UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS

POTENCIAL DE SUPERFÍCIE E CONDUTÂNCIA LATERAL EM FILMES DE LANGMUIR

AILTON CAVALLI

Dissertação apresentada ao Instituto de Física e Química de São Carlos, para a obtenção do título de Mestre em Ciências (Física Aplicada)

Orientador: Prof.Dr.Osvaldo Novais de Oliveira Junior

USP / IFQSC / SBI
[redacted]
0-2-001006

São Carlos - São Paulo
1993

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Instituto de Física e Química de São Carlos

Fone (0162) 72-6222
Fax (0162) 72-2218

Av. Dr. Carlos Botelho, 1465
Caixa Postal 369
CEP 13560.970 - São Carlos - SP
Brasil

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE AILTON CAVALLI APRESENTADA AO INSTITUTO DE FISICA E QUIMICA DE SAO CARLOS, DA UNIVERSIDADE DE SAO PAULO, EM 18/02/1993

COMISSAO JULGADORA:

Prof.Dr.Osvaldo Novais de Oliveira Junior

Prof.Dr.Roberto Mendonça Faria

Profa.Dra.Annette Gorenstein

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao professor Osvaldo Novais de Oliveira Jr., a quem devo toda a orientação e suporte necessário à realização deste trabalho.

Em especial à minha esposa, Vera Cristina Carmesin Cavalli e aos meus pais Alceu e Wanda, pessoas a quem amo, e às quais devo muito do que sou.

Aos docentes do grupo de eletretos, Faria, Mariangela, Lençois, Guilherme e Milton pelo carinho e disposição dispensada. Aos funcionários, Ademir, Bertho e Níbio, a quem devo todo o bom funcionamento da aparelhagem e momentos de alegria. Aos alunos C.J.L.Constantino e D.L.Chinaglia pela ajuda dada para que eu conseguisse terminar o trabalho de redação e impressão a tempo. Aos demais alunos do grupo que nunca faltaram com a ajuda necessária e foram sempre bons amigos. Agradeço também à Profa. Elizabeth Zaniquelli, pela doação de amostras do composto DHP.

Finalmente, devo agradecer à CAPES pelo suporte financeiro através de uma bolsa de estudos, e à FAPESP e CNPq que financiam as atividades de pesquisa de nosso Grupo de pesquisa.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

RESUMO

Filmes de Langmuir de fosfolipídios e ácidos graxos foram caracterizados através de medidas de pressão e potencial de superfície e condutância lateral. O objetivo principal foi o de se fazer um estudo crítico de artigos apresentados na literatura, os quais trazem interpretações errôneas para resultados do potencial de superfície, sugerem a heterogeneidade dos filmes, ou a inexistência do aumento da condutância devido à compressão de um filme de Langmuir. Comprovamos, inicialmente, a homogeneidade macroscópica dos filmes de ácidos graxos e fosfolipídios, medindo-se o potencial com a prova de Kelvin em três posições diferentes. Nenhuma alteração significativa foi registrada. O potencial e a pressão de superfície são nulos para grandes áreas por molécula, sendo que o potencial só se torna não nulo após um aumento abrupto, que ocorre a uma certa área crítica. Estes resultados, juntamente com a ausência de histerese nas medidas de pressão e potencial de superfície nos ciclos de compressão-expansão, denotam a inexistência de agregados de dimensões macroscópicas. Eles contradizem, entretanto, a asserção de alguns pesquisadores na última conferência de filmes Langmuir-Blodgett, de que a presença de domínios microscópicos nos filmes de Langmuir deveria afetar os resultados do potencial de superfície. Podemos concluir, portanto, que quaisquer irreprodutibilidades do potencial de superfície para grandes áreas por molécula devem ser atribuídas a impurezas do sistema de medidas, principalmente da subfase.

As medidas de condutância foram realizadas diretamente, medindo-se a corrente entre dois eletrodos de platina parcialmente imersos na subfase. Para grandes áreas por molécula, a condutância medida é devida à condutividade de volume da água ultra pura, mas quando o filme é comprimido para áreas menores do que uma certa área crítica (a mesma na qual é observado o aumento abrupto do potencial), a condutância sobe até a pressão de superfície começar a subir, atingindo valores da ordem de 10^{-8} S acima da condutância da subfase. Foram realizadas medidas para um fosfolipídio e um fosfato. Com isso, corroboramos os resultados de condutância, da mesma ordem de grandeza, obtidos em Bangor, no Reino Unido, ao mesmo tempo que são refutadas as observações feitas por grupos de pesquisa dos Estados Unidos e da Rússia. As possíveis causas para a não observação da condutância por esses últimos grupos podem ser o efeito do menisco - queda da área imersa dos eletrodos quando do aumento da pressão de superfície - que mascara o aumento da condutância, ou artefatos experimentais, tais como impurezas na subfase.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

ABSTRACT

Langmuir films from phospholipids and fatty acids were characterized using surface pressure, surface potential and lateral conductance measurements. The main aim of this project was to undertake a critical study of articles published in the literature which present erroneous interpretations for surface potential results, suggest non-homogeneity of Langmuir films, or rule out the possible increase in conductance upon the compression of a monolayer. First, we demonstrate that phospholipid and fatty acid monolayers are homogeneous at the macroscopic level, by measuring their surface potential with the Kelvin probe on three different positions. No significant difference was observed. The surface potential and surface pressure are zero for large areas per molecule, and the surface potential only becomes non-zero when an abrupt increase takes place at a given critical area. Together with the absence of hysteresis in the surface pressure and surface potential measurements in the compression-expansion cycles, these results indicate the absence of aggregates (or islands) of macroscopic dimensions. They contradict, however, the opinion of some authors at the last Conference on Langmuir-Blodgett Films, who took the view that the presence of microdomains on Langmuir monolayers should affect the surface potential measurements. We can conclude, therefore, that any non-reproducibility of surface potentials at large areas per molecule must be attributed to impurities in the system, especially in the subphase.

The lateral conductance measurements were performed by measuring the current between two platinum electrodes which were partially immersed into the subphase. For large areas per molecule, the conductance is due to the bulk conductivity of ultra pure water, but when the monolayer was compressed below a given critical area (the same in which a sharp increase in surface potential was observed), the conductance increases until the surface pressure starts to rise, reaching values of the order of 10^{-8} above the water conductance. Measurements were taken for one phospholipid and one phosphate. This corroborates the results published by the Bangor Group (UK), at the same time that observations made by an American Group and a Russian Group are contradicted. The possible causes for these groups being unable to observe the increase in conductance can be the meniscus effect - caused by the decrease of the electrodes immersed area when the pressure rises - which overrun the conductance increase, and/or experimental artifacts, possibly caused by impurities in the subphase.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFOSC
FÍSICA

INDICE

CAPÍTULO I INTRODUÇÃO.....1

CAPÍTULO II UMA BREVE INTRODUÇÃO AOS FILMES DE LANGMUIR. .....

2.1 INTRODUÇÃO.....4
2.2 PRESSÃO DE SUPERFÍCIE.....6
2.3 POTENCIAL DE SUPERFÍCIE.....7
2.3.1 MODELO DEMCHAK E FORT.....10
2.3.2 MODELO VOGEL E MOEBIUS.....13
2.4 DUPLA CAMADA.....14
2.5 CONDUTÂNCIA.....15
2.6 CONCLUSÃO.....17

CAPÍTULO III PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....

3.1 INTRODUÇÃO.....18
3.2 SALA LIMPA.....18
3.3 CUBA DE LANGMUIR.....19
3.4 SISTEMA DE PURIFICAÇÃO DA ÁGUA.....20
3.5 MEDIDAS DE PRESSÃO DE SUPERFÍCIE.....22
3.6 MEDIDAS DE POTENCIAL DE SUPERFÍCIE.....23
3.7 MEDIDAS DE CONDUTÂNCIA LATERAL.....25
3.8 ADSORÇÃO DE FILMES NA SUPERFÍCIE DA ÁGUA.....26
3.9 CALIBRAÇÃO DA APARELHAGEM.....28
3.9.1 CALIBRAÇÃO DA BALANÇA DEPRESSÃO.....28
3.9.2 CALIBRAÇÃO DA PROVA DE KELVIN (PPS).....29

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

CAPÍTULO IV MEDIDAS DE POTENCIAL E HOMOGENEIDADE.....

4.1 INTRODUÇÃO.....30
4.2 HOMOGENEIDADE MACROSCÓPICA.....32
4.2.1 RESULTADOS.....32
4.2.2 EXEMPLOS DE HISTERESE (LIGNINAS).....39
4.2.3 CONCLUSÃO.....40
4.3 INTERPRETAÇÃO QUANTITATIVA DE MEDIDAS DE POTENCIAL.....41
4.3.1 ANÁLISE QUANTITATIVA DOS RESULTADOS DE POTENCIAL 43
4.3.2 PROBLEMAS DE INTERPRETAÇÃO - UM EXEMPLO - 44
4.4 CONCLUSÃO.....45

CAPÍTULO V CONDUTÂNCIA.....

5.1 INTRODUÇÃO.....47
5.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS APRESENTADOS NA LITERATURA.....48
5.3 RESULTADOS.....51
5.4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....55

CAPÍTULO VI CONCLUSÃO.....

6.1 CONCLUSÕES.....58
6.2 TRABALHOS FUTUROS.....59

APENDICE A A1
REFERÊNCIAS 60

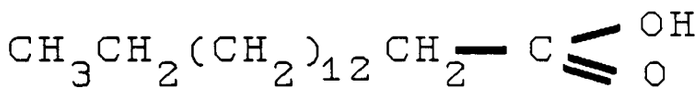
ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1.1 Redução da dimensão dos circuitos a partir de 1940 -2-
Fig 2.1 Moléculas constituintes de filmes de Langmuir com suas partes. Fases de crescimento do filme de Langmuir que vai da gasosa para a condensada por diminuição da área superficial . . . . . -5-
FIG 2.2 Diagrama esquemático da cuba adquirida da KSV com os dispositivos de compressão e caracterização do filme de Langmuir . . . . . -6-
Fig 2.3 Esquema utilizado no cálculo da equação de Helmholtz para o tratamento de filmes de Langmuir na fase líquida condensada . . . . . -9-
Fig 2.4 Curva do ácido esteárico. A fase gasosa vai até a pressão começar a subir, a fase condensada é determinada na subida íngreme, e a fase expandida se encontra no intervalo entre a fase gasosa e a condensada . . . . -12-
Fig 3.1 Diagrama esquemático do sistema utilizado para medidas de potencial e pressão de superfície e condutância lateral. . . . . -19-
Fig 3.2 Principio de funcionamento da eletrobalança com sensor de Wilhelmy adquirida da KSV . . . . . -22-
Fig 3.3 Principio de funcionamento da prova de potencial de Kelvin adquirida da KSV . . . . . -23-
Fig 3.4 Circuito básico do método nulo . . . . . -24-
Fig 3.5 Circuitos esquemático e equivalente das medidas de condutância lateral . . . . . -25-
Fig 3.6 Curva de pressão de superfície mostrando o colapso de um filme. As moléculas são absorvidas pela água. . . -28-
Fig 4.1 Formação de agregados. Vista superior da Cuba de Langmuir . . . . . -30-
Fig 4.2 curvas do ACA $\Delta V x \Pi x A$ para velocidade de 30-50-100 mm/min . . . . . -34-
Fig 4.3 Gráfico $\Delta V x \Pi x A$ do ácido palmítico, ACP . . . . . -35-

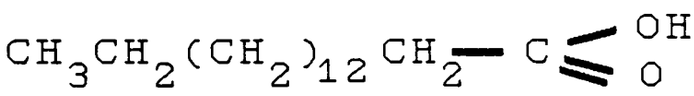
Fig 4.4 gráfico do DSPC com velocidades de 30-50 mm/min e 150 mm/min abaixando para 50 mm/min . . . . . -36-
Fig 4.5 Gráfico do DMPC com velocidades de compressão 30-50-100 mm/min . . . . . -37-
FIg 4.6 Ciclo de histerese do DSPC realizada com uma velocidade de 10mm/min . . . . . -38-
Fig 4.7 curva de lignina apresentada no relatório de iniciação científica do aluno C. J. L. Constantino . . . . . -39-
Gig 4.8 Vogel e Moebius, utilizando dois ácido obtiveram curvas identica para Π, mas não para ΔV. . . . . -42-
Fig 4.9 Resultados obtidos por Smaby e Brockmann. (○) 1,2 difitanoil GPC, (■) 1,2 dilauroil GPC, (◇) 1,3 dioleilglicerol, (◆) 1 palmitoil 2 oleil GPS, (□) oleil nitrila e (●) N oleiletanolamina . . . . . -45-
Fig 5.1 Gráfico do ácido esteárico mostrando o aumento da condutância . . . . . -50-
Fig 5.2 Resultados obtidos pelo grupo de Menger . . . . . -50-
Fig 5.3 diagrama esquemático dos eletrodos utilizados pelo grupo russo. 1 eletrodos de corrente, 2 eletrodos de potencial, 3 barreiras flutuantes, 4 barreiras móveis, 5 cuba de Langmuir . . . . . -51-
Fig 5.4 Gráfico da condutância lateral do DMPC. Note que os valores são próximos aos obtidos em Bangor . . . . . -53-
Fig 5.5 Gráfico do DHP mostrando o incremento da condutância lateral da interface água-filme . . . . . -54-
Fig 5.6 Gráfico ΔGxΔVxΠxA do DMPC. Note que a condutância incrementa na mesma região da subida abrupta do potencial . . . . . -55-

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

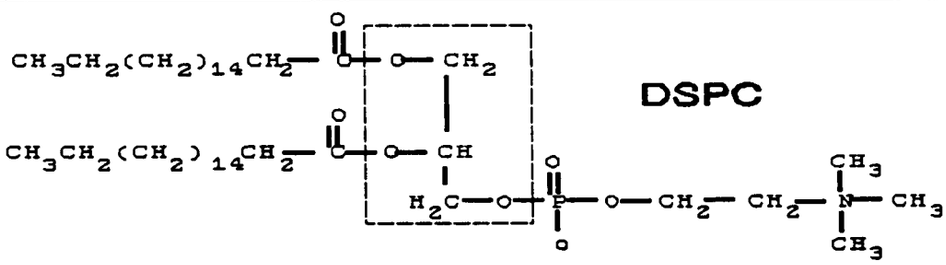
COMPOSTOS USADOS



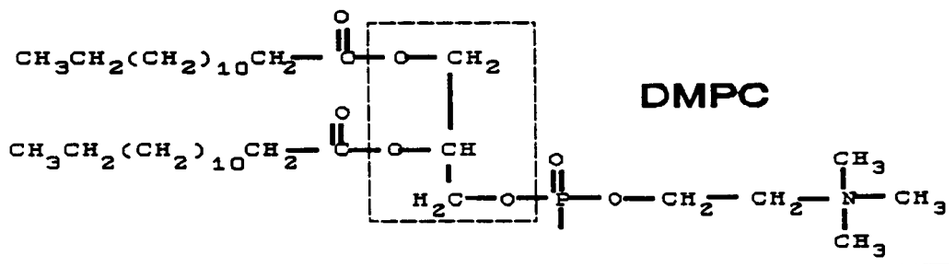
ACP



ACP



DSPC



DMPC

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Filmes de Langmuir são filmes formados a partir de moléculas anfipáticas adsorvidas em um líquido de alta tensão superficial, com espessura de uma camada molecular. Embora somente neste século tais filmes tenham sido estudados extensivamente, o fenômeno da formação de filmes sobre a água é conhecido desde antes da era cristã. A técnica japonesa de impressão suminagashi, por exemplo, constituia-se na produção de filmes sobre a superfície da água, depositando-se uma quantidade de proteínas e outras substâncias orgânicas sobre a superfície, corando-a [1]. Os padrões formados na técnica suminagashi eram utilizados para se compreender a vida e prever o futuro. Já no final do século XVIII, Benjamin Franklin [2], preocupado em acalmar mares bravios, foi o primeiro a estudar cientificamente o espalhamento de óleo na superfície da água, partindo das observações feitas por Aristóteles na antiga Grécia.

Foi Lord Rayleigh que aventou, pela primeira vez, a possibilidade de uma gota de óleo se espalhar até atingir a espessura de uma única molécula [3]. Entretanto foi Agnes Pockels [2] quem conseguiu confirmar a hipótese medindo a espessura da camada com um aparato que é conhecido hoje como cuba de Langmuir [2]. Irving Langmuir [3], um notório cientista e ganhador do Premio Nobel em Química no ano de 1932, deu um grande salto no estudos de filmes finos. Reunindo dados experimentais e teóricos, descreveu importantes características dos filmes. Inventou um conjunto de novas técnicas para a caracterização dos filmes, incluindo a balança de pressão à qual está associado o seu nome - balança de pressão de Langmuir - e também a técnica de deposição do filme em um substrato sólido. Sua assistente na época, Katharine Blodgett [2], aperfeiçou a técnica de deposição em substratos sólidos, permitindo que várias camadas fossem depositadas num mesmo

substrato. Assim, hoje o nome filme de Langmuir é empregado para filmes orgânicos com espessura de uma única molécula depositados em uma subfase líquida, enquanto o nome filme Langmuir-Blodgett (filme LB) é empregado para os filmes de Langmuir depositados em substrato sólido.

Cientistas retomaram nos anos 60 e 70 o processo de fabricação de filmes ultra finos pela técnica de Langmuir-Blodgett, que estava esquecida por um longo período. A principal virtude dessa tecnologia é o amplo espectro de aplicação na pesquisa básica, como para a síntese de novos compostos orgânicos, já que compostos para formação dos filmes estão na fronteira das pesquisas em ciência dos materiais, ou na compreensão das membranas celulares, pois filmes de Langmuir servem como um modelo simples das membranas. Além disso, um campo muito promissor é o da fabricação de sensores a partir da técnica de Langmuir-Brodgett, já que os filmes possuem uma espessura fina e muito bem determinada. Alguns autores [4] prevêem que a utilização dos filmes LB na confecção de circuitos, deve ocorrer por volta do ano 2020, ocasionando uma diminuição no tamanho dos circuitos eletrônicos. Esta previsão é baseada na diminuição das dimensões de circuitos ao longo do tempo, como mostra a Fig. 1. Como podemos ver, o universo de aplicações dos filmes LB e filmes de Langmuir é vasto e ocupa espaços nas mais diversas áreas, incluindo física, biologia, química e em várias áreas

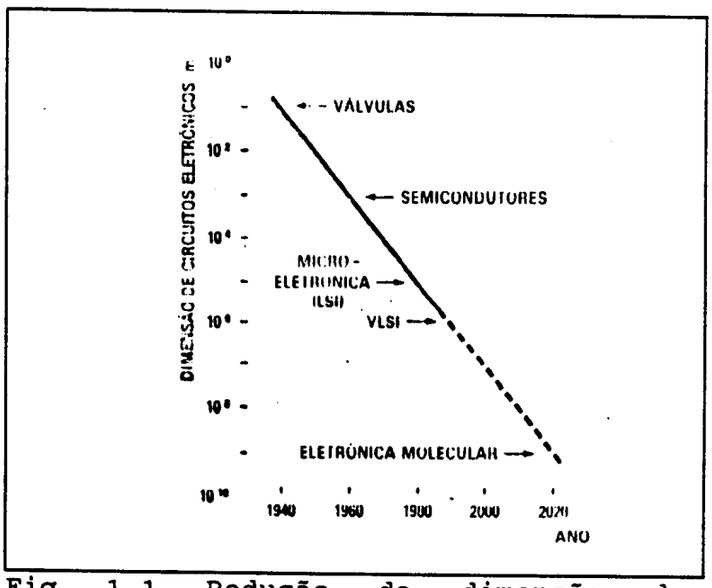


Fig 1.1 Redução da dimensão dos circuitos a partir de 1940

interdisciplinares. O estudo e caracterização destes filmes é uma aventura maravilhosa diante deste universo.

Ocupamo-nos até agora com uma breve história dos filmes LB e suas aplicações. No capítulo seguinte faremos uma revisão das principais técnicas para a caracterização de filmes de Langmuir, preparando os leitores para o entendimento dos resultados e discussão sobre eles. Nele traremos o conceito de pressão de superfície, de potencial de superfíce e de condutância lateral. Apresentaremos os principais modelos para explicar as medidas de potencial nos filmes e mostraremos as controvérsias que estão ocorrendo sobre medidas de condutância lateral. No capitulo III mostraremos nossos procedimentos experimentais, assim como nossos equipamentos. Será enfatizada a necessidade de limpeza para obtenção de bons resultados, ressaltando ainda o processo de calibração da balança de pressão e da prova de potencial. Os resultados e a técnica envolvidos para verificar (ou não) a homogeneidade macroscópica dos filmes de Langmuir formados de ácidos graxos e fosfolipídios, assim como uma anáÍise do potencial de superfície, serão apresentados no Capítulo IV. No Capítulo V, discutiremos os principais artigos da controvérsia sobre os resultados da condutância lateral, fazendo uma análise sobre seu conteúdo. Apresentaremos nossa técnica experimental assim como os resultados obtidos com ela, compararemos estes resultados com os resultados dos artigos e tentaremos por um fim à controvérsia. No capítulo VI são apresentadas as principais conclusões do trabalho, e os possíveis trabalhos que podem ser realizados no futuro.

CAPÍTULO II

UMA BREVE INTRODUÇÃO AOS FILMES DE LANGMUIR

2.1 INTRODUÇÃO

O termo filme de Langmuir é usado para definir um filme orgânico monomolecular, ou monocamada, sobre a superfície de um líquido, geralmente água [1]. O nome foi dado em homenagem ao notório cientista Irving Langmuir, cujo trabalho - tanto teórico quanto experimental - foi fundamental para a consolidação desta área de pesquisa [5]. Foi ele quem introduziu o emprego de substâncias puras, principalmente ácidos graxos, para a fabricação dos filmes, ao invés dos óleos utilizados até então. As substâncias que formam filmes de Langmuir são imiscíveis com a subfase aquosa. São constituídas de moléculas anfipáticas (Fig 2.1), ou seja, moléculas que possuem uma parte hidrofóbica e outra hidrofílica. A parte hidrofóbica, geralmente formada por cadeias alifáticas, é responsável pela não absorção das moléculas. A parte hidrofílica (polar) da molécula é responsável pelo espalhamento do filme, isto é, as moléculas devem ser atraídas mais fortemente pela água do que pelas outras moléculas [5].

Filmes de Langmuir são geralmente obtidos através da dissolução da substância apropriada em um solvente orgânico volátil, seguida da deposição de uma pequena quantidade da solução (em geral 50 a 100 μl) sobre a superfície aquosa. Para que o filme seja tão fino a atingir a espessura de uma molécula, esta superfície deve ser suficientemente extensa. A solução espalha-se sobre toda a superfície, e o solvente evapora-se em poucos minutos. Se a quantidade de moléculas for pequena, o filme estará no chamado estado gasoso, onde não há interações entre as moléculas ou estas interações são tão fracas que podem ser desprezadas. A tensão superficial da subfase aquosa não sofre alteração. Se a superfície

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

disponível para o filme for diminuída, através da compressão do filme com uma barreira móvel, as moléculas passarão a interagir à medida que a área média por molécula diminuir, o que provocará mudanças na tensão superficial. Como será visto mais tarde, podem ser definidas várias fases para a monocamada.

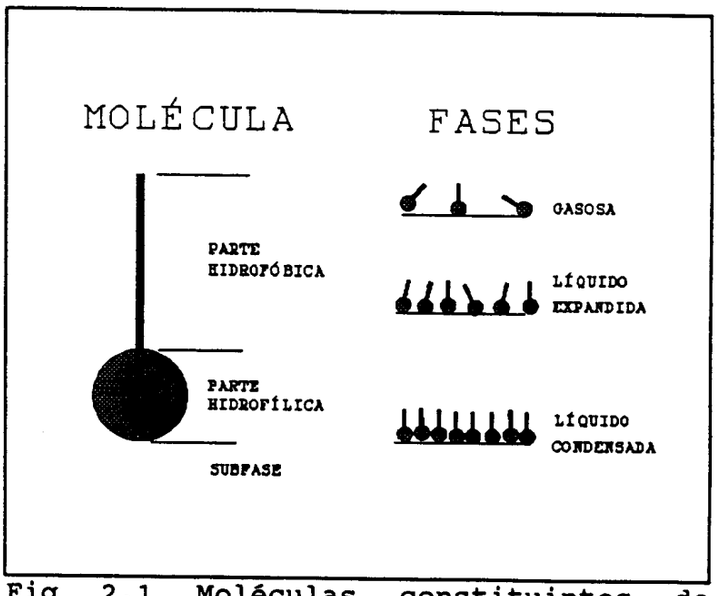


Fig 2.1 Moléculas constituintes de filmes de Langmuir com suas partes. Fases de crescimento do filme de Langmuir que vai da gasosa para a condensada por diminuição da área superficial

Os filmes de Langmuir são produzidos em uma cuba (Fig 2.2), chamada Cuba de Langmuir, que consiste basicamente de um reservatório para a subfase, barreiras móveis que restringem em uma dada área apenas o filme e sensores para a caracterização. As principais técnicas para a caracterização dos filmes são as medidas de pressão de superfície (variação da tensão superficial devido à presença do filme) e de potencial de superfície, que serão discutidas nas próximas sub-seções.

Embora os filmes possam ser depositados em vários líquidos de alta tensão superficial (como o mercúrio, por exemplo), todo o estudo destes filmes se concentra atualmente naqueles depositados sobre subfases aquosas. Isto se deve ao fato de que é muito mais fácil e barato obter água purificada em grandes quantidades. Subentende-se por subfase aquosa, água pura ou soluções com sais e outros compostos, quando se deseja variar a concentração iônica e o pH da subfase.

2.2 PRESSÃO DE SUPERFÍCIE

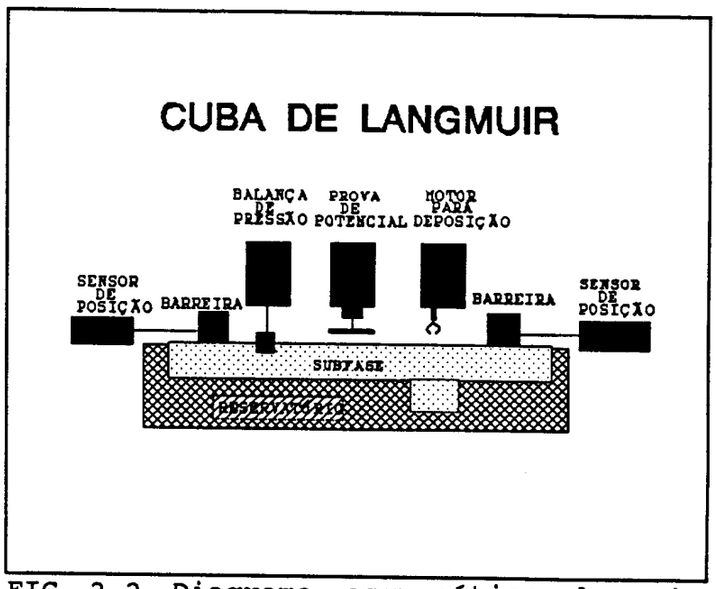


FIG 2.2 Diagrama esquemático da cuba adquirida da KSV com os dispositivos de compressão e caracterização do filme de Langmuir

A adsorção de moléculas anfipáticas sobre a superfície de um líquido faz decrescer a sua tensão superficial [6], pois a tendência destas moléculas de se empacotarem em uma determinada região estará em comunhão com a tendência da superfície do líquido puro se contrair. Ou seja, sendo Π a pressão repulsiva (positiva se o filme tende a se espalhar) da camada adsorvida, a tensão superficial decrescerá, e a nova tensão superficial poderá ser calculada de

$$\pi = \sigma_0 - \sigma \qquad (1)$$

A pressão de superfície é então definida pela diferença entre a tensão superficial da água pura, σ_0, e a tensão superficial da água com as moléculas adsorvidas σ.

A medida da pressão serve não apenas para detectar a presença de um filme de Langmuir, como também para determinar as fases deste filme. Podemos distinguir, numa curva de pressão de superfície versus área por molécula, três estágios do crescimento do filme. Estas fases são ilustradas na Fig. 2.1 para um filme de ácido esteárico, um dos compostos mais tradicionais para o estudo de filmes de Langmuir. O ácido esteárico serve, em muitos casos, como material padrão para se checar o bom funcionamento de equipamentos, uma vez que seu comportamento é bem conhecido. A fase gasosa é

determinada pela ausência de interação entre as moléculas do filme, que estão muito distantes umas das outras. Nesta fase os sensores não acusam a presença do filme, sendo a tensão superficial constante e igual à da subfase. A fase líquido-expandida ou apenas fase expandida ocorre para grandes áreas por molécula, mas as moléculas interagem entre si e com a água; a pressão nesta fase começa a subir para valores maiores que 1 mN/m. A terceira fase é conhecida como fase líquido-condensada e é a fase de maior organização do filme. A pressão aumenta rapidamente, sendo que uma pequena diminuição da área por molécula acarreta em um grande incremento na pressão. Após essa fase, as moléculas começam a subir umas sobre as outras desorganizadamente e são absorvidas na subfase, fenômeno ao qual damos o nome de colapso.

Para moléculas mais complexas, a interpretação - mesmo qualitativa - das curvas de pressão de superfície é bastante difícil. As curvas de pressão servem para checar a adsorção das moléculas, assim como a menor área que cada molécula pode ocupar. Em alguns casos é possível também obter informações sobre o rearranjo das moléculas durante a compressão [2].

2.3 POTENCIAL DE SUPERFÍCIE

As moléculas constituintes dos filmes de Langmuir possuem momentos de dipolo permanentes que fazem com que uma monocamada possa ser considerada como sendo uma camada de dipolos, isto é, o filme pode ser tratado como um dielétrico em um capacitor. Considerando uma distribuição homogênea de dipolos elétricos em um plano infinito em um capacitor de placas paralelas [8], temos que a capacitância é:

$$C = \frac{D\epsilon_0 A}{l} \qquad (2)$$

onde A é a área das placas, l é a distância entre as placas, D a constante dielétrica do meio e ϵ_0 a permissividade do vácuo. Sendo

a capacitância igual à razão da carga total pelo potencial entre as placas, C = Q/V podemos escrever:

$$\Delta V = \frac{Ql}{D\epsilon_0 \cdot A} \tag{3}$$

Lembrando que o momento de dipolo é μ = Ql temos que:

$$\Delta V = \frac{1}{D\epsilon_0 A}\mu_\perp \tag{4}$$

onde A é a área que o dipolo ocupa.Esta é a equação de Helmholtz. Aqui, ΔV é a diferença de potencial entre as placas do capacitor, $\mu_\perp$ é a componente vertical do momento de dipolo, em relação ao plano da água, de cada molécula.

Uma outra forma de se deduzir a equação de Helmholtz é através da lei de Coulomb [7]. Para um observador que está muito longe do dipolo (Fig. 2.3), o potencial V_1, devido a todos os dipolos é obtido de:

$$V_1 = \int \frac{\mu \cos\rho}{4\pi D\epsilon_0 r_m^2} N \; dS = \frac{\mu N}{2D\epsilon_0}\int_o^\infty \frac{r\cos\rho}{r_m^2} \; dr \tag{5}$$

onde μ é o momento de dipolo, ρ o ângulo entre o momento e a vertical, r_m a distância do dipolo ao observador. Varrendo o plano de dipolo temos:

$$V_1 = \frac{\mu N}{2D\epsilon_0} \tag{6}$$

Se ambos os meios, à esquerda do plano e à direita do plano forem iguais, a diferença de potencial entre eles é $\Delta V = \mu N/D\epsilon_0$, onde N é o número de moléculas por unidade de área, e $D\epsilon_0$ é a permeabilidade do meio. Assim deduz-se a equação do potencial de superfície para um plano de dipolos. Essa equação foi utilizada para determinar o momento de dipolo de filmes de Langmuir.

A medida do potencial de superfície é, em geral, feita com uma prova de Kelvin ou prova do capacitor vibrante, onde uma das placas do capacitor vibra acima da superfície da água e a outra é a própria superfície da água. Esta última serve como referência, cujo potencial é determinado por uma placa metálica imersa na subfase. O potencial de um filme de Langmuir é a diferença entre as medidas da superfície aquosa recoberta com o filme menos o potencial medido para a água pura. Este último potencial é aproximadamente (-380 ± 40) mV, quando medido com uma prova de Kelvin de platina, e eletrodo de referência também de platina.

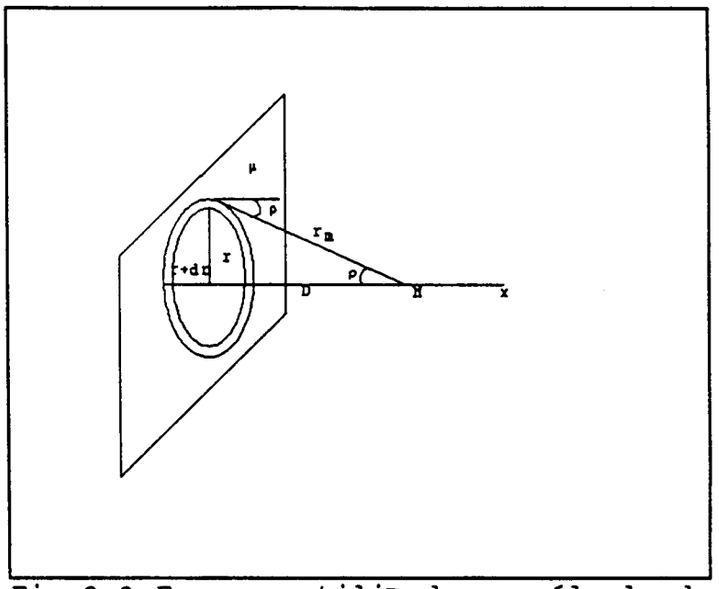


Fig 2.3 Esquema utilizado no cálculo da equação de Helmholtz para o tratamento de filmes de Langmuir na fase líquida condensada

Qualquer análise dos resultados experimentais- como o do potencial de superfície- se torna mais fácil se o filme é estudado em sua fase condensada (máximo empacotamento). Nesta situação, a orientação de cada molécula é em geral perpendicular à superfície da água, com isto, é possível, conhecendo a estrutura da molécula, estimar a componente vertical do momento da dipolo. A aplicação da fórmula de Helmholtz daria, então, o valor previsto para o potencial de superfície. Ocorre que os valores de potencial calculados pela fórmula de Helmholtz, a partir dos valores conhecidos para os momentos de dipolo das moléculas dos compostos alifáticos tradicionais, como ácidos graxos, álcoois e ésteres, são muito superiores aos medidos experimentalmente [9]. A razão usualmente dada para esta discrepância é um valor incorreto da

constante dielétrica do meio [10]. A impossibilidade de se explicar os resultados experimentais quantitativamente fez com que vários modelos para o potencial de superfície fossem propostos. Os mais importantes serão discutidos a seguir.

2.3.1 MODELO DE DEMCHAK E FORT

O modelo de Helmholtz foi inicialmente aperfeiçoado por Davies e Rideal [11], que propuseram que o momento de dipolo das moléculas anfipáticas que constituem o filme de Langmuir fosse dividido em três contribuições. Estas seriam devido à cabeça hidrofílica, à cauda hidrofóbica e à reorientação das moléculas da subfase aquosa. Um refinamento deste modelo foi proposto por Demchak e Fort [12], para quem o filme de Langmuir deveria ser tratado como um dielétrico de três camadas, cada qual possuindo uma constante dielétrica própria. A componente vertical do momento de dipolo $\mu_\perp$ é, então, escrita como

$$\mu_\perp = \frac{\mu_1}{D_1} + \frac{\mu_2}{D_2} + \frac{\mu_3}{D_3} \qquad (7)$$

O sub índice 1 indica a contribuição da reorientação das moléculas da água, o sub índice 2 a contribuição da cabeça polar (α) e o sub índice 3 a contribuição da cauda apolar (Ω). Os vários parâmetros da Eq. (6) foram obtidos por Demchak e Fort utilizando medidas com vários compostos, em que ora era trocado o terminal α, ora trocado o terminal Ω.

Usando dados da literatura para os valores dos momentos de dipolos do terminais α e Ω, DF obtiveram os valores de $D_3 = 5.3$ e $D_2 = 7.6$, sendo que ajustaram a contribuição da reorientação das moléculas da água em 40mD para explicar os resultados dos potenciais medidos.

A utilização dos parâmetros obtidos por DF para compostos alifáticos foi contestada por Oliveira et al [10], que consideraram excessivamente alto o valor 5.3 para a constante dielétrica D_3.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC

Baseados em estudos apresentados na literatura, de potenciais de filmes obtidos a partir de compostos halogenados [13], Oliveira et al analisaram resultados da parte apolar, em que apenas os terminais Ω eram mudados. Como μ_1/D_1 e μ_2/D_2, não eram alterados, foi possível obter D_3 a partir dos valores de μ_3. Observou-se que com $D_3 = 2.8$, os momentos μ_3 aproximam-se dos valores publicados por Smyth [13] na literatura como mostra a tabela abaixo. Vê-se também que os valores de μ_3 obtidos do modelo DF são excessivamente altos, por causa da constante D_3 por eles utilizada.

Com o valor mais correto de D_3 obtido por Oliveira et al, foi necessário modificar os outros parâmetros. O valor de $D_2 = 7.6$ proposto por DF foi trocado pelo valor D_2=6.4 por Oliveira.

compostos	$\mu_3(C^+-X^-)$		
	Smyth	DF	Oliveira
$Cl-(CH_2)_{15}COOH$	1.87-2.16	3.10	1.45
$Br-(CH_2)_{15}COOH$	1.81-2.20	3.88	1.86
$Br-(CH_2)_{15}COOH$	1.81-2.20	3.88	1.86
$Br-(CH_2)_{15}COOH$	1.81-2.20	3.95	1.88
$I-(CH_2)_{15}COOH$	1.62-2.12	3.95	1.88
$Br-(CH_2)_{17}COOH$	1.81-2.20	3.36	1.58

Os trabalhos discutidos acima se referiam apenas a filmes no estado condensado. Análises de potenciais de filmes expandidos (grandes áreas por molécula) eram complicadas por dois fatores principais: i) desconhecimento da orientação das moléculas e ii) irreprodutibilidade dos resultados na fase expandida. Com o avanço nos métodos de purificação da água, com a remoção de traços de impurezas indesejados, foi possível obter resultados reprodutíveis também para filmes expandidos [14]. Em um artigo recente, Oliveira

et al [15] estenderam a utilização do modelo de Demchak e Fort para a fase gasosa no ácido esteárico (Fig 2.4).

A análise quantitativa realizada foi possível a partir de uma importante constatação: o aumento abrupto no potencial de superfície a uma certa área crítica, A_c, é causado por um decréscimo - também abrupto - da constante dielétrica da interface filme água. Chegou-se a esta conclusão porque a reorientação dos dipolos elétricos não poderia ser tão drástica nessa região. Na área crítica a área disponível para cada molécula é relativamente restrita, de forma que a molécula nesta região já se encontra parcialmente orientada. Ainda é proposto neste artigo, que na região crítica as contribuições devidas à reorientação da água, da cauda apolar e da dupla camada praticamente se anulam para o ácido esteárico.

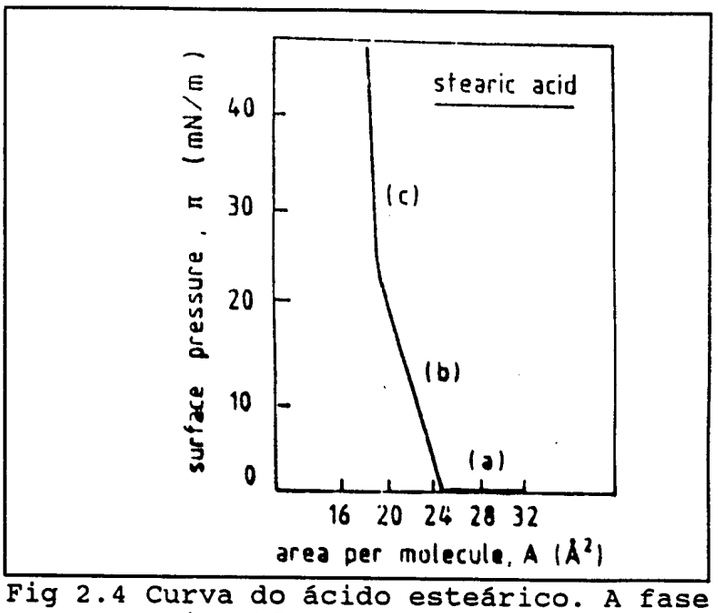


Fig 2.4 Curva do ácido esteárico. A fase gasosa vai até a pressão começar a subir, a fase condensada é determinada na subida íngreme, e a fase expandida se encontra no intervalo entre a fase gasosa e a condensada

O modelo de Demchak-Fort também está sendo utilizado para filmes adsorvidos na superfície da água (que não são filmes de Langmuir). Dynarowicz e Paluch [16,17] realizaram medidas de potencial em soluções de ácido acético, cloro-dicloro acético, ácido tricloroacético e álcoois. Adotando o mesmo procedimento de DF, elas obtiveram valores de D_2 = 4.2 e D_3 = 2.4 (1.7 para os álcoois) para um ajuste de μ_1/D_1 entre 100 e 200 mD [16], e no caso da solução de grupos aromáticos os resultados levaram a D_2 = 1.4 ou 1.8 e D_3 = 1.0 para um ajuste da contribuição da água igual a

100 mD [17]. Como era de se esperar, D_2 é consistentemente mais alto do que D_3, como também ocorre para os filmes de Langmuir. Uma comparação entre os valores numéricos, entretanto, não é possível porque mesmo para os filmes de Paluch e Dynarowicz, não parece haver coerência nos dados de D_2 ou de D_3. Com isso, qualquer comparação dos valores de μ_1/D_1 com os obtidos de filmes de Langmuir, também fica prejudicada.

2.3.2 MODELO DE VOGEL E MOEBIUS

Uma interpretação alternativa para o potencial de superfície de filmes de Langmuir foi proposta em 1988 por Vogel e Moebius [18]. Eles consideraram apenas duas (ao invés de 3 como no modelo DF) interfaces envolvidas, uma entre o ar e o filme e outra entre o filme e a água. Este modelo tem a vantagem de eliminar os parâmetros associados à reorientação das moléculas da água, já que estes parâmetros são desconhecidos, e são sempre obtidos do ajuste de resultados experimentais. Entretanto, a incorporação do efeito da subfase na contribuição da interface filme-água elimina a possibilidade de se examinar as contribuições separadas das cabeças hidrofílicas, cujos momentos de dipolo são usualmente conhecidos e tabelados. A contribuição da interface ar filme, para o momento de dipolo elétrico total, foi denominada μ^{ω} e a contribuição da interface filme-água, que inclui as contribuições da reorientação das moléculas da água, da dupla camada - que será discutida a seguir - e da cabeça polar, foi denominada μ^{α}. As constantes dielétricas não aparecem explicitamente na parametrização do momento de dipolo, pois já estão embutidas nas contribuições efetivas:

$$\mu_{\perp}=\mu^{\omega}+\mu^{\alpha} \qquad (8)$$

Comparando os modelos de Demchak e Fort e o de Vogel e Moebius vemos que a contribuição da interface ar-filme equivale à contribuição μ_3/D_3 do modelo DF e a contribuição da interface filme-

água equivale a $\mu_2/D_2 + \mu_1/D_1$ do modelo DF e inclui também a dupla camada.

2.4 DUPLA CAMADA

Alguns filmes de Langmuir são ionizados, ou parcialmente ionizados, dependendo do pH da subfase. Havendo ionização, aparece uma dupla camada constituída pelos grupos ionizados na camada e pelos contra-íons na subfase, pois haverá uma migração de cargas na subfase em direção à superfície, para compensar a densidade de carga líquida do filme. Esta dupla camada contribui para o potencial ΔV, podendo inclusive ser considerada como uma camada de dipolos elétricos adicional. A contribuição da dupla camada pode ser calculada através da teoria de Gouy [19] e Chapman [20], cujas hipóteses são: que a superfície carregada (monocamada, neste caso) pode ser tratada como um plano impenetrável e uniformemente carregado e que os contra-íons podem ser tratados como pontuais. Com base nestas hipóteses, Gouy e Chapmann resolveram, independentemente, a equação de Boltzmann para a distribuição de íons em termos de um potencial Ψ próximo de uma superfície carregada. O potencial da dupla camada, Ψ, pode ser escrito da seguinte maneira

$$\Psi = \frac{2kT}{e}\sinh^{-1}\left[\frac{\sigma}{8D\epsilon_0 nkT}\right]^{\frac{1}{2}} \qquad (9)$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura (em Kelvin), D a constante dielétrica da subfase, n a concentração iônica da subfase, e a carga eletrônica e σ adensidade de carga. Todas as grandezas na Eq. (8) estão no Sistema Internacional (S.I.) de unidades. Uma completa dedução da equação da dupla camada é apresentada no apêndice A.

A contribuição da dupla camada pode ser acrescentada ao potencial de superfície, utilizando quaisquer dos modelos

apresentados neste capítulo. Portanto, o fato do filme estar ionizado não impossibilita a interpretação dos resultados, mas traz a dificuldade adicional de se requerer o grau de ionização da monocamada.

2.5 CONDUTÂNCIA

Embora muito menos utilizada que as medidas de pressão e potencial de superfície, a medida da condutância lateral de um filme de Langmuir pode fornecer informações importantes quanto aos processos físicos que ocorrem em uma monocamada. Em particular, procura-se investigar através destas medidas se há condução protônica ao longo da camada, o que constituiria forte evidência de que também haveria condução protônica em membranas celulares [5]. Esta extrapolação do resultado para membranas celulares é feita porque uma membrana é basicamente constituída de duas camadas de fosfolipídios (como se fosse um filme LB de duas camadas); daí utilizar-se um filme de Langmuir na "simulação" da membrana. Mas estas medidas de condutância têm também despertado uma grande controvérsia na literatura, em que grupos de pesquisa têm relatado resultados divergentes. Dois grupos publicaram resultados confirmando a existência de condutância ao longo da monocamada [21,22], ao passo que dois outros grupos [23,24] não observaram tal condutância. Voltaremos a este ponto no Capítulo V.

As medidas de condutância são feitas através da medida da corrente que circula entre dois eletrodos parcialmente imersos na subfase aquosa, e que são submetidos a uma diferença de potencial de cerca de 1.5 V. Quando o filme de Langmuir está na fase gasosa, a condutância medida é devida à condutância de volume da subfase, sendo portanto independente da área média por molécula. No caso do efeito da condutância lateral ser observado quando o filme é comprimido, o valor da condutância permanece constante até que se atinge uma área crítica (a mesma definida nas medidas de potencial, como será comentado depois), a partir da qual a condutância sobe [22].

Para o arranjo de eletrodos paralelos mencionados acima, a condutância pode ser calculada a partir da equação:

$$\Delta G = \frac{Wd}{\rho L} \qquad (10)$$

onde W é largura dos eletrodos, d é profundidade de imersão, e L é a distância entre os eletrodos, sendo que ρ, a resistividade da água, depende da temperatura.

Uma vez confirmado que o aumento da condutância devido à presença da monocamada é real, resta saber qual é o mecanismo de condução responsável pelo efeito. Das hipóteses aventadas, ou seja, condução eletrônica, condução iônica com os íons da dupla camada, e condução protônica, Morgan et al [22] concluiram pela última hipótese. Eles se basearam nas seguintes constatações: i) o transporte eletrônico não é observado em medidas de condutividade de volume em fosfolipídios; ii) foi observada condutância mesmo para filmes de DPPC e DPPE que não são ionizados, e portanto não possuem dupla-camada ; iii) a condução protônica poderia ocorrer através de uma rede de pontes de hidrogênio que se formaria entre as cabeças hidrofílicas e as moléculas de água na interface filme/água.

Teissié et al [25] utilizam outro método para medir a difusão de prótons em filmes de Langmuir. Eles depositam prótons na subfase e registram a velocidade de difusão destes, observando o tempo em que o pH, da interface e da subfase, varia com uma prova fluorescente sensível à mudança de pH. Os resultados obtidos por Teissié et al corroboram o incremento da condutância lateral, pois o coeficiente de difusão na interface só se mostrou muito maior que na subfase para valores maiores que uma dada concentração de moléculas por área, como também observado pelos grupos de Morgan [22] e Sakurai [21].

2.6 CONCLUSÃO

Neste capítulo discutimos os principais métodos de caracterização dos filmes de Langmuir. Uma atenção especial foi dada para os modelos de potencial dos filmes e para a condutância lateral, já que estes são os pontos diretamente relacionados com o nosso trabalho.

CAPÍTULO III

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.1 INTRODUÇÃO

Os procedimentos experimentais nas experiências com filmes de Langmuir são marcados pelos cuidados com limpeza e remoção de impurezas. Por se tratar de sistemas moleculares, é essencial que todo tipo de contaminação seja evitado, tanto no ambiente (laboratório) em que se realizam as experiências, como nos materiais e equipamentos utilizados na fabricação e caracterização dos filmes. Neste capítulo, apresentaremos os equipamentos utilizados assim como os procedimentos experimentais e constatação da pureza da subfase.

3.2 SALA LIMPA

As cubas de Langmuir e os equipamentos para a caracterização dos filmes foram montados em uma área limpa, constituída de duas ante-salas semi-limpas e uma sala limpa. Esta última tem uma área de aproximadamente 20 m^2, e é mantida limpa através de um sistema de filtros de ar fabricados pela VECO, que proporcionam uma pressão positiva de 46 mmHg na sala. O ar circula entre a sala limpa e uma ante-sala passando pelo sistema de filtragem. As ante-salas são utilizadas para que o pesquisador se vista adequadamente. Na primeira ante-sala colocam-se luvas de látex que são lavadas com água destilada e secas com auto secante cirúrgico. Na segunda ante-sala colocamos o resto do vestimento, que é: capuz, jaleco, botas e máscara, todos confeccionados em poliester com fibras bastante próximas, para evitar que partículas aderidas ao corpo do pesquisador possam contaminar a sala. Segundo a contagem de partículas feita recentemente, a nossa sala pode ser classificada

entre classe 1000 e classe 10000.

3.3 CUBA DE LANGMUIR

Existem dois tipos principais de Cubas de Langmuir, as com barreiras de perímetro constante e as que contam com barreiras que são placas móveis. Essas barreiras são feitas com material hidrofóbico, para evitar que haja vazamento do material do filme, uma vez que as principais tarefas das barreiras são as de restringir e variar a área disponível para o filme. Em nosso laboratório possuímos dois sistemas KSV 5000 totalmente computadorizados, fabricados pela indústria finlandesa KSV (Fig. 3.1). Estes sistemas permitem a deposição de filmes de Langmuir sobre a superfície da água e a caracterização dos filmes com medidas de pressão e potencial de superfície, através de equipamentos também fornecidos pela KSV. A área por molécula é obtida a partir da área total disponível ao filme, que é medida através de um sensor que detecta a posição da barreira. O sistema de aquisição de dados permite o armazenamento e a apresentação em diversos tipos de gráficos dos resultados obtidos. Os equipamentos de caracterização dos filmes de Langmuir, adquiridos da KSV, são uma eletrobalança com sensor de Wilhelmy para medidas de pressão de superfície e uma prova de Kelvin para medidas de potencial de superfície. Há ainda um motor de imersão e retirada de substratos

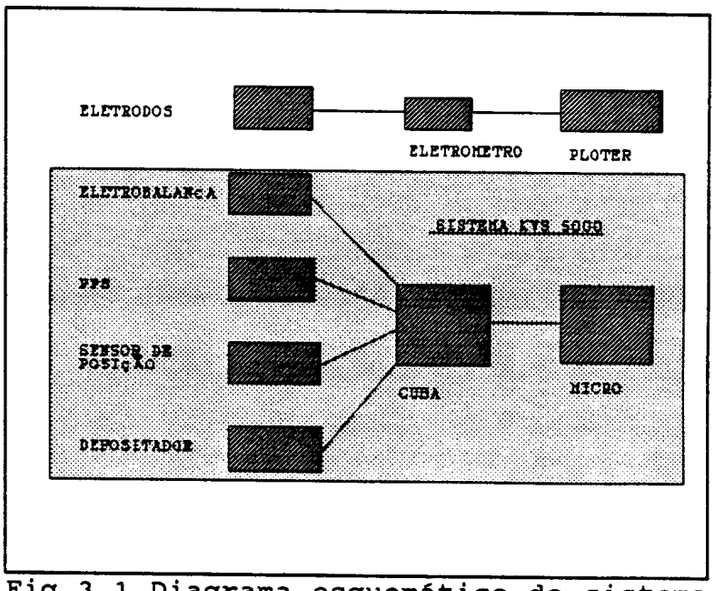


Fig 3.1 Diagrama esquemático do sistema utilizado para medidas de potencial e pressão de superfície e condutância lateral.

sólidos, sobre os quais depositam-se filmes Langmuir-Blodgett.

Temos três reservatórios (cubas) com as quais podemos realizar experiências. Um deles é dividido em dois compartimentos, tendo sido projetado para a deposição de camadas alternadas de filmes LB. Para tal, cada compartimento possui sua barreira móvel, sendo possível comprimir cada filme%wté a concentração desejada para a deposição em substrato sólido. Os outros dois reservatórios possuem duas barreiras móveis entre as quais o filme é depositado.

Os reservatórios e as barreiras são fabricados com Teflon PTFE, que é um material largamente utilizado para esse fim, por ser altamente hidrofóbico, inerte e fácil de limpar. As barreiras movem-se sobre a superfície da água de modo a restringir apenas o filme, o nível da subfase na região do filme não é alterado porque a água pode passar por baixo das barreiras. A velocidade das barreiras pode ser controlada, de 1 mm/min a 180mm/min. As especificações dos reservatórios utilizados estão abaixo.

	LARGURA (mm)	COMPRIMENTO (mm)	ÁREA (mm^2)
ALT	110	500	70700
SPM	180	340	63450
STD	300	220	69750

3.4 SISTEMA DE PURIFICAÇÃO DA ÁGUA

A alta pureza da água é necessária para a reprodução dos dados experimentais dos filmes de Langmuir [14], uma vez que traços de impurezas na superfície da água causam distúrbios no arranjo das moléculas, comprometendo principalmente a transição das fases gasosa para a líquido expandida. Uma simples destilação e de-ionização não é suficiente para purificar a água aos níveis desejados; um sistema de filtragem mais eficiente é requerido.

Utilizamos em nosso laboratório um sistema de filtros de água fabricado pela Millipore, que consiste num sistema RO60 acoplado a um Milli-Q. Estes sistemas contêm filtros de de-ionização, carvão ativado, osmose reversa, ultra violeta e um filtro de 0.2 μm. A água é primeiramente filtrada por filtros convencionais, em seguida destilada e purificada no RO60 e armazenada em um reservatório fechado. A cada 40 min a água do reservatório é repurificada, sendo rejeitada toda água que tiver condutância superior a 55 μS. Esta água armazenada passa ainda pelo sistema Milli-Q e atinge a resistividade de aproximadamente 18 MΩcm, após ser purificada pelos outros filtros do sistema. Ao ser colocada na cuba, a resistividade decresce em poucos minutos para aproximadamente 0.7 MΩcm por causa da absorção de gás carbônico da atmosfera [3]. O pH da água é então de aproximadamente 5.6. A alta resistividade da água quando ainda no sistema Milli-Q é o primeiro indicativo de que a água é de boa qualidade. A outra maneira usual de se aferir a pureza da água, após colocada no reservatório da cuba, consiste em medir a sua tensão superficial. Esta deve estar próxima de 72 mN/m para temperatura ambiente (20 °C) [3], e não deve ser alterada quando as barreiras são movidas de maneira a restringir a área destinada ao filme (entre as barreiras). Entretanto, sabe-se [26] que nem sempre tal método de aferição é suficiente para detectar baixas concentrações de impurezas. Métodos mais eficazes (sensíveis) são os de medida de potencial de superfície ou de condutância lateral. Nestes métodos também não deverá existir variação nas medidas, o potencial deverá estar entre -340 e -420 mV e a condutância entre 1.5-3.6 μS (para a geometria de eletrodos por nós empregada), e o que é mais importante, estes valores devem ser independentes da área ocupada pelo filme.

Sabe-se que a contaminação da água por agentes da atmosfera ou mesmo que estejam aderidos à cuba é inevitável [27], como também pode ocorrer o crescimento de bactérias em regiões onde a água está estagnada, como mencionado por Mingins e Owens [27]. Por isso deve-se evitar trabalhar com água "velha". Estimamos que após um período

de 6h seja improvável que bons resultados experimentais possam ser obtidos para os filmes de Langmuir.

3.5 MEDIDA DA PRESSÃO DE SUPERFÍCIE

Há vários métodos para se obter a pressão de superfície de filmes depositados sobre um líquido, tais como a balança de Langmuir e o sensor de Wilhelmy [5]. Nossas medidas de pressão de superfície foram realizadas utilizando-se eletro-balanças com sensor de Wilhelmy (Fig. 3.2), controladas integralmente via computador. Tais balanças medem a força necessária para manter o sensor em equilíbrio estático, e foram calibradas para um sensor de aproximadamente 1 cm de largura. Utilizamos papel de filtro como sensor de Wilhelmy, que apresenta a vantagem de poder ser substituído com grande frequência. Na prática, trocávamos o sensor a cada dia de trabalho intenso, ou sempre que um trabalho era reiniciado, ou ainda se eram mudadas as substâncias a serem empregadas.

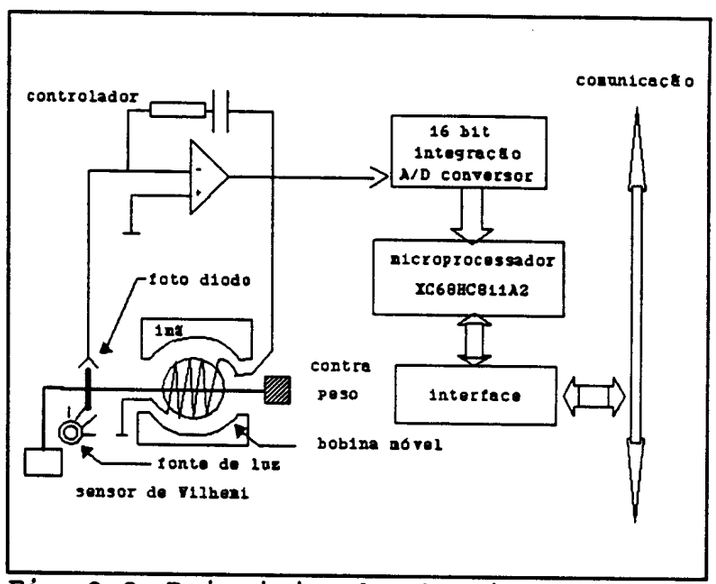


Fig 3.2 Principio de funcionamento da eletrobalança com sensor de Wilhelmy adquirida da KSV

A pressão de superfície do filme de Langmuir é calculada como sendo a diferença entre a tensão da água pura (ou subfase aquosa pura) e da água com o filme adsorvido [2].

$$\Pi = \sigma_0 - \sigma \qquad (1)$$

3.6 MEDIDAS DO POTENCIAL DE SUPERFÍCIE

Entre os métodos para se medir o potencial de superfície, encontramos o que utiliza uma fonte radioativa ionizante e o de capacitor vibrante [8]. Ambos funcionam com um sensor metálico colocado alguns milímetros acima da superfície aquosa, e um eletrodo de referência imerso na subfase. O primeiro método é baseado na medida da corrente que atravessa o gap de ar entre o filme e o sensor, causada pelo movimento de íons sob a ação da diferença de potencial entre o sensor e a superfície aquosa com o filme. Esta diferença de potencial ocorre devido à própria diferença de potencial do filme de Langmuir. Os íons aparecem da ionização do ar provocada pela fonte radioativa, geralmente confeccionadas de césio ou irídio.

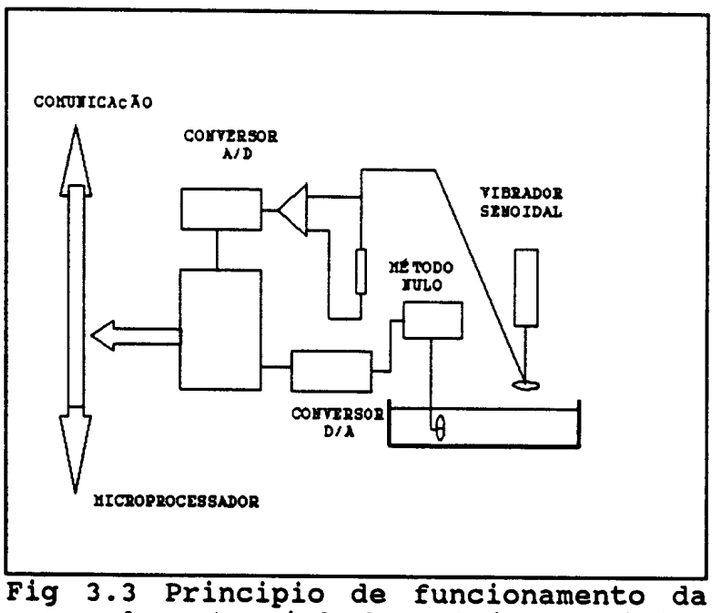


Fig 3.3 Principio de funcionamento da prova de potencial de Kelvin adquirida da KSV

O método empregado pelo sensor que acompanha as Cubas de Langmuir da KSV é o do capacitor vibrante, Fig. 3.3, proposto em 1933 por Yamins e Zismam [29]. Este método funciona da seguinte maneira: uma das placas do capacitor vibra gerando uma corrente de deslocamento. Entretanto, esta corrente será nula se a ddp entre as placas for nula. Este método da corrente nula é ilustrado na Fig. 3.4.

A voltagem V a ser medida é compensada por uma voltagem conhecida V_0, fornecida por um gerador de tensão contínua de saída variável. O erro resultante é modulado pelo capacitor vibrante C, e este sinal periódico serve de realimentação para o gerador V_0. Quando a corrente é completamente anulada, então o valor fornecido por V_0 (conhecido) é igual ao potencial V que se desejava medir.

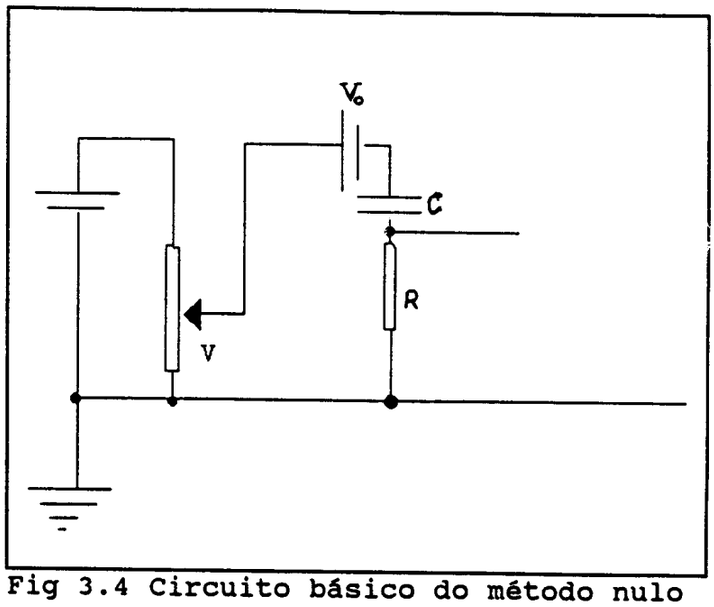


Fig 3.4 Circuito básico do método nulo

Para que as medidas de potencial sejam otimizadas devemos posicionar a placa vibrante do capacitor próximo da superfície. Tomando a distância entre o eletrodo vibrante e a superfície da água como l_0 e a amplitude de vibração como d temos que:

$$C=\frac{D\epsilon_0 S}{l_0+d\cos(wt)} \qquad (2)$$

Onde D é a constante dielétrica do meio, ϵ_0 a permissividade do vácuo, w a frequência de vibração do eletrodo, e S a área do eletrodo vibrante. Deve-se posicionar o capacitor vibrante em uma posição tal que l_0 seja comparável à amplitude de vibração d. No nosso procedimento usamos distâncias entre 1-4 mm, uma vez que a amplitude de vibração é 2 mm e a área do eletrodo é aproximadamente 20 cm^2. O capacitor tem o intervalo de resolução entre 5 V e -5 V, com uma sensibilidade de 0.5 mV e vibra numa frequência de 50-60 Hz, conforme dados da prova de potencial de superfície da K.S.V..

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

3.7 MEDIDA DA CONDUTÂNCIA LATERAL

Utilizamos o método de medida direta, praticamente idêntico ao empregado por Morgan et al [22]. O circuito montado por nós constitui-se de um gerador contínuo que fornece uma diferença de potencial (ddp) de 1.5 ± 0.01 V para os eletrodos. A variação na corrente através de uma resistência de carga, ocasionada pela compressão do filme, era registrada como uma diferença de potencial na resistência utilizando-se um eletrômetro Keithley 614. As placas do eletrodos, confeccionadas em platina, com dimensões de 2.0 x 2.5 cm eram imersas 1-3 mm pelo imersor (dipper) adquirido da KVS, com uma precisão de 0.01 mm. Entretanto, com a formação do menisco no contacto com essas placas não é possível determinar a profundidade com grande precisão, mas isto não é fundamentalmente importante, já que estamos interessados em medidas diferenciais. Em nossas medidas, a condutância da água situava-se entre 1.5 e 3.6μS.

Com o intuito de se minimizar os distúrbios no ambiente, como as vibrações na superfície da água, procedíamos com o experimento quando nenhum outro pesquisador estava na sala limpa. Com os eletrodos parcialmente imersos na água, aferíamos a pureza desta. Se alguma impureza fosse detectada, removiamo-la aspirando a superfície da água. Quando a curva de condutância se mantinha constante durante a compressão das barreiras (na ausência de filme), depositávamos volumes entre 50 e

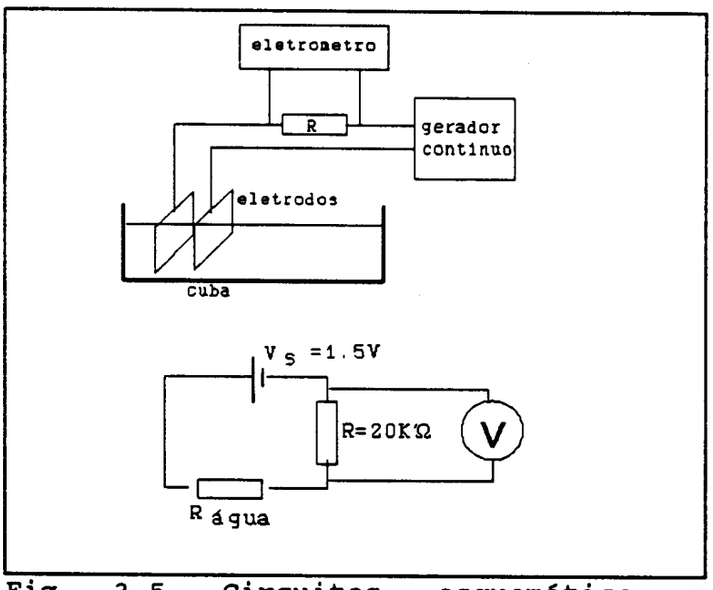


Fig 3.5 Circuitos esquemático e equivalente das medidas de condutância lateral

100 μl de fosfolipídios ou fosfato diluídos em clorofórmio na concentração de 1 mg de soluto para 1 ml de solução. Após a evaporação do solvente, o filme era comprimido e expandido, sendo que durante este processo a pressão de superfície e a variação da ddp devida à condutância lateral eram registradas simultaneamente versus a área por molécula. Em geral eram realizados de 1 a 3 ciclos compressão-expansão para cada filme. Para a confecção dos gráficos, geralmente incluíamos os dados do potencial de superfície, registrado anteriormente pela prova de potencial. Utilizando o circuito equivalente (Fig 3.5) observamos que o cálculo da condutância pode ser escrito da seguinte maneira:

$$\Delta G = \frac{\Delta V}{(V_s - \Delta V) R} = \frac{\Delta V}{(1.5 - \Delta V) 20000} \qquad (3)$$

onde ΔG é a condutância lateral, ΔV é a ddp registrada pelo eletrômetro e R a resistência de carga. A voltagem de 1.5V é suficiente para se observar o efeito e pequena o bastante para não causar eletrólise. A resistência de 20KΩ é aproximadamente 1% da resistência da água, insuficiente, portanto, para causar erros experimentais significativos.

3.8 DEPOSIÇÃO DE FILMES NA SUPERFÍCIE DA ÁGUA

Devidamente vestidos e com o sistema de filtragem do ar acionado, entramos na sala limpa para realizar os experimentos. Para se obter bons resultados experimentais, tanto a cuba como a água não devem conter impurezas. Nosso primeiro passo é a limpeza da cuba e das barreiras com clorofórmio ou álcool isopropílico. A cuba é então cheia com água ultra pura, que deve ser trocada uma ou duas vezes antes de colocarmos na cuba a água que servirá como substrato para o filme de Langmuir. Toda esta água utilizada na sala limpa é proveniente do sistema de purificação Millipore. O sensor de Wilhelmy (filtro de papel) também é trocado.

Além dos cuidados iniciais, realizamos experimentos de

compressão (já com a Cuba acionada para aquisição de dados) com água ultra-pura. Se forem detectados traços de impurezas através do aumento da pressão, do potencial de superfície ou ainda da condutância lateral, à medida que a área entre as barreiras é diminuída, estas impurezas são removidas com uma aspiração feita por uma trompa d'água. Caso contrário, estes resultados - pressão e potencial de superfície, e condutância lateral - eram usados como referência da água pura para a caracterização do filme. Uma vez terminado este processo, depositamos sobre a superfície da água a solução que formará o filme a ser analisado.

A solução é preparada com um solvente orgânico volátil numa concentração de 1 mg de soluto para 1 ml de solução. Fornecendo a concentração da solução, o volume a ser depositado e o peso molecular do soluto, o software da Cuba calcula automaticamente a quantidade de moléculas existentes na superfície e a área média que uma molécula ocupa. Como solvente utilizamos o clorofórmio, por ser altamente volátil e diluir muito bem ácidos graxos, fosfolipídios e fosfatos. Guardamos sempre as soluções no congelador de uma geladeira, mas mesmo assim após alguns dias observávamos um aumento na concentração da solução. Para que tal solução pudesse continuar a ser utilizada, recalibrávamos a concentração da solução utilizando a área por molécula, ou seja, sabendo a área de colapso, podemos determinar o numero de moléculas que estão na cuba e com isso determinar, através do volume depositado, a concentração da solução.

Depositada a solução sobre a superfície da água, com o cuidado para que não precipite, espera-se o tempo necessário para o solvente evaporar e as moléculas espalharem-se sobre toda a superfície; esse tempo é de aproximadamente 7 min. Uma forma de aferir o espalhamento é observar se a pressão superficial e o potencial de superfície retornaram aos valores de referência e estão estáveis, uma vez que na fase gasosa não temos interações entre as moléculas.

Com a solução depositada, procedemos as compressões, registrando o potencial de superfície e a pressão de superfície

versus a área por molécula simultaneamente ou a pressão de superfície e a condutância lateral versus a área por molécula. Entre uma compressão e outra esperamos o tempo necessário para que o filme voltasse a seu estágio original, esse tempo foi de aproximadamente 5 min para os ácidos graxos e de 7 min para os fosfolipídios. Para cada solução realizamos pelo menos uma curva de histerese (ciclo de compressão-descompressão), um colapso, FIg 3.6, e realizamos compressões até estarmos seguros dos resultados, pela sua reprodutibilidade. Após o colapso deliberado de um filme de uma dada solução, evitávamos colapsos posteriores para que pudéssemos realizar várias compressões com o mesmo filme depositado. Após termos concluído os experimentos, ou após o colapso de um filme, realizamos uma limpeza na cuba e na água procedendo como se fôssemos começar o experimento.

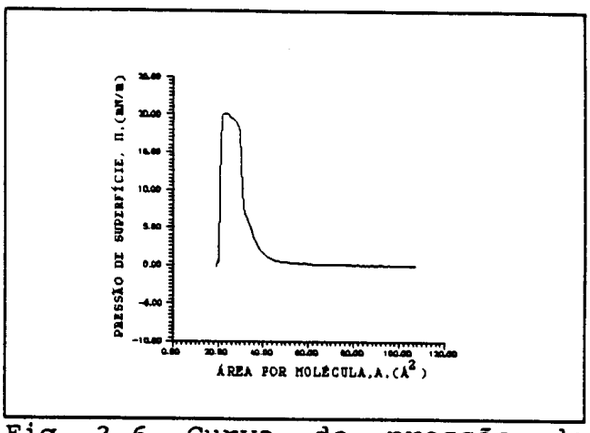


Fig 3.6 Curva de pressão de superfície mostrando o colapso de um filme. As moléculas são absorvidas pela água.

3.9 CALIBRAÇÃO DA APARELHAGEM

Com o uso contínuo da aparelhagem, uma recalibração é necessária de tempos em tempos, sendo realizada como descrito a seguir.

3.9.1 CALIBRAÇÃO DA BALANÇA DE PRESSÃO

Usando um sensor de Wilhelmy com aproximadamente 1 cm de largura, posicionávamos o sensor para uma dada profundidade, registrando a pressão que a água pura exercia sobre ele. Posicionávamos, então, o sensor em uma segunda profundidade e registrávamos novamente a pressão que a água exercia sobre o

registrávamos novamente a pressão que a água exercia sobre o sensor. Uma vez que a área imersa do sensor para as duas posições são diferentes, o peso do sensor será diferente. Para que o software recalibre a balança é necessário que esta saiba a diferença de massas das duas medidas, assim dividíamos a pressão pela gravidade local e fornecíamos ao software esta diferença. O próprio software, utilizando-se da formula para a troca de tensão superfícial, $\Delta\sigma$, onde $\Delta\sigma = \Delta F/2w$, F é a força realizada no sensor e w a sua largura desenvolve os calculos de ajuste da pressão versus profundidade .

3.9.2 CALIBRAÇÃO DA PROVA DE KELVIN (PPS)

Para calibrarmos a PPS necessitávamos de uma fonte de tensão confiável e uma placa de alumínio com área muito maior que a área do eletrodo vibrante. Colocávamos inicialmente um potencial nulo e esperávamos a pps estabilizar, após o qual era aplicada uma tensão de (1 ± 0,001) V na placa, e novamente esperávamos a pps estabilizar. Ao software que manipula a pps era fornecida a diferença de potencial dos dois pontos, e o próprio software se encarregava de calibrar a pps com os dados fornecidos.

CAPÍTULO IV

MEDIDAS DE POTENCIAL E HOMOGENEIDADE

4.1 INTRODUÇÃO

Uma controvérsia surgiu recentemente a respeito da homogeneidade de filmes de Langmuir. Medidas obtidas por várias técnicas, como microscopia de fluorescência [30] e microscopia pelo ângulo de Brewster [31], mostraram a existência de domínios de dimensões da ordem de dezenas de micra em filmes de ácidos graxos e fosfolipídios, como mostrado na Fig. 4.1. Aventou-se que a presença de tais domínios poderia tornar o filme heterogêneo macroscopicamente [32].

Isto seria semelhante às idéias que foram correntes, até pouco tempo atrás, de que ilhas eram formadas para grandes áreas por molécula, ou seja, para a fase expandida, causadas por forças de Van der Waals. Acreditava-se que as forças de Van der Waals entre as moléculas poderiam eventualmente ser maiores que a interação das moléculas com a água, fazendo com que as moléculas, quando depositadas na água, se

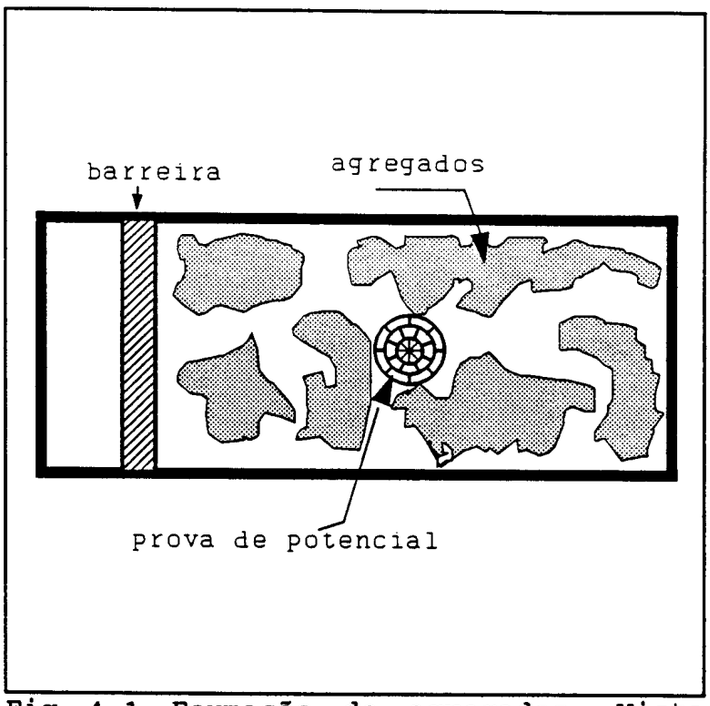


Fig 4.1 Formação de agregados. Vista superior da Cuba de Langmuir

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

agregassem formando domínios macroscópicos. Entretanto, Taylor et al [14] mostraram que na fase expandida não deveria haver formação de agregados, e portanto os resultados de pressão e potencial de superfície, e condutância, deviam ser iguais aos resultados da água pura. Qualquer irreprodutibilidade desses resultados seria um artefato experimental causado por impurezas na subfase.

Com o surgimento de dúvidas quanto à homogeneidade macroscópica, decidimos verificar a possibilidade de domínios microscópicos causarem uma heterogeneidade macroscópica nos filmes de Langmuir. Para isso realizamos um estudo minucioso, descrito neste capítulo, propondo um método para determinar a homogeneidade macroscópica (ou não) das monocamadas. Mostraremos que a homogeneidade macroscópica da fase expandida é uma realidade, sendo que o potencial é nulo (igual à referência) para a fase gasosa e incrementa abruptamente para uma certa área, A_c, que varia para cada tipo de monocamada.

Outro tópico a ser discutido neste capítulo é o que se refere às dificuldades na interpretação das medidas de potencial de superfície para filmes de Langmuir. Embora a técnica do potencial de superfície seja extensivamente utilizada, as dificuldades de interpretação ainda persistem. Isto ocorre principalmente porque só a partir da década de 80 é que os resultados passaram a ser interpretados quantitativamente [10,12,18]. Como exemplo discutiremos um trabalho extremamente abrangente (com 38 lipídios) e interessante [33], mas que a nosso ver traz interpretações incorretas para os resultados do potencial de superfície. Discutiremos também os modelos mais apropriados para o tratamento do potencial de superfície para grandes áreas por molécula e discutiremos o aumento abrupto do potencial, que ocorre numa área crítica, A_c. Além disso, faremos um estudo do ciclo de histerese, mostrando que este pode ser utilizado para acusar a existência de agregados nas monocamadas. Mostraremos os resultados obtidos e compararemos com os resultados de outros grupos.

4.2 HOMOGENEIDADE MACROSCÓPICA

4.2.1 RESULTADOS

Procedemos com o máximo de cuidado para que qualquer artefato experimental fosse observado. Variamos a velocidade de compressão de 1 mm/min até 180 mm/min. Utilizamos duas cubas, a ALT e a SPM, sempre com água do sistema Milli-Q. Apenas quando o potencial de superfície da água mostrava-se constante e entre (-380 ± 40) mV, depositávamos de 50μl a 100μl de solução de ácidos graxos ou fosfolipídios dissolvidos (1 mg/ml) em clorofórmio. Os ácidos graxos utilizados foram o ácido palmítico (ACP) e o ácido araquídico (ACA), e os fosfolipídios foram o dimiristoil de fosfatidil colina (DMPC) e o diestearoil de fosfatidil colina (DSPC), adquiridos da Sigma Chem. Cia.

A prova de potencial foi colocada em três posições da cuba com uma distância de 10cm entre essas posições. Os resultados foram colocados em um mesmo gráfico, e os dados dos principais parâmetros de caracterização comparados, para se ter certeza da homogeneidade do filme a nível macroscópico. Uma vez existindo agregados, estes seriam detectados para ao menos uma posição da prova de potencial.

TABELA 1

	AREA COLAPSO ($Å^2$)	PRESSÃO DE COLAPSO (mN/m)	ÁREA CRÍTICA A_c ($Å^2$)	MÁXIMO POTENCIAL (mV)
ACP	18 ± 1	57 ± 3	36 ± 2	270 ± 30
ACA	17 ± 2	52 ± 3	34 ± 3	260 ± 30
DSPC	36 ± 4	72 ± 3	98 ± 4	600 ± 40
DMPC	42 ± 4	68 ± 3	116 ± 4	520 ± 40

Mostramos na TABELA 1 os principais dados obtidos na caracterização dos filmes de Langmuir, que são: a pressão de colapso e o máximo potencial de superfície, que ocorrem para a menor área que uma molécula pode ocupar na superfície antes do colapso, a área para a subida abrupta do potencial de superfície, A_c, e a área de colapso. A dispersão foi calculada como a metade do intervalo entre o maior e menor dado obtido. Colocamos num mesmo gráfico 10 curvas de $\Delta V \times \Pi \times A$, e calculamos a dispersão de A_c, máximo potencial e área de colapso. Para a pressão de colapso foram utilizadas duas ou três curvas de pressão para o cálculo da dispersão. Por trabalharmos com compostos simples, não mostraremos a área de extrapolação da curva de pressão, ou seja, a área que se obtém através da extrapolação da parte linear da curva de pressão anterior ao colapso. Esta medida serve para compostos complexos, como é o caso da lignina - que veremos a seguir - onde a área de colapso pode apresentar erros devido a efeitos cinéticos, pois o colapso ocorre gradualmente sugerindo um processo contínuo.

O gráfico do ácido araquídico (Fig 4.2) mostra a reprodutibilidade do potencial para grandes áreas por molécula. O potencial é inicialmente zero, aumentando abruptamente numa área crítica de (34 ± 3) $Å^2$, onde há um decréscimo da constante dielétrica (D_2) da parte polar da molécula, como será discutido depois. Após este aumento, o potencial sobe até alcançar o valor de (270 ± 30) mV. A curva de pressão mostra com clareza as três etapas de crescimento do filme: a parte de pressão nula corresponde à fase gasosa que vai de grandes áreas por molécula até 25 $Å^2$, onde ocorre a transicão para a fase líquido-expandida. Nesta fase a pressão de superfície cresce linearmente até atingir cerca de 20-25 mN/m. A seguir, qualquer diminuição da área por molécula acarreta num grande aumento da pressão. A pressão de colapso ficou em torno de (57 ± 4) mN/m. Todos os resultados apresentados corroboram os resultados obtidos por outros autores, tais como, R. Schmidt [35], K. Iriyama, e outros [37-39].

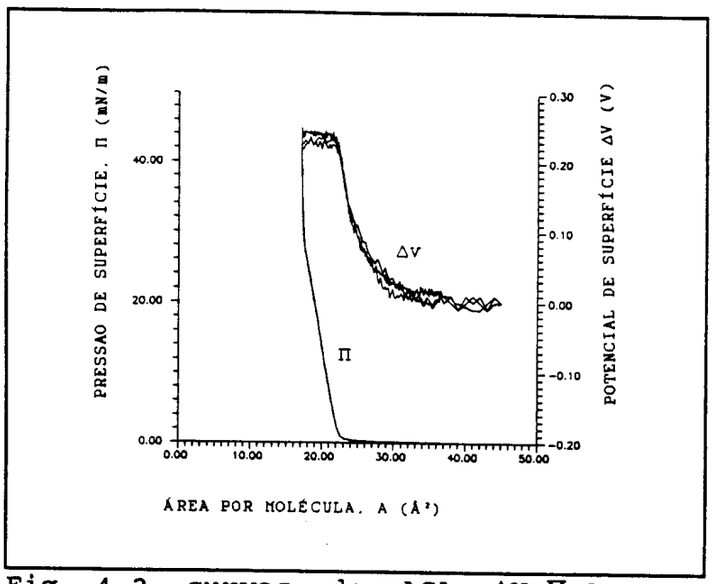


Fig 4.2 curvas do ACA ΔVxΠxA para velocidade de 30-50-100 mm/min

Comportamento semelhante era esperado do ácido palmítico (ACP), que difere do ácido araquídico (ACA) apenas no número de carbonos na cadeia alifática. De fato, não há variação apreciável nos parâmetros mostrados na TABELA 1, tanto para as medidas de pressão como para as medidas de potencial de superfície. A única surpresa ocorreu na subida inicial da pressão de superfície, Fig 4.3. Durante a preparação dessa dissertação, percebemos que a curva não era linear como esperado - e observado para o ácido araquídico nesse trabalho e para o ácido esteárico e ácido palmítico em artigos na literatura. Repetimos então as medidas de pressão de superfície, mas infelizmente a subida continua sendo não linear. Como resultados obtidos com outros compostos, realizados na mesma época por outros pesquisadores do nosso Grupo de pesquisa, não apresentaram quaisquer problemas, fica descartada a hipótese de contaminação no sistema ou na subfase aquosa. É provável, portanto, que a origem do problema esteja em impurezas no próprio ácido palmítico, mas não tivemos oportunidade de confirmar esta hipótese, pois só possuíamos composto de uma única fonte.

À parte deste último problema mencionado para o ácido palmítico, os resultados dos ácidos graxos são satisfatórios, pois ratificam os dados da literatura [49-52]. As áreas de colapso deveriam ser bastante próximas para o ACP e ACA, como de fato ocorreu, pois são definidas pela área da seção de uma cadeia alifática - que não é alterada pelo número de carbonos da cadeia. A área de colapso esperada era portanto algo abaixo de 20 $Å^2$, o que de novo é consistente com os resultados obtidos. Quanto à análise da curva de pressão de pressão de superfície, não é possível fazer qualquer discussão quantitativa sobre esse tipo de curva. Existem alguns estudos empíricos que utilizam modificações de equações de estado - como a equação de van der Waals - para explicar aproximadamente curvas de ácidos graxos. Sabe-se também que tensões interfaciais podem em princípio ser obtidas a partir de considerações de forças [48], mas estes estudos não avançaram suficientemente para que análises cuidadosas possam ser feitas.

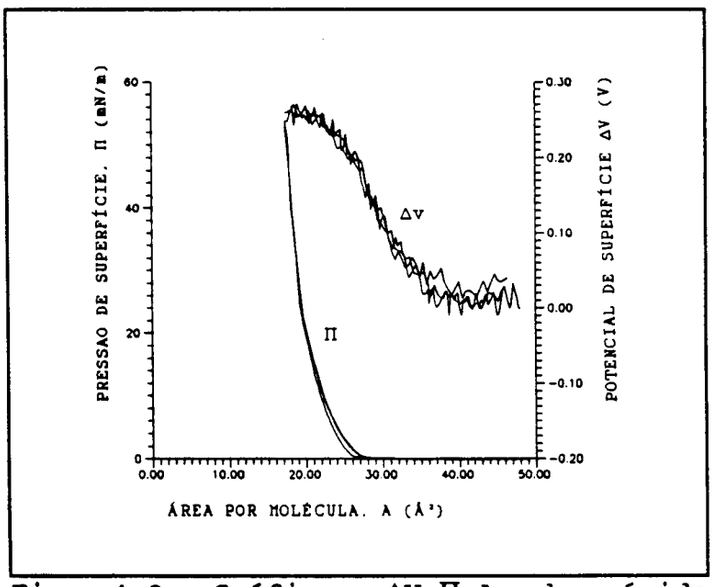


Fig 4.3 Gráfico ΔVxΠxA do ácido palmítico, ACP

Para os fosfolipídios, o potencial também foi nulo para grandes áreas por molécula, aumentando na compressão a partir de

uma área crítica. As diferenças entre as curvas de potencial do DSPC próximas da área crítica (Fig 4.4) ocorrem devido à alta velocidade de compressão utilizada - maior que 130 mm/min. Contudo, estas diferenças estão entre 2 e 4 $Å^2$, que é um intervalo perto da dispersão dos resultados. Há um pico em uma das curvas de potencial, perto de A_c, causada por uma redução na velocidade das barreiras, numa mesma medida, de 150 mm/min para 50mm/min. Entretanto, como podemos observar a curva de pressão não foi alterada pela mudança de velocidade. A área de colapso do DSPC foi de (36 ± 2) $Å^2$, onde observamos uma pressão de (72 ± 3) mN/m. Sabemos que pressões maiores que 72.6 mN/m são improprias para filmes adsorvidos na água, portanto as pressões que foram maiores que esta devem ser causadas por não termos σ_0 (tensão da água) devidamente zerado. Após termos confirmado esta área com os resultados obtidos por K. Yamauchi [40], comprimimos o filme até 38 $Å^2$. Os experimentos foram realizados sob as condições habituais.

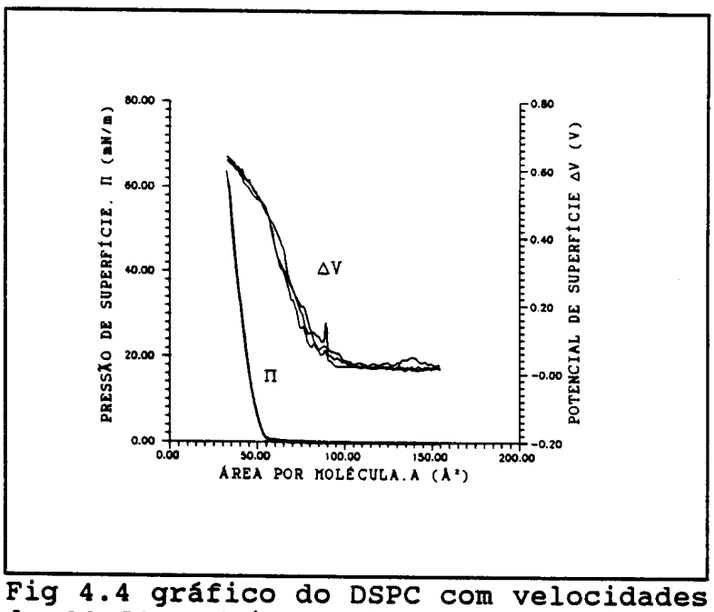


Fig 4.4 gráfico do DSPC com velocidades de 30-50 mm/min e 150 mm/min abaixando para 50 mm/min

O gráfico do DMPC (Fig 4.5) mostra as curvas realizadas com várias velocidades de compressão, onde os efeitos indesejáveis encontrados quanto às altas velocidades de compressão do DSPC também foram observados. A pressão de colapso, (68 ± 3) mN/m, foi registrada comprimindo o filme para áreas menores que a área de colapso, (42 ± 4) $Å^2$. Os gráficos apresentados mostram as curvas obtidas após a verificação destes valores na literatura [41], sendo que para realizarmos várias compressões não permitíamos que o filme colapsasse. O máximo potencial registrado foi (520 ± 40) mV. A curva de potencial confirmou a ausência de interação das moléculas para grandes áreas sendo constante até a área crítica. Logo depois, o potencial cresceu monotomicamente até o colapso. As áreas por molécula no estado condensado (colapso) são aproximadamente duas vezes a área do ACP e ACA, o que reflete o fato dos fosfolipídios estudados possuirem 2 cadeias alifáticas.

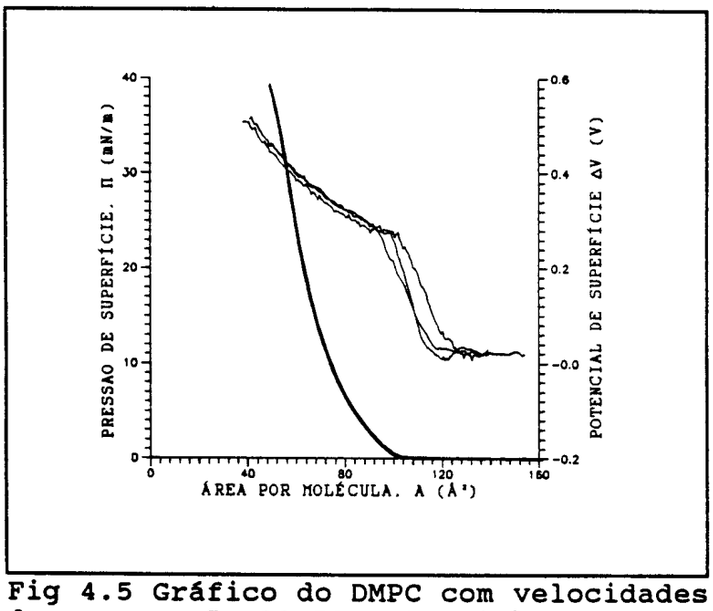


Fig 4.5 Gráfico do DMPC com velocidades de compressão 30-50-100 mm/min

As diferenças nos resultados do DSPC e DMPC são pequenas, como

era de se esperar, pois estes fosfolipídios diferem apenas no comprimento das cadeias alifáticas. Entretanto, a alteração do número de carbonos na cadeia alifática de um fosfolipídio pode trazer efeitos inesperados, como o patamar da curva de pressão do DPPC (dipalmitoil fosfatidil colina). Ainda não parece haver na literatura uma explicação final para esta mudança de comportamento, quando apenas se alterou o comprimento da cadeia.

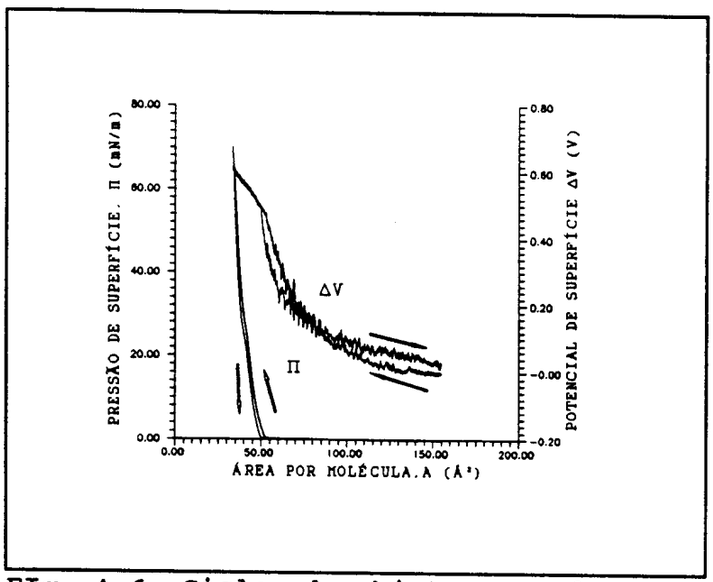


FIg 4.6 Ciclo de histerese do DSPC realizada com uma velocidade de 10mm/min

Os resultados de potencial serão analisados em mais detalhe na próxima seção. O que queremos ressaltar aqui, é que não houve diferenças significativas, para um mesmo composto, entre resultados com diferentes filmes e diferentes compressões do mesmo filme. Os resultados para grandes áreas por molécula foram reprodutíveis, e a mudança na posição da prova de potencial não trouxe alteração para os resultados. Assim, fica demonstrado que os filmes são homogêneos, pelo menos macroscopicamente - uma vez que a prova de potencial têm dimensões macroscópicas. Não tínhamos equipamentos para confirmar a presença de domínios microscópicos. Entretanto, mesmo que estes domínios existam, como a literatura parece indicar, eles não acarretam numa heterogeneidade a nível macroscópico.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

Uma outra maneira de se verificar a homogeneidade dos filmes é investigar os ciclos de histerese. Como pode ser visto na Fig 4.6 para o DSPC, praticamente não há histerese na curva de potencial. Se houvesse formação de agregados, o potencial não só seria não nulo no início da compressão, como também faria com que o potencial fosse maior durante a expansão - uma vez que a compressão provocaria formação de mais agregados. Para os fosfolipídios, em alguns casos observou-se que o potencial de superfície não retornava, na expansão, imediatamente a zero. Isto, sem dúvida, é indicativo de formação de domínios, mas estes se desfazem em pouco tempo (2 ± 1 min). Os domínios, portanto, se formados são dispersos em poucos minutos. O fenômeno é também reversível.

O mesmo não ocorre para filmes de ligninas, em que a formação de agregados traz histerese, como mostrado a seguir.

4.2.2 EXEMPLOS DE HISTERESE (LIGNINA)

Um exemplo da utilização do ciclo de histerese para a comprovação da existência de agregados em regiões de grandes áreas por molécula pode ser observado em filmes de lignina. Ligninas são macromoléculas presentes nos tecidos vegetais, com uma composição estrutural bastante heterogênea, que depende da região morfológica onde se encontra. Elas são constituídas por sistemas aromáticos de unidades fenil - propânicas. Podemos observar na Fig. 4.7, que apresenta curvas de

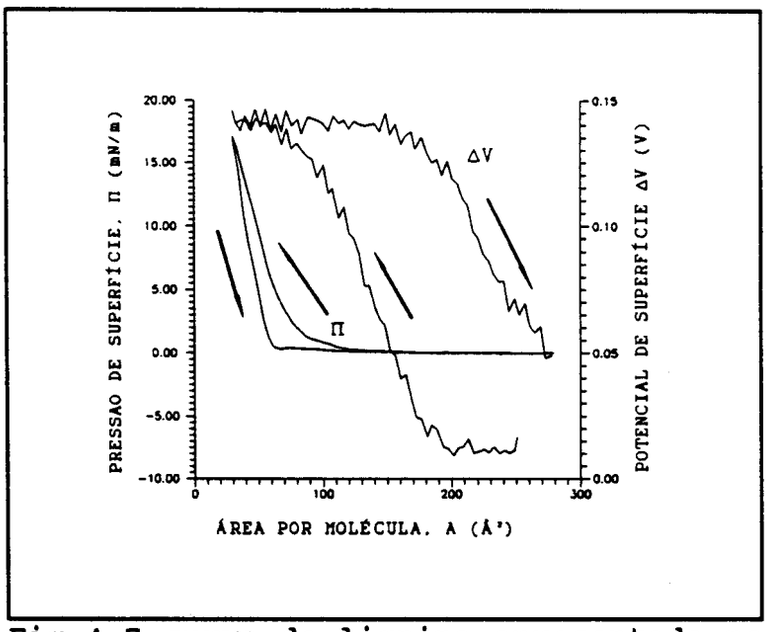


Fig 4.7 curva de lignina apresentada no relatório de iniciação científica do aluno C. J. L. Constantino

π e ΔV versus A (área por molécula) [42], que tanto o potencial de superfície ΔV, como a pressão de superfície, apresentam histerese. A explicação mais lógica para essa histerese é a formação de agregados durante a primeira compressão da monocamada. Podemos observar no gráfico que a pressão de superfície tem valores menores na expansão do que na compressão, enquanto que o potencial apresenta valores maiores para a expansão do que para a compressão. Os agregados tornam o filme heterogêneo, e fazem com que a constante dielétrica D_2 diminua, levando a um potencial de superfície maior.

4.2.3 CONCLUSÃO

Nossos resultados de pressão de superfície são consistentes com os apresentados na literatura [34-41], mostrando que os cuidados tomados foram suficientes. Os dados do potencial de superfície, constante para grandes áreas, com valores iguais ao da subfase, mostram que as monocamadas de fosfolipídios e ácidos graxos são homogêneas macroscopicamente. A existência de micro domínios na fase expandida não afeta as medidas de potencial de superfície realizadas com uma prova de Kelvin, pois esta mede a média do potencial de muitas moléculas por ter dimensões macroscópicas (da ordem de cm^2). A reprodutibilidade de A_c também atesta a homogeneidade, uma vez que a existência de agregados variaria a concentração de moléculas na superfície da água causando uma irreprodutibilidade em A_c. O ciclo de histerese pode ser usado para identificar a presença de agregados macroscópicos na região de grandes áreas por molécula, uma vez que a formação desses agregados causaria uma histerese no ciclo. Um exemplo disso é o ciclo de histerese para filmes de Langmuir de lignina. Nossos resultados não mostraram nenhuma histerese, confirmando a homogeneidade macroscópica para monocamadas de fosfolipídios e ácidos graxos.

Artigos recentes na literatura têm mostrado comportamentos semelhantes para vários compostos diferentes [40,41], ou seja, o

potencial do filme é nulo para grandes áreas por molécula, só se tornando não nulo para uma dada área crítica. Estes resultados corroboram as conclusões de que muitos filmes são homogêneos e os resultados são reprodutíveis mesmo para filmes na fase expandida.

4.3 INTERPRETAÇÃO QUANTITATIVA DE MEDIDAS DE POTENCIAL

O modelo de Helmholtz foi utilizado, por muito tempo, para o cálculo do potencial da fase condensada [33], uma vez que o potencial era proporcional a $\mu_{\perp}/A\epsilon_0$, nesta fase. Contudo, este modelo não fornece resultados corretos, por utilizar uma constante dielétrica igual a 1. É interessante, também, utilizar um modelo que permita a análise, separadamente, das contribuições da parte polar e apolar da molécula. Modelos como os de Demchak e Fort [12] e de Moebius e Vogel [18] são mais apropriados para tratar o potencial de superfície de monocamadas adsorvidas na água. Estes modelos foram descritos no CAP. 2 e serão discutidos novamente.

O modelo DF trata o filme de Langmuir como um dielétrico de três camadas. As contribuições são devidas às partes hidrofóbica e hidrofílica da molécula, e à reorientação das moléculas, sendo que para camada há um constante dielétrica local. O modelo VM propõe que monocamadas sejam parametrizadas em duas contribuições: a da interface ar-filme e a da interface filme-água. As contribuições da reorientação das moléculas da água e da parte polar da molécula, assim como a contribuição da dupla camada, são incorporadas à contribuição da interface filme-água, e a contribuição da parte apolar é representada pela contribuição da interface ar-filme, sendo que as constantes dielétricas locais estão implícitas nas contribuições das interface. A unica diferença entre os modelos é o número de camadas e valores dos parâmetros. Temos que $\mu 1/D_1$ + μ_2/D_2 do modelo DF são iguais a μ^{α} do modelo VM e que μ_3/D_3 é o mesmo que $\mu^{\acute{\omega}}$.

Mostrou-se [3] que nem DF nem VM dão resultados apropriados para D_3 de compostos halogenados. Enquanto DF superestimaram o

valor de D_3, provavelmente porque utilizaram resultados de compostos terfenílicos, Vogel e Moebius calcularam o valor de μ^{ω}, partindo de uma hipótese incorreta para a orientação dos grupos carboxílicos (COOH) de um filme misto de ácido malônico de octadecil e octadecano na razão molar de 1:1. O ácido malônico possui dois grupos COOH, para uma única cadeia alifática. Vogel e Moebius obtiveram curvas Π x A similares às do ácido esteárico, embora os potenciais fossem significativamente diferentes, de onde inferiram que o arranjo molecular do filme misto seria o mesmo do ácido esteárico. Então, concluiram que a diferença nos potenciais medidos seria originada somente pela diferença na contribuição do final da cadeia, uma vez que, por razões de simetria, as moléculas do octadecano não contribuem para o momento de dipolo resultante. O que eles não perceberam é que, para filmes no estado condensado, os grupos COOH do filme misto não podem adotar a mesma orientação, em relação à subfase, que adotam no ácido esteárico. A contribuição de cada grupo deveria ser menor. Assim, os parâmetros por eles obtidos para compostos alifáticos estão incorretos. Por exemplo, o valor de μ^{ω} calculado implica numa constante D_3 igual a 1, como no modelo de Helmholtz, o qual sabemos superestimar os momentos de dipolo.

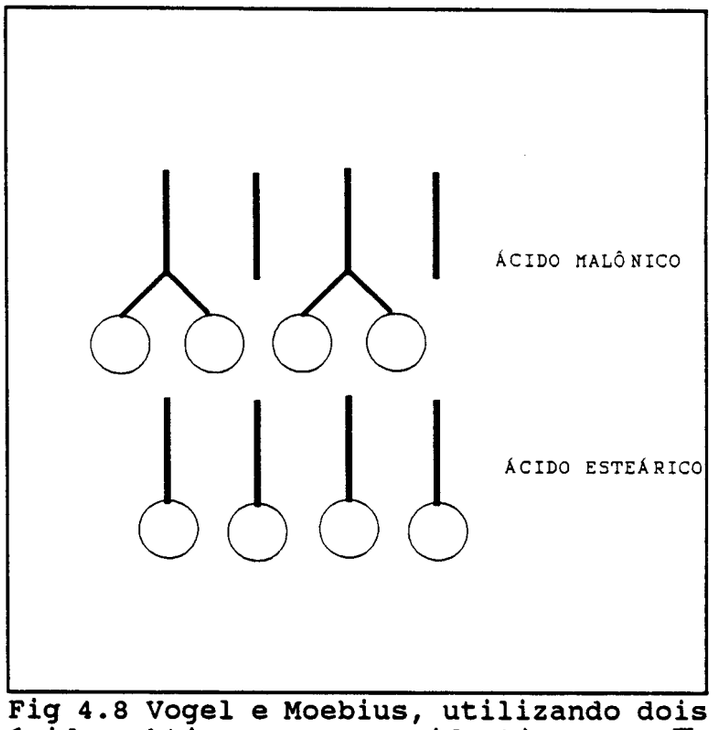


Fig 4.8 Vogel e Moebius, utilizando dois ácidos obtiveram curvas identica para Π, mas não para ΔV.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA

Estes problemas foram sanados por Oliveira et al, utilizando o modelo DF com D_3=2.8, que explicou os potenciais medidos para os filmes halogenados. Cremos que o melhor modelo existente para tratar monocamadas de fosfolipídios e ácidos graxos é o modelo DF, por mostrar explicitamente as constantes dielétricas das partes integrantes, possibilitando um estudo detalhado sobre as contribuições dos momentos de dipolos. Apesar do modelo utilizar a reorientação das moléculas da água como parâmetro de ajuste, o que não acontece com o modelo VM, podemos obter facilmente da literatura os momentos de dipolos da parte polar da molécula, o que não ocorre no modelo VM.

4.3.1 ANÁLISE QUANTITATIVA DOS RESULTADOS DE POTENCIAL

Como os valores do potencial para o estado condensado dos filmes do ACP e ACA foram praticamente os mesmos dos filmes de ácido esteárico [15], os parâmetros podem ser os mesmos. A contribuição da dupla camada, já que o filme está parcialmente ionizado para pH = 5.6, deve ser de cerca de - 145 mV. As contribuições dos grupos COOH e CH_3 (do final da cadeia) devem ser de 990 mD e 330 mD, respectivamente, enquanto as constantes dielétricas são D_2 = 6.4 e D_3 = 2.8. A contribuição advinda da reorientação da água, μ_1/D_1, é - 65 mD. Já a análise dos resultados dos fosfolipídios é muito mais complicada, pela complexidade do grupo polar. Possuindo um dipolo iônico (que pode chegar a 20 D), qualquer mudança na orientação desse grupo pode causar grandes alterações no momento de dipolo resultante. Acreditamos que o dipolo iônico esteja orientado paralelamente a superfície da água; caso contrário o potencial medido deveria ser muito maior. Uma pequena variação desta posição para uma inclinação de 1^0 somaria aproximadamente 65 mV ao potencial de superfície. Este pode ser o motivo pelo qual há uma diferença maior entre o potencial de superfície do DSPC (600 mV) e DMPC (520 mV).

Com a extensão do modelo DF [12] feito por Oliveira et al [15]

para o ácido esteárico para regiões de filmes expandidos, verificou-se que a causa do aumento abrupto das curvas ΔV x A é o decréscimo, também abrupto, de D_2 em A_c. Nesta região a área disponível para cada molécula elimina a possibilidade de uma variação drástica no momento de dipolo da molécula. A única possibilidade é então uma mudança nas contantes dielétricas, mas como D_3 aumenta com a diminuição da área por molécula, a unica causa possível é o descréscimo de D_2. Em princípio, o mesmo modelo poderia ser utilizado para reproduzir as curvas de ACA e ACP, que são muito parecidas com a de ácido esteárico.

4.3.2 PROBLEMAS DE INTERPRETAÇÃO - UM EXEMPLO

Smaby et al [33] realizaram medidas de potencial de superfície para 38 lipídios de 19 classes diferentes. O potencial foi medido para um intervalo entre o final da fase gasosa e a transição para a fase condensada. Eles obtiveram um incremento linear para o potencial, mas uma extrapolação dos resultados pelo modelo de Helmholtz, para grandes áreas por molécula não coincidia com os valores nulos propostos para o tratamento de filmes de Langmuir. Nas palavras deles, "Ainda que os dados obtidos sejam razoavelmente lineares, eles não mostram a proporcionalidade da equação de Helmholtz." e concluem que a melhor forma de descrever os resultados obtidos seria a inclusão de um potencial independente da área no modelo de Helmholtz. A equação de Helmhotz $\Delta V = \mu_\perp/\epsilon A$ pode ser escrita como $\Delta V = 37.7\mu_\perp/A$.Para obter a compatibilidade entre os resultados teóricos, calculados da equação de Helmholtz, e os resultados obtidos propuseram a seguinte equação:

$$\Delta V = \Delta V_0 + 37.7\mu_\perp/A$$

onde ΔV_0 é o termo (potencial independente) adicionado por eles.

O principal problema do artigo [33] é a extrapolação do modelo de Helmholtz para grandes áreas por molécula. Devido ao pequeno intervalo de medidas escolhidas, Smaby et al só registraram a parte linear do potencial, que corresponde a pequenas áreas por

moléculas. A extrapolação proposta por eles só leva em conta este intervalo; sendo plausível, para estas medidas, uma extrapolação linear do modelo de Helmholtz. Entretanto, eles não observaram o incremento abrupto do potencial de superfície que ocorre em A_c e impossibilita qualquer extrapolação linear do potencial da fase condensada para grandes áreas por molécula. Ou seja, o parâmetro ΔV_0 introduzido por eles não tem sentido de ser, pois não seria observado caso as medidas tivessem sido realizadas para filmes expandidos.

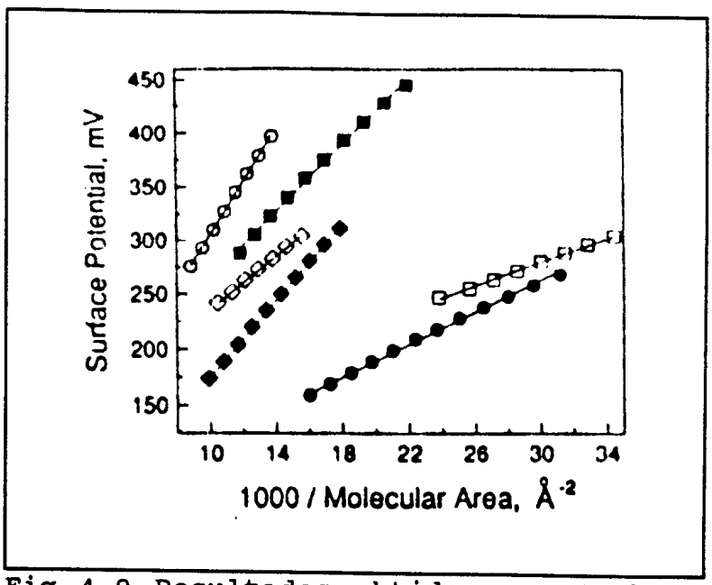


Fig 4.9 Resultados obtidos por Smaby e Brockmann. (○) 1,2 difitanoil GPC, (■) 1,2 dilauroil GPC, (◇) 1,3 dioleilglicerol, (◆) 1 palmitoil 2 oleil GPS, (□) oleil nitrila e (●) N oleiletanolamina

4.4 CONCLUSÃO

Como pudemos ver, os dados reprodutíveis para o potencial e A_c, mesmo quando a posição da prova de potencial era alterada, indicam a inexistência de agregados nas monocamadas de fosfolipídios e ácidos graxos. Estes filmes são, portanto, homogêneos macroscopicamente. Os microdomínios observados por Meunier et al [31] não comprometem as medidas de potencial realizadas com um capacitor vibrante, que apenas são irreprodutíveis se a subfase contiver impurezas.

O melhor tratamento do potencial de superfície é o modelo DF,

por mostrar explicitamente as constantes dielétricas e por parametrizar as contribuições de forma a ser possível explicar os potenciais de superfície medidos a partir de momentos de dipolo obtidos da literatura. Outra observação importante é que o fator determinante para o formato das curvas de potencial é o decréscimo abrupto de D_2 na área crítica, A_c, que varia para compostos diferentes.

CAPITULO V

CONDUTÂNCIA

5.1 INTRODUÇÃO

Monocamadas de fosfolipídios servem como modelos simples para se estudar algumas das propriedades das membranas celulares, já que uma membrana pode ser considerada - de maneira bastante aproximada - como uma bi-camada de fosfolipídios. Como exemplo pode ser citada a atuação de anestésicos que seriam injetados na subfase aquosa e posteriormente incorporados no filme de fosfolipídio que simularia uma membrana. Com relação à biologia, uma das questões mais discutidas é a ocorrência, ou não, da condução lateral na superfície de membranas. Portanto, um estudo detalhado da condução protônica em monocamadas de fosfolipídios é de grande interesse.

Em 1987, o grupo de Sakurai [21], utilizando dois eletrodos de platina parcialmente imersos na água dentro de uma cuba de vidro, observaram uma mudança na condutividade elétrica da água quando um filme de fosfolipídio era depositado sobre a sua superfíce. Em 1989, o mesmo grupo [44] realizou um experimento onde a cuba foi colocada numa região com campo magnético, cujos resultados apontavam para a condutância protônica, uma vez que esta aumentou ou decresceu em 10%, dependendo da orientação do campo. Estes resultados podem ser interpretados por um efeito orientacional, o qual ocorre devido à anisotropia da susceptibilidade diamagnética da monocamada e à força de Lorentz exercida nos prótons em movimento. Sakurai e Kawamura sugeriram que a condutividade elétrica depende da conformação e ordenamento da parte polar da molécula e da mobilidade dos prótons. Medidas diretas da condutância também foram realizadas pelo grupo de Bangor [22] em filmes de ácidos graxos e fosfolipídios. A técnica empregada foi a mesma do grupo japonês [21,44], com eletrodos de platina

parcialmente imersos na subfase, mas com a diferença de que foi utilizada uma Cuba de Langmuir que permitia verificar continuamente a variação da condutância com a área por molécula. O aumento da condutância lateral a partir de uma certa área crítica foi considerada como sendo evidência de condução protônica ao longo da interface água-filme.

Evidências de condução protônica foram também apresentadas por Teissié et al. [25], empregando uma técnica experimental completamente diferente. A condução protônica em monocamadas de lipídios foi detectada através de substâncias fluorescentes sensíveis à mudança de pH. Cromóforos insolúveis e solúveis na água foram adicionados, respectivamente, ao filme e à subfase; a mudança com o tempo do sinal de fluorescência destes cromóforos com a injeção de prótons no sistema, mostra a diferença entre a condução protônica da subfase e da interface para vários estados de compressão da monocamada.

Os trabalhos destes três grupos têm sido alvo de críticas por parte de Menger et al [24] e Shapovalov e Il'ichev [23], que atribuem possíveis aumentos na condutância a artefatos experimentais. Estes últimos pesquisadores, após várias tentativas, não conseguiram reproduzir os resultados apresentados por Morgan et al [22]. Motivados por esta controvérsia, decidimos neste trabalho tentar uma verificação da variação da condutância, utilizando a técnica empregada pelo grupo de Bangor, e também apresentar uma análise crítica dos artigos envolvidos na controvérsia.

5.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS APRESENTADOS NA LITERATURA

Faremos aqui uma breve análise dos resultados da literatura, enfatizando os cuidados tomados no procedimento relatados pelos diferentes autores. O grupo de Sakurai observou uma variação de condutividade da ordem de 10^{-2} $\Omega^{-1}cm^{-1}$, para a qual a principal contribuição é atribuída à condução protônica na interface entre monocamadas de fosfolipídios e a superfície da água pura. Eles

obtiveram um valor para a condutividade, estimando que a condutância lateral ocorria numa faixa de 30 Å próxima da interface filme-água.

Teissié et al [25], utilizando o método de fluorescência descrito anteriormente, analisaram movimentos de H^+ na interface entre filmes de fosfolipídios e água pura. Prótons foram injetados a poucos centímetros abaixo da interface, sendo difundidos por meio de um agitador. Observaram que o coeficiente de difusão do H^+ nas proximidades das cabeças polares dos filmes era 20 vezes maior que na subfase, o que denota a possibilidade de transporte facilitado de H^+ na interface. Este transporte ocorreria através de pontes de hidrogênio que se formam entre as cabeças das moléculas de fosfolipídios e as moléculas de água da subfase. Outro resultado importante é que a presença de íons Na^+ na dupla camada inibiu o efeito, fazendo com que os coeficientes de difusão na interface e na subfase fossem iguais. O trabalho de Teissié foi criticado por Kasianowiz et al [46] que sugeriram que o transporte mais rápido de prótons na interface era causado por convecção provocada pelo agitador. Tal crítica é infundada pois o efeito só foi observado por Teissié acima de uma certa concentração de fosfolipídio (abaixo de uma área por molécula crítica),quando o filme é mais compacto e efeitos de convecção menos prováveis. Se a convecção fosse a causadora do efeito, ele deveria ser observado para baixas concentrações e o efeito inibidor dos íons de sódio não deveria ocorrer. Este último efeito foi observado quando íons de sódio foram adicionados à subfase, e como consequência o coeficiente de difusão de prótons na interface filme-água deixou de ser tão alto, como na ausência dos íons.

O grupo de Bangor, de posse de uma aparelhagem mais propícia para a caracterização de filmes de Langmuir, e utilizando a técnica da medida direta da condutância, foi capaz de medir o aumento da condutância em ácidos graxos e fosfolipídos da ordem de 10^{-8}S. Foi observado também um decaimento devido à diminuição da área imersa dos eletrodos, causada pelo abaixamento do menisco nas placas de

platina após a pressão de superfície começar a subir.

Em seu artigo "Ion conductance along lipid monolayers", Menger et al [24] comparam seus resultados com os obtidos pelo grupo de Bangor. O experimento foi realizado numa atmosfera de nitrogênio, controlando-se automaticamente a imersão dos eletrodos de platina para voltagens de 1.5 a 2.0V, e ainda utilizou-se um segundo par de eletrodos colocados na água pura, para evitar quaisquer efeitos indesejados. Mesmo assim, Menger et al mencionam que a linha de base da condutância, correspondente à condutividade volumétrica da água, não era constante e apresentava oscilações da ordem dos resultados obtidos em Bangor. Num artigo recente, Shapovalov e Il'ichev [23] criticam os resultados de Bangor, Sakurai e Teissié. Minuciosos na descrição dos procedimentos de

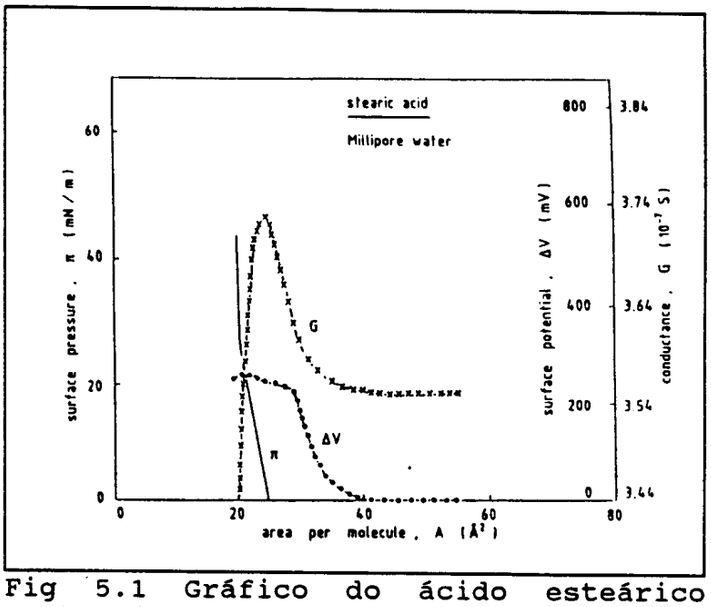


Fig 5.1 Gráfico do ácido esteárico mostrando o aumento da condutância

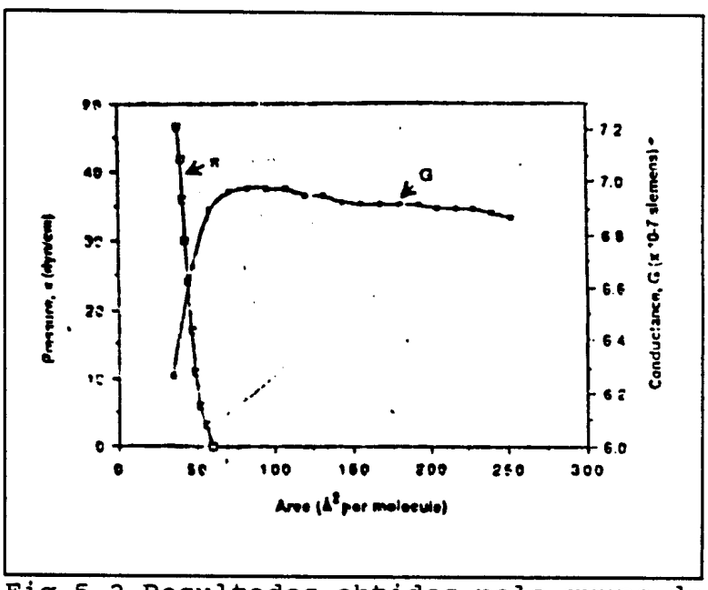


Fig 5.2 Resultados obtidos pelo grupo de Menger

limpeza e purificação da subfase, Shapovalov e Il'ichev utilizaram um ambiente de nitrogênio saturado de vapor de água para que o CO_2 não agisse sobre a superfície e para que não houvesse evaporação da água. Utilizaram arranjos de quatro eletrodos (dois eletrodos de corrente e dois de potencial), mostrados na Figura 5.3, para excluir a influência da: polarização. a) O primeiro sistema de eletrodos é constituído por dois eletrodos de placas paralelas onde se fornece corrente e dois eletrodos de potencial parcialmente imersos na subfase, posicionados entre os eletrodos de corrente

b) O segundo sistema é formado por dois eletrodos em anéis concêntricos, totalmente imersos na subfase, aos quais uma fonte fornece corrente. Um eletrodo de potencial é colocado numa região equipotencial do anel externo e outro é conectado por um túnel a uma região equipotencial do anel interno. Com todos os cuidados tomados, Shapovalov e Il'ichev [23] não observaram aumento na condutância para ácidos graxos e fosfolipídios.

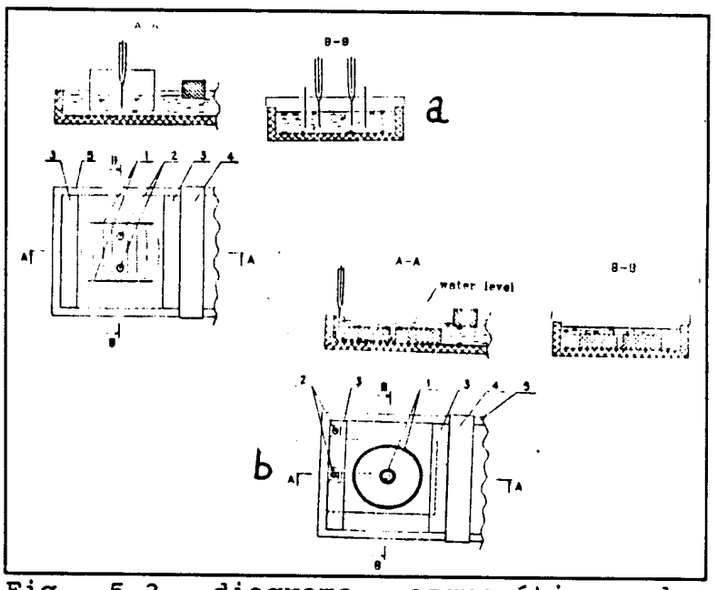


Fig 5.3 diagrama esquemático dos eletrodos utilizados pelo grupo russo. 1 eletrodos de corrente, 2 eletrodos de potencial, 3 barreiras flutuantes, 4 barreiras móveis, 5 cuba de Langmuir

5.3 RESULTADOS

Os resultados aqui apresentados foram realizados utilizando o dipalmitoil fosfatidil colina (DMPC) e o dihexadecil fosfato (DHP),

diluídos em clorofórmio na concentração de (1 ± 0.1) mg/ml. Todos os resultados apresentados correspondem a experimentos repetidos pelo menos 10 vezes. A reprodutibilidade dos dados é a principal certeza de que o efeito pode ser observado.

Vários devem ser os cuidados para se observar a condutância lateral, tais como:

i) otimização da profundidade de imersão dos eletrodos. Se aprofundarmos os eletrômetros demasiadamente, corremos o risco de não conseguirmos observar o aumento da condutância devido ao filme, por causa da condutância de volume da água. Por outro lado, se imergirmos insuficientemente os eletrodos, poderemos não observar o aumento da condutância, que será mascarado pelas vibrações da água.

ii) controle da temperatura ambiente, já que a condutividade é fortemente dependente da temperatura.

iii) evitar, o máximo possível, vibrações na superfície da água.

iv) proceder a limpeza de todo o equipamento e a purificação dos materiais.

Fez-se necessário realizar o experimento na ausência de outros pesquisadores na sala limpa, para que houvesse o mínimo de vibrações da superfície da água. Após certificarmos que a água estava suficientemente pura, depositávamos o filme sobre a superfície da subfase. A profundidade dos eletrodos que otimizava os resultados era de 1 a 2 mm. Esperávamos um tempo de mais ou menos 20 minutos para que o gás carbônico da atmosfera fosse absorvido pela subfase e atingisse o equilíbrio. Realizávamos compressões até que a condição original do filme não era mais reprodutível, o que em geral ocorre por deposição do filme nos eletrodos. Nunca foram realizadas mais que três compressões com o mesmo filme. Após uma série de experimentos, procedíamos uma nova limpeza da cuba e aferição da subfase. A temperatura ambiente foi mantida no intervalo 20-21°C e o pH era aproximadamente de 5.6. Os eletrodos e potencial utilizados são uma reprodução dos utilizados

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

em Bangor.

Os principais resultados obtidos - aumento da condutância, pressão de colapso e as área de incremento e colapso do filmes - estão na Tabela 1, onde também se encontram as dispersões observadas.

TABELA 5.1

	ΔG ($10^{-8}S$)	ÁREA DO INCREMENTO ($Å^2$)	PRESSÃO DE COLAPSO (mN/m)	ÁREA DE COLAPSO ($Å^2$)
DMPC	1.0 ± 0.2	110 ± 5	68 ± 2	42 ± 4
DHP	2.0 ± 0.3	105 ± 3	42 ± 4	40 ± 2

A Fig 5.4 mostra as curvas de $\Delta G x \Pi x A$ do DMPC, assim como a dispersão nos valores da condutância. Podemos notar que a condutância começa a aumentar sempre para a mesma área, assim como o decaimento desta se dá sempre na mesma pressão.

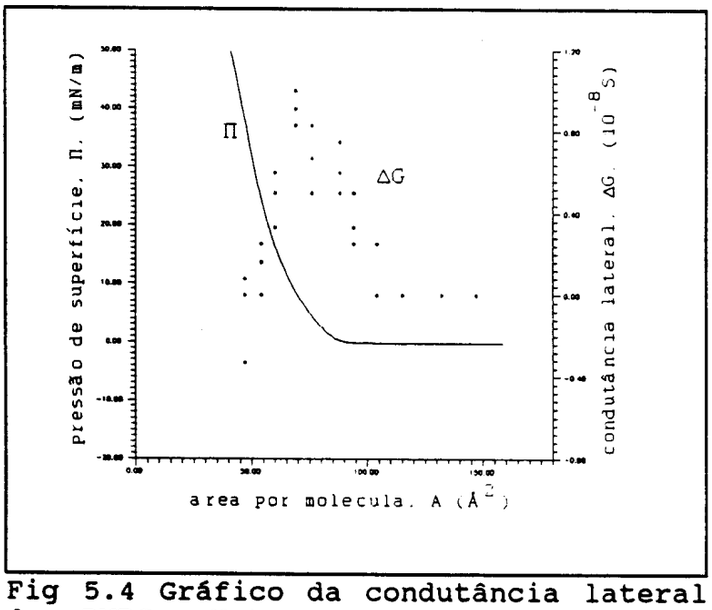


Fig 5.4 Gráfico da condutância lateral do DMPC. Note que os valores são próximos aos obtidos em Bangor

O gráfico da condutância para o DHP é mostrado na figura 5.5.

Note que, assim como para o DMPC, a condutância aumenta numa certa região e decai para certo valor da pressão.

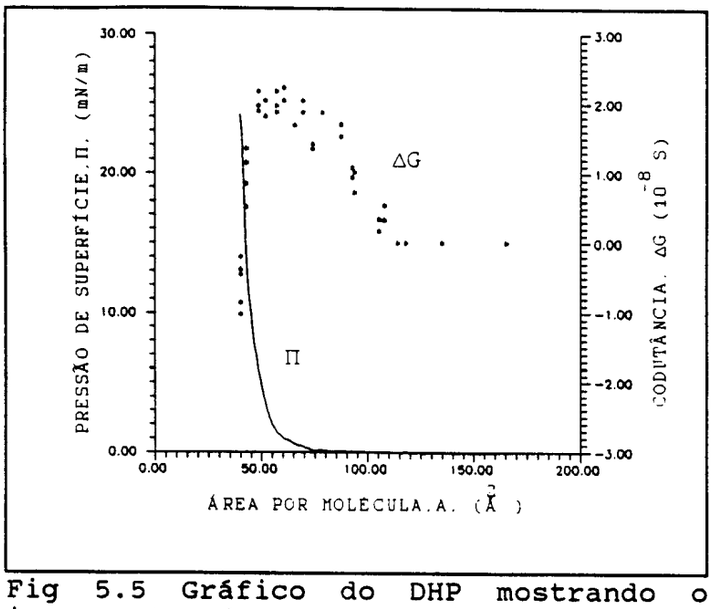


Fig 5.5 Gráfico do DHP mostrando o incremento da condutância lateral da interface água-filme

Comparando as curvas de condutância lateral e potencial de superfície como mostra a Fig 5.6, podemos observar que a área do aumento abrupto do potencial coincide com a área do incremento da condutância. Isto reforça a tese de que o decaimento da constante dielétrica da cabeça polar causa o aumento abrupto do potencial, uma vez que a queda de D_2 ocorre pela organização (ou estruturação) do filme, o que facilita o movimento protônico na interface filme-água. Outra observação é que ambas as medidas mostram que não há interação entre as moléculas para grandes áreas por molécula. Mas quando a pressão começa a subir, observamos algo inesperado. Enquanto a curva de potencial continua a subir, a curva de condutância decai. O decaimento da condutância é explicado por uma diminuição do menisco formado nos eletrodos devido à organização do filme, como será explicado depois.

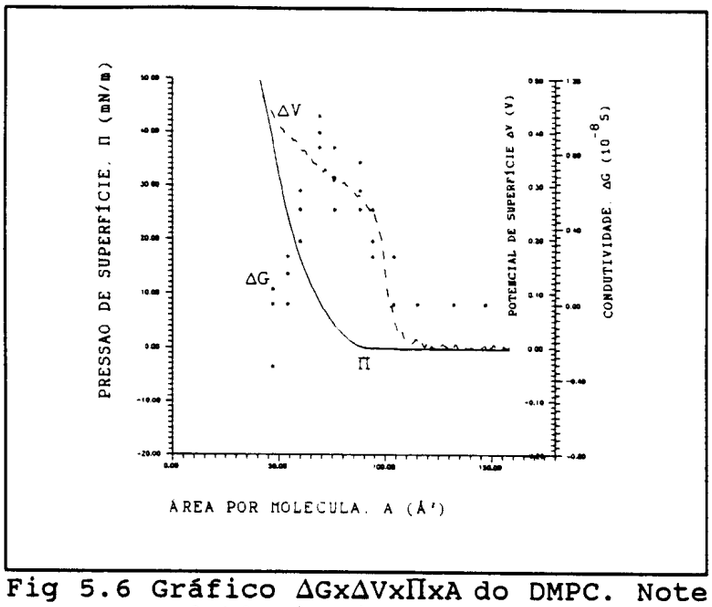


Fig 5.6 Gráfico ΔGxΔVxΠxA do DMPC. Note que a condutância incrementa na mesma região da subida abrupta do potencial

5.4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A reprodutibilidade dos nossos resultados é a principal confirmação de que o efeito existe. Tal qual nossos resultados, os resultados de Bangor para a condutância apontam para um efeito da ordem de 10^{-8} S. Esta coincidência era esperada, pois os eletrodos utilizados pelo grupo de Bangor serviram de modelo para os eletrodos confeccionados por nós, assim como o sistema de purificação da água foi o mesmo.

Menger et al [24] relatam que não conseguiram uma linha de base constante, apresentando uma variação com o tempo da condutância que é da ordem de grandeza da máxima condutância obtida aqui e em Bangor. Só podemos atribuir tais aumentos a artefatos experimentais, inclusive impurezas. Uma inspeção mais cuidadosa dos resultados de Menger et al permite concluir que o que eles analisaram foi simplesmente o decaimento devido à diminuição do menisco, causada pela alta concentração do filme. Eles criticam

Morgan et al [22], propondo que a sugestão do efeito do menisco não era satisfatória para descrever os dados de grandes áreas por molécula. Ainda com uma inspeção cuidadosa, pode-se observar que o gráfico apresentado por Menger et al [24] mostra um acréscimo para a condutância até a pressão começar a variar, após o qual a curva decresce muito mais intensamente. O que nos parece é que Menger et al [24] conseguiram medir o efeito com um acréscimo da ordem de 10^{-8}S, mas este acréscimo foi mascarado pelo efeito, mais pronunciado, do menisco [47]. As regiões em que os decréscimos ocorrem são as mesmas, tanto nos trabalhos de Morgan et al [22], como no de Menger et al [24].

Outro fato interessante é que Menger et al mencionam um artigo de Politi e Chaimovich [54], aparentemente como suporte de seus resultados, que afirma que a presença de sal pode inibir a transferência de prótons em um meio aquoso. Entretanto, dois pontos importantes merecem ser destacados: i) os resultados de Politi e Chaimovich [54] foram obtidos em soluções aquosas com uréia, e estes próprios autores advertiram para o fato de que seus resultados, obtidos em medidas de volume, podem não se aplicar a interfaces; ii) se a presença do sal for inibidora, também para filmes de Langmuir na interface ar-água, então os resultados de Politi e Chaimovich corroborariam as observações de Teissié, que diz que a presença de íons de sódio inibe a condução protônica. E os resultados de Teissié são consistentes com a condutância lateral apresentada nos trabalhos de Morgan et al e aqui.

Shapovalov e Il'ichev [23] também não observaram o incremento da condutância, sendo que tentaram eliminar o efeito do menisco de maneira inadequada. Eles empregaram uma barreira flutuante que pode eliminar o efeito do menisco nas bordas do filme, mas não resolve o problema para o menisco formado com os eletrodos, que é a causa do efeito. Merece também atenção a constatação de que a curva de pressão versus área por molécula do ácido esteárico que eles apresentaram não reproduz as curvas existentes na literatura. Não apresenta claramente as três etapas da curva, o que coloca seus

outros resultados sob suspeita.

Nossas medidas foram reproduzidas dentro de uma dispersão aceitável. O aumento da condutância deu-se em A_c, a área na qual o potencial aumenta abruptamente, por causa da diminuição também abrupta da constante dielétrica da interface filme-água, como discutido no Capítulo 4. O decréscimo de D_2 também pode explicar o aumento da condutância pois este decréscimo ocorre porque o filme ficou melhor organizado ou estruturado. Esta estruturação do filme seria a causadora do estabelecimento da rede de pontes de hidrogênio, que se acredita ser responsável pela condução protônica nos filmes de Langmuir [22].

A queda da condutância lateral para regiões onde a pressão ultrapassa um certo valor é compravadamente um artefato experimental. O movimento do menisco foi registrado por uma filmadora, sendo que a ordem de grandeza deste movimento é suficiente para explicar o decréscimo da condutância. Além disso, em eletrodos especialmente construídos para eliminar o efeito do menisco, este decréscimo não foi observado. Tais eletrodos foram produzidos por Sewell [45], em que lâminas de vidro eram totalmente recobertas por uma camada de aproximadamente 25 nm de espessura de ouro. Esta camada de ouro era então parcialmente recoberta de poliestireno, deixando à mostra uma área de 25mm por 4mm. Imergindo estes eletrodos até uma profundidade de 4mm, o menisco era forçado a permanecer na mesma altura para toda a compressão, pois estava em contato com uma interface de material hidrofílico (ouro) e hidrofóbico (poliestireno). Com isso, o efeito do menisco não era observado e a condutância crescia (ou permanecia aproximadamente constante) até ocorrer o colapso do filme, quando então decrescia.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

CAPÍTULO VI

CONCLUSÃO

6.1 CONCLUSÕES

O principal objetivo deste trabalho foi verificar a homogeneidade macroscópica dos filmes de Langmuir formados por fosfolipídios e ácidos graxos, e verificar se o efeito de condutância era verdadeiro. Os compostos utilizados são extremamente simples, principalmente porque a análise de resultados obtidos de compostos complexos é muito complicada. Mesmo assim, há que se analisar cuidadosamente os resultados, tanto quanto à sua reprodutibilidade como quanto à sua interpretação. Pretendeu-se, portanto, fazer um estudo crítico de resultados apresentados na literatura, os quais traziam interpretações errôneas para análise do potencial de superfície ou aventavam a heterogeneidade dos compostos utilizados.

A homogeneidade macroscópica de filmes de Langmuir de ácidos graxos e fosfolipídios foi comprovada, pois em nenhuma das três posições em que a prova de Kelvin foi colocada observou-se a formação de agregados, ou seja, as curvas de potencial e pressão de superfície foram sempre reprodutíveis, tanto para a fase condensada como para grandes áreas por molécula. Um outro sinal indicativo da homogeneidade dos filmes dos compostos de fosfolipídios e ácidos graxos, foi o fato de não se obter histerese nas curvas de potencial de superfície e pressão de superfície. Mostramos, por outro lado, que filmes de lignina apresentam histerese devido à formação de agregados. Pode-se concluir, portanto, que só haverá domínios de dimensões macroscópicas em filmes de compostos simples, se os requisitos de pureza da água e do sistema não forem preenchidos. Impurezas na subfase também causam o aparecimento a irreprodutibilidade do potencial para grandes áreas por molécula,

o que não foi observado nesse trabalho.

Com base na literatura, em que várias técnicas independentes foram utilizadas para a observação dos filmes, parece certo que os filmes de Langmuir, mesmo os mais simples, apresentam microdomínios. Embora não tenha sido possível confirmar a presença desses domínios, por não dispormos do equipamento necessário, podemos concluir que eles não afetam as medidas de potencial de superfície realizadas com uma prova de Kelvin, pois os resultados obtidos foram reprodutíveis.

A controvérsia a respeito das medidas do aumento de condutância lateral foi discutida em detalhe. Fizemos uma análise dos principais artigos envolvidos e realizamos medidas diretas da condutância, comprovando a existência do aumento. Para tal utilizamos eletrodos idênticos aos empregados em Bangor, e obtivemos resultados semelhantes. Assim, a confirmação dos resultados obtidos anteriormente em Bangor deixa claro que o efeito não é causado por um artefato experimental. As possíveis causas para a não observação dos resultados por outros autores devem ser consequência do efeito do menisco - queda da área imersa dos eletrodos pela queda da tensão superficial - que mascara o aumento da condutância, ou por artefatos experimentais.

6.2 TRABALHOS PARA O FUTURO

Com a homogeneidade comprovada para monocamadas de fosfolipídios e ácidos graxos, pretendemos continuar a caracterização de compostos simples como álcoois, ésteres, e aminas com longas cadeias alifáticas, para verificar se o potencial de superfície para grandes áreas por molécula é constante e nulo (igual à referência). Tais filmes foram extensivamente caracterizados no passado, numa época, entretanto, que a água utilizada para a subfase aquosa não era suficientemente pura. Isto corresponderá a uma recaracterização de vários compostos já estudados. Ainda pretendemos fazer uso destes compostos para o emprego do modelo DF para grandes áreas por molécula, estendendo o

trabalho de interpretação de curvas de potencial de superfície que foi iniciado recentemente.

Uma vez comprovado o efeito da condutância em filmes de Langmuir, daremos continuidade ao trabalho verificando sistemas de interesse biológico, principalmente aqueles que se sabe que são bons condutores de prótons. Tentaremos, também, confeccionar eletrodos que anulem ou diminuam o efeito do menisco. Trabalho com condutância a.c. já foi iniciado em colaboração da professora Maria Elizabeth Zaniquelli, do Departamento de Química da USP de Ribeirão Preto, assim como o trabalho com a condutâcia d.c. continua em andamento.

APÊNDICE A

Uma importante área de pesquisa é a que estuda a influência da dupla camada que se forma em filmes de Langmuir carregados. Para o caso de ácidos graxos, por exemplo, a variação do pH da subfase para valores mais básicos faz com que a molécula (mais precisamente o grupo carboxílico da cabeça) perca um próton, ficando desta forma negativamente carregada. Como a superfície está carregada, há um rearranjo dos íons da subfase, de maneira que a concentração de íons positivos seja maior perto da superfície (interface água/filme) do que no interior da subfase. Gouy e Chapmann, em 1910 e 1913, respectivamente, formularam de maneira independente uma teoria para uma dupla camada, baseados nas seguintes hipóteses: a superfície carregada pode ser tratada como um plano impenetrável e uniformemente carregado; os contra-íons na subfase podem ser considerados como pontuais, distribuídos de acordo com a equação de Boltzmann. Gouy e Chapmann resolveram a equação de Poisson utilizando estas hipóteses, em que a distribuição de íons era descrita em termos de um potencial Ψ próximo da superfície carregada. A energia potencial é dada por $ze\Psi$, onde z é o número atômico e e a carga do elétron. A probabilidade de se encontrar um íon em certo ponto é proporcional a exp { $-ze\Psi/KT$ }, de forma que a concentração de íons pode ser dada por

$$n^{\pm}=n_0 e^{\mp\frac{ze\Psi}{KT}}$$

sendo que a densidade líquida, ρ, é igual a

$$\rho(x)=ze(n^{+}-n^{-})$$

Esta densidade numa superfície é dada por,

$$\sigma = \int_0^\infty \rho \, dx$$

e o potencial da dupla camada pode ser escrito da seguinte maneira

$$\varphi_g = \frac{2KT}{e} \sinh^{-1}\left[\frac{e\alpha}{A(5.88\times10^{-7} c\epsilon T)^{\frac{1}{2}}} \right]$$

As limitações dessa abordagem são devidas às várias aproximações introduzidas. Um modelo mais realista deveria considerar também:

i) queda da constante dielétrica da água próxima à superfície

ii) polarização da água devido ao efeito induzido pelas cabeças polares.

iii) efeito indutivo da polarização das moléculas da água.

iv) volume não desprezível dos íons

REFERÊNCIAS

[1] O.N.OLIVEIRA JR.; Ciência Hoje, 12 (1990) 18

[2] G.G.ROBERTS; Langmuir-Blodgett Films, Plenum Press, N.Y. 1990

[3] O.N.OLIVEIRA JR.; PhD Thesis, Bangor, Reino Unido, 1990

[4] G.G.ROBERTS; Advance in Physics, 34 (1985) 475

[5] J.T.DAVIES e E.K.RIDEAL; Interfacial Phenomena, Acad. Press, San Diego, EUA, 1962

[6] A.W.ADAMSON; Physical Chemistry of Surfaces, Wiley Interscience, 1982

[7] D.SCHUHMANN; J.Coll.and Interface Sci.; 134 (1990) 152

[8] A.NOBLET, H.RIDELAIRE e G.SYLIN; J.Phys. E, Sci. Instrum., 17 (1984) 234

[9] G.L.GAINES JR.; Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces, N.Y., 1961

[10] O.N.OLIVEIRA JR, D.M.TAYLOR, T.J.LEWIS, S.SALVAGNO e C.J.M.STIRLING; J.Chem. Soc., Faraday Trans. I, 85 (1989) 1009

[11] J.T.DAVIES e E.K.RIDEAL; J.Phys., 33 (1955) 947

[12] R.J.DEMCHAK e T.J.FORT; J.Coll. and Interface Sci., 46 (1974) 191

[13] C.P.SMYTH; DIELECTRIC BEHAVIOUR AND STRUCTURE, MAC GRAW HILL, N.Y. 1955

[14] D.M.TAYLOR, O.N.OLIVEIRA JR. e H.MORGAN; Thin Solid Films 173 (1989) L141

[15] O.N.OLIVEIRA JR., D.M.TAYLOR e H.MORGAN; Thin Solid Films 210/211 (1992) 76

[16] P.DYNAROWICZ e M.PALUCH; J. Coll. and Interface Sci., 107 (1985) 75

[17] M.PALUCH e P.DYNAROWICZ; J. Coll. and Interface Sci., 115 (1987) 307

[18] V.VOGEL e D.MOEBIUS; J. Coll. and Interface Sci., 126 (1988) 408

[19] G.GOUY; J.Phys., 9 (1910) 457

[20] D.L.CHAPMAN; Philos. Mag., 25 (1913) 475

[21] I.SAKURAI e Y.KAWAMURA; Biochim. Biophys. Acta, 904 (1987) 405
[22] H.MORGAN, D.M.TAYLOR, O.N.OLIVEIRA JR.; Biochim. Biophys. Acta, 1062 (1991) 149
[23] V.L.SHAPOVALOV e YU.IL'ICHEV; Chem. Phys. Lett., 197 (1992) 149
[24] F.M.MENGER, S.D.RICHARDSON e G.R.BROMLEY; J. Am. Chem. Soc., 11 (1989) 6893
[25] J.TEISSIÉ, M.PRATS e B.GABRIEL; Thin Solid Films, 210/211 (1992) 713
[26] REF. 3, p. 39
[27] J.MINGINS e N.F.OWENS; Thin Solid Films, 152 (1987) 9
[28] I.MITSUMASA e M.YUKATA; Thin Solid Films, 178 (1989) 67
[29] H.G.YAMINS, W.A.ZISMAN; J. Chem. Phys., 1 (1933) 656
[30] H.E.GAUB, V.T.MOY e H.M.McCONNELL; J. Phys. Chem., 90 (1986) 1721
[31] S.HÉNON e J.MEUNIER; Rev. Sci. Instrum., 62 (1991) 936
[32] Informação fornecida pelo Prof. O.N. Oliveira Jr, a partir de conversa informal mantida durante a V Conferência de filmes LB, em Paris, em 1991.
[33] J.M.SMABY e H.L.BROCKMAN; J. Biophys., 58 (1990) 195
[34] M.K.BERNETT, N.L.JARVIS e W.A.ZISMAN; J. Phys. Chem. 68 (1964) 3520
[35] R.SCHIMIDT, B.NEES, C.H.SCHOPPMANN, D.BRANDL, A.OSTROWSKI e H.VOIT; Thin Solid Films, 195 (1991) 175
[37] P.TIPPMANN-KRAYER e H.MOHWALD; Langmuir, 7 (1991) 2303
[38] M.IWAMOTO e Y.MAGIMA; Thin Solid Films, 178 (1989) 67
[39] M.IWAMOTO e Y.MAGIMA; J. Chem. Phys., 94 (1991) 2303
[40] K.YAMAUCHI, A.MORIYA, Y.KIDA e M.KINOSHITA; Thin Solid Films 210/211 (1992) 108
[41] J.SMABY, A.HERMETTER, PC.SCHIMIDT, F.PALTAUF, H.L.BROCKMAN; Biochem., 22 (1983) 5808
[42] C.J.CONSTANTINO; Trabalho de Iniciação Científica, Bolsa da FAPESP, 1992
[43] J.MINGINS, J.A.G.TAYLOR, B.A.PETHICA; J. Chem. Soc. Faraday Trans. I, 78 (1982) 323

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC

[44] I.SAKURAI e Y.KAWAMURA; Biochim. Biophys. Acta, 984 (1989) 347
[45] N.J.SEWELL, Honours Dissertation, Bangor, Reino Unido, 1989
[46] J.KASIANOWICS, R.BENS, M.GUTMAM e S.McLAUGHLIN, J. Membr. Biol. 99 (1987) 227
[47] Sugestão dada pela Profa. Maria Elizabeth Zaniquelli, do Departamento de Química da USP de Ribeirão Preto.
[48] G.F.L.FERREIRA e O.N.OLIVEIRA JR.; Phys. Essays, 5(2) (1992) 245
[49] M.IWAMOTO e Y.MAJIMA; J. Chem. Phys., 94 (1991) 5135
[50] O.ALBRECHT; Thin Solid Films, 178 (1989) 93
[51] W.D.HARKINS e E.K.FISCHER; J. Chem. Phys., 1 (1933) 852
[52] W.D.HARKINS, T.F.YOUNG e E.BOYD; J. Chem. Phys., 8 (1940) 955
[53] P.CLAESSON, A.N.C.RIBEIRO e K.KURIHARA; J. Phys. Chem. 93 (1989) 917
[54] M.J.POLITI e H.CHAIMOVICH; J. Sol. Chem., 11 (1989) 1055