt} escolhido foi para $log \lambda_{opt} = 5$ [57, 61].

O efeito de fundo de espalhamento foi eliminado subtraindo um fundo constante de J_{obs} , mas os efeitos de interferência estão ainda presentes como mostra a oscilação negativa no final de p(r) (figura 7.3). Este efeito não conseguiu ser suprimido já que a porção dependente da concentração da curva de espalhamento não pode ser desprezada porque a condição [2] $q_1 \leq \pi/D = \pi$ / (105 Å)= 0.030 Å⁻¹ (D: maior distância estimada dentro da micela de PLPC, q_1 : primeiro ponto de J_{obs} utilizado para calcular p(r); no nosso trabalho q_1 = 0.028 Å⁻¹ com um intervalo de 2θ = 0.1° entre pontos sucessivos) não é satisfeita e a função p(r) resultante estaría afectada por erros sistemáticos. Portanto, para $C \geq 10$ % w/w de PLPC o método ITP não é mais útil, devido a que os efeitos de interferência são importantes

na curva de SAXS. Deve ser mencionado que para o sistema SLS/água [42] os efeitos de interferência començaram a ser importantes na curva de SAXS para 15 % w/w de SLS.

Os erros propagados das funções p(r), tanto para 5 como para 10 % w/w de PLPC, foram da ordem de 10^{-2} . Embora sejam inferiores aos obtidos para as funções $p_c(r)$ calculadas no capítulo 4, ainda estão superestimados e portanto foram omitidos da figura 7.2.

A oscilação negativa das funções p(r) (figura 7.3), para $r \sim 35$ Å, está relacionada as distâncias que unem regiões de densidade eletrônica de sinais opostas [2], ou seja, estas funções correspondem a micelas de densidade eletrônica inomogênea.

7.2.2 Modelagem do Produto P(q)S(q) nas Curvas de SAXS

Os melhores ajustes obtidos através da modelagem do produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura do feixe (largura desprezível) e as funções de distribuição radial correspondentes estão mostrados nas figuras 7.4-7.23 para concentrações entre 5 e 37.5 % w/w de PLPC.

As figuras 7.4-7.11 mostram o comportamento observado para $5 \le C \le 20$ % w/w de PLPC: apesar de que S(q) não ser desprezível para valores pequenos de q o seu máximo quase coincide com o primeiro mínimo de P(q) e portanto, de acordo com o esperado, o pico na curva de SAXS é devido ao fator de forma das partículas.

A presença de um segundo pico em P(q) e não em J_{obs} é devido a efeitos de polidispersão não considerados no modelo [40].

Vários testes mostraram que os valores de d e l_{par} têm uma importância crítica para a modelagem da curva de SAXS de 37.5 % w/w de PLPC. Para esta concentração (figura 7.22), uma modelagem satisfatória para o segundo pico de interferência é alcançada com $d=(9.8\pm0.3)$ Å e $l_{par}=(22\pm0.4)$ Å. Este valor para l_{par} está dentro da ordem do valor esperado, fornecido por Tanford [66], de $(1.5+1.265\times15)$ Å= 20.5 Å para a cadeia totalmente estendida da molécula PLPC, enquanto que o valor de d é um pouco maior dos 8.5 Å que correspondem à molécula de PLPC desidratada. A qualidade do ajuste assegura uma boa definição destes valores e portanto, para realizar a modelagem do resto das curvas

de SAXS, os parâmetros livres d e l_{par} foram fixados em 9.8 Å e 22 Å respectivamente. A tabela 7.2 apresenta os valores do parâmetro livre ν obtidos sob estas condições, junto aos valores de ϱ_{pol} e \overline{n} correspondentes.

Para $C \geq 28$ % w/w de PLPC, um único valor de ν está bem definido a partir da posição do pico de S(q) (figuras 7.14-7.23, tabela 7.2). Mas, para $5 \geq C \geq 25$ % w/w de PLPC (figuras 7.4-7.13, tabela 7.2) é possível obter um bom ajuste em um intervalo largo de ν : isto é devido a que S(q) ainda não domina a curva de SAXS e, embora a qualidade da modelagem é aproximadamente igual, os valores baixos de ν fornecem o limite inferior para um ajuste satisfatório à parte interna das curvas de SAXS, entretanto os valores mais altos de ν fornecem o limite superior.

Tabela 7.2: valores dos parâmetros obtidos a partir das curvas de SAXS, para uma largura da camada externa d=9.8 Å e para o comprimento da cadeia hidrocarbonada totalmente estendida $l_{par}=22$ Å: concentração da amostra C, raio axial parafínico ν , densidade eletrônica da camada polar ϱ_{pol} e número de agregação micelar \overline{n} .

C	$ u$ ϱ_{pol}		\overline{n}	
[% w/w de PLPC]	$[\overline{e}/ m \AA^3]$			
5	1.7-2	0.391-0.394	176-207	
10	1.7-1.8	0.391-0.392	176-186	
15	1.8-2.2	0.392-0.396	186-227	
20	1.8-2.1	0.392-0.395	186-217	
25	1.8-2	0.392-0.394	186-207	
28	1.8	0.392	186	
30	1.8	0.392	186	
33	1.8	0.392	186	
35	1.8	0.392	186	
37.5	1.8	0.392	186	

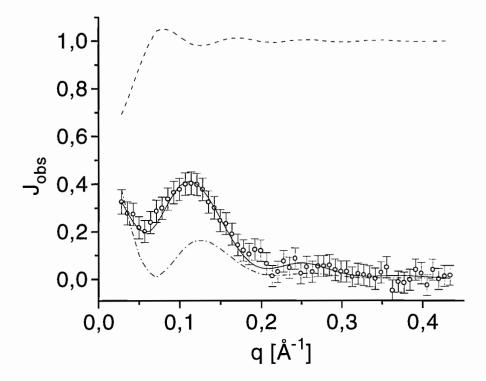


Figura 7.4: (o) curva de SAXS para 5 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

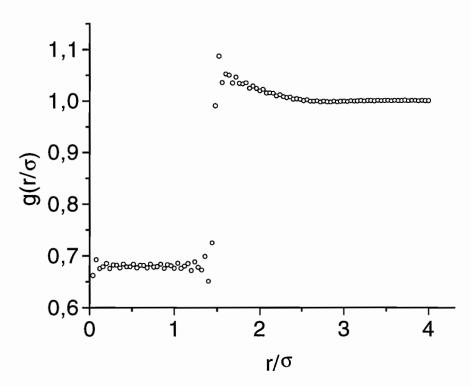


Figura 7.5: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.4

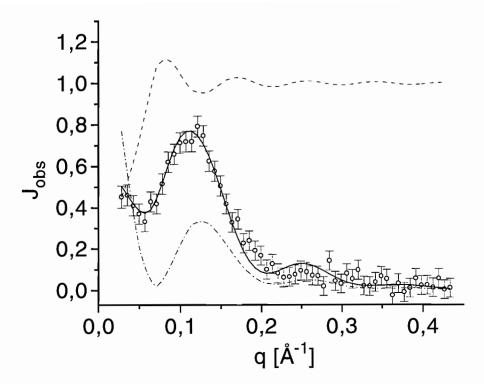


Figura 7.6: (o) curva de SAXS para 10 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

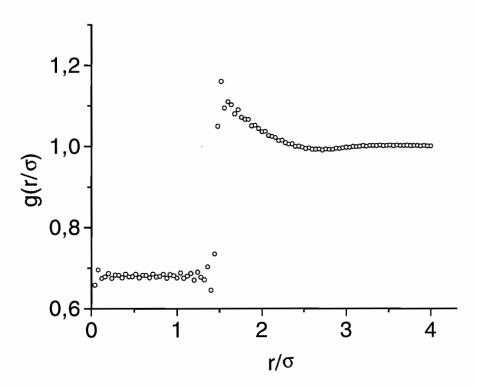


Figura 7.7: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.6.

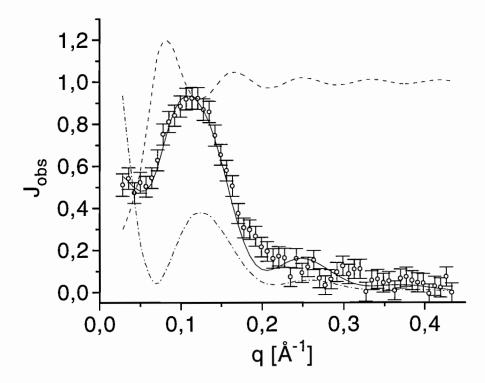


Figura 7.8: (o) curva de SAXS para 15 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=2.0$.

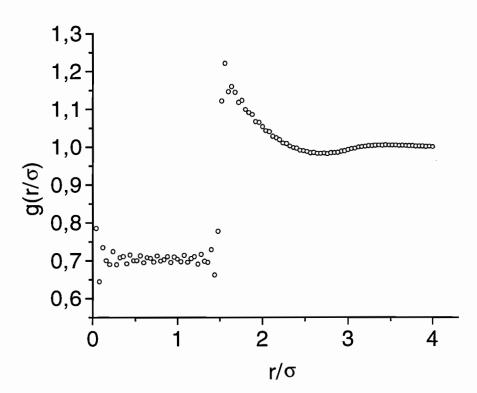


Figura 7.9: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.8.

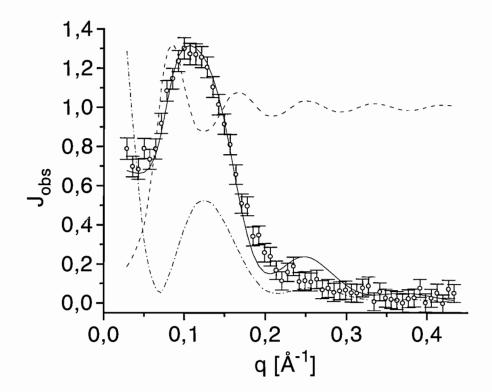


Figura 7.10: (o) curva de SAXS para 20 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=2.0$.

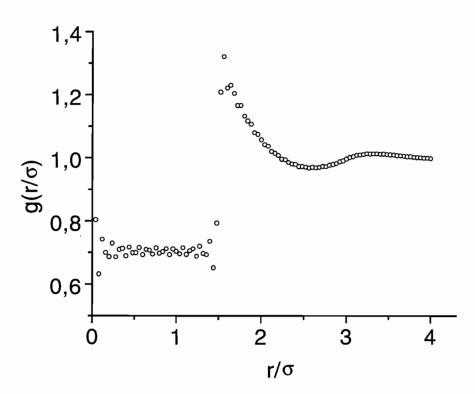


Figura 7.11: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.10.

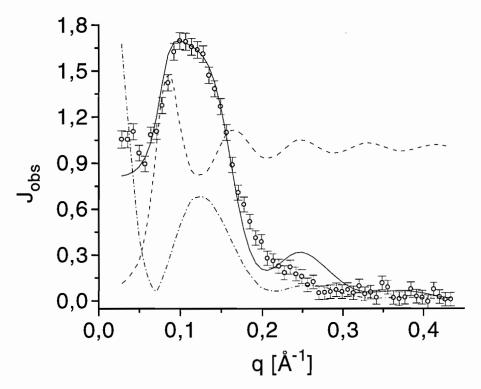


Figura 7.12: (o) curva de SAXS para 25 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=2.0$.

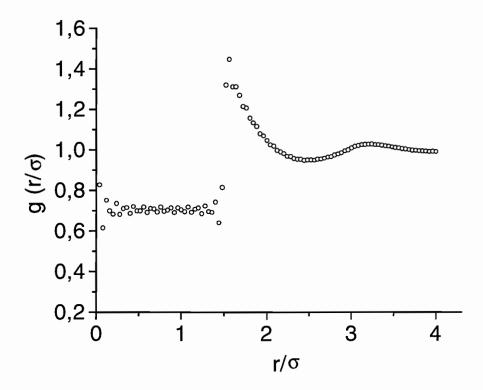


Figura 7.13: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.12.

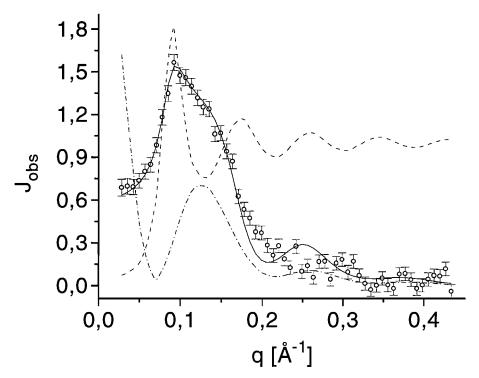


Figura 7.14: (\circ) curva de SAXS para 28 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

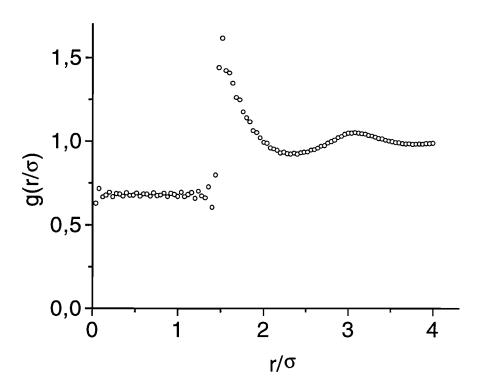


Figura 7.15: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.14.

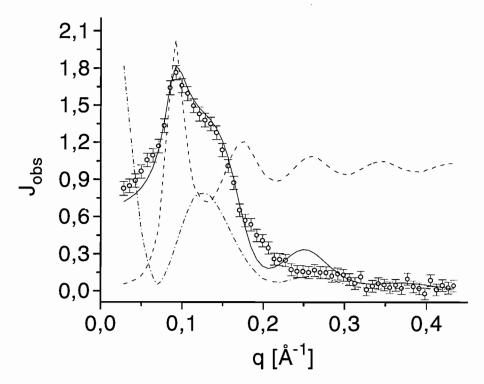


Figura 7.16: (o) curva de SAXS para 30 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

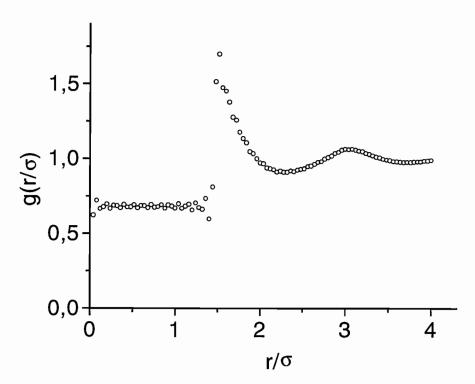


Figura 7.17: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.16.

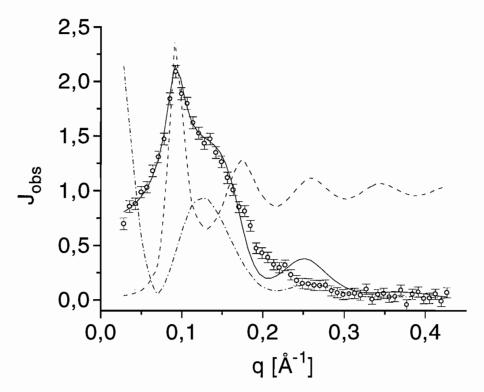


Figura 7.18: (o) curva de SAXS para 33 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

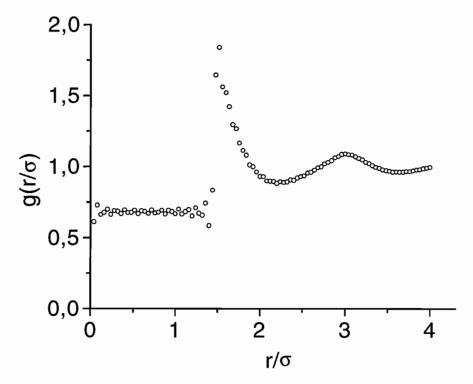


Figura 7.19: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.18.

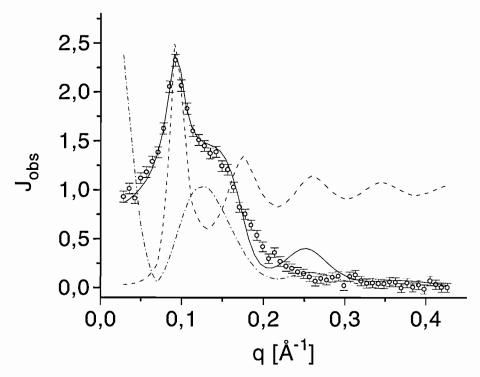


Figura 7.20: (o) curva de SAXS para 35 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

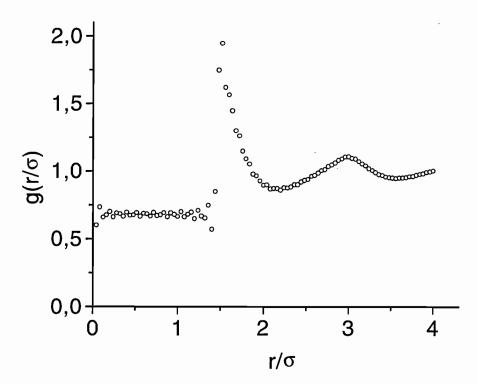


Figura 7.21: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.20.

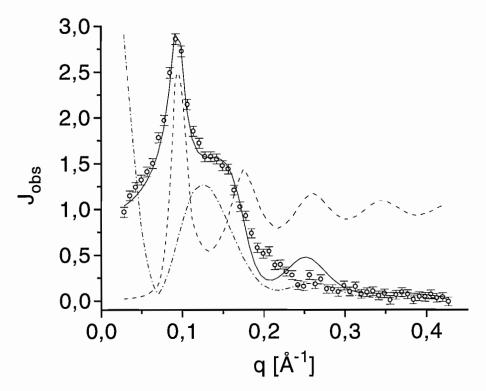


Figura 7.22: (o) curva de SAXS para 37.5 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (--) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $l_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=1.8$.

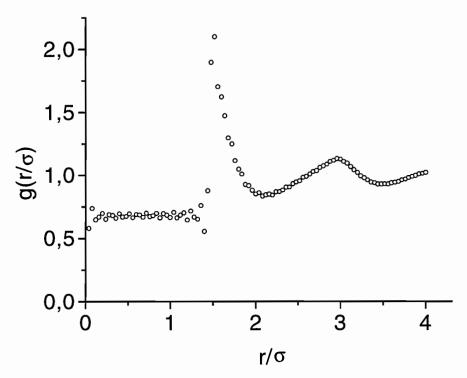


Figura 7.23: (\circ) função distribuição radial g(x) correspondente à figura 7.22.

7.3 Discussão

A partir da tabela 7.2 está claro que as micelas de PLPC permanecem como esferoides com uma anisometria baixa e quase constante para $5 \ge C \ge 37.5$ % w/w de PLPC. Como foi previamente discutido, o amplo intervalo de valores de ν para as concentrações mais baixas pode ser atribuido a diferentes critérios da modelagem. Mais o seu valor está definido sem ambigüidades para $C \ge 28$ % w/w de PLPC como 1.8 (tabela 7.2).

O valor de ν também pode ser calculado utilizando o parâmetro D_{max} obtido a partir da análise da função p(r). Assumindo uma forma micelar esférica, $D_{max}=99.73$ Å corresponde a um raio de 49.87 Å. Considerando que a dimensão micelar mínima esperada é de $R_{tot}=l+d=(22+9.8)$ Å= 31.8 Å, como foi determinado a partir da modelagem das curvas de SAXS, p(r) indica uma forma de elipsoide prolato com semi-eixo menor R_{tot} e semi-eixo maior 48.75 Å. Isto corresponde a um valor de $\nu=1.8$, o que confirma os nossos resultados.

Como foi mencionado no começo deste capítulo, a fase I de um conjunto de lisofosfatidil colinas que formam a fase Q^{223} entre a fase I e a fase H foi estudada utilizando técnica de NMR. A partir deste estudo concluiu-se que as micelas permanecem pequenas e globulares na fase I [30], em bom acordo com os nossos resultados. Em particular, para o sistema PLPC/água foi calculado um raio micelar esférico efetivo de 34.1 Å, considerando a dependência do coeficiente de difussão micelar com C. Este valor não difere muito do raio equivalente da esfera do nosso modelo MSA $(\sigma/2)=[(9.8\pm0.3)+(1.8)^{\frac{1}{3}}\times(22\pm0.4)]$ Å= (36.6 ± 0.6) Å (equação 2.67).

O intervalo de número de agregação \overline{n} na tabela 7.2 está de acordo com o valor previamente descrito para os agregados de lisolecitina [11].

Uma vez determinados os parâmetros estruturais das micelas de PLPC na fase I e comparadas com dados experimentais, e razoável comprovar se eles são compatíveis com a formação da fase Q²²³.

Como foi mencionado no capítulo 1, embora esteja bem estabelecido que a fase cúbica do sistema PLPC/água é micelar e de simetria espacial Pm3n, não existe ainda um modelo definido sobre a forma do seus objetos estruturais. Foi testada uma forma de micela elipsoidal

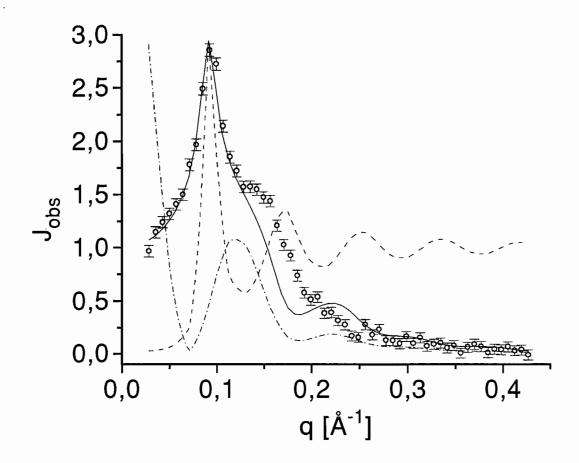


Figura 7.24: (\circ) curva de SAXS para 37.5 % w/w de PLPC; (-.-) P(q); (- -) S(q); (-) produto P(q)S(q) convoluido com o efeito de altura de fenda. Os parâmetros de ajuste são $R_{par}=22$ Å, d=9.8 Å e $\nu=0.7$ e os parâmetros calculados são $\varrho_{pol}=0.405$ $\overline{e}/\mathring{A}^3$ e $\overline{n}=211$.

oblata (disco), como a proposta por Vargas [15] para ser um dos elementos estruturais da fase Q^{223} , perto da transição $I \rightarrow Q^{223}$ na modelagem de P(q). Não foi possível obter um bom acordo entre o modelo e o experimento, como pode ser visto na figura 7.24, e portanto esta hipótese foi descartada.

A posibilidade de micelas esferocilíndricas proposta por Eriksson [35-36] para a fase Q^{223} pode não implicar essa forma na fase I, porque um trabalho teórico recente [39] demonstrou, na base de cálculos de energia de curvatura, que a forma de elipsoide prolato é mais estável do que a esferocilíndrica para micelas com $1 < \nu \le 1.8$.

Portanto, os dados listados na tabela 7.2 mostram que até a transição $I \rightarrow Q^{223}$ a forma

das micelas deve ser elipsoidal. Alguma mudança na forma micelar poderia acontecer eventualmente durante a transição para a fase Q²²³ e portanto não é possível decidir entre o modelo de Vargas e Eriksson sobre a forma dos elementos da estrutura da fase Q²²³, embora o crescimento na direção de esferocilindros parece o mais provável considerando a entrada posterior do sistema na fase H [14].

Confrontaremos agora os nossos resultados com os obtidos no estudo da transição de fase I \rightarrow H do sistema SLS/água [40-42]. Foi encontrado que micelas de SLS têm uma forma esferoidal na fase I, com uma anisometria que cresce a partir de ν = 1.5 (C= 5 % w/w de SLS) até ν = 2.4 perto da transição de fase I \rightarrow H (C= 33 % w/w de SLS). Em particular, para $C \ge 9$ % w/w de SLS a anisometria micelar é mais alta do que a encontrada para as micelas de PLPC e o crescimento das micelas em uma forma esferocilíndrica é favorecida sobre a forma de elipsoide prolato. A fração volumétrica ocupada pelo anfifílico na solução foi definida na equação 7.5 como C_v . Como \overline{v}_l é 0.89 cm³/g e 0.92 cm³/g para as micelas de SLS e PLPC respetivamente, para qualquer valor de c $C_{v,SLS} < C_{v,PLPC}$ o que faz possível a agregação das moléculas de SLS em micelas de anisometria maior do que as de PLPC.

O valor de ν = 1.8 explica todos os nossos resultados na fase I. Este é o fator que faz o sistema PLPC/água evoluir através da transição de fase I \rightarrow Q²²³. Como este valor de ν corresponde à transição de forma micelar elipsoidal para esferocilíndrica [39], as micelas de PLPC permanecem como elipsoides com C crescente na fase I, e não crescem como esferocilindros o que propiciaria a entrada do sistema na fase H como acontece no caso das micelas de SLS.

Como já foi mencionado, não existe um modelo teórico para a transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$ $\rightarrow H$. Foram estudados sistemas binarios de agregados com forma de cilindros e discos, interagindo através de um potencial de esferas duras, utilizando o modelo estatístico de rede [72]. A energia livre destes sistemas é uma função que depende de ϕ_0 , ϕ_1 e ϕ_2 que são proporcionais às energias de interação de intra-agregados correspondentes a agregados esféricos, cilindrícos e com forma de disco respectivamente. Este modelo consegue descrever a simetria orientacional da fase (isotrópica, axial, planar ou biaxial) mas não fornece nenhuma informação sobre a ordem posicional, necessária para descrever as fases H, L ou cúbicas.

A ordem posicional deste último conjunto de fases pode-se descrever usando uma aproximação de partícula escalada e um modelo de cela [73]. Portanto, uma transição de fase $I \to Q^{223} \to H$ poderia ser reproduzida teóricamente se o sistema descrito no paragráfo anterior fosse estudado dentro destas duas aproximações, ao invés do modelo de red, para valores diferentes de $(\phi_1 - \phi_0)$ e $(\phi_2 - \phi_1)$ [74].

Por outro lado, foi estabelecido [75] (teórica e experimentalmente) que um sistema de esferas duras apresenta uma transição de fase I \rightarrow cúbica (FCC) líquido-cristalina. Esta cristalização acontece no intervalo 0.495 (ponto de "congelamento") $\leq \Lambda \leq 0.545$ (ponto de "fussão") onde Λ é a fração volumétrica ocupada pelas esferas duras.

Para comparar este resultado com os apresentados neste capítulo, temos que pensar ao sistema PLPC/água no contexto utilizado para calcular S(q), porque é nesse contexto que as micelas são assumidas como esferas duras.

Utilizando os resultados da nossa modelagem, o volume de uma esfera dura V_{ed} para 37 % w/w de PLPC é:

$$V_{ed} = \frac{4\pi(\sigma/2)^3}{3}$$
= 20,5.10⁴ Å³ (7.7)

e a densidade de esferas duras está dada pela densidade numérica de partículas:

$$N_p = \frac{[\phi]N_a}{\overline{n}}$$
 (7.8)
= $[(0.75 \times 6,023.10^{23})/(186 \times 1.10^{27})]$ part./Å³
= $2,45.10^{-6}$ part./Å³

onde N_a é o número de Advogadro.

Chamaremos V_s (em unidades de ų) ao volume ocupado por uma solução de 37.5 % w/w de PLPC. O número de esferas duras que existem nesse valor de V_s é:

$$N_{ed} = V_s N_p$$
 (7.9)
= $V_s \times 2,45.10^{-6} \text{ part./Å}^3$

A partir das equações 7.7 e 7.9, pode-se calcular o valor de Λ para 37.5 % w/w de PLPC:

$$\Lambda = (N_{ed}V_{ed})/V_s$$

$$= (N_pV_sV_{ed})/V_s$$

$$= (2,45.10^{-6} \text{part.}/\text{Å}^3)(20,5.10^4 \text{Å}^3)$$

$$= 0.5$$
(7.10)

o qual é independente de V_s .

Portanto 37.5 % w/w de PLPC corresponde a $\Lambda=0.5$. Esta concentração é próxima à transição de fase líquido-cristalina (a fase Q^{223} foi medida para 40 % w/w de PLPC; capítulos 3 e 8).

O valor de Λ calculado, embora pertence à fase I, é um pouco maior do que o valor de "congelamento". Se adjudicamos este deslocamento da transição para um valor mais alto de Λ à polidispersão do sistema PLPC/água [76], pode-se pensar que o formalismo utilizado no estudo da transição de fase I \rightarrow cúbica (FCC) líquido-cristalina para um sistema de esferas duras fornecería bons resultados no estudo da transição I \rightarrow Q²²³.

Capítulo 8

Análise da Transição de Fase Isotrópica→ Cúbica Líquido-Cristalina em Soluções Aquosas Contendo PLPC

O sistema PLPC/água apresenta a peculiaridade de atravessar por uma transição de fase $I \rightarrow Q^{223} \rightarrow H$ [13] (figura 1.5), para a qual ainda não foram desenvolvidos modelos teóricos. O mecanismo da transição de fase $Q^{223} \rightarrow H$ foi explicado en termos de relações epitaxiais entre as duas estruturas [14]. A natureza da transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$ não foi estudada até o presente, embora tenhan sido feitos intentos de determinar os fatores que levam à formação da fase Q^{223} [30, 36].

Como já foi mencionado na introdução e no capítulo 7, o grupo espacial da fase Q²²³ é o Pm3n e os elementos estruturais (agregados micelares) estão centrados nas posições especiais a e c deste grupo espacial. Existe uma controvérsia ainda não resolvida sobre a forma das micelas na fase Q²²³: resultados de raios-X demonstraram que existem duas formas diferentes de micelas, entretanto, resultados de NMR provaram que existe somente uma forma de micela.

Segundo estudos de raios-X [15], as duas formas de micelas que existem são micelas esféricas e micelas discóticas centradas nas posições especias a e c respectivamente. Entretanto, os resultados de NMR [35-36] argumentam que a forma das micelas posicionadas em a e c é esferocilíndrica.

A forma dos agregados micelares na fase I concentrada foi determinada no capítulo anterior para o sistema PLPC/água. Nesse capítulo admitiu-se a possibilidade de um crescimento micelar na direção de esferocilindros na transição $I \rightarrow Q^{223}$ e também que a forma de disco não parece existir na fase I. Isto favorece a proposta de NMR sobre a forma dos elementos estruturais da fase Q^{223} .

Neste capítulo, será discutido o modelo de raios-X para a estrutura da fase Q^{223} a partir do estudo da transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$. Com este objetivo, será proposto um mecanismo para descrever esta transição utilizando para a fase I as distâncias intermicelares e a informação sobre as dimensões micelares obtidas no capítulo 7 e para a fase Q^{223} , as distâncias intermicelares e as dimensões dos agregados micelares propostos no modelo de raios-X.

8.1 Estudo da Fase Q^{223}

A informação reportada na literatura sobre a forma e o volume dos elementos estruturais da fase Q²²³ foi obtida para 50 % w/w de PLPC [15], e refere-se ao caroço parafínico (tabela 8.1). A estrutura desta fase está mostrada na figura 8.1.

A fotografia de Laue obtida para 40 % w/w de PLPC, pertencente à fase Q²²³, foi mostrada nas figuras 3.11-12. Na tabela 8.2 estão listadas as posições dos picos de difração medidos nesta fotografia, excluindo-se o pico da mylar do porta-amostras e a banda difusa perto de 4.5 Å.

Tabela 8.1: estrutura da fase Q²²³: posição da micela na cela unitária, número de micelas por cela, forma da micela, volume da micela. Informação extraída da referência [15] para 50 % w/w de PLPC.

Posição	Número por cela	Forma	Volume [Å ³]
a	2	esférica	55300
c	6	anisotrópica	87500

A tabela 8.2 mostra nossos resultados, relacionados à indexação dos picos de difração listados nessa tabela, comparados com os obtidos por Mariani [34] para a indexação do espectro de Debye-Scherrer, medidos utilizando uma câmara de Guinier, para 50 % w/w de PLPC.

Não foi possível diferenciar entre as reflexões (2,1,0) e (2,1,1) e entre as reflexões (2,2,2) e (3,2,0) porque a técnica de Laue não forneceu a resolução suficiente.

Também não foi possível medir as reflexões mais fracas obtidas com a câmara de Guinier, embora tenham sido observadas reflexões para valores maiores do ângulo de espalhamento. O deslocamento da reflexão (3,2,1) para a reflexão (4,0,0) tanto como a diferença no ordenamento das reflexões como função das suas intensidades quando C varía de 40 para 50 % w/w de PLPC, são devidas à diferença no conteúdo de água das amostras.

Está claro que o resultado por Laue é compatível com os dados reportados para a fase Q²²³ [34].

O parâmetro de rede resultou ser $a=(145.4\pm 1.4)$ Å para 40 % w/w de PLPC. Vamos conferir se a variação deste parâmetro para $40 \le C \le 50$ % w/w de PLPC pode ser explicada considerando que os objetos estruturais são idênticos para as duas concentrações, ou seja, aceitando que não existe crescimento micelar e que a variação no valor de a é somente devida à diferença no conteúdo de água das duas soluções.

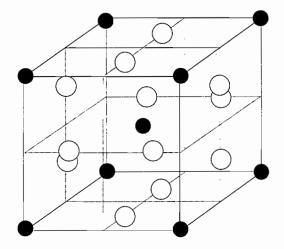


Figura 8.1: estrutura da fase cúbica Q^{223} : as linhas continuas demarcam os limites da cela unitária primitiva. A cela unitária contem seis micelas discóticas (círculos brancos) centradas nas posições c (1/4,1/2,0), (3/4,1/2,0), (1/2,0,1/4), (1/2,0,3/4), (0,1/4,1/2), (0,3/4,1/2)) e duas micelas esféricas (círculos pretos) centradas nas posições a ((0,0,0), (1/2,1/2,1/2)). As linhas tracejadas são uma guia para os olhos.

 $C_{v,par}$ = 0.21 para 40 % w/w de PLPC, utilizando a equação 7.3. Assumindo que o volume parafínico total, V_p , dentro da cela unitária de volume V_a corresponde ao dos objetos estruturais da tabela 8.1, temos para 40 % w/w de PLPC:

$$V_p/V_a = C_{v,par} = (6 \times 87500 + 2 \times 55300) \text{Å}^3/(145.4^3) \text{Å}^3 = 0.21$$
 (8.1)

recuperándo-se o valor de $C_{v,par}$ calculado pela equação 7.3. Este resultado sugere que a forma dos elementos estruturais permanece constante no intervalo 40-50 % w/w de PLPC.

Tabela 8.2: comparação da indexação das amostras da fase Q^{223} : concentração C, índices de reflexão (h,k,l), intensidade da reflexão |I|, parâmetro de cela unitária a e posição do pico de espalhamento, s^{-1} , medido na fotografia de Laue para 40 % w/w de PLPC (figuras 3.11-12). Os dados para 50 % w/w de PLPC foram extraidos da referência [34]. As intensidades dos picos de espalhamento para 40 % w/w de PLPC foram estimadas visualmente: (ms: muito forte, f: forte, m: media, fr: fraca, efr: extremadamente fraca). As reflexões marcadas com (-) não foram observadas.

С	50 % w/w de PLPC	40 % w/w de PLPC	40 % w/w de PLPC
(h, k, l)			1/s[Å]
(1,1,0)	3		
(2,0,0)	33		
(2,1,0)	290		
(2,1,1)	32 0	m f	60.9±2.6
(2,2,0)	20	•	
(3,1,0)	7	•	
(2,2,2)	55	mf	43.5±1.7
(3,2,0)	58		
(3,2,1)	96	•	
(4,0,0)	33	f	36.7±0.6
(4,1,0)	35	-	
(3,2,2)			
(4,1,1)	36		
(3,3,0)			
(4,2,1)	18	•	
(4,4,0)	-	efr	25.9±0.1
(4,4,4)		m	21.0±0.4
(8,1,1)			
(7,4,1)		efr	17.9±0.1
(5,5,4)			
(8,5,2)	-	fr	15.1±0.15
a	136.7 Å	(145.4 ± 1.4) Å	

8.2 Método de Estudo da Fase I Concentrada

O padrão de espalhamento de um cristal cuja estrutura pertence ao sistema cúbico, possui linhas de espalhamento que satisfazem [77]:

$$\lambda^2/(4a^2) = \frac{sen^2\theta}{h^2 + k^2 + l^2}$$
(8.2)

onde a é o parâmetro de rede do cristal e (h, k, l) são os índices da reflexão $s_{h,k,l}^{-1} = d_{h,k,l}$. Tratando-se de uma simetria hexagonal bidimensional, a relação 8.2, se transforma em [77-78]:

$$\lambda^2/(4a^2) = [4sen^2\theta]/[3(h^2 + hk + k^2)]$$
(8.3)

Como a soma $\lambda^2/4a^2$ é uma constante, o problema de indexação do padrão de difração resolve-se achando o conjunto dos índices de reflexão que mantenham este valor constante obedencendo às equações 8.2 ou 8.3, por exemplo, para cada valor de $sen^2\theta$ observado. Determina-se assim o valor do parâmetro a. Se a substância pertence ao sistema cúbico, quando os índices apropriados são achados, a classe de rede de Bravais é determinada a partir de quais linhas estão ausentes ou presentes.

Conhecendo o valor do parâmetro de rede a, o número de micelas dentro da cela de Bravais cúbica está dado por:

$$N_m = a^3 N_p (8.4)$$

Quando as equações 8.2-4 são utilizadas no estudo da fase I concentrada deve ser considerado que somente existe uma ordem local na solução. Nestas condições, a ordem correspondente a uma rede de Bravais cúbica ou a uma cela hexagonal bidimensional, faz alusão a uma ordem local de cela distorcida: como a ordem é local, na medida em que vamos nos trasladando dos primeiros para os segundos vizinhos, e assim seguindo, o desordem cresce gradualmente destruindo a ordem de longo alcance. Alem disto, as distâncias entre as partículas, as quais se faz referência, são um valor médio (a equação 2.8 mostra que a posição angular de um pico de S(q) está ligado a todos os possíveis valores de g(r)). Como conseqüência, em geral não são observadas todas as reflexões correspondentes ao espectro que sería medido no caso de tratar-se de um cristal perfeito.

8.3 Resultados e Discussão

Na nossa análise, serão utilizados os picos de espalhamento medidos por Laue para $28 \le C \le 37.5 \%$ w/w de PLPC. Para um valor determinado de C, o primeiro pico é um pico de interferência e o segundo pico será considerado também como devido à interferência entre as partículas. Os gráficos das figuras 7.14-22 podem ocasionar certa confussão a este respeito, pois nestas figuras aparentemente o segundo pico de espalhamento na curva de SAXS é devido ao fator P(q) e não ao segundo pico de S(q). Deve ser lembrado que nas figuras 7.14-22, a curva de SAXS está afetada pelo efeito do perfil do feixe entretanto que P(q) e S(q) não o estão. Portanto, nas figuras 7.14-22, a comparação entre a posição dos picos de P(q) e S(q) e do segundo pico na curva de SAXS carece de significado físico. Por outro lado, a posição do segundo pico de espalhamento medido por Laue, a qual não está afetada pelo efeito do perfil do feixe, está dislocada do pico de P(q) em direção ao segundo pico de S(q) nas figuras 7.14-22.

Como um primeiro intento para compreender o mecanismo da transição de fase $I \rightarrow Q^{223}$ e para verificar se existe alguma semelhança com a transição de fase $I \rightarrow H$, como a apresentada pelo sistema SLS/água onde foi encontrada uma ordem local hexagonal [79], tentou-se indexar os valores de s^{-1} para $28 \le C \le 37.5$ % w/w de PLPC (tabela 7.1) de acordo com a equação 8.2. Depois de vários testes, concluiu-se que estas relações não são satisfeitas e portanto esta hipótese foi descartada.

No entanto, foi possível obter uma indexação satisfatória assumindo uma simetria local cúbica e utilizando a equação 8.3. Os valores de s^{-1} para $28 \le C \le 37.5 \%$ w/w de PLPC foram indexados como as reflexões (2,0,0) e (3,1,0), que correspondem tanto a uma ordem local de cela unitária cúbica simples ou de cela cúbica centrada no corpo.

Os valores de a e de N_m para cada valor de C estão listados na tabela 8.3. A boa qualidade da indexação da tabela 8.3 está demonstrada pela pequena diferença entre os parâmetros de cela determinados a partir de cada pico de espalhamento para um valor de C determinado.

Os valores de a e N_m , listados na tabela 8.3, podem ser extrapolados até 40 % w/w de PLPC.

Tabela 8.3: indexação das reflexões para $28 \le C \le 37.5 \%$ w/w de PLPC de acordo com uma simetria cúbica: concentração C, densidade numérica de micelas N_p , posição do pico s^{-1} , índices da reflexão (h,k,l), parâmetro de cela unitária a, valor médio \overline{a} , número de micelas por cela unitária N_m e alcance de correlação $l = \frac{2\pi}{\epsilon}$ onde ϵ é a largura na altura média do primeiro pico de interferência modelado nas curvas de SAXS (figuras 7.14-7.23).

C	N_p	s^{-1}	(h,k,l)	a	ā	N_m	l
[% w/w]	$[\mathrm{micelas}/\mathrm{\AA}^3]$	[Å]		[Å]	[Å]	$[\mathrm{micelas}/\mathrm{\AA}^3]$	[Å]
28	1.83e-6	67.7 ±1	(2,0,0)	$135.4~\pm 2$	134.0±1.6	$4.41 {\pm} 0.15$	166.76
		$41.95 {\pm} 0.32$	(3,1,0)	132.7 ± 1.0			
30	1.96e-6	65.7±2.1	(2,0,0)	131.4 ±4.2	131.3±2.5	$4.43{\pm}0.24$	205.25
		41.5±0.8	(3,1,0)	131.2 ± 2.5			
33	2.16e-6	64.5±1.7	(2,0,0)	129 ±3.4	129.4±2	$4.68{\pm}0.22$	266.82
		41.1±0.7	(3,1,0)	129.9 ± 2.2			
35	2.29e-6	63.5±2.2	(2,0,0)	127 ±4.4	126.2±2.3	4.6±0.2	296.47
		$39.64 {\pm} 0.71$	(3,1,0)	125.4±1.4			
37.5	2.45e-6	61.98±1.34	(2,0,0)	123.9±2.7	124.4±2.3	4.72±0.3	299.8
		39.5±1.2	(3,1,0)	124.9±3.8			

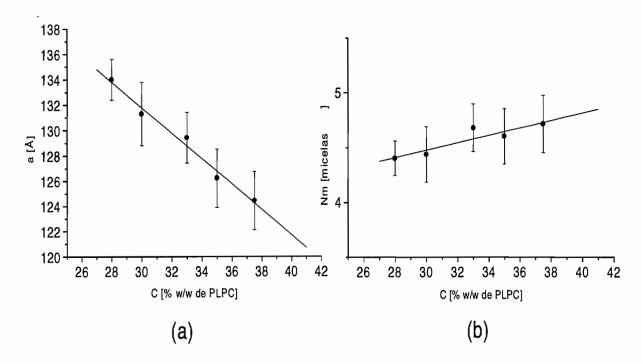


Figura 8.2: (a) (•) valor do parâmetro de rede a, extrapolado para 40 % w/w de PLPC (dados listados na tabela 8.3). (b) (•) valor do número de micelas N_m , por cela cúbica unitária com parâmetro de rede a, extrapolado para 40 % w/w de PLPC (dados listados na tabela 8.3).

Desta maneira, obtem-se $a=d_{a,ex}=(121.7\pm3.7) \text{Å}$ e $N_m=N_{m,ex}=(4.8\pm0.7)$ para 40 % w/w de PLPC (figura 8.2).

Os resultados da tabela 8.3 mostram um aumento no alcance de correlação com C, o que indica um crescimento na ordem local do sistema. Este processo está acompanhado por um crescimento do valor de N_m com C (figura 8.2).

Os valores listados na tabela 8.3 correspondem a uma ordem local, porém para 40 % w/w de PLPC o sistema PLPC/água está em uma fase líquido-cristalina e os valores extrapolados de $N_{m,ex}$ e $d_{a,ex}$ correspondem a uma rede e não somente a uma ordem local. Considerando que os elementos estruturais são os elipsoides prolatos determinados no capítulo 7, o valor de $N_{m,ex}$ corresponde a um volume parafínico $V_p = (3,9\pm0,6).10^5$ Å³.

Por outro lado, o valor do parâmetro de rede $a=(145.4\pm1.4)$ Å calculado para 40 % w/w de PLPC (tabela 8.3), fornece uma distância $d_a=(125.9\pm2.4)$ Å entre as duas micelas centradas nas posições especiais a (figura 8.1).

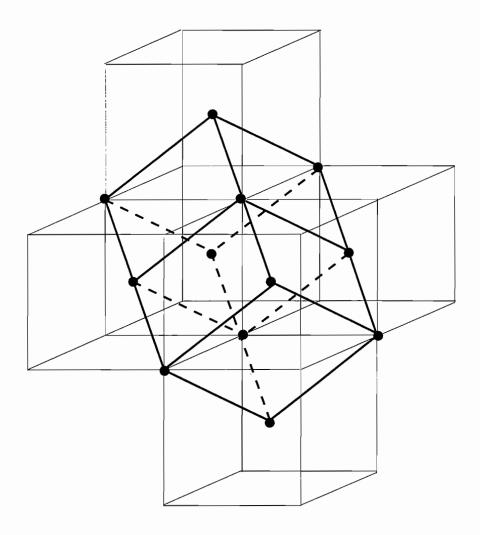


Figura 8.3: As linhas cheias finas demarcam 6 celas da fase Q^{223} (figura 8.1). Para simplificar o gráfico, não foram mostradas as micelas discóticas da estrutura da fase Q^{223} (os círculos pretos correspondem a micelas esféricas). As linhas grossas (cheias e tracejadas) demarcam duas celas cúbicas de parâmetro de rede d_a .

Tabela 8.4: estrutura cúbica obtida pela extrapolação dos dados da tabela 8.3 (figura 8.2) e cela cúbica de parâmetro de rede d_a (figura 8.3): concentração C, concentração em volume das cadeias parafinicas $C_{v,par}$, forma das micelas contidas na cela, número de micelas contidas dentro de cada cela N_m , parâmetro de rede a, volume da cela V_a , volume parafínico total contido dentro da cela V_p e fração V_p/V_a .

$C \ [\% \ \text{w/w de PLPC}]$	40	40
$C_{v,par}$	0.21	0.21
Forma das micelas	esférica e anisotrópica	elipsoide prolato
N_m [micelas]	5.2 ± 0.3	4.8 ± 0.7
a [Å]	125.9 ± 2.4	121.7 ± 3.7
$V_a \ [{ m \AA}^3]$	$(2,0\pm0,1).10^6$	$(1,8\pm0,2).10^6$
V_p [Å ³]	$(4,1\pm0,2).10^5$	$(3,9\pm0,6).10^5$
V_p/V_a	0.21	0.21

A figura 8.3 mostra 6 celas da fase Q^{223} e superpostas a estas, duas celas cúbicas de parâmetro de rede d_a .

O volume V_p por cela unitária na fase Q^{223} é o utilizado na equação 8.1. Então, para a cela de $a=(145.4\pm 1.4)$ Å é possível estabelecer a correspondência:

$$[6 \times V_c + 2 \times V_a] \rightharpoonup (145.4 \pm 1.4)^3 \text{Å}^3$$
 (8.5)

onde V_c é o volume das micelas nas posições especiais \mathbf{c} e V_a é o volume das micelas nas posições especiais \mathbf{a} (tabela 8.1). A condição para a cela de parâmetro d_a , ditada pela equação 8.5 é:

$$\frac{(125.9 \pm 2.4)^3 \text{Å}^3}{(145.4 \pm 1.4)^3 \text{Å}^3} [6 \times V_c + 2 \times V_a] = [(3.9 \pm 0.2) \times V_c + (1.3 \pm 0.1) \times V_a] \rightharpoonup (125.9 \pm 2.4)^3 \text{Å}^3 \quad (8.6)$$

ou seja, existem (3.9 \pm 0.2) micelas de volume V_c e (1.3 \pm 0.1) micelas de volume V_a dentro de cada cela de parâmetro d_a . Isto equivale a um total de (5.2 \pm 0.3) micelas com um volume total $V_p = (4,1\pm0,2).10^5 \text{Å}^3$, contidas dentro de cada cela de parâmetro d_a .

Na tabela 8.4 compara-se os valores de a, N_m e V_p obtidos para as celas de parâmetro d_a e $d_{a,ex}$. Os resultados obtidos para a cela de parâmetro d_a e para a cela de parâmetro $d_{a,ex}$ são compatíveis.

Existem duas possibilidades para explicar o mecanismo da transição I→Q²²³.

Vamos começar adimitindo que existem duas formas micelares na fase Q^{223} , de acordo com o modelo de raios-X [15]. Os resultados da tabela 8.4 mostram que a ordem local das micelas na fase I concentrada evolui para um arranjo de 5 micelas que corresponde à cela de parâmetro d_a . Quando este arranjo começa a formar-se, os seus elementos são os elipsoides prolatos determinados no capítulo 7. Por causa disto, para que se forme a estrutura da fase Q^{223} proposta por Vargas [15] é necessário que exista uma redistribuição de lipídeo dentro de cada cela, durante ou depois da formação das celas de parâmetro d_a . Os nossos resultados mostram que esta redistribuição de lipídeo não destrói a "simetria" cúbica da ordem local que existe na fase I concentrada.

No entanto, é possível supor que existe somente uma forma micelar na fase Q^{223} , como foi proposto através dos estudos de NMR [35-36]. Esta hipótese não modifica o nosso resultado que mostra que a ordem local na fase I concentrada evolui para um arranjo de 5 micelas que corresponde à cela de parâmetro d_a , cujos elementos estruturais são os elipsoides prolatos determinados no capítulo 7. O valor da anisometria destes elipsoides está no limite que estabelece a conformação micelar de elipsoide prolato ou de esferocilindro como a mais estável [39]. Então, pode-se admitir um crescimento micelar na direção de esferocilindros durante a transição de fase. Isto apoia a proposta de NMR [35-36] sobre a forma dos elementos estruturais da fase Q^{223} , e não permite descartar-la frente à proposta de Vargas.

Capítulo 9

Conclusões Finais

Neste capítulo são apresentadas as conclusões sobre o trabalho realizado nos capítulos 4-8. Também são feitas algumas sugestões para trabalhos subseqüentes.

As conclusões finais estão divididas em dois items relacionados ao sistema DNA/água e ao sistema PLPC/água. Em cada item, será respeitada a ordem dos capítulos da tese para sumarizar as conclusões.

9.1 Sistema DNA/Água

No capítulo 4 demonstrou-se como é que os métodos ITP [57] e ITR [56] se complementam na análise das curvas de SAXS.

Não existe nenhuma implementação do método ITR na literatura, além da feita pelo próprio autor [56]. No nosso trabalho, o ITR mostrou-se eficiente no cálculo de J_{desm} para as curvas de SAXS que apresentam picos de interferência, demonstrando ser um artefato matemático útil para estudar as interações entre as partículas. No entanto, deve ser levado em conta que eventualmente os resultados para valores muito pequenos de q podem carecer de significado físico.

Por um outro lado, verificou-se que a utilização do método ITR no estudo de curvas de SAXS que não apresentam efeitos de interferência, pode levar a conclusões erradas. Nesse caso, é necessário complementar esta análise com a realizada por algum outro método que

trabalhe em termos da IFT, específicamente desenvolvido para essa condição. No nosso caso foi utilizado o método ITP. Este método forneceu bons resultados no cálculo de J_{desm} para a solução mais diluída, que não apresenta um pico de interferência, e de $p_c(r)$ para as duas soluções mais diluídas.

No capítulo 5 a curva experimental foi ajustada à função calculada P(q) para a solução mais diluída de DNA, para a qual o método ITP demonstrou que os efeitos de interferência não são importantes. Utilizando esta informação, junto à do capítulo 4, foram obtidas as funções S(q) como função da concentração para as soluções mais concentradas. Para estas concentrações, a posição do pico nas curvas de SAXS como função de C ajusta uma curva "universal", para dados relacionados a soluções de polieletrólitos carregados, com expoente $\frac{1}{2}$.

A partir da modelagem do primeiro pico das curvas de interferência com formas gaussianas, comprovou-se um bom acordo com resultados teóricos de Monte Carlo no que têm a ver com a dependência funcional de $g(\vec{r}, \vec{u}_1, \vec{u}_2)$. O alargamento do pico, $[\beta]_g$, expresso como $(L_p[\beta]_g)$ em função de C, também ajusta uma curva de expoente $\frac{1}{2}$. Também foi estabelecido que existe uma ordem local de primeiros vizinhos para soluções isotrópicas, livres de sal, de polieletrólitos cilíndricos carregados. Este último resultado é importante devido a que está relacionado à ordem posicional, e a literatura somente reporta dados sobre a ordem local orientacional [28].

No capítulo 6 foi interpretado o resultado do capítulo 5 em função da força iônica do sistema e da carga superficial dos polieletrólitos na solução. Concluiu-se que, no regime semi-diluído, a ordem local de primeiros vizinhos corresponde a uma força iônica de $\sim (10^{-3} \cdot 10^{-2})$ M e a uma carga superficial efetiva do polieletrólito da ordem de dezenas de \bar{e} . Demostrou-se que o decréscimo da força iônica até $\sim (10^{-5} \cdot 10^{-7})$ M paralelamente ao aumento em uma ordem de magnitude da carga superficial efetiva do polieletrólito eleva o grau da ordem para segundos vizinhos.

Também foi encontrado que para $I \sim (10^{-5} \cdot 10^{-7})$ M e uma carga superficial efetiva de centenas de \overline{e} , a ordem local é um pouco maior do que segundos vizinhos no regime diluído.

A informação para $(10^{-5}$ - $10^{-7})$ M se complementa com resultados de simulações de

Monte Carlo realizadas sobre estes sistemas as quais estabeleceram que para esta força iônica, no regime diluído e semi-diluído, existe somente uma fraca tendência para uma ordem local orientacional de primeiros vizinhos [28].

O trabalho subsequente imediato aos estudos apresentados nos capítulos 4-6 consiste na investigação mais detalhada do papel que o comprimento do polieletrólito desempenha na ordem de curto alcance no regime diluído e semi-diluído da fase I, com variação da força iônica. Para isto, visando utilizar parte da informação e conhecimento adquiridos no estudo do sistema DNA/água, deve ser iniciado um estudo sistemático por SAXS de soluções aquosas de DNA fragmentado, com diferentes comprimentos, no regime diluído e semi-diluído, com controle da força iônica.

9.2 Sistema PLPC/Água

No capítulo 7, o cálculo da função distribuição de distâncias p(r) utilizando o método ITP [57], para a concentração mais diluída, demonstrou que as micelas estão presentes na solução na forma de elipsoides prolatos inomogêneos com $\nu=1.8$. Nessa concentração os efeitos de interferência não são visíveis pois o pico de interferência coincide com o zero do fator de forma.

Para as concentrações mais altas, a modelagem do produto P(q)S(q) na curva de SAXS, calculando S(q) supondo um potencial de interação repulsivo coulombiano blindado entre as partículas dentro da aproximação MSA [23-24], demonstrou que a forma das micelas permanece estável e de anisometria ν =1.8 no intervalo de concentrações estudado, em bom acordo com o resultado obtido a partir da análise da p(r).

Estes resultados não somente concordaram com os obtidos previamente por NMR [30], como também fornecem informação sobre a anisometria micelar. Este dado foi omitido nos resultados por NMR porque na análise dos resultados é pre-suposta uma forma micelar esférica. O valor da anisometria é importante porque demonstrou-se que este é o fator que

faz com que o sistema transite de uma fase I para uma outra Q^{223} . Micelas de anisometria até 1.8 são mais estáveis na forma elipsoidal, enquanto para anisometrias maiores cálculos de energia de curvatura [39] preveen micelas na forma de esferocilindros, que levam à transição $I \rightarrow H$ como no caso do SLS [40]. A transição $I \rightarrow Q^{223}$ corresponde assim ao empacotamento de micelas esferoidais.

No capítulo 8, utilizando a informação do capítulo 7, foi proposto um mecanismo para explicar a transição I \rightarrow Q²²³ em termos da formação de uma estrutura cúbica local na fase I. De acordo com este mecanismo, é necessário que exista uma redistribuição de lipídeo dentro das celas desta estrutura cúbica na transição I \rightarrow Q²²³, para que se forme o modelo proposto por Vargas para a forma dos agregados micelares que formam a estrutura da fase Q²²³ [15]. Pelo contrário, esta redistribuição de lipídeo não é necessária, se a estrutura da fase Q²²³ corresponde ao modelo de NMR [35-36].

Uma perspectiva futura relacionada aos trabalhos dos capítulos 7 e 8 implica o estudo da distribuição de tamanhos de micelas na solução. É de se esperar que pela anisometria micelar permanecer estável, a polidispersão do sistema seja muito baixa, mas este estudo se apresenta necessário para confirmar a consistência na determinação dos parâmetros de interesse, e também devido a termos admitido que a ausência do segundo pico da função P(q) era devida à polidispersão. Existe também o interesse de estudar efeitos de polidispersão em sistemas inomogêneos, o que ainda não existe na literatura.

Apêndice A

A expressão correspondente a a(Q) na equação 2.80 é a seguinte [23]:

$$a(Q) = A(\operatorname{sen} Q - Q \cos Q)/Q^{3} + B[(2/Q^{2} - 1)Q \cos Q + 2 \operatorname{sen} Q - 2/Q]/Q^{3}$$

$$+ \eta A[24/Q^{3} + 4(1 - 6/Q^{2})\operatorname{sen} Q - (1 - 12/Q^{2} + 24/Q^{4})/Q \cos Q]/2Q^{3}$$

$$+ C(k \cos k \operatorname{sen} Q - Q \operatorname{senh} k \cos Q)/Q(Q^{2} + k^{2})$$

$$+ F[k \operatorname{sen} k \operatorname{sen} Q - Q(\cosh k \cos Q - 1)]/Q(Q^{2} + k^{2})$$

$$+ F(\cos Q - 1)/Q^{2} - \varepsilon \exp(-k)(k \operatorname{sen} Q + Q \cos Q)/Q(Q^{2} + k^{2})$$
(A.1)

Os coeficientes das equações 2.77-79 definem-se de acordo com:

$$\delta = 1 - \eta,$$
 $\alpha_1 = -(2\eta + 1)\delta/k,$
 $\alpha_2 = (14\eta^2 - 4\eta - 1)/k^2,$
 $\alpha_3 = 36\eta^2/k^4,$
 $\beta_1 = -(\eta^2 + 7\eta + 1)\delta/k,$
 $\beta_2 = 9\eta(\eta^2 + 4\eta - 2)/k^2,$
 $\beta_3 = 12\eta(2\eta^2 + 8\eta - 1)/k^4,$
 $\nu_1 = -(\eta^3 + 3\eta^2 + 45\eta + 5)\delta/k,$
 $\nu_2 = (2\eta^3 + 3\eta^2 + 42\eta - 20)/k^2,$
 $\nu_3 = (2\eta^3 + 30\eta - 5)/k^4,$
 $\nu_4 = \nu_1 + 24\eta k \nu_3,$

$$egin{array}{lll}
u_5 &=& 6\eta(
u_2+4
u_3), \\
\phi_1 &=& 6\eta/k, \\
\phi_2 &=& \delta-12\eta/k^2, \\
\tau_1 &=& (\eta+5)/5k, \\
\tau_2 &=& (\eta+2)k^2, \\
\tau_3 &=& -12\eta\varepsilon\,\exp{(-k)(au_1+ au_2)}, \\
\tau_4 &=& 3\eta k^2(au_1^2- au_2^2), \\
\tau_5 &=& 3\eta(\eta+8)/10-2(2\eta+1)^2/k^2, \end{array}$$

de onde se obten:

$$\begin{array}{lll} a_1 &=& 24\eta\varepsilon\,\exp\,(-k)[\alpha_1+\alpha_2+(1+k)\alpha_3]-92\eta+1)^2/\delta^4,\\ a_2 &=& 24\eta[\alpha_3(\mathrm{senh}\,k-k\,\cosh\,k)+\alpha_2\,\mathrm{senh}\,k-\alpha_1\,\cosh\,k]/\delta^4,\\ a_3 &=& 24\eta[(2\eta+1)^2/k^2-\delta^2/2+\alpha_3(\cosh\,k-1-k\,\sinh\,k)-\alpha_1\,\mathrm{senh}\,k+\alpha_2\,\cosh\,k]/\delta^4,\\ b_1 &=& 3\eta(\eta+2)^2/2-12\eta\varepsilon\,\exp\,(-k)[\beta_1+\beta_2+(1+k)\beta_3]/\delta^4,\\ b_2 &=& 12\eta[\beta_3(k\,\cosh\,k-\mathrm{senh}\,k)\beta_2\,\mathrm{senh}\,k+\beta_1\,\cosh\,k]/\delta^4,\\ b_3 &=& 12\eta[\delta^2(\eta+2)/2-3\eta(\eta+2)^2/k^2-\beta_3(\cosh\,k-1-k\,\mathrm{senh}\,k)+\beta_1\,\mathrm{senh}\,k-\beta_2\,\cosh\,k]/\delta^4,\\ v_1 &=& [(2\eta+1)(\eta^2-2\eta+10)/4-\varepsilon\,\exp\,(-k)(\nu_5+\nu_4)]/5\delta^4,\\ v_2 &=& (\nu_4\,\cosh\,k-\nu_5\,\sinh\,k)5\delta^4,\\ v_3 &=& [(\eta^3-6\eta^2+5)\delta-6\eta(2\eta^3-3\eta^2+18\eta+10)/k^2+24\eta\nu_3+\nu_4\,\mathrm{senh}\,k-\nu_5\,\cosh\,k]/5\delta^4. \end{array}$$

A partir de:

$$\begin{array}{lll} p_1 &=& [\varepsilon \exp{(-k)}(\phi_1-\phi_2)^2-(\eta+2)/2]/\delta^2, \\ \\ p_2 &=& [(\phi_1^2+\phi_2^2) \sinh{k}+2\phi_1\phi_2 \cosh{k}]/\delta^2, \\ \\ p_3 &=& [(\phi_1^2+\phi_2^2) \cosh{k}+2\phi_1\phi_2 \sinh{k}+\phi_1^2-\phi_2^2]/\delta^2, \\ \\ t_1 &=& \tau_3+\tau_4a_1+\tau_5b_1, \\ \\ t_2 &=& \tau_4a_2+\tau_5b_2+12\eta(\tau_1\cosh{k}-\tau_2\sinh{k}), \\ \\ t_3 &=& \tau_4a_3+\tau_5b_3+12\eta[\tau_1\sinh{k}-\tau_2(\cosh{k}-1)]-2\eta(\eta+10)/5-1, \end{array}$$

$$\mu_{1} = t_{2}a_{2} - 12\eta v_{2}^{2},$$

$$\mu_{2} = t_{1}a_{2} + t_{2}a_{1} - 24\eta v_{1}v_{2},$$

$$\mu_{3} = t_{2}a_{3} + t_{3}a_{2} - 24\eta v_{2}v_{3},$$

$$\mu_{4} = t_{2}a_{3} - 12\eta v_{1}^{2},$$

$$\mu_{5} = t_{1}a_{3} + t_{3}a_{1} - 24\eta v_{1}v_{3},$$

$$\mu_{6} = t_{3}a_{3} - 12\eta v_{3}^{2},$$

$$\lambda_{1} = 12\eta p_{2}^{2},$$

$$\lambda_{2} = 24\eta p_{1}p_{2} - 2b_{2},$$

$$\lambda_{3} = 24\eta p_{2}p_{3},$$

$$\lambda_{4} = 12\eta p_{1}^{2} - 2b_{1},$$

$$\lambda_{5} = 24\eta p_{1}p_{3} - 2b_{3} - k^{2},$$

$$\lambda_{6} = 12\eta p_{3}^{2},$$
(A.2)

obtem-se:

$$w_{4} = w_{16}^{2} - w_{13}w_{36},$$

$$w_{3} = 2w_{16}w_{15} - w_{13}(w_{35} + w_{26}) - w_{12}w_{36},$$

$$w_{2} = w_{15}^{2} = 2w_{16}w_{14} - w_{13}(w_{34} + w_{25}) - w_{12}(w_{35} + w_{26}),$$

$$w_{1} = 2w_{15}w_{14} - w_{13}w_{24} - w_{12}(w_{34} + w_{25}),$$

$$w_{0} = w_{14}^{2} - w_{12}w_{24},$$
(A.3)

onde

$$w_{ij} = \mu_i \lambda_j - \mu_j \lambda_i \tag{A.4}$$

Apêndice B

A solução do problema de minimização relacionado à equação 4.7, gera o sistema de equações normais [56-57]:

$$(B_{\mu\nu} + \lambda K_{\mu\nu})c_{\nu} = d_{\nu} \tag{B.1}$$

onde $K_{\mu\nu}$ são os elementos da matriz covariante K:

$$K = \begin{pmatrix} 1 & -1 & & & \\ -1 & 2 & -1 & & & \\ & -1 & 2 & -1 & & \\ & & \cdot & & \\ & & \cdot & & \\ & & -1 & 2 & -1 & \\ & & & -1 & 1 & \end{pmatrix}$$
(B.2)

No caso do ITP [57]:

$$B_{\mu\nu} = \sum_{i=1}^{M_{exp}} \chi_{\mu}(q_i) \chi_{\nu}(q_i) / \sigma^2(q_i)$$

$$d_{\mu} = \sum_{i=1}^{M_{exp}} J_m(q_i) \chi_{\nu}(q_i) / \sigma^2(q_i)$$
(B.3)

e no caso do ITR [56]:

$$B_{\mu\nu} = \sum_{i=1}^{M_{exp}} \psi_{\mu}(q_i)\psi_{\nu}(q_i)/\sigma^2(q_i)$$

$$d_{\mu} = \sum_{i=1}^{M_{exp}} J_{m}(q_{i})\psi_{\mu}(q_{i})/\sigma^{2}(q_{i})$$
 (B.4)

Para obter um valor ótimo de λ , deve-se resolver a equação B.1 (ou equivalentemente a equação 4.7) para um conjunto de valores de λ . Para cada solução obtem-se então um valor de L' e $N_{c'}$. A partir destes valores constrói-se a tabela e o gráfico de estabilidade correspondentes [61]. O gráfico de estabilidade consiste no gráfico de $\log N_{c'}$ e L', para cada solução da equação 4.7 ou B.1, correspondente a um valor de λ . Neste gráfico, a função $\log N_{c'}$ apresenta em geral um ponto de inflexão na região próxima ao começo de um forte aumento de L', o que significa uma superestabilização da solução. O valor de λ que corresponde ao ponto de inflexão (ou seja, quando a segunda derivada do $\log N_{c'}$, 2^a d $\log N_{c'}$, passa por um cero e a primeira derivada do $\log N_{c'}$, 1^a d $\log N_{c'}$, é um mínimo.) corresponde ao valor de λ_{opt} . Este valor é determinado a partir da tabela de estabilidade e deve ser escolhido separadamente para cada problema em particular.

Na continuação, serão apresentadas as tabelas e os os gráficos de estabilidade (tabelas B1-B6, gráficos B1-B5) correspondentes aos resultados apresentados nos capítulos 4, 5 e 7 desta tese obtidos utilizando os métodos ITP e ITR.

Tabela B1: tabela de estabilidade correspondente ao cálculo das funções $p_c(r)$, para as amostras de DNA, utilizando o programa ITP.

C	log λ	log N _c	1ª d log Nc	2^a d log N_c	L',
10 g/l	10	-10.2	****	*****	0.2711
20 8/	9.5	-9.4	1.55	-0.158	0.2522
	9	-8.7	1.13	-0.026	0.2198
	8.5	-8.26	0.64	-0.023	0.1921
	8	-8.06	0.288	-0.012	0.1824
	7.5	-7.98	0.128	-0.04	0.1805
	7	-7.93	0.077	-0.011	0.1802
	6.5	-7.9	0.083	0.017	0.1801
	6	-7.85	0.236	0.135	0.180
	5.5	-7.66	0.678	0.031	0.180
	5	-7.17	1.03	0.045	0.1798
	4.5	-6.63	0.896	-0.205	0.1797
	4	-6.3	0.534	-0.13	0.1796
	3.5	-6.1	0.545	0.141	0.1796
J	3	-5.76	0.904	0.218	0.1796
	2.5	-5.2	1.07	-0.051	0.1795
	2	-4.69	1.5	0.484	0.1795
	1.5	-3.69	0.625	-1.36	0.1795
	1	-4.06	****	****	0.1795
20 g/l	13	-14.3	****	****	0.265
	12.50	-13.3	1.99	-0.00338	0.26470
	12.00	-12.3	1.98	-0.0101	0.264
	11.50	-11.4	1.94	-0.0279	0.2618
	11.00	-10.4	1.84	-0.0709	0.2553
	10.50	-9.51	1.61	-0.16	0.2387
	10.00	-8.79	1.19	-0.259	0.2085
	9.50	-8.32	0.692	-0.242	0.1801
	9.00	-8.1	0.318	-0.132	0.169
	8.50	-8	0.139	-0.0477	0.1668
	8.00	-7.96	0.0753	-0.0158	0.1664
	7.50	-7.93	0.0633	0.00385	0.1663
	7.00	-7.89	0.130	0.0629	0.1663
	6.50	-7.80	0.457	0.264	0.1663
	6.00	-7.44	0.956	0.235	0.1662
	5.50	-6.84	1.06	-0.129	0.1661
	5.00	-6.38	0.703	-0.23	0.166
	4.50	-6.14	0.33	-0.139	0.166
	4.00	-6.04	****	****	0.166

Tabela B2:tabela de estabilidade correspondente ao cálculo das funções p(r), para as amostras de PLPC, utilizando o programa ITP.

С	log λ	log Nc	1ª d log Nc	2ª d log Nc	L'
5 % w/w de PLPC	-8.94	****	*****	?	1.923
	9.5	-7.97	1.90	-0.0417	1.902
	9	-7.04	1.79	-0.0710	1.844
	8.5	-6.17	1.61	-0.109	1.704
	8	-5.42	1.33	-0.176	1.426
	7.5	-4.85	0.937	-0.214	1.03
	7	-4.49	0.573	-0.150	0.6919
	6.5	-4.28	0.348	-0.0749	0.5192
	6	-4.14	0.230	-0.0425	0.4534
	5.5	-4.05	0.181	-0.00651	0.4331
	5	-3.96	0.182	0.00724	0.4257
	4.5	-3.86	0.194	0.00507	0.4226
	4	-3.76	0.257	0.0572	0.4213
	3.5	-3.61	0.485	0.171	0.4204
	3	-3.28	0.686	0.0304	0.4196
	2.5	-2.92	0.562	-0.155	0.4187
	2	-2.72	0.285	-0.122	0.4184
	1.5	-2.64	****	****	0.4184
10 % w/w de PLPC	10	-8.39	*****	*****	3.55
	9.5	-7.42	1.89	-0.0488	3.51
	9	-6.50	1.76	-0.0784	3.402
	8.5	-5.66	1.59	-0.0959	3.155
	8	-4.91	1.34	-0.151	2.676
	7.5	-4.32	0.991	-0.198	1.96
	7	-3.92	0.642	-0.151	1.271
	6.5	-3.68	0.394	-0.0965	0.8344
	6	-3.53	0.226	-0.0714	0.6417
	5.5	-3.45	0.119	-0.0363	0.5913
	5	-3.41	0.0812	-0.00115	0.5812
	4.5	-3.37	0.134	0.0535	0.578
	4	-3.28	0.309	0.122	0.5755
	3.5	-3.06	0.452	0.0219	0.5727
	3	-2.82	0.369	-0.105	0.571
	2.5	-2.69	0.184	-0.0805	0.5705
	2	-2.64	0.0696	-0.0341	0.5704
	1.5	-2.62	****	****	0.5704

Tabela B3: tabelas de estabilidade correspondentes aos cálculos realizados, para as amostras de DNA, utilizando o programa ITR.

С	log λ	log N _c	1ª d log Nc	2ª d log Nc	L,
10 g/l	11.0	-6.60	*****	****	1.77
10 6/1	10.5	-5.62	0.194	-0.032	1.75
	10.0	-4.66	0.182	-0.083	1.70
	9.5	-3.79	0.158	-0.155	1.58
	9.0	-3.08	0.127	-0.160	1.37
	8.5	-2.53	0.100	-0.105	1.11
	8.0	-2.08	0.811	-0.088	0.837
	7.5	-1.71	0.649	-0.074	0.596
	7.0	-1.43	0.520	-0.055	0.414
	6.5	-1.20	0.422	-0.042	0.293
	6.0	-1.01	0.422	-0.039	0.222
	5.5	-0.854	0.259	-0.043	0.189
	5.0	-0.746	0.230	0.013	0.177
	4.5	-0.624	0.283	0.013	0.172
	4.0				0.172
		-0.363	0.618	0.095	
	3.5	-0.006	0.639	-0.074	0.161
	3.0	-0.276	0.579	0.014	0.158
BO = ()	2,5	-0.573	****	****	0.157
20 g/l	10	-5.09			2.40
	9.5	-4.14	1.82	-0.0862	2.31
	9	-3.27	1.55	-0.178	2.08
	8.5	-2.58	1.16	-0.218	1.67
	8	-2.11	0.813	-0.126	1.25
	7.5	-1.77	0.638	-0.0499	0.926
	7	-1.47	0.551	-0.0371	0.675
	6.5	-1.22	0.457	-0.0563	0.494
	- 6	-1.02	0.346	0.0545	0.393
	5.5	-0.872	0.319	0.0275	0.351
	5	-0.698	0.474	0.127	0.328
	4.5	-0.398	0.676	0.075	0.305
	4	-0.022	0.713	-0.0381	0.283
	3.5	-0.315	0.609	-0.0658	0.267
	3	-0.587	0.521	-0.0223	0.259
	2.5	-0.836	0.575	0.0758	0.259
	2	-0.116	0.823	0.172	0.255
	1.5	-0.166	****	****	0.251

Tabela B4: tabelas de estabilidade correspondentes aos cálculos realizados, para as amostras de DNA, utilizando o programa ITR (continuação).

С	log λ	log N _c	1ª d log Nc	2ª d log Nc	L'
40 g/l	14	-11.9	****	****	6.41
	13	-9.88	4	-0.0003	6.41
	12	-7.88	4	-0.0038	6.41
	11	-5.89	3.95	-0.0367	6.39
	10	-3.93	3.64	-0.28	6.15
	9	-2.25	2.59	-0.767	4.69
	8	-1.34	1.37	-0.456	2.26
	7	-0.883	0.716	-0.195	0.973
	6	-0.622	0.534	0.0134	0.64
	5	-0.349	0.551	0.0037	0.556
1	4	-0.071	1.30	0.741	0.541
	3	0.948	2.22	0.183	0.519
	2	2.15	1.91	-0.492	0.474
	1	2.86	1.15	-0.265	0.446
	0	3.30	1.27	0.382	0.44
	-1	4.13	1.16	-0.497	0.435
	-2	4.46	0.373	-0.287	0.434
	-3	4.50	****	****	0.434
60 g/l	14	-12.4	****	****	0.552
	13	-10.4	4	-0.0001	5.52
	12	-8.4	4	-0.0014	5.52
	11	-6.4	3.98	-0.0141	5.51
	10	-4.42	3.84	-0.127	0.542
	9	-2.56	3.08	-0.632	4.7
	8	-1.33	1.69	-0.76	2.35
	7	-0.869	0.661	-0.271	0.898
	6	-0.674	0.474	0.0841	0.619
	5	-0.395	0.955	0.396	0.551
	4	0.281	1.39	0.0394	0.5
	3	0.996	1.52	0.0865	0.464
	2	1.8	1.89	0.289	0.445
	1	2.89	1.91	-0.274	0.416
	0	3.7	1.18	-0.447	0.393
	-1	4.07	***	****	0.389

Tabela B5: tabelas de estabilidade correspondentes aos cálculos realizados, para as amostras de DNA, utilizando o programa ITR (continuação).

С	log λ	log N _c	1ª d log N _c	2ª d log N _c	L'
80 g/l	14	-12.1	****	****	7.84
	13	-10.1	4	-0.0001	7.84
	12	-8.13	4	-0.0013	7.84
	11	-6.13	3.98	-0.0132	7.83
	10	-4.14	3.85	-0.12	7.71
ļ	9	-2.28	3.12	-0.616	6.74
	8	-1.03	1.72	0.774	3.48
	7	-0.552	0.819	-0.131	1.49
	6	-0.208	0.729	0.0414	0.885
	5	0.177	0.519	-0.251	0.571
	4	0.311	0.433	0.165	0.541
	3	0.611	1.43	0.83	0.535
	2	1.74	2.36	0.0975	0.52
	1	2.97	1.89	-0.564	0.491
	0	3.63	1.4	0.0728	0.474
	-1	4.36	1.4	-0.075	0.467
	-2	5.02	0.781	-0.539	0.463
	-3	5.15	****	****	0.462
100 g/l	11	-6	****	****	8.74
	10.5	-5.01	1.99	-0.0077	8.71
	10	-4.02	1.95	-0.0236	8.6
	9.5	-3.05	1.86	-0.0669	8.29
	9	-2.15	1.64	-0.157	7.46
	8.5	-1.41	1.23	-0.249	5.75
	8	-0.921	0.764	-0.221	3.64
	7.5	-0.649	0.431	-0.112	2.19
	7	-0.490	0.306	-0.0128	1.5
	6.5	-0.343	0.338	0.0445	1.11
	6	-0.152	0.374	-0.0087	0.792
	5.5	0.0306	0.307	-0.0585	0.577
	5	0.155	0.218	-0.0301	0.49
	4.5	0.249	0.221	0.0329	0.461
	4	0.375	0.346	0.0924	0.445
	3.5	0.595	0.531	0.0924	0.432
	3	0.906	0.644	0.0205	0.42
	2.5	1.24	****	***	0.412

Tabela B6: tabelas de estabilidade correspondentes aos cálculos realizados, para as amostras de DNA, utilizando o programa ITR (continuação).

С	logλ	$logN_c$	1a dlogNc	2ª dlogNc	L'
146 g/l	10	-3.88	****	****	10.3
110 6/.	9.5	-2.91	1.87	-0.0637	9.99
	9	-2.01	1.65	-0.152	9.02
	8.5	-1.26	1.25	-0.25	7
	8	-0.755	0.771	-0.232	4.44
	7.5	-0.485	0.436	-0.103	2.71
	7	-0.319	0.345	0.0126	1.87
	6.5	-0.14	0.376	0.0120	1.28
	6	0.057	0.339	-0.0551	0.771
	5.5	0.199	0.217	-0.0664	0.479
	5	0.199	0.121	-0.0301	0.386
	4.5	0.320	0.0959	0.005	0.363
	4.5	0.370	0.155	0.003	0.354
	3.5	0.474	0.356	_	_
	_			0.148	0.348
	3	0.727	0.614	0.11	0.34
	2.5	1.09	0.762	0.0388	0.332
	2	1.49	0.943	0.142	0.326
non //	1.5	2.03	36 36 36 36 36	****	0.317
202 g/l	10	-4.27			6.59
	9.5	-3.3	1.87	-0.0654	6.36
	9	-2.4	1.65	-0.154	5.74
	8.5	-1.65	1.24	-0.252	4.47
	8	-1.16	0.765	-0.228	2.89
	7.5	-0.887	0.466	-0.0712	1.87
	7	-0.689	0.406	0.0111	1.29
	6.5	-0.481	0.368	-0.049	0.821
	6	-0.322	0.245	-0.0735	0.541
	5.5	-0.236	0.135	-0.0369	0.452
	5	-0.186	0.12	0.0221	0.431
	4.5	-0.11 5	0.203	0.0608	0.421
	4	0.0168	0.293	0.0287	0.413
	3.5	0.177	0.324	0.0023	0.409
	3	0.34	0.352	0.0257	0.407
	2.5	0.529	0.539	0.161	0.405
	2	0.879	0.98	0.28	0.404
	1.5	1.51	1.33	0.0743	0.402
	1	2.21	36 36 36 36 36	****	0.399

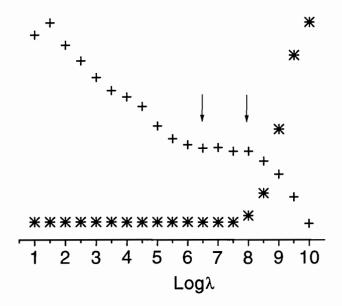


Figura B1: gráfico de estabilidade do programa ITP correspondente à tabela B1 para 10 g/l (log $\lambda_{opt} = 7$). (+) log $N_{c'}$ e (*) L'; as flechas indican o intervalo onde λ_{opt} foi seleccionado.

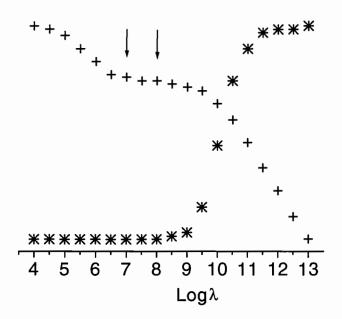


Figura B2: gráfico de estabilidade do programa ITP correspondente à tabela B1 para 20 g/l ($\log \lambda_{opt} = 6.5$). (+) $\log N_{c'}$ e (*) L'; as flechas indican o intervalo onde λ_{opt} foi seleccionado.

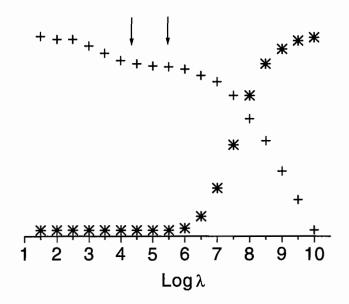


Figura B3: gráfico de estabilidade do programa ITP correspondente à tabela B2 para 5 % w/w de PLPC (log $\lambda_{opt} = 5.5$). (+) log $N_{c'}$ e (*) L'; as flechas indican o intervalo onde λ_{opt} foi seleccionado.

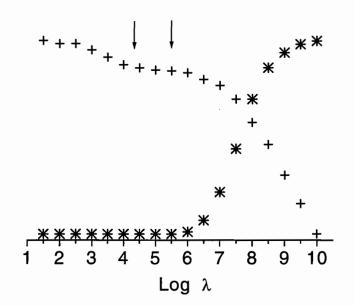


Figura B4: gráfico de estabilidade do programa ITP correspondente à tabela B2 para 10 % w/w de PLPC (log $\lambda_{opt} = 5$). (+) log $N_{c'}$ e (*) L'; as flechas indican o intervalo onde λ_{opt} foi seleccionado.

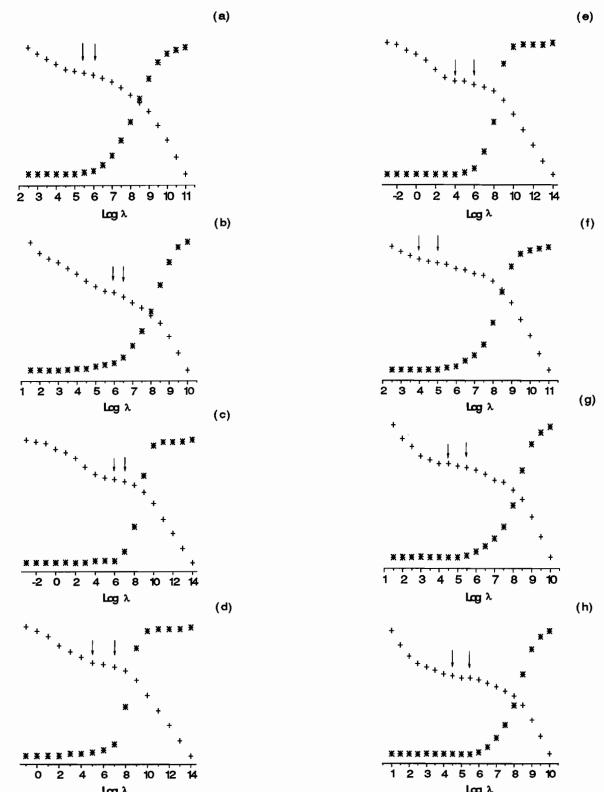


Figura B5: gráfico de estabilidade do programa ITR correspondentes as tabelas B3-B6. (+) log N_c e (*) L'. As flechas indican o intervalo onde λ_{opt} foi seleccionado: (a) 10 (log λ_{opt} = 5), (b) 20 (log λ_{opt} = 6), (c) 40 (log λ_{opt} = 6), (d) 60 (log λ_{opt} = 6), (e) 80 (log λ_{opt} = 4), (f) 100 (log λ_{opt} = 5), (g) 146 (log λ_{opt} = 4.5) e (h) 202 (log λ_{opt} = 5) g/l.

Bibliografia

- [1] Guinier, A.; Fournet, G. Small Angle Scattering of X-ray 1955. Chapman & Hall: London.
- [2] Glatter, O.; Kratky, O. Small Angle X-ray Scattering 1982. Academic Press: London.
- [3] Lenhinger, A. L. Princípios de Bioquímica 1985 Sarvier: São Paulo.
- [4] Strzelecka, T. E.; Rill, R. L. J. Am. Chem. 1987, 109, 4513. Strzelecka, T. E.; Rill, R. L. Macromolecules 1991, 24, 5124.
- [5] Strzelecka, T. E.; Davidson, M. W.; Rill, R. L. Nature 1988, 331, 457.
- [6] Strzelecka, T. E.; Rill, R. L. Biopolymers 1990, 30, 57.
- [7] Spada, G. P.; Brigidi, P.; Gottarelli, G. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1988, 953, 953.
 Gottarelli, G.; Spada, G. P.; Mariani, P.; Miranda de Morais, M. Chilarity 1991, 3, 227.
- [8] Durand, D.; Doucet, J.; Livolant, F. J. de Phys. II (France) 1992, 2, 1765.
- [9] Groot, L. C. A.; Kuil, M. E.; Leyte, J. C.; Van der Maarel, J. R. C.; Heenan, R. K.; King, S. M.; Jannik, G. Liq. Cryst. 1994, 17, 263.
- [10] Livolant, F. Phys. A 1991 176, 117.
- [11] Hamori, E.; Michaels, A. M. Biochim. Biophys. Acta 1971, 231, 469.
- [12] Israelachvili, J. N. Intermolecular and Surfaces Forces 1985 Academic Press: London.

- [13] Arvidson, G.; Brentel, I.; Khan, A.; Lindblom, G.; Fontell, K. Eur. J. Biochem. 1985, 152, 753.
- [14] Mariani, P.; Amaral, L. Q.; Saturni, L.; Delacroix, H. J. Physique II (France) 1994, 4, 1393.
- [15] Vargas, R.; Mariani, P.; Gulik, A.; Luzzati, V. J. Mol. Biol. 1992, 225, 137. Luzzati,
 V.; Vargas, R.; Mariani, P.; Gulik, A.; Delacroix, H. it J. Mol. Biol. 1993, 229, 540.
- [16] Wang, L.; Bloomfield, V. A. Macromolecules 1991, 24, 5791.
- [17] Maier, E. E.; Schulz, S. F.; Weber, R. Macromolecules 1988, 21, 1544.
- [18] Schulz, S. F.; Maier, E. E.; Weber, R.J. J. Chem. Phys. 1989, 90, 7.
- [19] Drifford, M.; Dalbiez, J.P. J. Phys. Chem. 1984, 88, 5368.
- [20] Maier, E. E; Krause, R.; Deggelmann, M.; Hagenbüchle, M.; Weber, R. Macromolecules 1992, 25, 1125.
- [21] Chang, S.; Chen, S.; Rill, R. L.; Lin, J. S. J. Phys. Chem. 1990, 94, 8025. Chang, S.; Chen, S.; Rill, R. L.; Lin, J. S. Colloid Polym. Sci. 1991, 84, 409.
- [22] Van der Maarel, J. R. C.; Groot, L. C. A.; Mandel M.; Jesse, W.; Jannik, G.; Rodriguez, V. J. Phys. II (France) 1992, 2, 109.
- [23] Hayter, J. B.; Penfold, J. Mol. Phys. 1981 42, 109. Mol. Phys. 1982, 6, 651.
- [24] Hansen, J. P.; Hayter, J. B. Mol. Phys. 1982, 46, 651.
- [25] Schneider, J.; Hess, W.; Klein, R. J. Phys. A 1985, 18, 1221.
- [26] Schneider, J.; Hess, W.; Klein, R. Macromolecules 1986, 19, 1729. Schneider, J.; Karrer,
 D.; Dhant, J. K. G.; Klein, R. J. Chem. Phys. 1987, 87, 3008.

- [27] Canessa, E.; D'Aguanno, B.; Weyerich, B.; Klein, R. Mol. Phys. 1991, 73, 175. Weyerich, B.; D'Aguanno, B.; Canessa, E.; Klein, R. Faraday Discuss. Chem. Soc. 1990, 90, 245.
- [28] Hagenbüchle, M.; Weyerich, B.; Deggelmann, M.; Graf, R.; Krause, R.; Maier, E. E.; Schulz, S. F.; Klein, R.; Weber, R.; Physica A, 1990, 169, 29.
- [29] Balmbra, R. R.; Clunie, J. S.; Goodman, J. F. Nature (London) 1969, 222, 1159.
- [30] Eriksson, P. O.; Lindblom, G; Arvidson, G. J. Phys. Chem. 1987, 91, 846.
- [31] Tardieu, A.; Luzzati, V. Biochim. Biophys. Acta 1970, 219, 11.
- [32] Ekwall, P.; Mandell, L; Fontell, K. Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1969 8, 157. Fontell, K. Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1981 59, 63. Wieslander, A. et al. Biochemistry 1981 20, 730. Brentel, I.; Selsteam, E.; Lindblom, G., Biochim. Biophys. Acta 1985 812, 816. Rilfors, L. et al., Biochemistry 1986 25, 7702.
- [33] Luzzati, V.; Reiss-Husson, F. Nature (London) 5043, 1331 (1966). Luzzati, V.; Spegt,
 P. A. Nature 1967 215, 701. Luzzati, V. et al. Nature (London) 1968 220, 485. Luzzati,
 V.; Gulik-Krzyvicki, T.; Tardieu, A. Nature (London) 1968 218, 1031.
- [34] Mariani, P.; Luzzati, V.; Delacroix, H. J. Mol. Biol. 1988, 204, 165.
- [35] Eriksson, P. O.; Lindblom, G.; Arvidson, G. J. Phys. Chem. 1985, 89, 1050.
- [36] Lindblom, G.; Rilfors, L. Biochim. et Biophys. Acta 1989, 988 221.
- [37] Castelletto, V.; Itri, R.; Amaral, L. Q. J. Appl. Cryst. 1996 (in press).
- [38] Castelletto, V.; Itri, R.; Amaral, L. Q.; Spada, G. P. Macromolecules 1995, 28, 8395.
- [39] Taddei, G.; Amaral, L. Q. J. Phys. Chem. 1992 96, 6102.
- [40] Itri, R.; Amaral, L. Q. Phys. Rev. E 1993 47, 2551.
- [41] Itri, R.; Amaral, L. Q. J. Phys. Chem. 1991 95, 423.

- [42] Itri, R.; Amaral, L. Q. J. Appl. Cryst. 1992 27, 20.
- [43] Kotlarchyk, M.; Chen, W J. Chem. Phys. 1983 79, 2461.
- [44] Glatter, O. J. Appl. Cryst. 1979 12, 166.
- [45] Glatter, O. J. Appl. Cryst. 1980 13, 577.
- [46] Marignan, J.; Basserau, P.; Delord, P. J. Phys. Chem. 1986 90, 645.
- [47] Croxton, C. A. Introduction to Liquid State Physics 1975. John Wiley & sons: London.
- [48] Ornstein, L. S.; Zernike, F. Proc. Sect. Sc. K. Ned. Akad. Wet. 1914 17, 793.
- [49] Verwey, E. J.; Overweek, J. Theory of the Stability of Lyotropic Colloids 1948. New York: Elsevier.
- [50] Amaral, L. Q. Tese de Livre Docência apresentada ao IFUSP 1982.
- [51] Perkus, J. K.; Yevick, G. J. J. Phys. Rev. 1958, 110, 1.
- [52] Itri, R. Tese de Doutorado apresentada ao IFUSP 1991.
- [53] Strobl, G. R. Acta Cryst. A 1970 26, 367.
- [54] Singh, M. A., Ghosh, S. S.; Shannon Jr., R. F. J. Appl. Cryst. 1993 26, 787.
- [55] Vonk, C. G. J. Appl. Cryst. 1971 4, 340.
- [56] Glatter, O.; Gruber, K. J. Appl. Cryst. 1993 26, 512.
- [57] Glatter, O. J. Appl. Cryst. 1977 10, 415.
- [58] Moore, P. J. Appl. Cryst. 1980 13, 168.
- [59] Svergun, D. I.; Semenyuk A. V.; Feigin L. A. Acta Cryst. A 1988 44, 244.
- [60] Hansen, S.; Skov Pedersen, J. J. Appl. Cryst. 1991 24, 541.
- [61] Müller, K.; Glatter, O. Makromol. Chem. 1982 183, 465.

- [62] Porod, G. Acta Phys. Austriaca 1948 2, 255.
- [63] Svergun, D. I.; Pedersen, J. S. J. Appl. Cryst. 1994 27, 241.
- [64] Bram, S.; Beeman, W. W. J. Mol. Biol. 1971 55, 311. Luzzati, V.; Masson, F.; Mathis, A.; Saledjian, P. Biopolymers 1967 5, 491.
- [65] Schulz, S. F.; Maier, E. E.; Krause, R.; Weber, R. Progr. Colloid Polym. Sci. 1990 81, 76. Schulz, S. F.; Maier, E. E.; Krause, R.; Hagenbüchle, M.; Deggelmann, M.; Weber, R. J. Chem. Phys. 1990 92, 12. Schulz, S. F.; Maier, E. E.; Hagenbüchle, M.; Graf, C.; Weber, R. Progr. Colloid Polym. Sci. 1991 84, 356.
- [66] Tandford, C. J. Phys. Chem. 1972 21, 3020.
- [67] Gulik, A. et al. J. Mol. Biol. 1985 182, 131.
- [68] Reiss-Husson, F.; Luzzati, V. J. Phys. Chem. 1964 68, 3504.
- [69] Husson, R.; Mustacchi, H.; Luzzati, V. Acta Cryst. 1960 13, 668.
- [70] Hentschke, R.; Herzfeld, J. Phys. Rev. A 1991 44, 1148. Amaral, L. Q.; Gulik, A.; Itri,
 I.; Mariani, P. Phys. Rev. A 1992 46, 3548.
- [71] Mariani, P.; Amaral, L. Q. Phys. Rev. E 1994 50, 1678.
- [72] Taylor, M. P.; Berger, P. A.; Herzfeld, J. J. Chem. Phys. 1989 1, 528.
- [73] Taylor, M. P.; Herzfeld, J. Phys. Rev. A 1991 43, 1892.
- [74] Herzfeld, J. comunicação personal.
- [75] Hoover, W.; Ree, F. J. Cem. Phys. 1968, 49, 3609. Pussey, P. N.; van Megen, W. Nature 1986, 320, 340.
- [76] Schaerlt, W. J. St. Phys. 1995, 79, 299.
- [77] International Tables for X-ray Cristallography The Kynoch Press: England, 1972.

- [78] Luzzati, V Biological Membranes 1968. Academic Press: London.
- [79] Itri, R.; Amaral, L. Q. J. Phys. Chem. 1990, 94, 2198.