

Pesquisas mediante SAXS/WAXS de materiais nanoestruturados

Coordenador: Prof. Dr. Aldo F. Craievich

Laboratório de Cristalografia
Departamento de Física Aplicada
Instituto de Física
Universidade de São Paulo

*Projeto de pesquisa FAPESP - Processo: 08/52084-5 (multi-usuários)
(01/09/2008 a 31/08/2010)*

Equipe de suporte ao projeto:

Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira (IF-USP, doutor)
Profa. Dra. Elisabeth Andreoli de Oliveira (IF-USP, livre-docente)
Profa. Dra. Márcia C.A. Fantini (IF-USP, titular)

Relatório final

(01/10/2009 a 30/09/2010)

I - Resumo do projeto original

O projeto de pesquisa, apoiado pela FAPESP e aprovado inicialmente pelo CNPq, correspondente ao Edital CNPq/MCT no.10/2007 para melhoria da infra-estrutura laboratorial em nanotecnologia, teve como objetivo a ampliação da capacidade do Laboratório de Cristalografia (LCr) do Instituto de Física da USP para análise estrutural de diferentes materiais, compreendendo materiais cerâmicos mesoporosos, ligas metálicas com propriedades magneto-ópticas importantes para armazenamento de informação, nanoestruturas com poços quânticos, colóides, sistemas auto-organizados e materiais de interesse biológico. O projeto foi apoiado por 26 pesquisadores de várias instituições de pesquisa do país e do exterior.

O equipamento solicitado e adquirido foi um Nanostar, fabricado pela Bruker, que permite realizar medições de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS) e de espalhamento de raios X a altos ângulos (WAXS). O aparelho consiste de um tubo de raios X, com radiação K-alfa do Cu ($\lambda=0,15418$ nm), de 1,5kW, colimado por um sistema de espelhos de Gobbel e um conjunto de três fendas, fornecendo um feixe de seção quase puntiforme. A câmara porta-amostra tem um grande volume, o que permite a utilização de diferentes tipos de suporte para amostras, atendendo assim a diferentes demandas dos usuários. O detetor de raios X para SAXS é multifilar, bidimensional e sensível à posição. A detecção de raios X nas experiências de WAXS é feita com uma placa de imagem (“*image plate*”).

II - Instalação

No Laboratório de Cristalografia (LCr) foram preparadas as instalações de rede elétrica, hidráulica e lógica adaptadas para receber o Nanostar, no período de 11 a 22 de agosto de 2008. O aparelho foi montado no fim de agosto e comissionado na primeira semana de setembro de 2008 com o auxílio de um técnico alemão e outro brasileiro da Bruker.

Participaram do comissionamento os Profs. Aldo F. Craievich, Elizabeth Andreoli de Oliveira e Márcia C.A. Fantini, os dois técnicos do LCr (Antonio Carlos Franco da Silveira e Sérgio Alexandre da Silva), que se revezam no atendimento a usuários, e dois estudantes de pós-graduação do grupo (Rebeca Bacani e Leandro R.S. Barbosa).

A Figura 1(a) mostra o equipamento principal já instalado no LCr e a Figura 1(b) exhibe a leitora de placa de imagem, IP, para medidas de WAXS.

Logo após a instalação do equipamento, os dois estudantes do LCr iniciaram testes com amostras de interesse de seus respectivos projetos de pesquisa e se familiarizaram com o equipamento, principalmente com seu *software* de comando e análise. A estudante Rebeca Bacani passou a confeccionar uma Manual de Uso do equipamento em português, o qual encontra-se disponível na página do LCr [1].

(a)



(b)



Fig. 1: (a) Vista lateral do aparelho de SAXS e WAXS Nanostar instalado no LCr. Da esquerda para a direita observa-se o suporte do tubo de raios X, o alojamento dos espelhos de Gobbel, os posicionadores dos conjuntos de colimadores, a câmara porta-amostra, o caminho de vácuo e o detetor sensível à posição multifilar. (b) Vista parcial do aparelho principal e, à direita, acessório leitor de placa de imagem.

III - Manutenção

As verificações das condições de operação e calibração do equipamento Nanostar são realizadas semanalmente pelos dois técnicos do LCr, que medem o espalhamento sem amostra (espalhamento parasita), o espalhamento por uma amostra de carbono vítreo padrão e o padrão de calibração de distância de AgBh. Nesse procedimento verifica-se também a curva de resposta do detector.

IV - Formação e treinamento de usuários

A prioridade para a primeira fase das atividades com o Nanostar foi organizar e ministrar um curso sobre os fundamentos teóricos e experimentais da técnica SAXS/WAXS, para os usuários, bem como começar o treinamento prático de uso do novo equipamento.

Com esses objetivos foi montado o “Curso de Treinamento de Usuários do Nanostar”, ministrado entre 15 e 19 de dezembro de 2008 no IFUSP. Assistiram ao curso 44 pesquisadores, entre professores, técnicos e estudantes. Os palestrantes do Curso foram Aldo F. Craievich, professor (IFUSP), Márcia C.A. Fantini, professora (IFUSP), Rosangela Itri, professora (IFUSP), Celso V. Santilli, professor (IQ-UNESP, Araraquara), Guinther Kellerman, pós-doutor (LNLS), Mário de Oliveira Neto, pós-doutor (IFSC-USP), Rebeca Bacani, aluna de mestrado (IFUSP). O curso contou com aulas expositivas, três experiências referentes a diferentes temas, realizadas no Nanostar e analisadas pelos respectivos professores, além do treinamento específico de operação do equipamento. Na aula de treinamento, grupos de três a quatro usuários executaram medidas de SAXS e WAXS de uma amostra de parafina policristalina. Houve também uma sessão de painéis, onde onze pesquisadores futuros usuários apresentaram seus projetos associados à próxima utilização do aparelho Nanostar, para os quais a técnica SAXS vem sendo ou será utilizada. Todo o material do curso encontra-se disponível na página web do LCr [2], bem como o manual de operação em português, os modelos de submissão de projetos, ficha de experimento e formato de relatório.

Foi decidido organizar o agendamento do Nanostar através do envio, por parte dos usuários interessados no uso do equipamento, de projetos suscintos encaminhados a um endereço de e-mail dedicado a esse fim (nanostar@if.usp.br). Por questões de ordem prática, o atendimento a usuários externos é feito pelos técnicos do LCr.

V. Projetos científicos realizados mediante o uso do NanoStar

Entre outubro de 2008 e agosto de 2010 foram realizadas 98 sessões de experimentos com o Nanostar, cada uma delas de duração variável, desde um dia até uma semana. Em diversas dessas sessões coletaram-se dados que estão ainda em processo de análise. Os resultados já analisados de parte dessas experiências estão descritos em 36 relatórios correspondentes a experimentos realizados por diferentes grupos de usuários. Neste relatório (por razões de espaço) são apresentados somente 10 relatórios representativos do total de experiências realizadas. Os títulos e autores dos relatórios apresentados são expostos a seguir (Os primeiros 10 relatórios completos são apresentados em Apêndices nas páginas indicadas). Os 24 relatórios completos do ano de 2009 podem ser consultados no Relatório Anual do Nanostar 2009, disponível na página web do LCr [3]. Todos os projetos realizados em 2010 serão anexados ao Relatório Anual de 2010, que será preparado em janeiro do próximo ano e disponibilizado na página web do LCr.

Relatório/Apêndice 1, página 9. “Estudo de sistemas de relevância biológica por SAXS - Aplicações e possibilidades do equipamento Nanostar - Bruker”. Hector Milani^a, Leandro R.S. Barbosa^b, Rosangela Itri^b. ^aCentro de Biotecnologia, Havana, Cuba. ^bInstituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório/Apêndice 2, página 15. “Implantação lônica de Baixa Energia em Polímeros para Desenvolvimento de Camadas Compósitas Condutoras Litografáveis”. F. S. Teixeira^{1,2}, M. C. Salvadori¹, M. Cattani¹. ¹ Instituto de Física, USP, São Paulo, Brasil. ² Escola Politécnica, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório/Apêndice 3, página 21. “Análise da Orientação e Desorientação de Copolímeros em Bloco e Seus Nanocompósitos”. D. J. Carastan^a, L. G. Amurin^a, A. F. Craievich^b, N. R. Demarquette^a. ^aDepartamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola Politécnica da

Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^bInstituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório/Apêndice 4, página 25. “Estudos conformacionais da interação de peptídeos correspondentes à região N-terminal das toxinas protéicas Sticholisina I e II com membranas modelo”. Joana Paulino^a Leandro R S Barbosa^b, Shirley Schereier^a Rosangela Itri^b. ^aInstituto de Química da USP, São Paulo, Brasil. ^bInstituto de Física da USP, São Paulo, Brasil.

Relatório/Apêndice 5, página 32. “Caracterización por SAXS de la morfología de nanopartículas bifásicas en solución”. L.J. Giovanetti^a, J. M. Ramallo López^a, F.G. Requejo^a, E.V. Shevchenko^b and A.F. Craievich^c. ^aDepartamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas UNLP. INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas UNLP. ^bLawrence Berkeley National Laboratory-Berkeley CA United States of America. ^cInstitute of Physics, University of Sao Paulo, CEP 05508-900 Sao Paulo, SP, Brazil.

Relatório/Apêndice 6, página 36. “Investigação das propriedades morfológicas e estruturais de nanopartículas de cobalto produzidas pelo método de agregação gasosa”. G. T. Landi^a, M. C. A. Fantini^b e A. D. Santos^a. ^aLaboratório de Materiais Magnéticos, Instituto de Física da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil. ^bLaboratório de Cristalografia, Instituto de Física da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Relatório/Apêndice 7, página 40. “Transição de fase em membranas de lipídio”. E. A. Oliveira (IFUSP), B.B. Gerbelli (IFUSP), R.N. Bicev (IFUSP).

Relatório/Apêndice 8, página 50. “Estudo de emulsões dermatológicas por raios X de baixo e alto ângulo”. Erika Cristina Vargas de Oliveira^a, Pedro Alves da Rocha Filho^a e Lia Queiroz do Amaral^b. ^aFaculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP, SP, Brasil. ^bInstituto de Física da USP, São Paulo, SP, Brasil.

Relatório/Apêndice 9, página 55. “Estudo das propriedades estruturais de filmes de elastômeros derivados de celulose (HDI/APC)”. C. Sena^a e A.M. Figueiredo Neto^a. ^aDepartamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório/Apêndice 10, página 60. “Protocolo de preparação e caracterização de sílica mesoporosa ordenada cúbica”. Cíntia Fabiana Kanagussuko e Marcia C. A. Fantini. Instituto de Física da USP, Departamento de Física Aplicada, São Paulo, Brasil.

Relatório 11. “Interaction of Cytochrome-C with Biomimetic Systems”. Mazzonei, S.¹; Barbosa, L.R.S.²; Itri, R.², Mariani, P.¹. ¹ SAIFET " Dipartimento di Scienze Alimentari, Agro-Ingegneristiche, Fisiche, Economico-Agrarie e del Territorio. Ancona, Italy. ² Instituto de Física - Universidade de São Paulo, São Paulo - Brasil.

Relatório 12. “Estudo dos potenciais de interação de proteínas por espalhamento de Raios-X a baixos ângulos”. Leandro R. S. Barbosa, Elisa Morandé Sales e Rosangela Itri. Instituto de Física da USP Departamento de Física Aplicada, São Paulo, Brasil.

Relatório 13. “Estudo de óxidos de Zr-Ce mesoporosos ordenados por SAXS”. Rebeca Bacani e Márcia C. A. Fantini. Instituto de Física da USP, Departamento de Física Aplicada, São Paulo, Brasil.

Relatório 14. “Transição de fase em membranas de lipídio e transição de fase em soluções de fragmentos de DNA”. E. A. Oliveira (IFUSP), B.B. Gerbelli (IFUSP), R.N. Bicev (IFUSP).

Relatório 15. “Estudos Estruturais de Ligninas Obtidas em Diferentes Condições de Oxidação”. Oliveira Neto M.^a Maziero P.^b Golçalves A.R.^b Craievich, A.F.^c Polikarpov I^a. ^aInstituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil. ^bEscola de

Engenharia de Lorena-Departamento de Biotecnologia, Universidade de São Paulo, Lorena, Brasil. ^cInstituto de Física de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório 16. “Efeitos da anisotropia nas propriedades reológicas de nanocompósitos de copolímeros em bloco”. Leice G. Amurin¹; Danilo J. Carastan¹; Aldo F. Craievich²; Nicole R. Demarquette¹. ¹ Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo - USP, *nick@usp.br. ² Departamento de Física Aplicada - Instituto de Física da Universidade de São Paulo - USP.

Relatório 17. “Estudo da complexação do íon K⁺ por poliglicóis de peso molecular 400 e 3000”. Baixo, Rogério; Tsunoda, Mitsukimi; Oliveira, Abel. Departamento de Pós Graduação, UFSCar, São Carlos, Brasil. Instituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório 18. “Estudo estrutural de lipossomas estabilizados com ácido polilático-coglicólico (PLGA) para liberação intravitreal de Bevacizumabe”. Bruno, C^a, Chiavvacci, L^a; Barbosa, L R S^b, Itri, R^b. ^aDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Unesp Araraquara, Brasil. ^bInstituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório 19. “Influência da distribuição de pesos moleculares sobre o "ponto de névoa" de surfactantes do tipo poliéter glicóis”. Y.A. Marques e M. Tsunoda. Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil.

Relatório 20. “Estudo de membranas lipídicas de DOPC e cardiolipina com azul de metileno por espalhamento de raios-x a baixos ângulos”. Thaís F. Schmidt^a, Leandro Barbosa e Rosangela Itri^b. ^aUniversidade Federal do ABC, Santo André, SP. ^bInstituto de Física, Universidade de São Paulo, SP.

Relatório 21. “Vesículas lipídicas de DOPC e cardiolipina sob ação do fotossensibilizador azul de metileno”. Thaís F. Schmidt^a, Leandro Barbosa e Rosangela Itri^b. ^aUniversidade Federal do ABC, Santo André, SP. ^bInstituto de Física, Universidade de São Paulo, SP.

Relatório 22. “Caracterização de fios de cabelos submetidos a tratamentos diversos”. F. V. Gozzo e S. L. Morelhão. ^aLaboratório de Cristalografia, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, Brasil.

Relatório 23. “Estudo das propriedades estruturais, mecânicas, ópticas e magnéticas de elastômeros de uretano/uréia”. C. Sena e A.M. Figueiredo Neto. Departamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório 24. “The influence of fluorene and hydrogenate surfactants on bovine fibrinogen structure”. Leandro R. S. Barbosa^a, Juan M. Ruso^b, Rosangela Itri^a. ^a IFUSP - Dpto. de Física Aplicada, USP, São Paulo, Brasil. ^bFaculty of Physics University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain.

Relatório 25. “Análise da Orientação e Desorientação de Copolímeros em Bloco e Seus Nanocompósitos”. D. J. Carastan^{a,b}, L. G. Amurin^a, A. F. Craievich^c, N. R. Demarquette^a. ^aDepartamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^bEndereço atual: Universidade Federal do ABC. ^cInstituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório 26. “Estudos Conformacionais da Centrina 1: efeitos da adição de Calcio e variação de Temperatura”. Ana Isabel Camargo^a, Leandro R S Barbosa^b, Leila M. Beltramini^a Rosangela Itri^b. ^aInstituto de Física da USP/SC, São Carlos, Brasil. ^bInstituto de Física da USP, São Paulo, Brasil.

Relatório 27. “Avaliação da estrutura molecular de surfactantes do tipo polieter glicóis em solução”. Y.A. Marques^a e M. Tsunoda^a. ^aDepartamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil

Relatório 28. “Determinação do tamanho de micelas de tensoativos aniônicos e neutros na presença de polications e sais de Hofmeister”. Denise Freitas Siqueira Petri e Alfredo Bonfá, Instituto de Química, Departamento de Química Fundamental

Relatório 29. “Estudo da formação de fibras amilóides com a Septina 2”. Elisa M. Sales^a, Julio C. P. Damalio^b, Leandro R. S. Barbosa^a, Ana P. U. Araujo^b, Rosangela Itri^a. ^a Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^b Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.

Relatório 30. “Estudo de micelas de DTATf (triflato de dodeciltrimetilamônio) em função da concentração do surfactante e de seu sal de sódio”. Filipe Lima^a, Karin do Amaral Riske^b, Iolanda Cuccovia^a, Lia Queiroz do Amaral^c, Hernan Chaimovich^a. ^aDepartamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil. ^bDepartamento de Biofísica, Universidade Federal de São Paulo, Brasil. ^cDepartamento de Física Aplicada, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, Brasil.

Relatório 31. “Implantação Iônica de Baixa Energia em Polímeros para Desenvolvimento de Camadas Compósitas Condutoras Litografáveis”. F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani. Instituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório 32. “Estudo das propriedades estruturais de filmes elastoméricos derivados de celulose (HDI/APC)”. C. Sena^a e A.M. Figueiredo Neto^a. ^aDepartamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Relatório 33. “Análise por SAXS de estruturas fractais formadas por aglomerados de nanopartículas de Co em uma matriz de Al”. G.T. Landi, A.D. Santos. Instituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

Relatório 34. “Myotoxic phospholipases *Bothrops moojeni* studied by SAXS”. Cristiano L. P. Oliveira^a, Roberto M. Fernandez^b, Ângelo J. Magro^b, Carlos A. H. Fernandes^b, Marcos R. M. Fontes^b, ^aInstituto de Física, Departamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^bUniversidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu, Brasil.

Relatório 35. “Magnetic nanoparticles studied by SAXS”. Cristiano L. P. Oliveira^a, Soledad Antonel^b and Martin Negri^b. ^aInstituto de Física, Departamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^bDepartamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Relatório 36. “Incorporation of RNA by nanoemulsions revealed by SAXS”. Cristiano L. P. Oliveira^a, Jorge Luis María Ruiz^b and Sérgio Paulo Bydlowski^b. ^aInstituto de Física, Departamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ^bFaculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Departamento de Clínica Médica. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

VI - Produção científica

Os resultados experimentais obtidos durante o período deste projeto com o aparelho adquirido foram incluídos nos relatórios específicos citados na seção precedente, em artigos e comunicações científicas, em tese doutorado e em dissertações de mestrado, como detalhado a seguir.

Desde o comissionamento do equipamento de SAXS/WAXS NanoStar, em setembro de 2008, ele vem sendo utilizado por pesquisadores do Laboratório de Cristalografia, de outros laboratórios da USP, e de outras Universidades do Brasil e do Exterior. Várias pesquisas realizadas originaram artigos publicados ou em processo de publicação e comunicações

apresentadas em várias reuniões científicas. Por outro lado, vários alunos de pós-graduação executaram pesquisas com o NanoStar que foram incluídas em suas dissertações ou teses. Na Tabela 3 apresentamos os números de artigos, comunicações e teses que incluíram dados de experimentos de SAXS realizados no NanoStar.

Tabela 3: Produção científica

Tipo de produção	Número
Artigos publicados e aceitos	4
Artigos submetidos ou em preparação	6
Comunicações em Congressos (internacionais)	11
Comunicações em Congressos (nacionais)	3
Dissertações de Mestrado	8
Teses de Doutorado	8

VI.1 - Artigos publicados ou aceitos para publicação

- D.J. Carastan, L.G. Amurin, A.F. Craievich, N.R. Demarquette, “Efeitos da Anisotropia nas Propriedades Reológicas de Nanocompósitos de Copolímeros em Bloco”, Anais do 10° Congresso Brasileiro de Polímeros, Foz do Iguaçu, 13-17/10/2009. (ANEXO 1)

- F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani, I.G. Brown, "Structural properties of buried conducting layers formed by very low energy ion implantation of gold into polymer". Journal of Applied Physics, v. 106, 056106 (2009). (ANEXO 2)

- F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani, I.G. Brown, "Electrical, optical and structural studies of shallow buried Au-PMMA composite films formed by very low energy ion implantation". Journal of Vacuum Science and Technology A, v. 28 (4), 818-823 (2010). (ANEXO 3)

-F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani, I.G. Brown, “Structure of disordered gold-polymer thin films using small angle x-ray scattering”. Aceito para publicação no Journal of Applied Physics (Data prevista para publicação: 2010). (ANEXO 4)

VI.2 - Artigos submetidos ou em preparação

- C.O. Sena, M.H. Godinho, P.J. Sebastião, D. Sousa, A.M. Figueiredo Neto, “Free-standing Urethane/Urea elastomer films undoped and doped with ferronanoparticles”, submetido ao The European Physical Journal E (2010). (ANEXO 5)

- M.C.A. Fantini, C.F. Kanagussuko, G.J.M. Zilioti, T.S. Martins, “Synthesis and Structure of Cubic Mesoporous Silica”, submetido ao Journal of Alloys and Compounds (2010). (ANEXO 6)

- D.J. Carastan, L.G. Amurin, A.F. Craievich, N.R. Demarquette, “The effect of anisotropy on the extensional rheology of block copolymer nanocomposites”, (2010). (ANEXO 7)

- M. Cattani, M.C. Salvadori, F.S. Teixeira, “SAXS structural characterization of nanostructured conducting thin films. A brief review of SAXS theories” (2010). (ANEXO 8)

- F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani and I.G. Brown, “Effects of annealing of metal-polymer nanometric layers studied by small-angle X-ray scattering”, (2010). (ANEXO 9)

- Z. Ahmed, D. Z. de Florio, F. C. Fonseca, E. I. Santiago, V. Esposito, E. Traversa and S. Licocchia. "Mesoporous silica Nafion composite electrolyte: properties and direct ethanol fuel cells performance", (2010). (ANEXO 10)

VI.3 - Comunicações (resumos) em congressos internacionais e nacionais

VI.3.1 - Internacionais

- L. J. Giovanetti, F. Fernandez-Baldis, E. Shevchenko, M. Salmeron, A. F. Craievich y F. G. Requejo, “Electronics, local structure and morphology of heterogeneous nanoparticles investigated by XAFS techniques” (Oral). V Reunión de la Asociación Argentina de Cristalografía - Posadas, Pcia. de Misiones - 12 a 14 de agosto de 2009. (ANEXO 11)

- L. J. Giovanetti, F. G. Requejo, J. M. Ramallo-López, E. Shevchenko, M. Salmeron, A. F. Craievich. “Electronics, local structure and morphology of heterogeneous nanoparticles investigated by XAFS techniques” (Oral). Técnicas Experimentales con Luz Síncrotrón, Instituto Balseiro 26 de octubre - 6 de noviembre de 2009. (ANEXO 12)

- C.F. Kanagussuko, M.C.A. Fantini, T.S. Martins, L.C. Cides da Silva, J.R. Matos, “Cubic ordered mesoporous silica the effect of pH and alcohol on the structural properties” (Painel), XV International Conference Sol Gel 2009, Porto de Galinhas, PE, Brasil, 23-27 de agosto de 2009. (ANEXO 13)

- F.S. Teixeira, M.C. Salvadori, M. Cattani and I.G. Brown, “Electrical, Optical and Structural Studies of Shallow Buried Au-PMMA Composite Films formed by Very Low Energy Ion Implantation” (Oral). “AVS 56th International Symposium & Exhibition, San Jose, CA, 2009. Livro de resumos disponível na página web. (ANEXO 14)

- R. Bacani, M. C. A. Fantini, T. S. Martins, J. R. Matos, D. G. Lamas and R. O. Fuentes “Mesoporous ZrO_2 - CeO_2 with SiO_2 for Catalytic Applications” (Painel), International Conference on Advanced Materials (ICAM09), 20-25 de setembro de 2009, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Abstract submetido em setembro/09 ao World Congress on Emulsion 2010, a realizar-se em Lyon, França, no período 12-14 outubro 2010. (ANEXO 15)

- E. C. Vargas de Oliveira, N. Rezende Maciel, I. Sperchi Camilo, L. Queiroz Amaral, P. A. Rocha-Filho. “Characterization by wide and small angle x-ray diffraction of lamellar structures in emulsions from vegetable raw material”. Abstract submetido em setembro/09 ao World Congress on Emulsion 2010, a realizar-se em Lyon, França, no período 12-14 outubro 2010. (ANEXO 16)

- N. Rezende Maciel, E. C. V. Oliveira, C. H. Okuma, J. F. Topan, L. G. Walther, L. Queiroz Amaral, P. A. Rocha-Filho. “A new system consisting of multiple emulsions and gel phase lamellar structures characterized by wide and small angle x-ray diffraction”. Abstract submetido em setembro/09 ao World Congress on Emulsion 2010, a realizar-se em Lyon, França, no período 12-14 outubro 2010. (ANEXO 17)

- D.J. Carastan, L.G. Amurin, A.F. Craievich, N.R. Demarquette. “Extensional and shear rheology of oriented block copolymers / clay nanocomposites” - PPS-26 - Processing Society 26th Annual Meeting, 2010, Banff - Canadá, G03, p. 648. (ANEXO 18)

- M.C.A. Fantini, C.F. Kanagussuko, G.J.M. Zilioti, T.S. Martins, Synthesis and Structure of Cubic Mesoporous Silica”. 17th International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials (ISMANAM 2010), Zurich, Switzerland, 4-9 de julho de 2010. (ANEXO 19)

- B.R.Matos, E.I.Santiago, M.Linardi, F.C.Fonseca. "Nafion-based composite electrolytes with high volume fraction of fillers"(poster). 2nd Carisma international conference on progress in MEA materials for medium and high temperature polymer electrolyte fuel cells. La Grande Motte, França, 19-22 de setembro, 2010. (ANEXO 20)

- Z. Ahmed, D. Z. de Florio, J. F. Q. Rey, F. C. Fonseca, M. Linardi, and E. I. Santiago. "Effect of mesoporous silica morphology filler on Nafion-based composite properties and direct ethanol fuel cells performance."(poster). 2nd Carisma international conference on progress in MEA materials for medium and high temperature polymer electrolyte fuel cells. La Grande Motte, França, 19-22 de setembro, 2010. (ANEXO 21)

VI.3.2 - Nacionais

- R. Bacani, M. C. A. Fantini and T. S. Martins, "Structural Analysis of Mesoporous $\text{SiO}_2:\text{ZrO}_2\text{-90\%CeO}_2$ " (Oral), 19 Reunião da Associação Brasileira de Cristalografia (ABCr2009), 9-11 de setembro de 2009, Belo Horizonte, MG, Brasil. (ANEXO 22)

- C.F. Kanagussuko, M.C.A. Fantini, T.S. Martins, "The effect of pH and alcohol on the structure of cubic mesoporous silica", XXXIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, maio 2010, Águas de Lindóia. Livro de Resumos, 2010. (ANEXO 23)

- G.J.M. Zilioti, M.C.A. Fantini. "Synthesis and characterization of cubic mesoporous silica from silicate source". XXXIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, maio 2010, Águas de Lindóia. Livro de Resumos, 2010. (ANEXO 24)

VI.4 - Dissertações de Mestrado

Rebeca Bacani, M.C.A. Fantini (orientadora), "Sistemas porosos de zircônia e céria", Instituto de Física da USP. Defesa realizada e aprovada em: 14/12/2009. (ANEXO 25)

Leice G.Amurin, N. Demarquette (orientadora), "Estudo do processamento e da orientação microestrutural em nanocompósitos de copolímeros em bloco", Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da EPUSP. Defesa realizada e aprovada em: 28/07/2010. (ANEXO 26)

Rogério Baixo, M. Tsunoda (orientador), "Estudo da complexação do íon K^+ por poliglicóis de peso molecular 400 e 3000", Universidade Federal de São Carlos. Defesa agendada: 24/11/2010.

Yuri A. Marques, M. Tsunoda (orientador), "Avaliação da estrutura molecular de surfactantes do tipo poliéter glicóis no ponto de névoa", Universidade Federal de São Carlos. Defesa prevista: 2011.

Elisa Morandé Sales, R. Itri (orientadora), "Estudos estruturais do processo de agregação entre proteínas amilóides em solução e o efeito do laser de baixa intensidade". Instituto de Física da USP. 2010, em andamento.

Tatiane de Paula Sudbrack, R. Itri (orientadora), "Fotosensibilização de Vesículas Gigantes: lipoperoxidação e formação de domínios". Instituto de Física da USP. 2009, em andamento.

Aline S.L. Durães, M.C.A. Fantini (orientadora), "Biodispersão de sílicas mesoporosas ordenadas com cromóforos". Instituto de Física da USP. 2010, em andamento.

Bárbara B. Gerbelli, E.A. Oliveira (orientadora), "Efeitos da composição da membrana de lipídios na sua forma tridimensional - um estudo por GISAXS". Instituto de Física da USP. 2010, em andamento.

VI - 5 - Teses de Doutorado

Fernanda de Sá Teixeira, M.C. Salvadori (orientadora), M.S.D. Cattani (co-orientador), “Implantação iônica de baixa energia em polímeros para desenvolvimento de camadas compósitas condutoras litografáveis”. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Defesa prevista para: 2010.

Francisco Mariano Neto, M.C.A. Fantini (orientadora), “Aplicabilidade da sílica mesoporosa ordenada como adjuvante polivacínico”, Instituto de Física da USP. 2008, em andamento.

Cleidilane de Oliveira Sena, A.M. Figueiredo Neto (orientador), “Caracterização Estrutural, Mecânica e Óptica de Filmes Elastoméricos”, Instituto de Física da USP. Defesa prevista para: março de 2011.

Thais Fernandes Schmidt, R. Itri (orientadora), “Influência do citocromo-c em membranas lipídicas passíveis de fotossensibilização”. Nanociências e Materiais Avançados-Universidade Federal do ABC. 2008, em andamento.

Serena Mazzoni, Paolo Mariani (Orientador), Rosangela Itri (Co-orientadora). “Studio della interazione del Citocromo-C con i fasi cubiche della Monooleina: L'effetto della Pressione e Temperatura” - Università Politecnica delle Marche, Ancona Italia. Defesa prevista para: novembro de 2011.

Rebeca Bacani, M.C.A. Fantini (orientadora), “Sistemas porosos de zircônia-céria-metal: estrutura e aplicações”, Instituto de Física da USP. 2009, em andamento

Gabriel T. Landi, A.D. Santos (orientador), “Estudo de Compósitos de Materiais Magnéticos Duros e Moles Produzidos pelo Método de Agregação Gasosa”, Instituto de Física da USP. 2009, em andamento.

Filipe Lima, Hernan Chaimovich (orientador, IQUSP), Lia Q.Amaral (responsável junto ao Nanostar), “Estudo de micelas de DTATf (triflato de dodeciltrimetilamônio) em função da concentração do surfactante e de seu sal de sódio”. Instituto de Química da USP. 2009, em andamento.

VII - Comentários finais

O presente relatório mostra que o equipamento Nanostar vem sendo intensivamente utilizado em pesquisas de diversos tipos de materiais pelos pesquisadores que apoiaram o projeto e seus estudantes, bem como por novos usuários do Laboratório de Cristalografia do IFUSP, de outros laboratórios da USP, de outras Universidades brasileiras e de instituições do Exterior.

As etapas iniciais de comissionamento do aparelho e treinamento de usuários foram cumpridas com sucesso, e o equipamento vem mostrando atualmente um desempenho adequado.

O funcionamento e manutenção do aparelho NanoStar está sendo gerenciada pelo Laboratório de Cristalografia do IFUSP da forma que é a característica de um aparelho multiusuário. Antes da utilização, todos os pesquisadores apresentam um projeto específico para as experiências propostas e, após a realização das mesmas, encaminham ao LCr um relatório de resultados.

Uma grande variedade de pesquisas foram já realizadas, referentes a materiais de vários tipos, tais como proteínas em solução e outros sistemas biológicos, membranas, nanocompósitos poliméricos, elastômeros, óxidos mesoporosos, ligninas em solução, materiais implantados, e nanopartículas metálicas monofásicas e bifásicas em solução. Os resultados científicos correspondentes a quase dois anos de uso do aparelho Nanostar estão

descritos nos 33 relatórios redigidos pelos usuários, 10 dos quais são encaminhados nos Apêndices 1 a 10 deste relatório geral, nos artigos publicados ou em processo de publicação, e nas comunicações apresentadas em várias reuniões científicas.

Em resumo, além dos recursos que nos foram outorgados pelo CNPq (900.000,00R\$) para a compra do aparelho Nanostar, o auxílio de pesquisa complementar concedido pela FAPESP de 130.000,00R\$ (Processo 08/52084-5) para a aquisição de acessórios adicionais, peças sobressalentes e componentes de apoio foi fundamental para a ampliação dos temas de pesquisa do projeto original. É importante salientar que na página do Laboratório de Cristalografia (www.if.usp.br/cristal) todo o material técnico que vem sendo produzido para o adequado uso do equipamento, bem como para a análise de dados de SAXS e WAXS está documentado.

Referências.

- [1] Manual de Uso do Nanostar, Rebeca Bacani e Márcia C.A. Fantini, <http://www.if.usp.br/cristal/>.
- [2] Curso de Treinamento de Usuários do Nanostar, <http://www.if.usp.br/cristal/>.
- [3] Relatório Anual do Nanostar 2009, (<http://www.if.usp.br/cristal/>).
- [4] <http://www2.av5.org/symposium/AVS56/pdfs/abstractbook.pdf>, pág 144.

Apêndice 1

Estudo de sistemas de relevância biológica por SAXS - Aplicações e possibilidades do equipamento Nanostar - Bruker

Hector Milani^a, Leandro R.S.Barbosa^b, Rosangela Itri^b

^aCentro de Biotecnologia, Havana, Cuba

^bInstituto de Física, USP, São Paulo, Brasil

1. Introdução

Neste trabalho estudamos três diferentes sistemas de relevância biológica. O primeiro dele trata-se da formação de agregados de peptídeos do GHRP-6 (Growth hormone releasing peptide, cujo seqüência é: His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-CONH₂), em função da composição do meio no qual está inserido o peptídeo, tais como: composição do tampão e pH do meio. No segundo estudamos a possibilidade de se obter curvas de SAXS de proteínas de baixo peso molecular em altas concentrações. Para tanto utilizamos a LBP (peptídeo derivado da proteína Lipopolysaccharide-binding protein, cujo seqüência é: Ac-His-Ala-Arg-Ile-Lys-D-Pro-Thr-Phe-Arg-Arg-D-Leu-Lys-Trp-Lys-Tyr-Lys-Gly-Lys-Phe-Trp-NH₂, sendo seu peso molecular igual a 2.6 kDa. E por fim, estudamos o efeito do Zinco na estrutura de uma proteína relacionada também, ao fator de crescimento rh-EGF Epidermal Growth Factor, cuja seqüência é: NH₂-Asn-Ser-Asp-Ser-Glu-Cys-Pro-Leu-Ser-His-Asp-Gly-Tyr-Cys-Leu-His-Asp-Gly-Val-Cys-Met-Tyr-Ile-Glu-Ala-Leu-Asp-Lys-Tyr-Ala-Cys-Asn-Cys-Val-Val-Gly-Tyr-Ile-Gly-Glu-Arg-Cys-Gln-Tyr-Arg-Asp-Leu-Lys-Trp-Trp-Glu-Leu-Arg-COOH e seu peso molecular é de cerca 6.2 kDa.

2. Resultados e Discussão

Considerando o primeiro sistema estudado, foram testados diferentes meios tamponantes, são eles:

- a) Peptídeo em tampão Citrato + NaCl (Peptídeo Agregado)
- b) Peptídeo em Ácido. Acético (Peptídeo Nativo)
- c) Peptídeo em tampão Citrato (pH 6.0)
- d) Peptídeo em tampão Fosfato (pH 6.0)
- e) Peptídeo em tampão Acetato de Sódio
- f) Peptídeo em tampão Tartrato de Sódio

Gostaríamos de ressaltar que as medidas foram realizadas no novo equipamento Nanostar - Bruker, pertencente ao Laboratório de Cristalografia do IFUSP. As medidas duraram entre 4

e 7 horas, dependendo do sistemas. Após as medidas as curvas de SAXS foram corrigidas pela transmissão da amostra, tempo de medida e também pelo espalhamento do tampão. É importante salientar que estamos em fase de análise dos presentes resultados, além de também utilizar outras técnicas espectroscópicas de caracterização para estes mesmos sistemas. Todos os tampões foram feitos a 100 mM e os resultados obtido foram dispostos de acordo com as medidas realizadas.

a) Peptídeo em tampão Citrato + NaCl (Peptídeo Agregado) - É interessante que a curva de SAXS deste sistema se mostrou compatível com a presença de agregados cilíndricos “ocos”. É como se o peptídeo estivesse presente apenas nas paredes de tal cilindro. A figura 1 mostra esta curva de SAXS, juntamente com os melhores ajustes obtidos supondo um cilindro oco e também uma geometria qualquer. Esta última análise chama-se IFT (Indirect Fourier Transform) e utilizamos o programa desenvolvido pelo prof. Otto Glatter (Áustria) chamado GIFT.

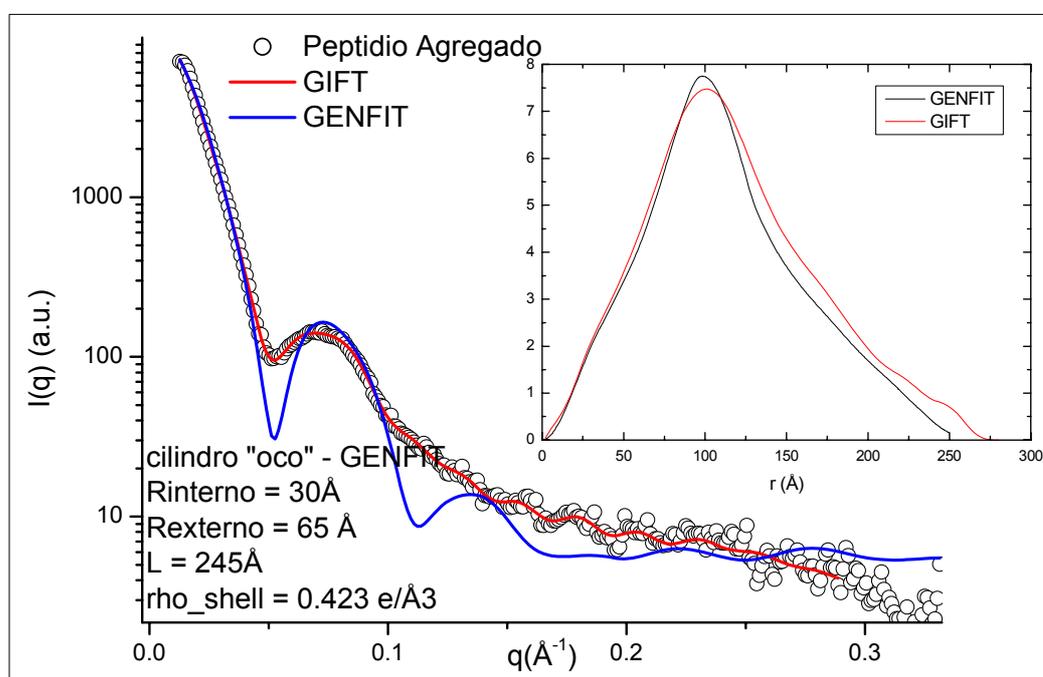


Figura 1 - Curva de SAXS do sistema composto pelo Peptídeo (GHRP-6) em tampão Citrato + NaCl.

b) Peptídeo em Ácido. Acético (Peptídeo Nativo) - Já no caso do peptídeo em presença de Ácido acético observamos um efeito diverso na curva de SAXS. A figura 2 mostra a comparação entre as curvas de SAXS do mesmo peptídeo, sob duas diferentes condições: em tampão Citrato + NaCl (linha cheia preta) e em presença de Ácido Acético (linha cheia vermelha).

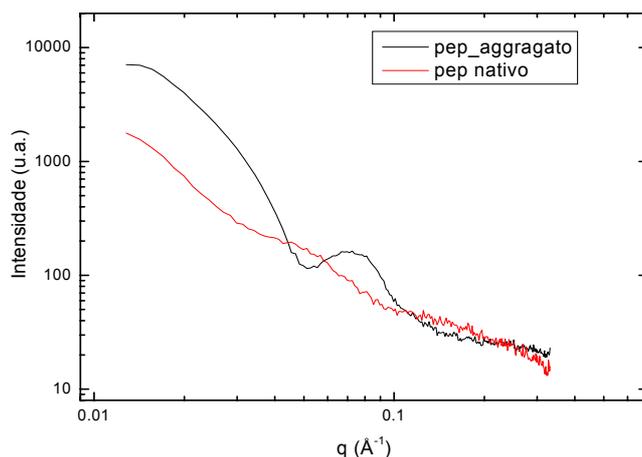


Figura 2 - Comparação entre as curvas de SAXS do peptídeo em duas diferentes condições (ver texto para detalhes).

Não conseguimos esclarecer qual seria a forma do agregado formado pelo peptídeo em presença de ácido acético, estamos ainda tentando alguns modelos, se sucesso até o presente momento.

c) Peptídeo em tampão Citrato (pH 6.0) (Semelhante ao item a), mas em ausência de NaCl)

Neste caso a curva de SAXS se torna ainda mais complexa, pois temos que considerar a presença de agregados, provavelmente cilíndricos, considerando também a correlação entre estes.

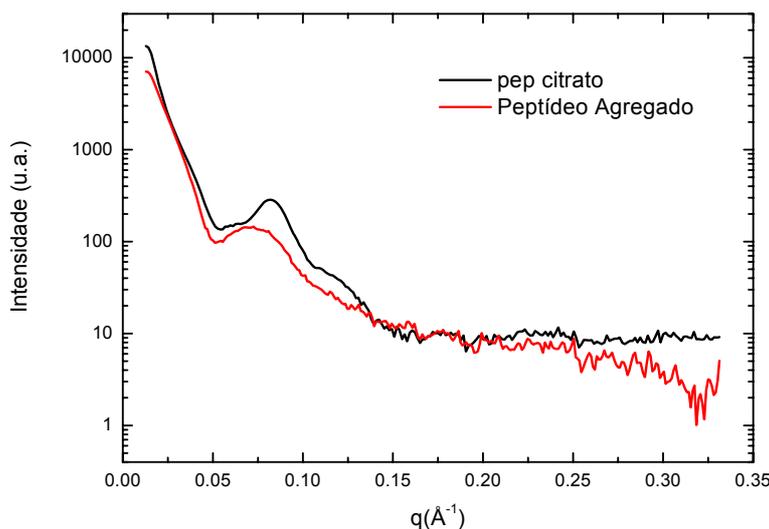


Figura 3 - Curvas de SAXS do peptídeo em presença de em tampão Citrato (pH 6.0) em ausência (preta) e presença de NaCl (vermelha).

c) Peptídeo em tampão fosfato (pH 6.0)

Neste caso, obtivemos uma curva de SAXS muito semelhante à obtida para o peptídeo agregado em presença de NaCl. Podemos ver que as curvas de SAXS possuem um início semelhante, inclusive com a mesma posição de mínimo local (seta preta na figura). No entanto, na regiões de médios valores de vetor de espalhamento, q , estas curvas são bem diferentes. Em conjunto, estes fatores indicam que o agregado nessa condição (i.e., em tampão fosfato) possui um tamanho similar ao encontrado em tampão Citrato e em presença de NaCl, mas a forma de ambos agregados deve ser diferente.

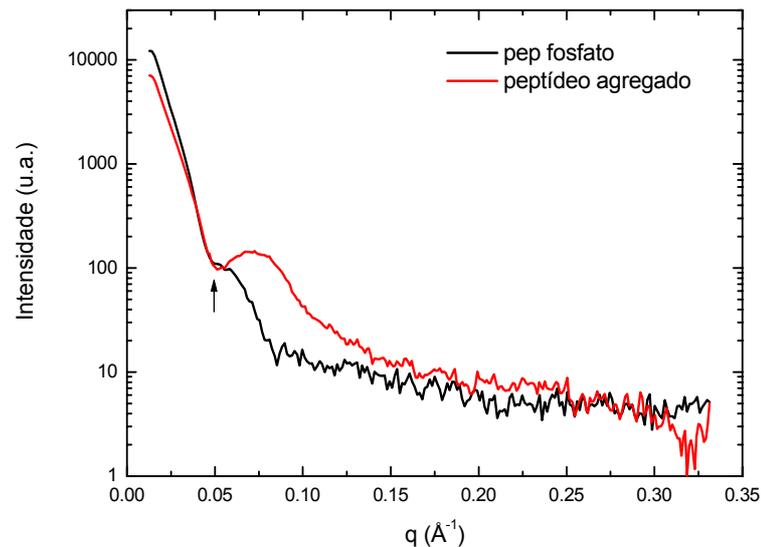


Figura 4 - Curvas de SAXS do peptídeo em tampão Citrato (vermelha) e em tampão fosfato (preta).

d), e) e f) As curvas compostas pelo peptídeo em tampão Acetato e tartrato não mostraram um sinal detectável por SAXS, indicando que sob tais condições não ocorre a formação de tal agregado, ou que esta necessita de um maior tempo para ocorrer.

2. Passaremos agora ao estudo do segundo sistema biologicamente relevante que estudamos dentro deste projeto de pesquisa. Esta etapa do projeto conta com somente uma curva experimental, gostaríamos de saber se seria possível obter uma curva de SAXS para uma proteína de baixo peso molecular com o equipamento Nanostar e mais ainda, evidenciar as possíveis interações entre proteínas para um sistema concentrado. Para tanto utilizamos o peptídeo LBP (peptídeo derivado da proteína Lipopolysacharide-binding protein, cujo seqüência é: Ac-His-Ala-Arg-Ile-Lys-D-Pro-Thr-Phe-Arg-Arg-D-Leu-Lys-Trp-Lys-Tyr-Lys-Gly-Lys-Phe-Trp-NH₂, sendo seu peso molecular igual a 2.6 kDa.

Como podemos ver na figura abaixo, mesmo uma proteína com baixo peso molecular pode ser estudada por SAXS nessas condições, ou seja em altas concentrações (cerca de 28 mg/ml). A curva de SAXS é condizente com um sistema de esferas de baixa polidispersão interagindo via um potencial repulsivo (do tipo Coulombiano) de médio alcance. O raio de tal esfera é de cerca de 15 \AA , e existem cerca de 3 cargas na superfície de tal esfera.

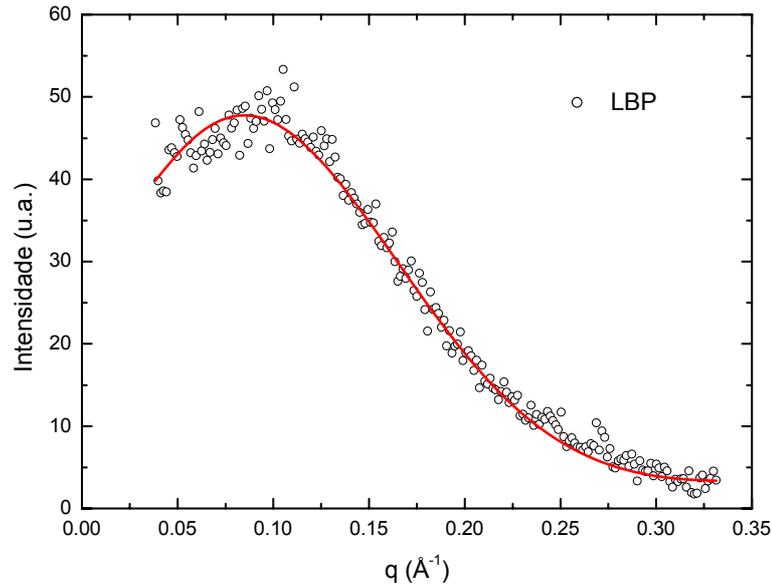


Figura 5 - Curva de SAXS da proteína LBP (28 mg/ml), mostrando que é possível realizar medidas de SAXS de proteínas muito pequenas, se estas estiverem em altas concentrações.

3. Por fim, estudamos a influência do Zinco na estrutura de uma proteína também relacionada ao fator de crescimento rh-EGF Epidermal Growth Factor, cuja seqüência é: NH₂-Asn-Ser-Asp-Ser-Glu-Cys-Pro-Leu-Ser-His-Asp-Gly-Tyr-Cys-Leu-His-Asp-Gly-Val-Cys-Met-Tyr-Ile-Glu-Ala-Leu-Asp-Lys-Tyr-Ala-Cys-Asn-Cys-Val-Val-Gly-Tyr-Ile-Gly-Glu-Arg-Cys-Gln-Tyr-Arg-Asp-Leu-Lys-Trp-Trp-Glu-Leu-Arg-COOH e seu peso molecular é de cerca 6.2 kDa. Neste caso, as curvas de SAXS apresentam resultados bem distintos dependendo da presença de Zinco na solução, que provavelmente induz um agregamento protéico, evidenciado em menor escala no sistema em ausência de Zn.

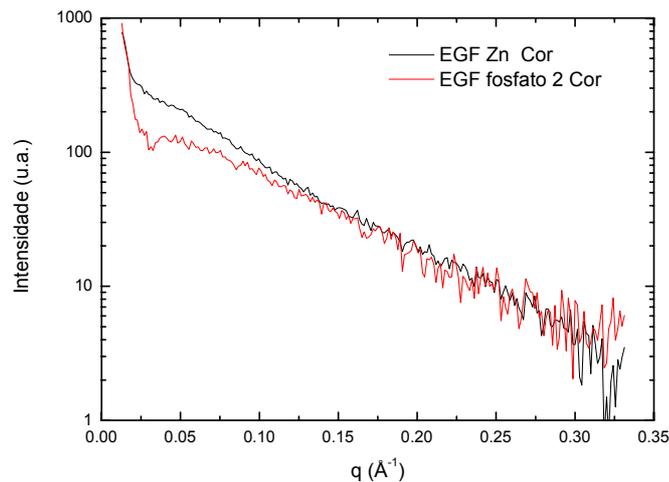


Figura 6 - Curva de SAXS da proteína EGF, em ausência (vermelha) e presença de Zinco (preta).

3. Conclusões

De um modo geral, podemos afirmar que o equipamento Nanostar, adquirido pelo Laboratório de Cristalografia do IFUSP se mostrou altamente eficaz no estudo de sistemas de relevância biológica. Em especial no estudo da formação de agregados formados por peptídeos, no estudo dos fatores de forma e de interferência de proteínas de baixo peso molecular em solução, assim como no estudo da influência de metais na estrutura de hormônios de crescimento.

Apêndice 2

Implantação iônica de baixa energia em polímeros para desenvolvimento de camadas compósitas condutoras litografáveis

F. S. Teixeira^{1,2}, M. C. Salvadori¹, M. Cattani¹

¹ Instituto de Física, USP, São Paulo, Brasil.

² Escola Politécnica, USP, São Paulo, Brasil.

1. Introdução

O grupo de Filmes Finos tem realizado diversos trabalhos explorando as propriedades de um compósito metal-polímero formado pela sub-implantação de íons de Au por plasma no polímero PMMA (polimetilmetacrilato). Os principais estudos já realizados foram sobre comportamento elétrico^{1,2}, propriedades litográficas³, atividade óptica⁴ e estrutura^{5,6}.

Antes de discutir maiores detalhes sobre o compósito, vamos localizá-lo numa amostra macroscópica (ver figura 1). Depositamos em um substrato, por *spinner*, um filme fino de PMMA com aproximadamente 50 nm de espessura. Esta amostra foi colocada como alvo de uma fonte de plasma por arco catódico, em vácuo, em que os íons de Au formados tem energia intrínseca de 49 eV.

O resultado é um compósito polímero-metal consistindo de nanogrãos de Au (aglomerados a partir dos íons implantados) enterrados próximos à superfície (aproximadamente 7 nm abaixo) no polímero. Dessa forma, macroscopicamente temos um material de 3 camadas sobre um substrato, composto por uma seqüência, do substrato para a amostra, de um filme fino de PMMA, o compósito de Au-PMMA formado por nanogrãos dispersos no polímero e um filme ultra-fino de PMMA inalterado.

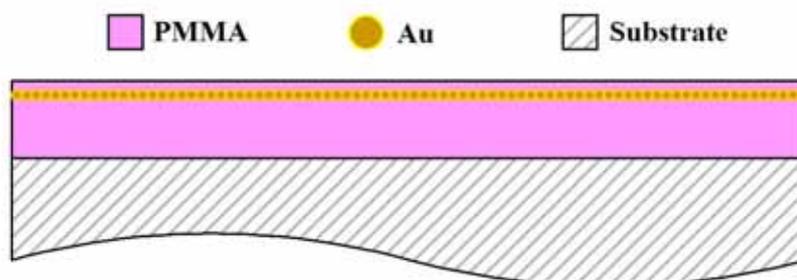


Figure 1 - Amostra macroscópica com a representação do compósito de Au-PMMA

Para o presente estudo utilizamos diferentes doses de Au para a preparação de 3 amostras: Filme 1 ($1.52 \times 10^{16} \text{ cm}^{-2}$), Filme 2 ($1.00 \times 10^{16} \text{ cm}^{-2}$) e Filme 3 ($0.80 \times 10^{16} \text{ cm}^{-2}$). A escolha dessas doses baseou-se no prévio conhecimento das propriedades elétricas correspondentes a cada uma delas^{1,2} dada pelo modelo de percolação elétrica. O Filme 1 é condutor, o Filme 2 está bem próximo ao estado de transição entre isolante e condutor e o Filme 3 é um isolante. Além da variação da dose, também realizamos tratamento térmico, em que colocamos um primeiro conjunto de Filme 1, Filme 2 e Filme 3 e em uma placa quente, a 150° C durante 3 horas. Um segundo conjunto dos mesmos filmes (mesmas doses) foi tratado da mesma forma, mas por 6 horas. A temperatura de 150° C foi escolhida por ser

aproximadamente a temperatura de transição vítrea do PMMA, em que o polímero ganha mobilidade. Desta forma, temos 9 amostras diferentes, os três filmes originais, os três filmes tratados termicamente por 3 horas e os três filmes tratados termicamente por 6 horas.

O objetivo do estudo foi obter informações estruturais detalhadas de cada um destes filmes. Para este fim realizamos medidas de Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos (*Small Angle X-Ray Scattering*)^{7,8}. A camada compósita tem espessura de praticamente 1 nanopartícula. Dessa forma, a quantidade de Au que deveria ser analisada era extremamente pequena, o que requeria o uso de um equipamento que tenha sensibilidade adequada para o estudo de Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos. O equipamento adequado foi o sistema SAXS Nanostar da Bruker Instruments, que forneceu medidas experimentais de qualidade de nossas amostras. Cada uma das amostras foi lida por 3 horas.

A interpretação dos dados experimentais de SAXS utilizando modelos teóricos adequados (uma revisão completa desses modelos pode ser visto em Cattani et al⁶) nos permitiu determinar a estrutura dos filmes estudados. Os modelos teóricos utilizados, chamados de “abordagem de fatores de forma de estrutura” (*structure form factors approach*)^{7,8,9-11} leva em conta características de sistemas reais, como fractalidade^{12,13}, percolação¹⁴ e outras correlações físicas^{15,16}.

É importante estabelecer aqui as definições de estruturas monodispersivas e polidispersivas⁶ dadas por estes modelos. Em uma amostra monodispersiva temos as seguintes condições: (a) todos os grãos têm aproximadamente o mesmo número de monômeros e portanto têm o mesmo raio de giro R_g , (b) os grãos são formados por monômeros esféricos com raio r_0 e densidade eletrônica uniforme ρ , (c) os monômeros formam grãos densos com fractalidade de massa e (d) todos os grãos tem a mesma dimensão fractal D , portanto a mesma distância de correlação ξ .

O raio de giro $R_g = [D(D+1)/2]^{1/2}\xi$ define o raio dos clusters dentro do qual os efeitos de correlação são importantes. A distância de correlação ξ representa a distância característica acima da qual a distribuição de massa na amostra não é mais descrita por uma lei fractal. Assim, é válido esclarecer que o raio de giro não é a mesmo que tamanho do grão, embora os valores de ambos sejam da mesma ordem de grandeza.

Uma amostra polidispersiva ou um agregado polidispersivo diluído é formado por uma coleção diluída de grãos fractais que têm mais de um raio de giro R_g , portanto mais do que uma distância de correlação, cada grão com um número diferente de monômeros.

2. Resultados e Discussão

Os dados experimentais de SAXS dos filmes 1, 2 e 3, como depositados, são apresentados na figura 2. As figuras 3a, 3b e 3c correspondem as medidas SAXS feitas para analisar os filmes tratados termicamente Filme 1, Filme 2 e Filme 3, respectivamente.

Percebemos nas figuras 2 e 3 que aproximadamente pra $q > 1 \text{ nm}^{-1}$ todas as curvas convergem para a mesma situação. Isto significa que as menores estruturas da amostra são muito similares para todas as doses de implantação (Filme 1, Filme 2 ad Filme 3), e, importante, elas permanecem inalteradas mesmo após o tratamento térmico, o que sugere que as estruturas correspondentes a esta faixa de vetor de espalhamento sejam formadas por somente ouro ou ouro com muito pouca quantidade de polímero, não susceptível à mobilidade do polímero durante o tratamento térmico. Diferentemente, para aproximadamente $q < 1 \text{ nm}^{-1}$ podemos ver claramente as mudanças devido às diferentes quantidades de ouro e também ao tratamento térmico.

Vamos primeiramente discutir as diferenças entre os filmes originais (sem tratamento térmico) 1, 2 e 3 (figura 2) que obtivemos ajustando os modelos teóricos aos dados experimentais^{6,17} para essa faixa de vetor de espalhamento. Todos os filmes têm o mesmo tamanho de monômero $r_0 = 1.3$ nm. A tabela 1 mostra os valores obtidos pela abordagem de melhor ajuste para todos os filmes originais. Para o filme 3, de menor dose de implantação, temos mais do que 1 raio de giro e podemos classificá-lo como polidispersivo. Da mesma maneira o filme 2 pode ser ajustado com 2 raios de giro, sendo também polidispersivo. O filme 1 é monodispersivo, sendo ajustado com facilidade utilizando-se apenas 1 raio de giro⁵. A partir desses resultados podemos concluir que com aumento da quantidade de Au implantado o filme passa de um estado mais desordenado para um agragado monodispersivo. O resultado fica ainda mais significativo quando notamos que o filme está em um estado mais desordenado quando o filme é isolante elétrico, ordenando-se até um estado monodispersivo quando é condutor.

Tabela 1 - Raio de giro e dimensão fractal para o Filme 1 antes e após o tratamento térmico

Filme	D_f	f_1	R_{g1} (nm)	f_2	R_{g2} (nm)
Filme 1	1,68	100%	19,00		
Filme 2	1,78	42%	17,00	58%	4,30
Filme 3	1,71	49%	16,40	51%	4,70

No momento ainda estamos analisando os resultados de tratamento térmico utilizando os modelos teóricos e um método de otimização em desenvolvimento. Sendo assim, vamos discutir a seguir os resultados apenas qualitativamente, sem ainda apresentar valores fechados.

Na figura 3a, podemos ver o resultado do tratamento térmico do filme 1. Após o tratamento térmico, o filme permanece com o caráter monodispersivo, mas com aumento do raio de giro com o aumento da temperatura. A figura 3b mostra os dados de espalhamento para o filme 2. Após 3 horas de tratamento térmico o filme começa a transitar para um estado monodispersivo, mas ainda mantém a polidispersividade. Após 6 horas de tratamento térmico observamos um aumento do raio de giro e o fato de que o filme torna-se monodispersivo. Para o filme 3 (figura 3c) vemos o mesmo comportamento, ou seja, um aumento no raio de giro com o tratamento térmico e a transição para um estado monodispersivo após 6 horas de tratamento térmico.

A dimensão fractal D que obtivemos para os filmes originais também nos sugere informações revelantes sobre a estrutura do compósito. Sabemos^{3,4} que a espessura do compósito Au-PMMA é cerca de 7 nm, mas obtivemos raios de giro maiores do que esse valor. Tomando-se o filme na direção z (“cortando” a espessura do compósito) podemos inferir que este raio de giro ocorre devido a correlações entre grãos no plano x,y . Portanto, nosso sistema não se comporta exatamente nem como um sistema 2D nem como um sistema 3D, o que sugerimos já que temos dimensões fractais na faixa de $D = 1,7 \pm 0.1$. Contudo, isso ainda será melhor estudado.

Observamos também que todos os filmes, após tratamento térmico de 6 horas, tornam-se monodispersivos e tem valores muito similares de raio de giro, o que pode indicar que eles têm propriedades elétricas e ópticas muito similares, o que deve ainda ser confirmado experimentalmente.

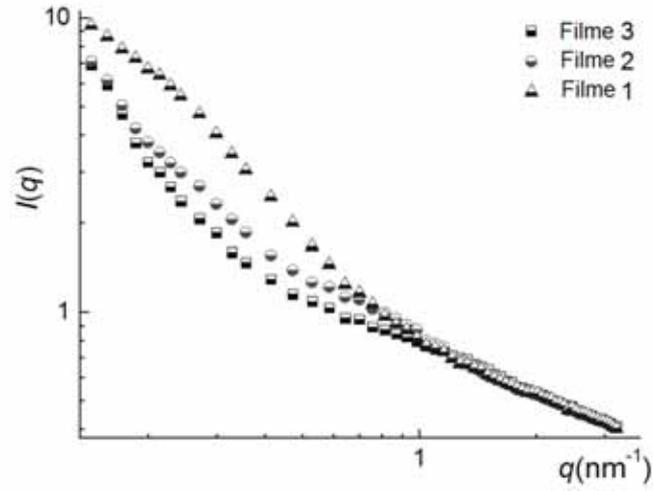
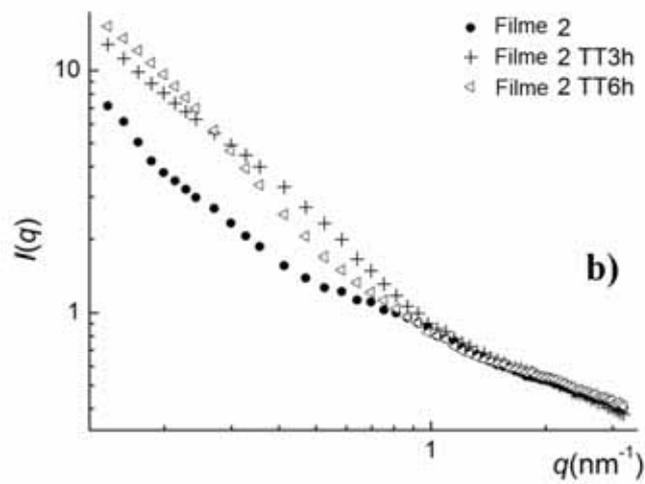
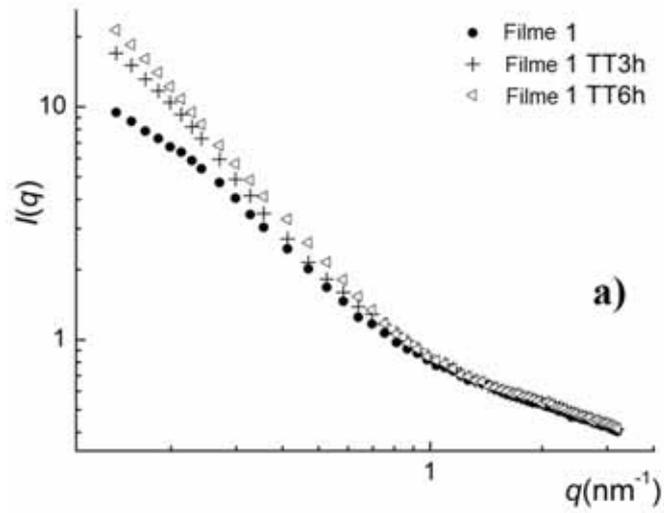


Figura 2: Medida SAXS dos filmes 1, 2 e 3 originais



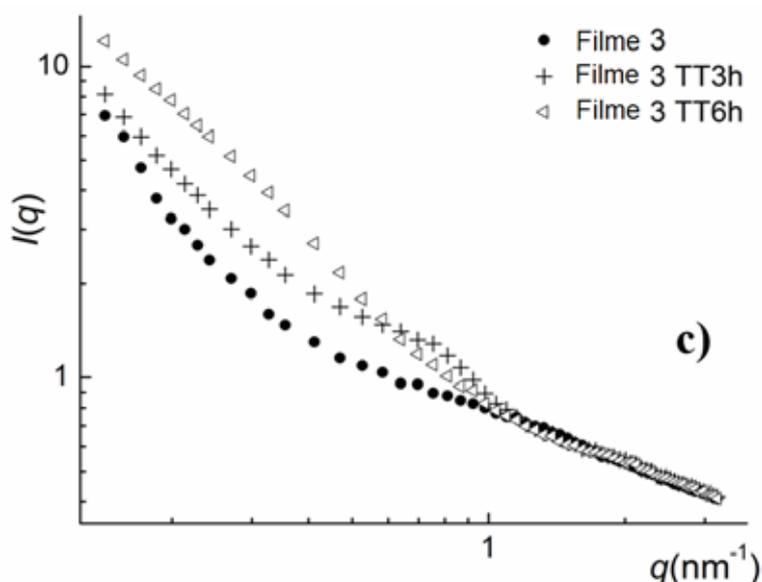


Figure 3 - Medidas de SAXS do a) Filme 1, Filme 1 TT3 h (tratado termicamente a 150°C por 3 horas) e Filme 1 TT6 h (tratado termicamente a 150°C por 6 horas) ; b) Filme 2, Filme 2 TT3 h (tratado termicamente a 150°C por 3 horas) e Filme 2 TT6 h (tratado termicamente a 150°C por 6 horas); c) Filme 3, Filme 3 TT3 h (tratado termicamente a 150°C por 3 horas) e Filme 3 TT6 h (tratado termicamente a 150°C por 6 horas)

3. Conclusões

Os dados de SAXS de nossas amostras nos permitiu determinar quantitativamente algumas propriedades estruturais dos nossos compósitos de Au-PMMA, determinando raios de giro, distâncias de correlação e dimensões fractais para os filmes originais, assim como foram depositados. Também mostramos que a estrutura do metal-polímero pode ser alterada utilizando uma temperatura relativamente baixa, para a qual o polímero tem a mobilidade necessária para permitir o rearranjo dos grãos de ouro. Desta forma, foi possível modificar a estrutura do compósito de um agregado polidispersivo para um compósito monodispersivo.

4. Referências

- ¹ M. C. Salvadori, M. Cattani, F. S. Teixeira, and I. G. Brown, Appl. Phys. Lett. **93**, 073102 (2008).
- ² M. Cattani, M. C. Salvadori and F. S. Teixeira. <http://arxiv.org/abs/0903.3587>
- ³ F. S. Teixeira, M. C. Salvadori, M. Cattani, and I. G. Brown, J. Appl. Phys. **105**, 064313 (2009).
- ⁴ F. S. Teixeira, M. C. Salvadori, M. Cattani, S. M. Carneiro and I. G. Brown, J. Vac. Sci. Technol. B. **27(5)** (2009).
- ⁵ F. S. Teixeira, M. C. Salvadori, M. Cattani and I. G. Brown, J. Appl. Phys. **106**, 056106 (2009).
- ⁶ M. Cattani, M. C. Salvadori and F. S. Teixeira. <http://arxiv.org/abs/0907.3131>

- ⁷ A. Guinier and G. Fournet, *Small Angle Scattering X-Rays* (Wiley, New York, 1955).
- ⁸ O.Glatter and O.Kratky. *Small Angle Scattering X-Rays*. (Academic Press, New York, 1982).
- ⁹ T.Freltoft, J.K.Kjems and S.K.Sinha, *Phys.Rev.* **B33**, 269 (1986).
- ¹⁰ J.Teixeira, *J. Appl.Cryst.* **21**, 781 (1988).
- ¹¹ S.H. Chen and J.Teixeira, *Phys.Rev.Lett.* **20**(1986).
- ¹² B.B.Mandelbrot. *The Fractal Geometry of Nature* (Freeman, San Francisco, 1982).
- ¹³ J.Feder, *Fractals*. (Plenum Press, New York, 1988).

Apêndice 3

Análise da orientação e desorientação de copolímeros em bloco e seus nanocompósitos

D. J. Carastan^a, L. G. Amurin^a, A. F. Craievich^b, N. R. Demarquette^a

^a*Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.*

^b*Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.*

1. Introdução

Copolímeros em bloco são materiais poliméricos formados geralmente por blocos termodinamicamente imiscíveis. Por essa razão, esses materiais apresentam morfologias de fases separadas à temperatura ambiente, cujos domínios nanométricos formam estruturas ordenadas, sendo as mais comuns a estrutura de esferas em arranjo cúbico de corpo centrado, a de cilindros em arranjo hexagonal e a lamelar [1]. A estrutura ordenada geralmente persiste dentro de certa faixa de temperaturas, mesmo quando ambas as fases estão no estado fundido. Apenas acima de determinada temperatura, chamada de transição ordem-desordem (ODT), os blocos passam a ser miscíveis, e os copolímeros tornam-se monofásicos. A adição de nanopartículas, como partículas de argila, a esses sistemas forma materiais com microestruturas ainda mais complexas, que dependerão das interações entre cada bloco do copolímero e as nanopartículas [2].

Nanopartículas lamelares, como as argilas, são bastante anisotrópicas, assim como os principais domínios que compõem os copolímeros em bloco, com exceção do caso da morfologia esférica. Desse modo, é possível alinhar essas estruturas usando uma série de técnicas durante o processamento dos materiais. Uma das maneiras é através da extrusão, que pode alinhar tanto os domínios ordenados do copolímero, se for realizada abaixo da ODT, assim como as nanopartículas lamelares.

Neste estudo foram preparadas amostras de copolímeros em bloco e seus nanocompósitos pela adição de 5% em massa argila organofílica durante o processo de extrusão. Os copolímeros utilizados foram dois materiais comerciais com estrutura tribloco de estireno-etileno/butileno-estireno (SEBS). Ambos contêm 30% em massa de blocos de poliestireno. Uma das amostras é um SEBS puro (Kraton G1652, chamado aqui simplesmente de SEBS) e a outra contém 1 a 2% em massa de anidrido maleico no bloco intermediário (Kraton FG1901, chamado de SEBS-MA). As argilas utilizadas foram duas montmorilonitas comerciais contendo sais quaternários de amônio (Cloisite 20A e 30B, da Southern Clay). As amostras foram processadas em extrusora dupla rosca Haake modelo Rheomix PTW-16, acoplada a um reômetro de torque ThermoHaake PolyLab 900 a 220 °C e 100 rpm de velocidade da rosca. Na saída da extrusora foi utilizada uma matriz de fita com dimensões de 25 mm de largura e 1mm de espessura.

Os materiais assim preparados foram analisados por reologia extensional usando o acessório SER HV-P01 acoplado ao reômetro Anton Paar MCR 501 [3]. Os ensaios foram realizados a 200 °C e diferentes taxas de extensão em amostras retangulares retiradas das fitas extrudadas em duas direções diferentes: longitudinal (na direção do fluxo de extrusão) e transversal (perpendicular ao fluxo de extrusão).

Testes de SAXS no Nanostar foram realizados nas amostras em fita antes e depois dos ensaios extensionais para avaliar a anisotropia das estruturas. Os ângulos de espalhamento

varridos pelo equipamento permitem identificar os picos de difração referentes à estrutura ordenada dos copolímeros e o pico do plano basal da argila 20A. As amostras analisadas tinham cerca de 1 mm de espessura, e o tempo de irradiação para cada medida foi de 45 min.

2. Resultados e discussão

As amostras em fita foram analisadas nas três direções principais, de modo que um panorama da estrutura de cada material pudesse ser obtido. A direção x corresponde à direção de extrusão, a y , à direção perpendicular a x dentro do plano da fita e a z , à direção perpendicular ao plano da fita. A Figura 1 mostra as imagens de espalhamento da fita de SEBS puro e de SEBS com a argila 20A. De acordo com os resultados, é possível ver que o copolímero tem estrutura cilíndrica de arranjo hexagonal, sendo que os cilindros estão alinhados na direção de extrusão (x). As partículas de argila formam o halo mais externo nas figuras d , e e f , que corresponde ao plano 001 da argila, indicando a formação de um nanocompósito intercalado. De acordo com as medidas de SAXS pode-se verificar que as partículas encontram-se principalmente alinhadas ao longo do plano da fita (x,y), mas também há algumas orientadas nas demais direções, como comprovado pelo halo externo da Figura 1f.

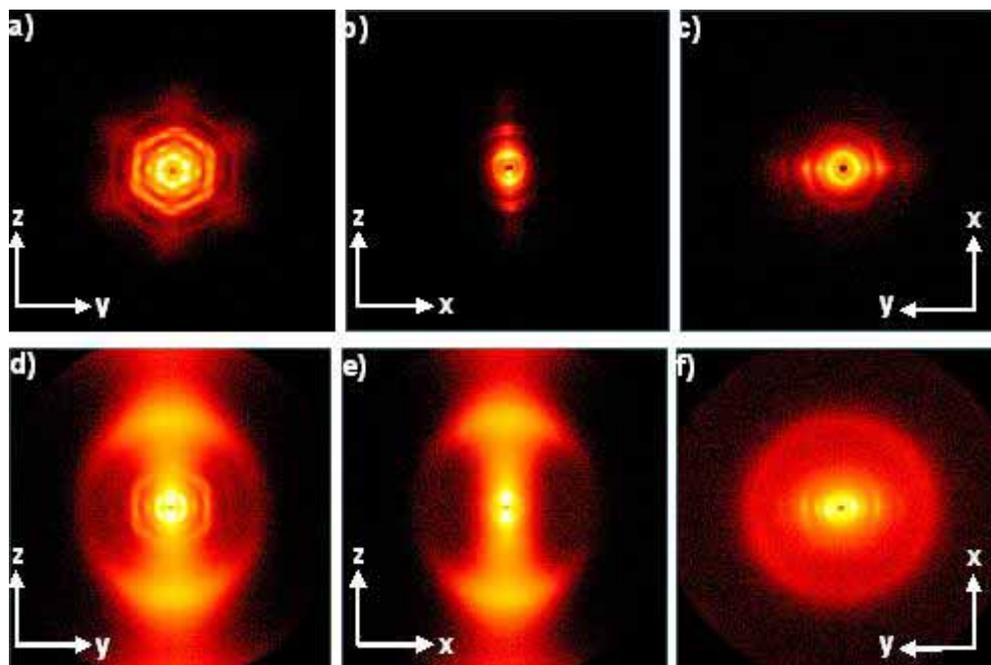


Figura 1: Imagens de SAXS da amostra de SEBS puro (a, b e c) e SEBS + 20A (d, e e f) em fita nas três direções.

As demais amostras apresentaram resultados semelhantes, sendo que não foi possível verificar o pico de difração da argila 30B, por estar além do limite mensurável por SAXS a essa distância amostra-detector (para tal seria necessário realizar medida simultânea de WAXS). A amostra de SEBS-MA + 20A também não apresentou pico de argila, indicando que o nanocompósito tem, provavelmente, estrutura esfoliada, por causa das interações entre a argila e o anidrido maleico.

Algumas amostras puderam ser avaliadas depois da deformação por extensão. Nessas amostras foi realizado um mapeamento na direção z utilizando a função de nanografia do Nanostar, como exemplificado na Figura 2.

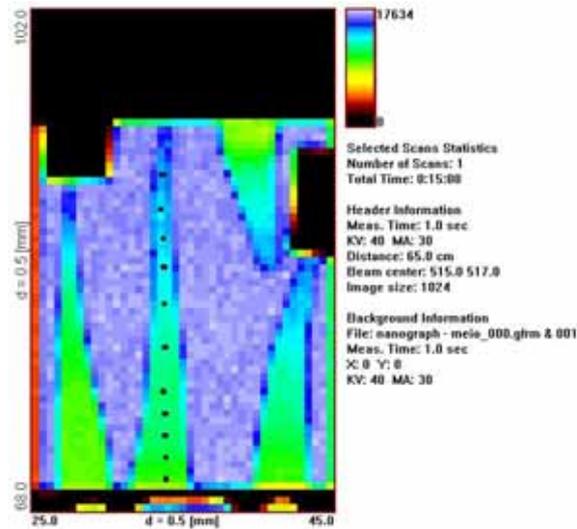


Figura 2: Nanografia de quatro amostras ensaiadas por reologia extensiva. Os pontos marcados na segunda amostra indicam as regiões em que foram obtidas as medidas de SAXS.

As medidas de mapeamento por SAXS foram realizadas em amostras deformadas nas duas direções (longitudinal e transversal). A direção de deformação foi chamada de u, e a perpendicular a ela no plano da fita, de v. A Figura 3 mostra imagens obtidas para a amostra de SEBS puro deformada na direção longitudinal. É possível ver que a amostra, que foi deformada na mesma direção que a de extrusão, não muda significativamente de estrutura, os cilindros continuam alinhados na mesma direção. Nas amostras com argila foi possível verificar um alinhamento das partículas de argila que se encontravam orientadas em direções diferentes da de extensão.

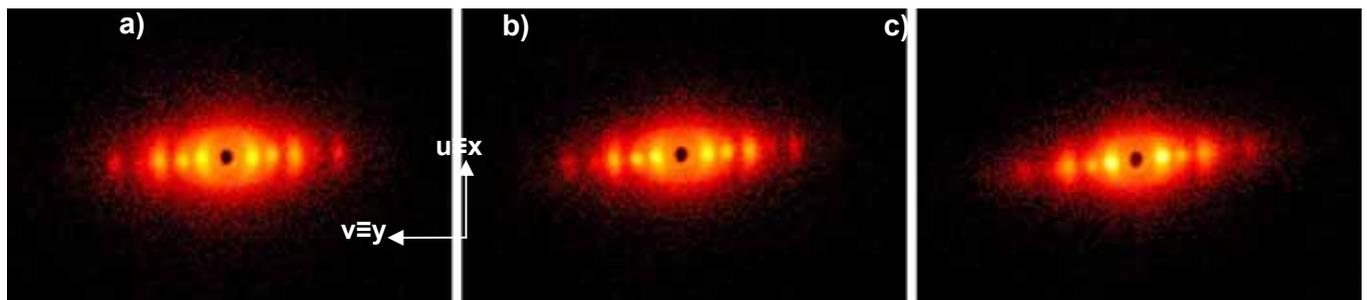


Figura 3: Imagens de SAXS de SEBS ensaiado por extensão a $0,01s^{-1}$ na direção longitudinal em três posições diferentes: a) posição de referência, b) 2 mm de distância de (a), c) 4 mm de distância.

A Figura 4 mostra as imagens de espalhamento da amostra de SEBS ensaiado por extensão na direção transversal. Nesse caso pode-se ver claramente que ocorre a rotação dos cilindros durante o ensaio, pois eles encontravam-se inicialmente perpendiculares à direção de extensão. Nas amostras com argila uma rotação semelhante também foi observada para as partículas de argila.

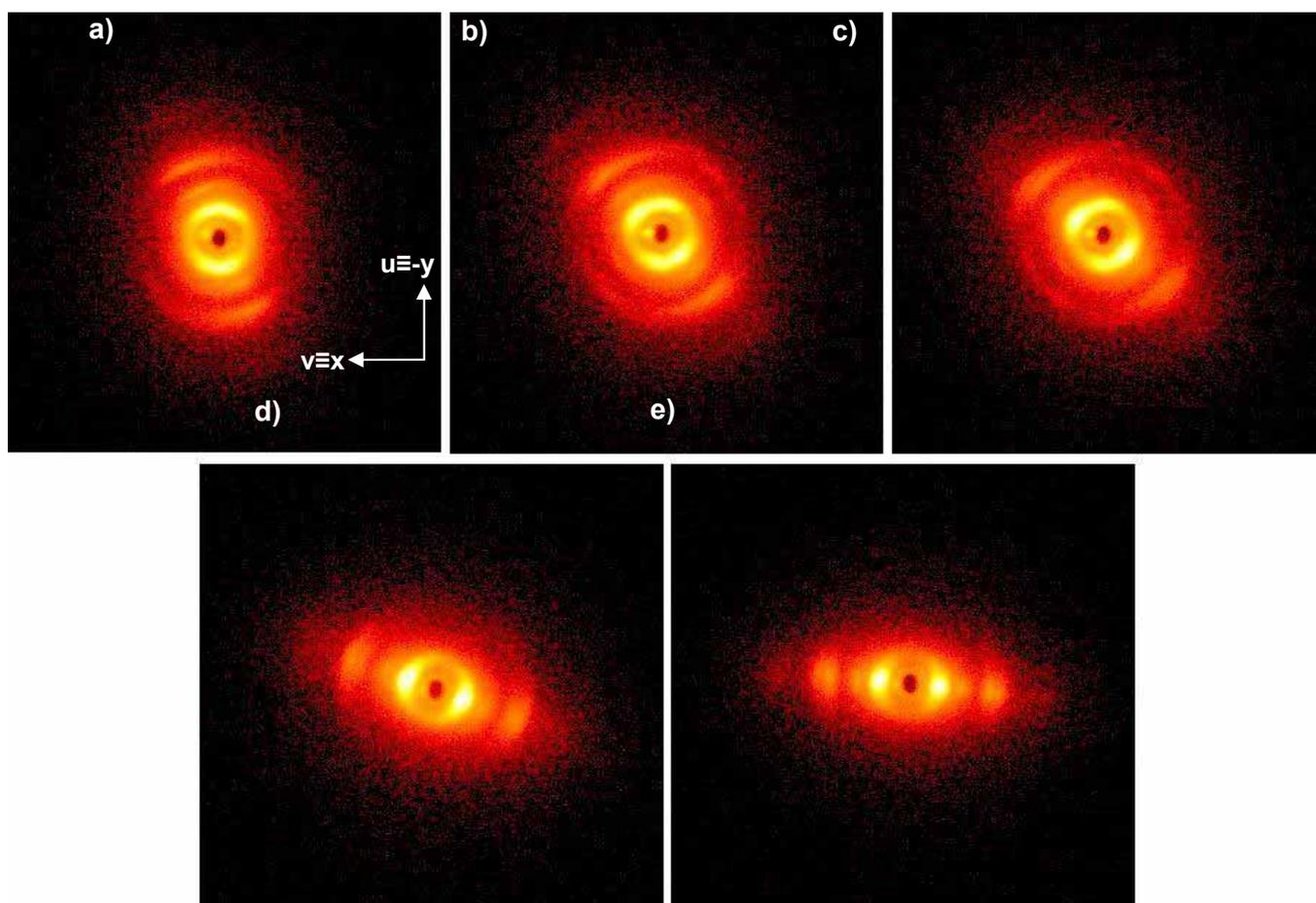


Figura 4: Imagens de SAXS de SEBS ensaiado por extensão a $0,01s^{-1}$ na direção transversal em cinco posições diferentes: a) posição de referência, b) 1 mm de distância de (a), c) 1,5 mm, d) 3 mm, e) 5 mm.

Esse comportamento pode ser associado aos resultados de reologia extensional para explicar o comportamento viscoso de cada amostra em função da deformação. Novos ensaios de SAXS deverão ser realizados para mapear o comportamento das amostras que ainda não foram analisadas, e ainda serão avaliadas amostras de copolímeros com estruturas diferentes da cilíndrica. Esses ensaios estão programados para o início de 2010.

3. Conclusões

Neste trabalho foi possível obter o mapeamento da estrutura de amostras anisotrópicas de copolímeros em bloco e seus nanocompósitos por SAXS utilizando o equipamento Nanostar. A função de nanografia mostrou-se particularmente útil para realizar um mapeamento preciso das amostras ensaiadas por reologia extensional. Foi possível analisar simultaneamente a estrutura da matriz de copolímero e das partículas de argila.

4. Referências

Referências são indicadas entre colchetes; há diferentes formatos para artigos em revistas[1], artigos em livros[2] e livros[3].

[1] Hamley, I. W.; *The Physics of Block Copolymers*; Oxford University Press, Oxford - New York - Tokyo, 1998.

[2] Ha, Y. -H.; Kwon, Y.; Breiner, T.; Chan, E. P.; Tzianetopoulou, T.; Cohen, R. E.; Boyce, M. C.; Thomas, E. L.; *Macromolecules*, **38**, 5170, 2005.

[3] Sentmanat, M. L.; Wang, B. N.; McKinley, G. H.; *J. Rheol.* **49**, 585, 2005.

Apêndice 4

Estudos conformacionais da interação de peptídeos correspondentes à região N-terminal das toxinas protéicas Sticholisina I e II com membranas modelo

Joana Paulino^a Leandro R S Barbosa^b, Shirley Schereier^a Rosângela Itri^b.

^aInstituto de Química da USP, São Paulo, Brasil.

^bInstituto de Física da USP, São Paulo, Brasil.

1. Introdução

Toxinas formadoras de poros (PFTs, pore forming toxins), que tem como alvo a membrana celular, são produzidas por uma variedade de organismos, bactérias a organismos superiores, como anêmonas marinhas, minhocas e plantas (1). Essas toxinas classificadas como α -PFTs e β -PFTs, possuem trechos hidrofóbicos que se estruturam em α -hélices, que poderiam atravessar a membrana (α -PFTs) ou fitas β com caráter anfipático que, quando combinadas em estruturas multi-proteicas, permitem a penetração na membrana (β -PFTs) (2,3). Existem vários mecanismos pelos quais PFTs e alguns peptídeos antimicrobianos promovem o rompimento da membrana plasmática: 1) ação detergente (fig 1A); 2) formação de um poro que tem sua superfície totalmente recoberta pela estrutura polipeptídica, como no modelo “barril de estacas” (barrel stave) (fig1B) ou em PFTs que possuem estrutura do tipo barril β e 3) formação de um poro toroidal, no qual tanto a proteína quanto as cabeças polares dos fosfolipídios fazem parte do poro (fig1C) (1,4).

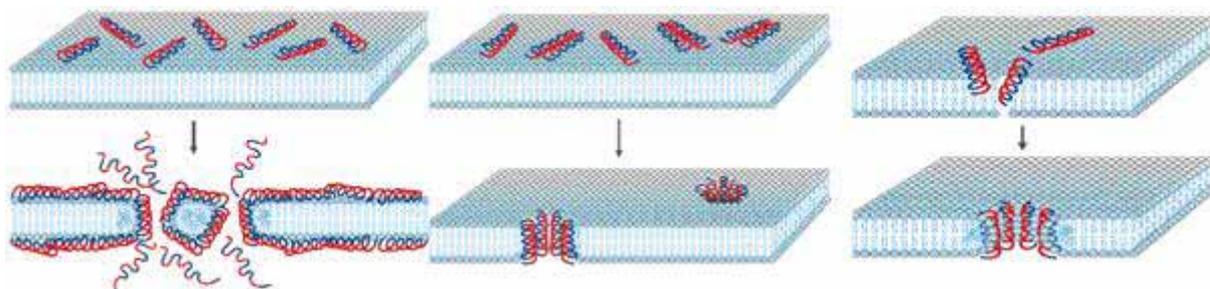


Figura 1. Mecanismos de permeabilização de membranas por peptídeos. (A) Ação detergente; (B) modelo de um poro do tipo “barril de estacas”; (C) modelo de um poro toroidal (tirado da ref. 4).

As Sticholisinas I e II (St I e St II), toxinas purificadas da anêmona marinha *Sticholidacta heliantus* (5,6), classificadas como α -PFTs (1), pertencem à família das actinoporinas (6,7). Essa família caracteriza-se pelo peso molecular ao redor de 20 kDa, alto grau de homologia entre as proteínas, ausência de resíduos de cisteína, conservação da α -hélice N-terminal anfipática e de uma região rica em resíduos aromáticos, pl ao redor de 9 e capacidade de formar poros em membranas biológicas e modelo. Também, pertencem a essa família as toxinas Equinatoxina II (Eq II) (8) e Tenebrosina C (9). A ligação destas toxinas à membrana é mediada por lipídios; é proposto que SM seja o receptor putativo das toxinas na membrana (10,11).

St I e St II possuem 93% de homologia, com substituição de apenas 13 aminoácidos, sendo três modificações não conservativas na porção N-terminal (Glu2/Ala1, Asp9/Ala8, Gly23/Glu22). Outra diferença entre St I e St II é a atividade hemolítica, 21.700 UH/mg e

30.000 UH/mg (UH = unidades de hemólise), respectivamente, sendo St II a mais hemolítica de todas as actinoporinas (6, 7, 12).

A resolução da estrutura cristalina (13) e em solução (14) da Eq II, bem como a resolução da estrutura cristalina da St II (15), revelou que ambas possuem estruturas ricas em folhas β . As proteínas apresentam uma estrutura rígida de sanduíche de folhas β , empacotadas contra duas α -hélices. O alto conteúdo de folhas β e baixo conteúdo de α -hélice da St II foi também indicado por estudos de dicroísmo circular (CD) (16,17) e de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (18).

A região contendo os resíduos 1-10 de St II é composta principalmente de aminoácidos hidrofóbicos e sem alta probabilidade de adquirir estrutura α -helicoidal, a região correspondente aos resíduos 11-30 da porção N-terminal apresenta caráter altamente anfipático e possui alta propensão a adquirir conformação α -helicoidal (15,19). Comportamento semelhante é observado para a região N-terminal de St I.

Vários estudos tem contribuído para a proposta de que a região N-terminal das toxinas está envolvida no mecanismo de permeabilização de membranas e de que esse processo ocorreria através da formação de um poro de natureza toroidal. Experimentos de mutação sítio-dirigida e de deleção dos 33 primeiros resíduos da Eq II (20,21) mostraram que, sem a região N-terminal, a toxina se liga a membranas, mas não é capaz de permeabilizá-las. Ainda, tanto no caso da Eq II como da St II, a α -hélice N-terminal seria a única região que poderia se movimentar com certa liberdade sem que o agrupamento de folhas β fosse afetado, já que a α -hélice C-terminal, compreendida entre os resíduos 129-134, em Eq II, e 128-135, em St II, encontra-se fixada à estrutura em ambas as extremidades pelo esqueleto peptídico (13,15).

Estudos de CD e FTIR da ligação de St I e St II a bicamadas lipídicas sugerem que a ligação das toxinas promove um ganho de estrutura α -helicoidal entre 6-8% (17,18). Além disso, estudos com St I e fosfolipídios marcados com sondas fluorescentes mostraram que a toxina induz o movimento transmembranar de fosfolipídios (flip-flop) (22). Por outro lado, experimentos de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{31}P com a Eq II na presença de vesículas multilamelares (multilamellar vesicles, MLV) mostraram a formação de estruturas não-lamelares (23).

Em base a esses resultados, os mecanismos propostos para a alteração da permeabilidade de membranas por actinoporinas sugerem que esse processo ocorre em consequência da formação de um poro e que esse poro seria de natureza toroidal (5,10,15, 23-25). Nesse contexto, tem sido proposto que as etapas iniciais consistiriam no ancoramento da proteína na bicamada lipídica, através de uma região rica em aminoácidos aromáticos e na dissociação do N-terminal do corpo da proteína. Posteriormente, este se ligaria à membrana, com a α -hélice anfipática localizada na interface água-membrana (ver Figura 1C). Em seguida, quatro monômeros dariam origem ao poro pela formação de uma curvatura positiva, cuja superfície seria formada pelos resíduos polares e carregados da α -hélice anfipática e pelas cabeças polares dos lipídios (Figura 1C). Nossos resultados sugerem que os resíduos hidrofóbicos anteriores à hélice anfipática poderiam contribuir para o ancoramento desta à região das cadeias acila dos lipídios (ver abaixo).

Tendo em vista a importância da região N-terminal de St I e St II para a formação do poro e que a resolução atômica da estrutura tri-dimensional de proteínas é bastante desafiadora, devido a dificuldades na aplicação de técnicas de alta resolução (cristalografia de raios X e RMN) a essas proteínas, foi proposta a investigação da conformação e dinâmica de fragmentos protéicos da região N-terminal das toxinas.

Essa proposta é baseada em estudos da estrutura e topografia de proteínas de membrana realizados através dessa abordagem. Vários estudos tem mostrado que os fragmentos

possuem a propensão de adquirir a conformação predita para essas sequências na proteína inteira. Em nosso laboratório vários estudos foram realizados com fragmentos de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), tanto alças extracelulares e citosólicas, como regiões transmembranares (26- 31, ver também revisão na ref. 32).

2. Resultados e discussão

A figura 1 mostra as curvas de SAXS dos sistemas compostos por LPC em ausência de peptídeo, normalizadas pela concentração de LPC. Como podemos ver na figura, as curvas de SAXS possuem um comportamento muito similar umas com as outras na região de médios e grandes valores de q (ou seja, para valores de $q > 0.04 \text{ \AA}^{-1}$). No entanto, devemos perceber, que estas curvas de SAXS possuem uma pequena diferença na região de pequenos valores de q ($< 0.04 \text{ \AA}^{-1}$). Este fato se deve ao aparecimento de uma função de interferência entre as micelas, devido ao aumento da concentração para 120 mM. Mesmo as micelas sendo eletricamente neutras, um aumento de concentração pode gerar o aparecimento da função de interferência, devido ao volume excluído. As micelas começam a sentir a presença uma das outras.

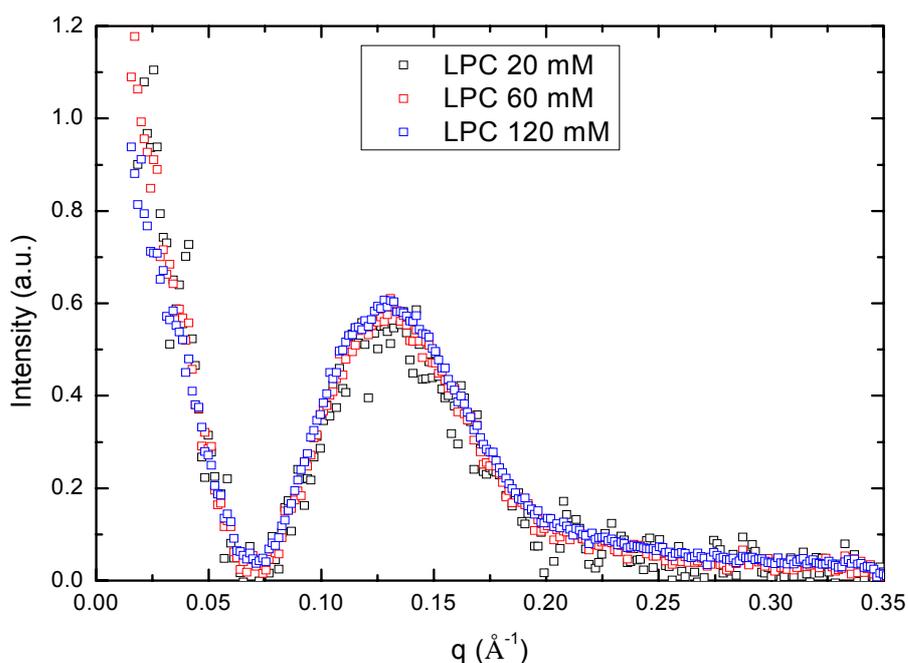


Figura 1 - Curvas de SAXS de micelas de LPC (20, 60 e 120 mM) em solução, normalizadas pela concentração micelar.

Como mencionamos anteriormente, as curvas de SAXS da figura 1 indicam que a micela de LPC não é alterada pela concentração de surfactante. Assim, podemos ajustar os fatores de forma de uma destas curvas de SAXS e impor estes mesmos parâmetros estruturais para as demais curvas. Neste caso, utilizaremos o ajuste Global, através de um programa desenvolvido pelo grupo de pesquisa liderado pelo prof. Paolo Mariani da Università Politecnico delle Marche, Ancona, Itália. Este programa é capaz de analisar diversas curvas de SAXS ao mesmo tempo, possibilitando inclusive a união de diferentes parâmetros de

ajustes de diferentes curvas experimentais, este procedimento garante a unicidade da solução final. No entanto, antes de iniciarmos a análise dessas curvas de SAXS, faremos uma discussão acerca das curvas de SAXS. A análise destas curvas encontra-se atualmente em andamento e será melhor discutida em um relatório posterior.

A Figura 2 mostra as curvas de espalhamento dos sistemas compostos por Lisofosfatidilcolina (LPC) em três diferentes concentrações (20, 60 e 120 mM) em ausência e presença de 2 mM de peptídeo. É interessante perceber que alterando a concentração do surfactante e mantendo a concentração do peptídeo constante, estamos, na verdade, alterando a razão molar LPC:Peptídeo. Assim, os gráficos abaixo estão organizados em função da razão molar da LPC com o peptídeo, sendo que para 120, 60 e 20 mM temos razões molares iguais a 0.017, 0.034 e 0.100, respectivamente. Em primeiro lugar, antes de investigar a influência do peptídeo na estrutura das micelas zwitteriônicas, iremos investigar o efeito da concentração de surfactante na estrutura das micelas. Deste modo a Figura 2 mostra as curvas de SAXS dos sistemas compostos por LPC a 20, 60 e 120 mM de surfactante, normalizadas pela concentração do mesmo.

Ainda na figura 2, podemos perceber que a presença do peptídeo induz um deslocamento das curvas de SAXS, independente da concentração micelar, para a região de altos valores de q . Este fato sugere que a presença do peptídeo, de alguma maneira, induz uma diminuição do tamanho da micela (indicado pelo deslocamento para maiores valores de q). Além do mais, a presença de tal peptídeo induz o aparecimento de uma função de interferência (ou seja, a presença do peptídeo induz o aparecimento de um pico na região de $q \approx 0.025 \text{ \AA}^{-1}$) entre micelas. Tal função provavelmente é oriunda de um desbalanço de cargas na superfície micelar.

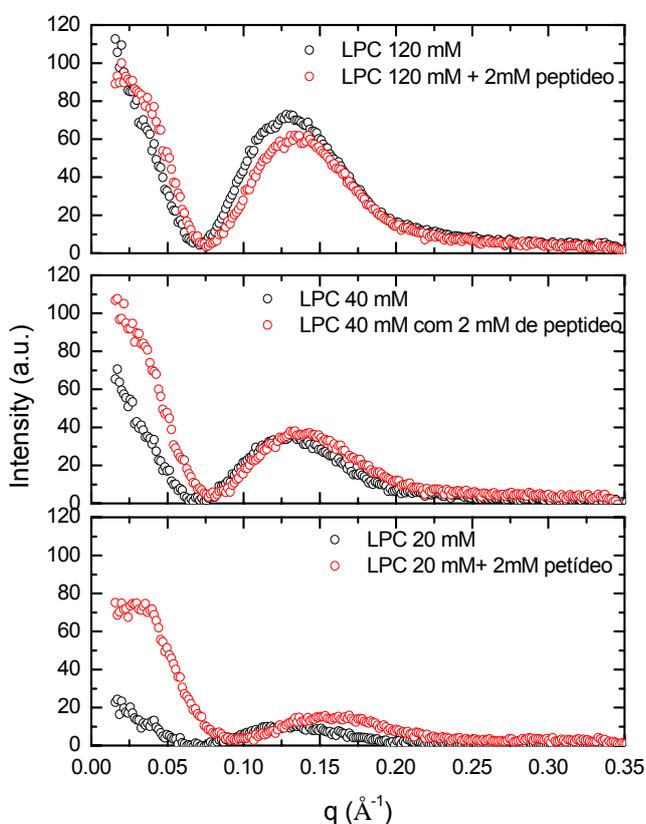


Figura 2 - Curvas de SAXS dos sistemas compostos por LPC em ausência e presença de peptídeos.

Dando continuidade a nossas análises, escolhemos um sistema para melhor exemplificar o efeito da presença do peptídeo em micelas zwitteriônicas de LPC. Neste contexto, a figura 3 mostra as curvas de SAXS do sistema composto por 20 mM de LPC em presença de 2 mM do peptídeo, juntamente com os ajustes respectivos, sendo que tanto as micelas de LPC quanto as micelas mistas de LPC/peptídeo são analisadas dentro do modelo de elipsóide prolato.

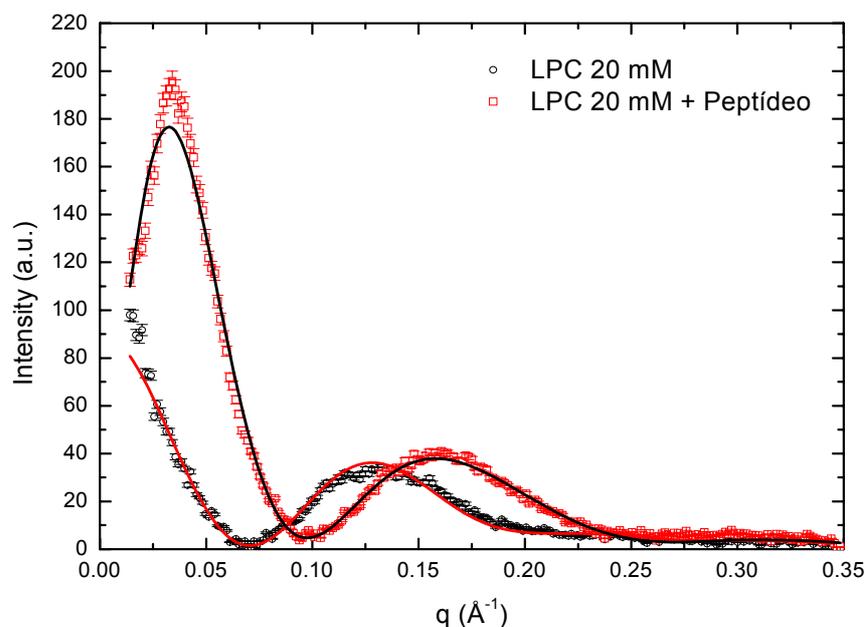


Figura 3 - Curvas de SAXS dos sistemas compostos por 20 mM de LPC em ausência (círculos pretos) e presença (quadrados vermelhos) do peptídeo, juntamente com os respectivos melhores ajustes através do modelo de elipsóide prolato.

Dentro deste modelo de análise, os parâmetros de ajuste são: o raio parafínico, R_{par} , a anisometria (razão axial) e a densidade eletrônica da cabeça polar, ρ_{pol} , assim como sua espessura, δ . Com esta análise, evidenciamos que existe uma diminuição do R_{par} de 18,5 Å (em ausência de peptídeo) para cerca de 15,0 Å em presença do mesmo. Evidenciamos também um pequeno aumento na anisometria, de 1,7 para 2,0 assim como um aumento da espessura da cabeça polar, de 7,8 para 11,8 Å. Estas análises indicam que o peptídeo deve se localizar, preferencialmente, na interface polar/apolar da micela de modo a alterar a distribuição de cargas na superfície da mesma. Além dos parâmetros estruturais mencionados aqui, a presença do peptídeo induz o aparecimento de uma função de interferência. Nossa análise indica que devem existir cerca de 5 a 6 cargas na superfície micelar. Atualmente estamos dando continuidade a estas análises.

3. Conclusões

Neste trabalho estudamos a interação de peptídeo com micelas zwitteriônicas de LPC. Evidenciamos que o peptídeo deve localizar-se, preferencialmente, na região hidrofílica da micela de LPC, alterando assim sua distribuição de cargas que por fim gera o aparecimento de uma função de interferência. Além do mais a presença de tal peptídeo induz uma diminuição do tamanho da micela, provavelmente alterando de certa forma o empacotamento do surfactantes zwitteriônicos. Este trabalho encontra-se em desenvolvimento e será, assim que possível, enviado para publicação em uma revista internacional com arbitragem.

Referências

1. Iacovache, I., van der Goot, F.G., Pernot, L. (2008) *Biochim Biophys Acta.* 1778, 1611-23.
2. Lesieur, C., Vecsey-Semjn, B., Abrami, L., Fivaz, M., van der Goot, F.G. (1997) *Mol. Membr. Biol.* 14, 45-64.
3. Gouaux, E. (1997) *Curr. Opin.Struct. Biol.* 7, 566-573.
4. Brogden, K.A. (2005) *Nature Reviews* 3, 238-250.
5. de los Ríos, V., Mancheño, J.M., Martinez Del Pozo, A., Alfonso, C., Rivas, G., Onaderra, M., Gavilanes, J.G. (1999) *FEBS Lett.* 455, 27-30.
6. Lanio, M.E., Morera, V., Alvarez, C., Tejuca, M., Gomez, T., Pazos, F., Besada, V., Martinez, D., Huerta, V., Padron, G., Chavez, M.A. (2001) *Toxicon* 39, 187-194.
7. Anderluh, G., Macek, P. (2002) *Toxicon* 40, 111-124.
8. Ferlan, I., Lebez, D. (1974) *Toxicon* 12, 57-61.
9. Galettis, P., Norton, R.S. (1990) *Toxicon* 28, 695-706.
10. Tejuca, M., Serra, M.D., Ferreras, M., Lanio, M.E., Menestrina, G. (1996) *Biochemistry* 35, 14947-14957.
11. de los Ríos, V., Mancheño, J.M., Lanio, M.E., Onaderra, M., Gavilanes, J.G. (1998) *Eur. J. Biochem.* 252, 284-289.
12. Huerta, V., Morera, V., Guanche, Y., China, G., Gonzalez, L.J., Betancourt, L., Martinez, D., Alvarez, C., Lanio, M.E., Besada, V. (2001) *Toxicon* 39, 1253-1256.
13. Athanasiadis, A., Anderluh, G., Macek, P., Turk, D. (2001) *Structure* 39, 341-346.
14. Hinds, M.G., Zang, W., Anderluh, G., Hansen, P.E., Norton, R.S. (2002) *J. Mol. Biol.* 315, 1219-1229.
15. Mancheño, J.M., Benito, J.M., Martinez-Ripoll, M., Gavilanes, J.G., Hermoso, J.A. (2003) *Structure* 11, 1319-1328.
16. Mancheño, J.M., de los Ríos, V., Martinez del Pozzo, A., Lanio, M.E., Onaderra, M., Gavilanes, J.G. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* 1545, 122-131.
17. Alvarez, C., Casallanovo F., Shida, C.S., Nogueira, L.V., Martinez, D., Tejuca, M., Pazos, I.F., Lanio, M.E., Menestrina, G., Lissi, E., Schreier, S. (2003) *Chem. Phys. Lipids.* 122, 97-105.
18. Menestrina, G., Cabiaux, V., Tejuca, M. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 254, 174-180.

19. Casallanovo, F., Oliveira, F.J.F., Souza, F.C., Ros, U., Martínez, Y., Pentón, D., Tejuca, M., Martínez, D., Pazos, F., Pertinhez, T. A., Spisni, A., Cilli, E.M., Lanio, M.E., Alvarez C., Schreier, S. (2006) *Biopolymers* 84, 169-180.
20. Anderluh, G., Pungencar, J., Krizaj, I., Strukelj, B., Gubensek, F., Macek, P. (1997) *Protein Eng.* 10, 751-755.
21. Anderluh, G., Barlic, A., Podlesek, Z., Macek, P., Pungencar, J., Gubensek, F., Zecchini, M.L., Serra, M.D., Menestrina, G. (1999) *Eur. J. Biochem.* 263, 128-136.
22. Valcarcel, C.A., Dalla Serra, M., Potrich, C., Bernhart, I., Tejuca, M., Martinez, D., Pazos, F., Lanio, M.E., Menestrina, G. (2001) *Biophys. J.* 80, 2761-2774.
23. Malovrh, P., Viero, G., Serra, M.D., Podlesek, Z., Lakey, J.H., Macek, P., Menestrina, G., Anderluh, G. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 22678-22685.
24. Gutierrez-Aguirre, I., Podlesek, Z., Barlic, A., Macek, P., Anderluh, G., Gonzalez-Manas, J.M. (2004) *Biochem. J.* 384, 421-428.
25. Anderluh, G., Dalla Serra, M., Viero, G., Guella, G., Macek, P., Menestrina, G. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 45216-45223.
26. Pertinhez, T.A., Nakaie, C.R., Carvalho, R.S., Paiva, A.C., Tabak, M., Toma, F., Schreier, S. (1995) *FEBS Lett.* 375, 239-242.
27. Franzoni, L., Nicastro, G., Pertinhez, T.A., Tatò, M., Nakaie, C.R., Paiva, A.C., Schreier, S., Spisni, A. (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 9734-9741.
28. Franzoni, L., Nicastro, G., Pertinhez, T.A., Oliveira, E., Nakaie, C.R., Paiva, A.C.M., Schreier, S., Spisni, A. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 227-235.
29. Grijalba, M.T., Schreier, S., Oliveira, E., Nakaie, C.R., Miranda, A., Tominaga, M., and Paiva, A.C. (2000) In *Peptides for the New Millennium* (Fields, G.B., Tamm, J.P., and Barany, G., Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 385-386.
30. Salinas, R.K., Shida, C.S., Pertinhez, T.A., Spisni, A., Nakaie, C.R., Paiva, A.C., Schreier, S. (2002) *Biopolymers* 65, 21-31.
31. Pertinhez, T.A., Krybus, R., Cilli, E.M., Paiva, A.C., Nakaie, C.R., Franzoni, L., Sartor, G., Spisni, A., Schreier, S. (2002) *J. Pept. Sci.* 8, 23-35.
32. Yeagle, P.L., Albert, A.D. G (2007) *Biochim. Biophys. Acta* 1768, 808-824.

Apêndice 5

Caracterización por SAXS de la morfología de nanopartículas bifásicas en solución

L.J. Giovanetti^a, J. M. Ramallo López^a, F.G. Requejo^a, E.V. Shevchenko^b and A.F. Craievich^c

^a*Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas UNLP.*

INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas UNLP.

^b*Lawrence Berkeley National Laboratory-Berkeley CA United States of America*

^c*Institute of Physics, University of Sao Paulo, CEP 05508-900 Sao Paulo, SP, Brazil.*

1. Introdução

Estudamos diversas soluções diluídas de nanopartículas metálicas estabilizadas com hexadecylamina, adamantane ácido carboxílico, imersas em matriz líquida (tolueno) e uma delas em estado seco (após evaporação do solvente). O objetivo foi determinar as características morfológicas em escala nanométrica, visando em particular determinar o tamanho e também o grau de agregação de agregação das nanopartículas. Este estudo está relacionado com linha em andamento que visa a caracterização de nanopartículas metálicas em solução e depositadas em substratos sólidos, de interesse em catalysis e outras aplicações [1, 2].

Os sistemas estudados por SAXS utilizando o aparelho NanoStar são os seguintes:

i) Solução diluída de nanopartículas de Au.

ii) Solução diluída de nanopartículas de CoPt3/Au (I), composta por uma mistura de nanopartículas de CoPt3 e de Au.

iii) Solução diluída de nanopartículas de CoPt3/Au (II), composta por uma mistura de nanopartículas de CoPt3 e de Au, preparadas em condições químicas diferentes às da amostra CoPt3/Au(I).

iv) Pó formado por nanopartículas de CoPt3 (em estado seco, após evaporação do tolueno).

2. Resultados e Discussão

Apresentaremos a seguir os resultados experimentais das experiências de SAXS das quatro amostras estudadas. Fizemos uma análise preliminar dos resultados experimentais considerando a hipótese mais simples, segundo a qual as nanopartículas básicas são considerados esféricas e monodispersas. A forma esférica foi estabelecida a partir de observações de imagens de microscopia eletrônica de transmissão em amostras secas. Uma análise mais completa dos resultados de SAXS deverá levar em conta o efeito da distribuição de tamanhos das nanopartículas.

(i) *Solução diluída de nanopartículas de Au.* A curva experimental de SAXS das nanopartículas de Au é apresentada na Fig. 1. Percebe-se que a curva decresce monotonamente com o aumento de q . Na mesma figura é representada a curva de intensidade fitada com GNOM[3] de SAXS correspondente a um conjunto de esferas com $\langle R \rangle = 3,1 \text{ nm}$ y .

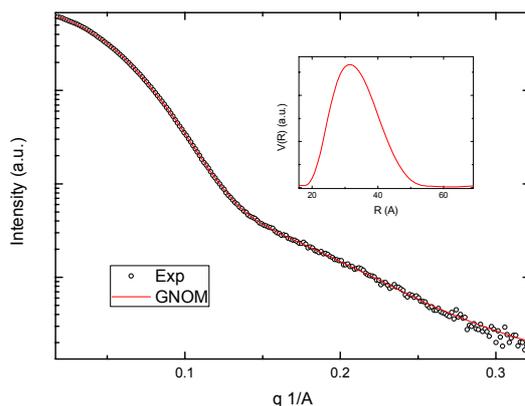


Fig. 1 - Curva experimental de SAXS e curva fitada supondo um sistema de esferas monodisperso com $R=3,1\text{nm}$.

(ii) *Solução diluída de nanopartículas de CoPt3/Au (I)*. A curva de SAXS correspondente à amostra CoPt3/Au(I) composta por uma mistura de nanopartículas de CoPt3 e de Au em estado de solução diluída em tolueno, é apresentada na Fig. 2. Percebe-se na curva experimental uma oscilação a ângulos baixos que atribuímos ao fator de estrutura das nanopartículas básicas formando clusters de CoPt3/Au com conformação dimérica.

Calculamos a curva de intensidade de SAXS supondo a presença de dímeros idênticos. Consideramos que a densidade eletrônica média de ambos os tipos de nanopartículas (CoPt3 e Au) é similar. O modelo utilizado foi o de dímeros compostos por monômero de raio idêntico R a uma distância única d entre eles. A curva de intensidade de SAXS mostrada na figura corresponde a um conjunto diluído de dímeros formado por nanopartículas de raio $R=5,2\text{nm}$ separadas por uma distância $d=15,0\text{nm}$.

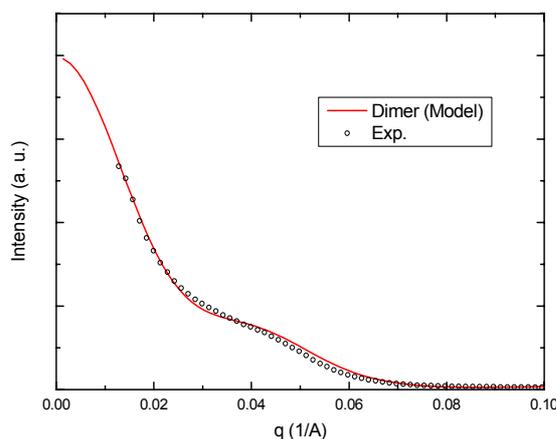


Fig. 2 - Curva experimental de SAXS e curva fitada supondo um sistema de de monodisperso de “dumbells” ou dímeros de nanopartículas esféricas com $R=5,2\text{nm}$ separados por uma distância $d=15,0\text{nm}$.

(iii) *Solução diluída de nanopartículas de CoPt3/Au (II)*. A curva experimental de SAXS correspondente à amostra CoPt3/Au(II) é mostrada na Fig. 3. Visualmente percebe-se que esta curva possui características diferentes das correspondentes à amostra CoPt3/Au(I). Fizemos um cálculo da curva de intensidade de SAXS assumindo, neste caso, um modelo de

clusters maiores que o dimérico, formado por uma mistura de trimeros e tetrâmeros. A curva calculada que é mostrada na Fig. 3 corresponde ao melhor fitting que obtivemos para uma mistura de 40% de trimeros e 60% de tetrâmeros, formados por nanopartículas esféricas de CoPt3 e de Au de raio equivalente, $R=4,3\text{nm}$, com distância entre elas $d=140\text{nm}$.

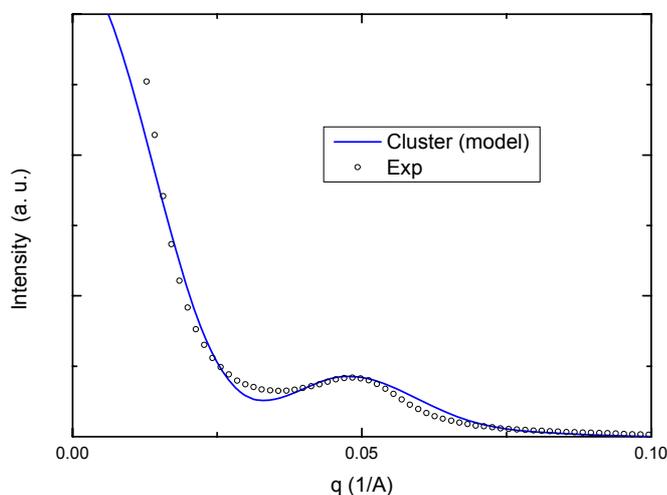


Fig. 3 - Curva experimental de SAXS e curva fitada correspondente à amostra CoPt3/AU(II) supondo uma mistura de trimeros e tetrâmeros compostos por nanopartículas esféricas de CoPt3 e de Au, de raio $R=4,3\text{nm}$ separados por uma única distância $d=14,0\text{nm}$.

(iv) *Pó formado por nanopartículas de CoPt3.* A curva experimental obtida para o sistema de nanopartículas de CoPt3 em estado seco (após evaporação do tolueno) está representada na Fig. 4. Percebe-se na curva um conjunto de picos de Bragg associados a uma estrutura cristalina cúbica, com rede fcc. Apesar de um certo “overlapping” entre várias das reflexões de Bragg, o diagrama de difração pode ser indexado de acordo ao mostrado na Fig. 4. O parâmetro de rede que determinamos é $a=16,5\text{nm}$. Isso implica que a distância entre nanopartículas primeiras vizinhas ($d=a \cdot 2^{1/2}/2$) resulta $d=11,7\text{nm}$. Um estudo adicional mais preciso será feito mediante um único fitting do diagrama de difração total.

Tabela 1 - Resumo dos resultados obtidos.

Am. #	Composição	Estado	Conformação	R (nm)	d (nm)
(i)	Au	Solução diluída	Monômeros	3,1	-----
(ii)	CoPt3+Au	Solução diluída	Dímeros	5,2	15,0
(iii)	CoPt3+Au	Solução diluída	40% trí + 60% tetrám	4,3	14,0
(iv)	CoPt3	Pó	Policristal	---	11,67

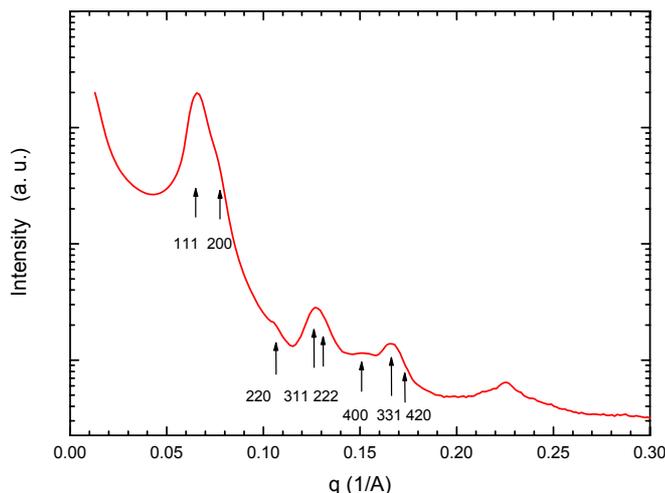


Fig. 4 - Curva de difração a baixos ângulos referentes a um conjunto de nanopartículas de CoPt₃ em estado seco. As posições dos picos de Bragg de baixos índices de Miller, correspondentes a uma rede cristalográfica fcc, são indicadas na figura. O valor calculado do parâmetro da célula cúbica é $a=16.5$ nm.

3. Conclusões

O estudo de SAXS realizado permitiu determinar o tamanho de nanopartículas em soluções diluídas e em forma de pó, e caracterizar diferentes tipos de estado de agregação. Estabelecemos que os sistemas estudados em solução diluída, dependendo do tipo e das condições físico-químicas de preparação, estão compostos por nanopartículas isoladas ou monoméricas, ou por nanoclusters, (dímeros, ou trímeros + tetrâmeros). Após evaporação do solvente, nanopartículas de CoPt₃ formam agregados de estrutura cristalina com rede cristalográfica fcc. O conjunto de informação derivada do presente estudo está resumido na Tabela 1.

4. Referências

- 1-JM. Ramallo Lopez, L. Giovanetti, A.F. Craievich, F.C. Vicentin, M Marin-Almazo, M J. Yacaman, F.G. Requejo. *Physica. B, Condensed Matter*, **389**, 150-154 (2007).
- 2-L. Giovanetti, J.M.R. Lopez, F.G. Requejo, D.I. Garcia-Gutierrez, M. J. Yacaman, A.F. Craievich. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**, 7599-7604 (2007).
- 3-Svergun D.I. (1991). *J.Appl.Cryst.*, **24**, 485-492

Apêndice 6

Investigação das propriedades morfológicas e estruturais de nanopartículas de cobalto produzidas pelo método de agregação gasosa

G. T. Landi^a, M. C. A. Fantini^b e A. D. Santos^a

^aLaboratório de Materiais Magnéticos, Instituto de Física da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^bLaboratório de Cristalografia, Instituto de Física da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

1. Introdução e descrição do sistema de produção de amostras

Ao longo dos últimos anos iniciou-se um projeto no Laboratório de Materiais Magnéticos (LMM) com o intuito de produzir e caracterizar nanopartículas (NPs) compostas de diferentes materiais [1,2]. As NPs são produzidas pelo método de agregação gasosa que consiste em uma adaptação de um sistema de “magnetron sputtering” para comportar uma câmara de alta pressão sobre um dos canhões do sistema.

Possuímos no LMM um “magnetron sputtering” comercial (AJA International) de quatro canhões que opera em alto vácuo. Utilizamos fontes DC para metais e de radio frequência para isolantes.

A adaptação desse sistema consiste em uma câmara de condensação (CC) de 10 cm de diâmetro por 15 cm de comprimento fixado em um dos canhões do sistema (figura 1). Esta câmara é completamente selada, exceto por uma abertura na sua extremidade. Na sua parte inferior, perto do alvo, insere-se um fluxo da ordem de 80 sccm de Ar que segue uma trajetória lamelar em direção a abertura guiada pela diferença de pressão resultante do bombeamento das bombas de vácuo. A pressão dentro da CC é da ordem de 1 Torr e a pressão fora dela da ordem de 5 mTorr (pressão usual de trabalho de um sistema de “sputtering”).

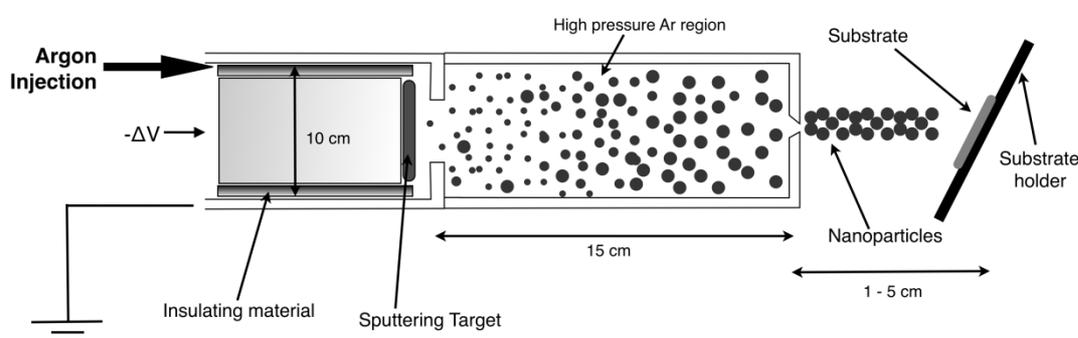


Figura 1: esquema da adaptação em um dos canhões do “sputtering” para comportar a câmara de agregação gasosa.

O Ar inserido no sistema tem três funções. Primeiramente, ele é responsável por remover o vapor atômico do alvo do “sputtering” através de uma diferença de potencial aplicada

entre o alvo e uma capa metálica que o contorna. Em segundo lugar, ele termaliza este vapor ainda nas regiões iniciais da câmara. Finalmente, devido à diferença de pressão dentro e fora da CC, o Ar também é capaz de carregar o vapor atômico ao longo da câmara em direção a abertura. Durante esta trajetória, os átomos condensam em NPs através de colisões com outros átomos. Fixando os substratos a alguns centímetros da saída da CC é possível então coletar estas nanopartículas que chegam na forma de um feixe colimado de material.

Apenas um dos quatro canhões do “sputtering” é utilizado para produzir as NPs. Os outros três podem ser utilizados para co-depositar outros materiais de interesse a fim de incrustar as partículas em uma matriz. Devido ao vasto número de materiais que pode ser usado em um sistema de “sputtering”, a combinação NP-matriz é extremamente vasta. Atualmente, já utilizamos Co, Cu, Au, Ag e SmCo como material para as NPs e Al, Cu, Cr, Nb, Au, Ag, NiO, SiO₂ e Si₃N₄ como matrizes. A escolha da matriz, tanto quanto a escolha do substrato, dependem da análise de interesse. A influência da matriz nas propriedades das NPs também tem que ser considerada.

2. Utilização do espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS)

As informações que podem ser obtidas utilizando SAXS para analisar sistemas compostos de esferas são amplamente conhecidas [3]. A habilidade de incrustar as NPs em matrizes torna SAXS uma técnica interessante para analisar a morfologia e as propriedades eletrônicas das partículas.

Além disso, já foi observada por microscopia eletrônica, a agregação entre as NPs. Não sabemos ao certo se esta ocorre durante o processo de agregação, dentro da CC, ou já no substrato. Esta questão também pode ser investigada utilizando SAXS. As estruturas formadas podem ser interpretadas como objetos de dimensão fractal [4].

3. Preparação das amostras e procedimento experimental

A escolha conveniente da matriz a ser utilizada foi demorada. As condições necessárias são que esta não interaja com as NPs e que suas taxas de deposição sejam maiores que a do feixe de partículas a fim de diluir os objetos. Tentativas foram feitas com Cu (não é transparente ao feixe de raios X) e Si₃N₄ (baixíssima taxa de deposição). Eventualmente, o elemento escolhido foi Al que, na espessura depositada, é transparente ao feixe e mesmo assim possui taxa alta o suficiente (por ser metálico). O substrato escolhido foi o Kapton.

Para estas medidas, o elemento escolhido para as NPs foi o Co. As amostras foram produzidas co-depositando NPs de Co com Al. O fluxo utilizado foi de 80 sccm e as potências aplicadas foram de 30 W para o Co e 250 para o Al. Este, por ser uma deposição usual de “sputtering” é consideravelmente homogêneo ao longo do substrato. As NPs, no entanto, consistem em um feixe colimado de alguns mm. Assim, para um substrato de aproximadamente 15x15 mm² a concentração atômica relativa de NPs na matriz varia de alguns por cento até aproximadamente 50 % seguindo uma distribuição Gaussiana. O tempo de deposição foi de 30 minutos o que resultou em ~270 nm de Al e 108 nm de espessura efetiva de Co no máximo da distribuição de material. Uma amostra de controle, contendo apenas o substrato e a matriz de Al na mesma espessura, também foi produzida para futura subtração da curva de espalhamento. Em ambas as amostras, uma cobertura de 4 nm de Si₃N₄ foi depositada a fim de proteger a amostra contra oxidação.

Curvas de SAXS foram obtidas em diferentes regiões da amostra (e na amostra de controle) utilizando o equipamento NanoStar da Bruker. As condições de medida foram 30 kV e 40 mA para o filamento (Cu $K\alpha$, $\lambda=1.540$ nm). O tempo de coleta foi de 4 horas em um detector bi-dimensional. As curvas foram posteriormente integradas e calculadas em termos do número de onda. Finalmente, a curva de espalhamento da amostra de controle foi subtraída de tal forma a obtermos apenas o espalhamento resultante das NPs.

4. Resultados e discussão

A figura 2 ilustra as curvas de espalhamento obtidas para as diferentes posições no substrato. Algumas conclusões podem ser imediatamente obtidas. Em primeiro lugar, nota-se que a intensidade do espalhamento é de fato proporcional a quantidade de partículas. Em segundo lugar, nota-se que mesmo nas regiões mais afastadas do centro da deposição (curvas E e F), ainda há espalhamento mostrando que também há NPs nesta região, mesmo que em quantidades baixas.

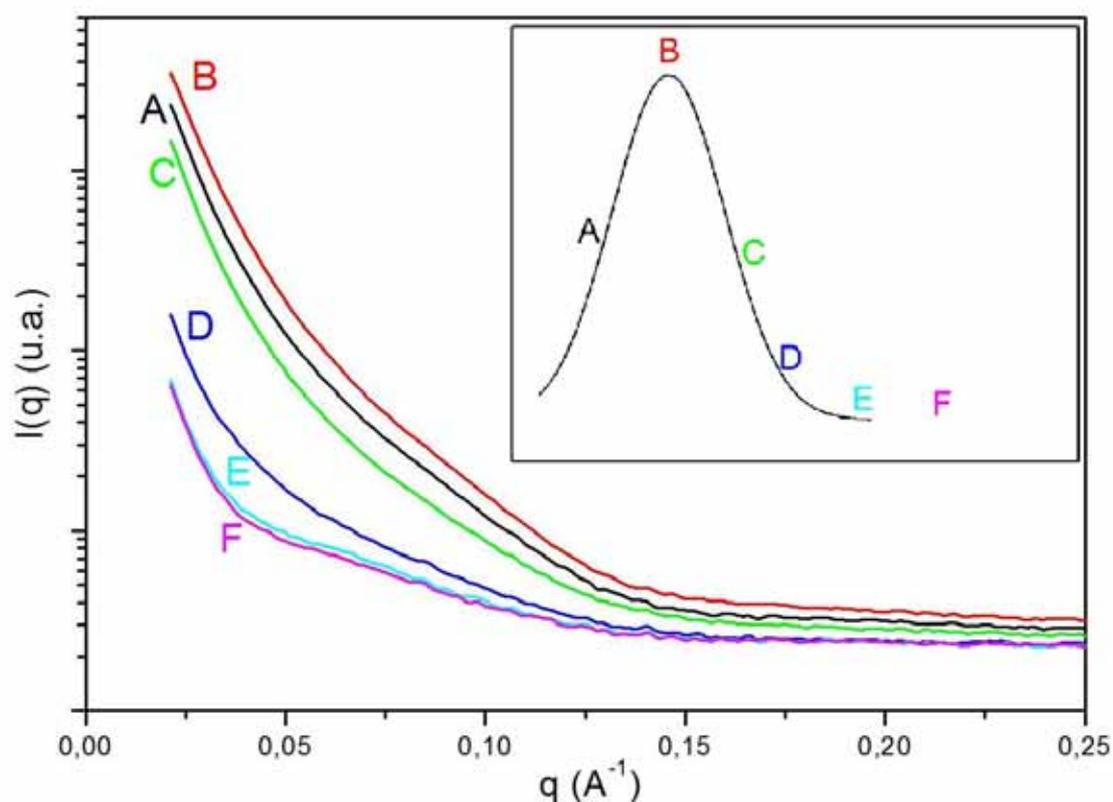


Figura 2: curvas de espalhamento obtidas em diferentes regiões da amostra. A figura interna diz respeito à concentração de NPs em função da posição no substrato. As cores das letras correspondem à curva correspondente.

Analisando a forma da curva é possível notar que a inclinação do espalhamento não é constante variando com q . Isso significa que os objetos espalhadores não são esferas isoladas, mas sim objetos agregados. Isto é um indício de que há a aglomeração entre NPs como já previamente mencionado. Finalmente, é possível observar que o aspecto geral das curvas é diferente nos diferentes pontos. Isso significa que a forma como as partículas estão distribuídas e/ou ligadas é diferente nas diferentes regiões do substrato.

Análises clássicas de SAXS, usando o GNOM demonstraram que os arranjos nanoparticulados habituais como distribuição de nanopartículas esféricas mono ou polidispersas isoladas, não são capazes de descrever os resultados experimentais acima. Considerando as particularidades do método de preparação das amostras, estamos considerando a necessidade de utilizar uma abordagem onde as nanopartículas possuam uma estrutura interna, provavelmente de caráter fractal [4].

Uma análise mais aprofundada destes dados envolverá o uso de simulações específicas das equações do espalhamento. Tal ainda está em desenvolvimento.

3. Conclusões

Este trabalho descreveu a aplicação da técnica de espalhamento de raios X a baixos ângulos para estudar a morfologia de sistemas nanoparticulados produzidos através da técnica de agregação gasosa.

Através de uma análise inicial foi possível concluir que há diferenças marcantes nas curvas de espalhamento para as diferentes concentrações relativas de NPs na matriz de Al. Isso é um forte indício de que a forma como estes objetos estão agregados deva ser complexa variando ao longo do substrato.

4. Referências

- [1] G. T. Landi, S. A. Romero e A. D. Santos, *submetido ao Review of Scientific Instruments*, 2009.
- [2] G. T. Landi e A. D. Santos, *submetido ao Journal of Materials Science*, 2009.
- [3] A. Guinier, G. Fournet, *Small Angle Scattering of X Rays*, New York: Wiley, 1955.
- [4] J. Teixeira, *J. Appl. Cryst.*, **21**, 781 (1988)

Apêndice 7

Transição de fase em membranas de lipídio

E. A. Oliveira (IFUSP), B.B. Gerbelli (IFUSP), R.N. Bicev (IFUSP))

Resumo

O objetivo desse estudo consiste na preparação e caracterização de complexos de lipídios e DNA para estudar a organização supramolecular formada pelo encapsulamento da biomolécula no sistema hospedeiro, e sobretudo os efeitos de confinamento. Os resultados obtidos nesses ensaios são essenciais para a preparação dos complexos e para comparação da organização do DNA em solução e no

complexo. Neste relatório são apresentados os resultados de experimentos de raio X, revelaram a presença de dois tipos de simetria: retangular centrada e hexagonal. As simetrias retangular centrada e hexagonal foram identificadas por meio da indexação de alguns picos do espectro a esses respectivos tipos de rede. São apresentados também os resultados obtidos nas observações em microscopia de luz polarizada e de fluorescência.

Introdução

A preparação de sistemas lamelares incorporando biomoléculas oferece uma grande oportunidade de preparar sistema supramolecular que podem ser usados como sistema modelo para a compreensão de processos biológicos e também para estudos mais fundamentais de sistemas confinados. A etapa inicial desse estudo consistiu em caracterizar os sistema individualmente, ou seja a fase lamelar e a solução da biomolécula que se pretende incorporar, que nesse estudo serão utilizados fragmentos de DNA de 150 pares de base (50nm) que com esse comprimento a persistência da cadeia nos permite encará-los como bastões rígidos, e assim pode se calcular a distância média entre os fragmentos de DNA,. Esses resultados são fundamentais para a preparação dos complexos, e para a compreensão dos arranjos que surgem em função do confinamento imposto pelas bicamadas aos bastões de DNA. Ambos os sistemas são considerados cristais líquidos liotrópicos, pois as transições de fase ocorrem por variação da concentração (de lipídio ou DNA), e apresentam propriedades anisotrópicas.

Os resultados apresentados a seguir consistem na determinação dos parâmetros microscópicos que caracterizam os arranjos microscópicos, ou seja, a partir da identificação do tipo de simetria, é possível propor um modelo geométrico da célula unitária. Os modelos para cada estrutura são esquematizados na figura 1.

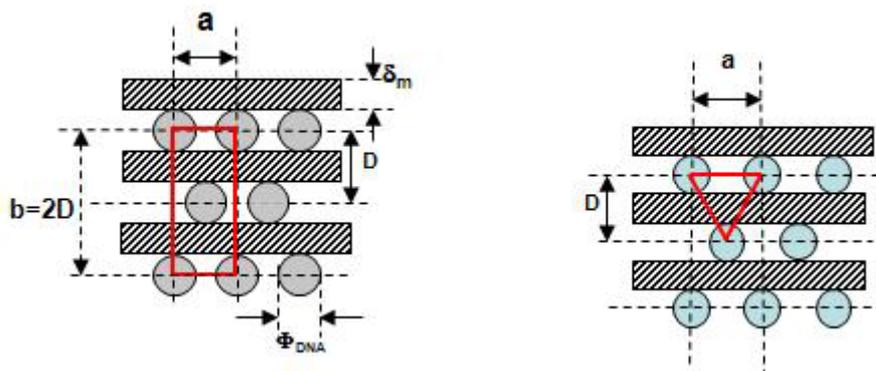


Fig. 1: Representações esquemáticas do modelo geométrico de cada célula unitária (da esquerda para a direita: retangular centrada e hexagonal). D é a distância de repetição lamelar, a é a distância entre bastões de DNA dentro de uma mesma camada de água, Φ_{DNA} é o diâmetro dos cilindros de DNA e δ_m é a espessura da bicamada lipídica.

A partir de considerações geométricas feitas sobre esses modelos, foram determinadas expressões para as frações volumétricas de cada componente do sistema (tabela 1).

	Retangular Centrada	Hexagonal
Φ_{DNA}	$\frac{\pi\Phi_{ADN}^2}{4Da}$	$\frac{\pi\sqrt{3}\Phi_{ADN}^2}{8D^2}$
Φ_m	$\frac{\delta_m}{D}$	$\frac{\delta_m}{D}$
Φ_w	$1 - (\phi_m + \phi_{ADN})$	$1 - (\phi_m + \phi_{ADN})$

Tabela. 1 : Expressões para cálculo das frações volumétricas de cada componente do sistema obtidas a partir de considerações geométricas feitas sobre os modelos exibidos na figura 1.

Métodos e Materiais

O estabelecimento de um protocolo para a preparação dos complexos constitui de grande importância para o projeto, pois inicialmente foram feitas amostras preparadas com lipídeo, fragmentos de DNA e água. As fases lamelares são preparadas com lecitina de soja, (Avanti-polar), que misturamos com simulsol (para dar maior flexibilidade a membrana) numa proporção de 70% e 30%, respectivamente. A mistura é solubilizada em ciclo-hexano e liofilizada. Esse material depois de seco, é então utilizado na preparação das amostras. Os fragmentos de DNA utilizados nesse trabalho são adquiridos da Sigma, extraído de timus de boi, e submetido a sonicação para quebra da molécula em fragmentos menores. Para as observações em microscopia de fluorescência, o DNA é marcado com uma prova fluorescente, YOYO (Molecular Probes). As amostras são preparadas através do estabelecimento das frações volumétricas pré-determinada para cada amostra e essas

passam por processos de centrifugação durante aproximadamente 3 a 4 vezes por semana em média, durante 2 meses e mantidas a temperatura de 20° à 25°. Ao fim do processo notamos que algumas amostras não se apresentava homogêneas, isto é, não se solubilizavam, pois havia ocorrido contaminação bacteriana. E a partir disso teríamos que mudar o protocolo de preparação dessas amostras, com parceria do aluno de doutorado Emerson da Silva que esta desenvolvendo parte do seu projeto em uma instituição parceira (CRPP-França) estabeleceu-se um novo protocolo de preparação. As mudanças significativas foram de armazenar as amostras em temperaturas mais baixas em torno de 0° e notou-se que o tempo para o equilíbrio entrópico das amostras diminuí para duas semanas em média. As amostras foram preparadas a partir do calculo das considerações geométricas apresentadas na tabela 1.

Nome	fração volumétrica		
	φ_{DNA}	φ_{LIP}	φ_{water}
E1	0,025	0,688	0,287
E2	0,230	0,532	0,239
E3	0,079	0,538	0,383
E4	0,084	0,755	0,161
E5	0,084	0,556	0,360
E6	0,124	0,843	0,033
E7	0,125	0,679	0,196
E8	0,052	0,440	0,510
E9	0,060	0,500	0,440
E10	0,144	0,728	0,128
E11	0,145	0,731	0,124

Tabela 2. Amostras preparadas com suas respectivas frações volumétricas de DNA, lipídeo e água.

A seguir o diagrama ternário das amostras preparadas está apresentado.

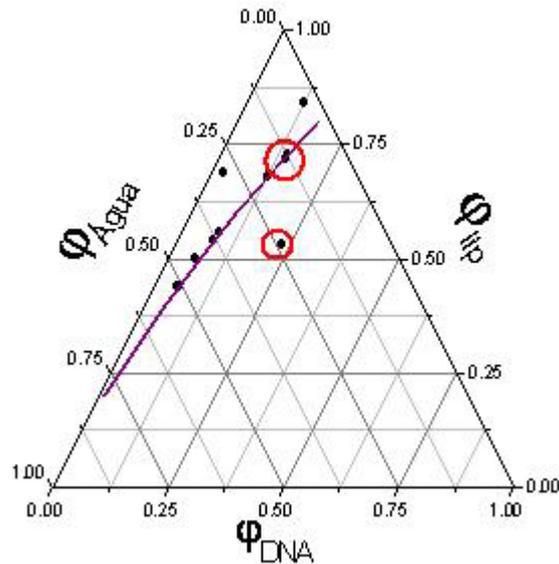


Figura 2: Diagrama ternário das amostras preparadas. Nos eixos, estão representadas as frações volumétricas de cada componente. a linha roxa representa onde se espera uma estrutura hexagonal. Os pontos que estão circundados correspondem à composição das amostras que não apresentaram equilíbrio entrópico (coexistência de fases) e por isso foram descartadas.

Resultados

a) Estrutura Retangular centrado

Quando falamos em simetria hexagonal ou retangular centrada ou hexagonal, estamos falando de uma fase bi-dimensional de DNA (no plano xy) intercalada na estrutura lamelar de membranas. Ao longo do eixo z, esses fragmentos formam uma fase colunar. De acordo com a figura 1, para uma estrutura retangular centrada, espera-se que o parâmetro “b” corresponda ao dobro da periodicidade lamelar D. A determinação desses parâmetros é feita pela indexação dos picos de difração de raios X, de acordo com a seguinte equação:

$$q_{l,k} = \sqrt{\frac{l^2}{a^2} + \frac{k^2}{b^2}}, \quad l+k = n^{\circ} \text{ par} \quad , \quad (1)$$

onde o parâmetro “a” corresponde ao espaçamento entre os bastões de DNA no interior da camada aquosa. Podemos distinguir três situações diferentes, dependendo da hidratação da bicamada, ou seja, do grau de confinamento imposto aos bastões de DNA na camada aquosa. Essas situações são ilustradas na figura 3.

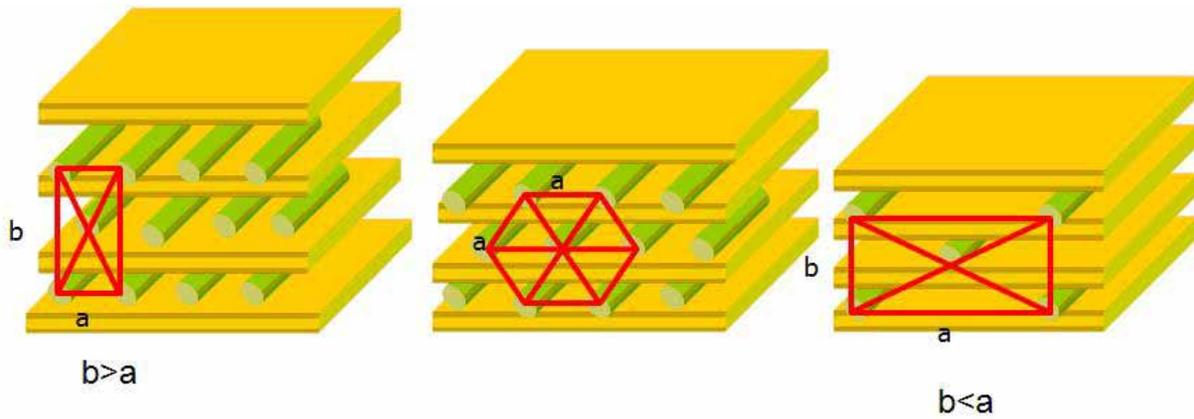


Figura 3: Da esquerda para a direita, temos um sistema retangular centrado com o parâmetro $b > a$, na segunda figura temos a célula unitária formando um hexágono de lado “a” e a terceira situação onde $a > b$.

Para cada amostra foi feito uma exposição de raio X (SAXS), com o objetivo de estabelecer a estrutura do complexo.

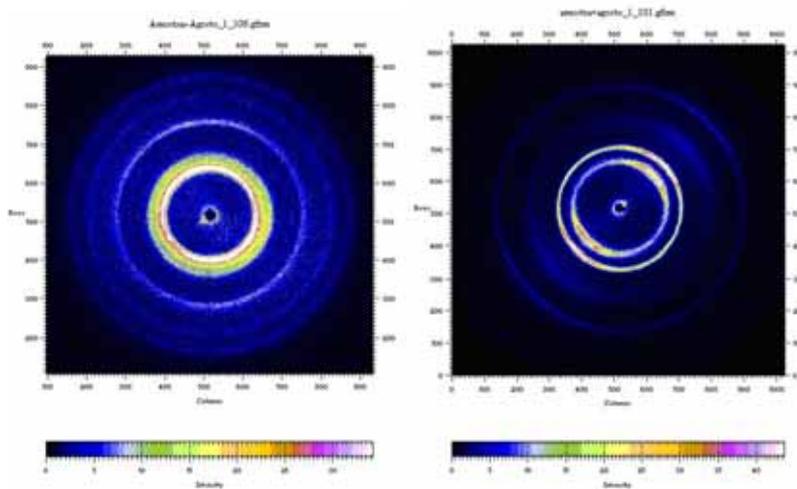


Figura 4: Difractogramas das amostras E1 e E8 onde observa-se a presença de picos de diversas ordens e um certo grau de ordenamento de ordenamento da fase lamelar ilustrado pelo espalhamento mais intenso em uma dada direção.

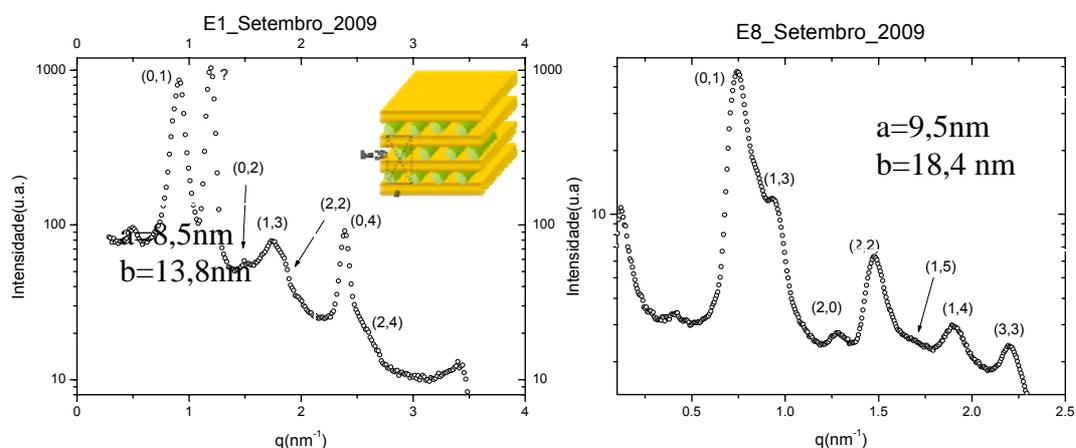


Figura 5: Exemplos de espectros e esquemas de organização das simetrias encontradas. No espectro referente à simetria retangular centrada, os números entre parênteses indicam os planos cristalográficos correspondentes aos picos.

O conjunto de picos de espalhamento observados para as amostras E1 e E8 pode ser indexado para uma estrutura retangular centrada, com $b > a$. A amostra E₁ visualmente apresentava uma coexistência de duas fases, com uma fase menos densa, e menos fluorescente e outra mais densa e mais fluorescente. Tentamos retirar do tubo separadamente cada uma das fases para o estudo estrutural. Na figura 6 é apresentado o difratograma correspondente a uma das fases presentes na amostra E1.

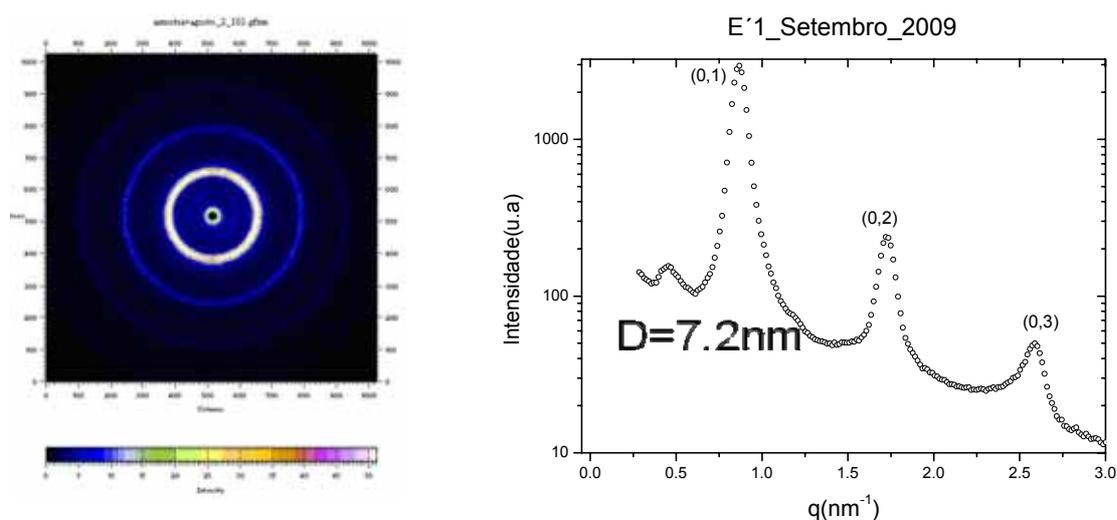


Figura 6: Espectro da amostra E'1 com seu difratograma e os picos referentes a ele, apresentando uma periodicidade lamelar de 7,2nm.

Notemos que para esta fase temos uma estrutura típica de uma fase lamelar, onde o vetor de onda tem uma razão de $q:1:2:3$, porém para termos certeza que se apresentam uma fase lamelar sem um pico particular que possa ser atribuída a presença de DNA. Foram feitas também observações em microscopia de polarização e fluorescência (figura 7) que confirmam a textura de uma fase lamelar e uma fluorescência uniforme, indicando a presença de DNA. Assim podemos supor que nessa fase, o DNA está presente, sem um tipo de organização bem definida, isto é sem ordem orientacional ou posicional.

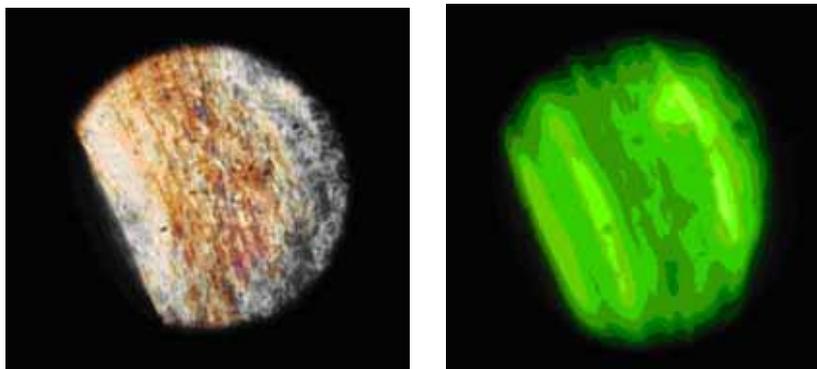


Figura 7: (a) Imagens de microscopia de luz polarizada evidenciando uma textura birrefringente característica de uma fase lamelar. (b) Mesma região observada em microscopia de fluorescência, a distribuição homogênea dos fragmentos de DNA no seio da fase hospedeira.

A partir da combinação dessas técnicas pudemos concluir que a amostra E1 apresentava uma coexistência de duas fases lamelares contendo DNA, uma com periodicidade igual a 6,9 nm, com DNA intercalado em uma estrutura retangular centrada, com correlação de posição intercamada. A segunda fase presente na mesma amostra seria uma fase lamelar, mais hidratada, com periodicidade igual a 7,2 nm com DNA porém não organizado, ou em uma fase isotrópica. E a E8 uma fase retangular centrada com os parâmetros $b > a$.

b) Hexagonal

Agora iremos estudar a estrutura hexagonal, que constitui um caso particular de uma estrutura retangular centrada. Para essa estrutura espera-se que a o parâmetro “a” que esteja relacionado com a periodicidade lamelar D ; $a = 2D/\sqrt{3}$. Assim, os picos de espalhamento devem ser indexados da seguinte forma:

$$q_{l,k} = \frac{4\pi}{\sqrt{3}a} \sqrt{l^2 + k^2 - kl} \quad (2)$$

$$l, k = \pm 1, \pm 2, \dots$$

Onde espera-se encontrar $q:1: \sqrt{3}:2: \sqrt{7}:3$, segue abaixo um exemplo de amostra que apresentou tal estrutura.

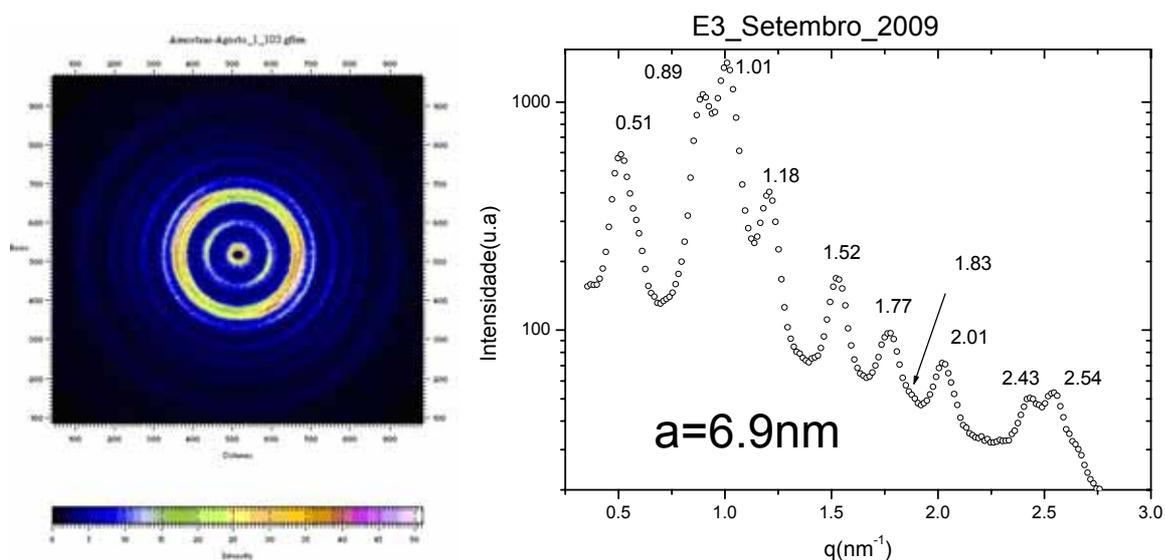


Figura 8: Exemplos de espectros e esquemas de organização das simetrias encontradas. No espectro referente à simetria retangular centrada, os números entre parênteses indicam os planos cristalográficos correspondentes aos picos na simetria hexagonal os valores indicam a posição relativa à q_0 . A amostra E3 indexada com uma estrutura hexagonal com parâmetro $a = 6,9 \text{ nm}$.

Os resultados obtidos nos experimentos de raios X são confrontados com observações em microscopia de luz polarizada e de fluorescência (no caso do DNA marcado com prova fluorescente). Na figura 8(a), pode observar que a amostra apresenta textura característica de uma fase lamelar planar, e na figura 8(b), a homogeneidade da amostra representa que o DNA está distribuído uniformemente na amostra. Isso confirma que de fato, temos uma estrutura lamelar, com o DNA intercalado entre as bicamadas formando uma estrutura hexagonal, com correlação de posição intercamada.

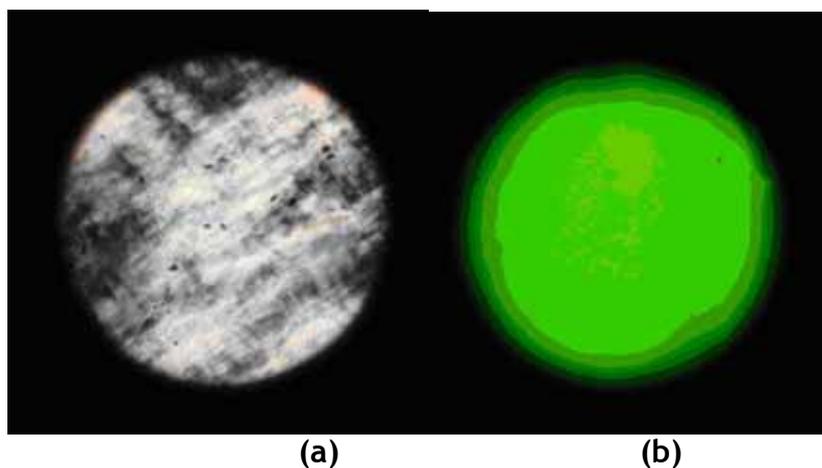


Figura 9: Imagens de microscopia de luz polarizada e de fluorescência. O padrão caótico birrefringente indica a textura de uma fase lamelar planar enquanto a uniformidade de fluorescência, a distribuição homogênea dos fragmentos de DNA no seio da fase hospedeira.

Notamos que muitas amostras ao verificarmos as frações volumétricas a partir dos parâmetros obtidos através dos espectros de raio-X mostraram-se diferentes do que aqueles que foram originalmente calculados.

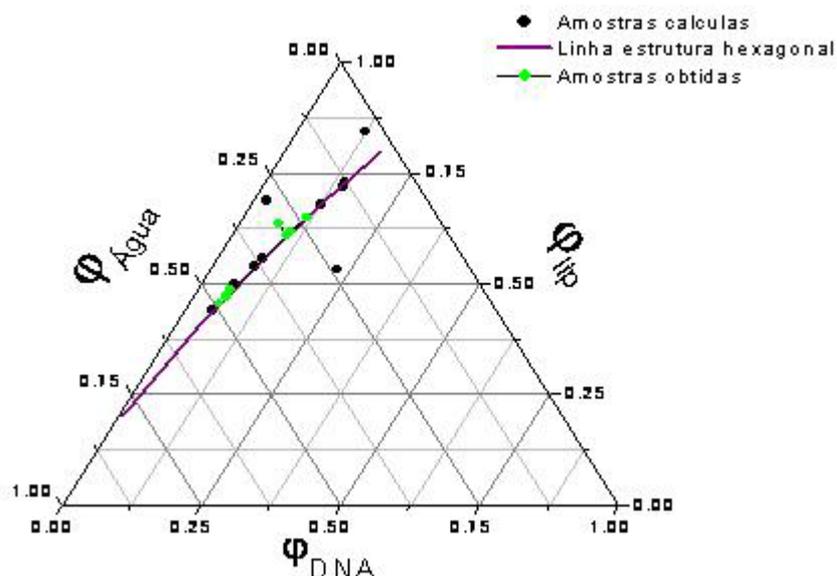


Figura 11: Diagrama ternário das amostras preparadas e obtidas. Nos eixos, estão representadas as frações volumétricas de cada componente. a linha roxa representa onde se espera uma estrutura hexagonal, os pontos pretos são as amostras com suas respectivas frações volumétricas calculadas, e os pontos verdes são de acordo com os parâmetros obtidos através dos espectros de raio-X.

Isso indica que o equilíbrio termodinâmico levou a uma estrutura diferente daquela esperada na formulação. Esse ponto será investigado no futuro e para isso será necessário a preparação de uma série de amostras explorando regiões do diagrama de fases.

Conclusões e Perspectivas

Os resultados apresentados neste relatório mostram o progresso na implementação de um protocolo de preparação das amostras ternárias e que a partir de uma formulação esperada, observamos uma evolução para uma determinada organização dos fragmentos de DNA incorporadas às fases lamelares, que pode levar a diferentes estruturas, desde um sistema com coexistência de fases até um estrutura altamente organizada, com estrutura com ordem hexagonal 2D.

A combinação das técnicas de espalhamento de raios X com técnicas de microscopia permite identificar bem a estrutura lamelar e a presença de DNA. Os experimentos de espalhamento de raios X realizados no Nanostar permitiram a identificação de pelo menos 3 tipos diferentes de organização do DNA intercalados na fase lamelar e agora podemos tentar explorar uma linha no diagrama de fases que nos permita acompanhar a transição de fase de uma organização para outra.

Está em andamento a implementação de um dispositivo de umidade controlada que nos permitirá, a partir de uma única amostra, variar o grau de hidratação e acompanhar as mudanças estruturais. Para isso aguardamos ainda um goniômetro, que permitirá a realização dos experimentos em filmes suportados, em geometria de incidência rasante.

Outro aspecto relevante das atividades desenvolvidas até o momento, é a formação de pessoal. Todas as atividades descritas nesse relatório foram desenvolvidas por duas alunas em projeto de iniciação científica, que foram treinadas para trabalhar com o equipamento e estão desenvolvendo acessórios para os experimentos de GISAXS.

Apêndice 8

Estudo de emulsões dermatológicas por raios X de baixo e alto angulo

Erika Cristina Vargas de Oliveira^a, Pedro Alves da Rocha Filho^a e Lia Queiroz do Amaral^b

^aFaculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP, SP, Brasil

^bInstituto de Física da USP, São Paulo, SP, Brasil

1. Introdução

Emulsão é a mistura de dois líquidos imiscíveis onde um líquido está disperso em outro na forma de pequenos glóbulos. Esta é possível devido à ação do emulsificante, um tensoativo, que forma um filme com propriedades eletrostáticas ao redor dos glóbulos do líquido disperso impedindo que eles coalesçam e se separem do dispersante [1]. Quando o líquido disperso (fase interna) é um óleo e o líquido dispersante (fase externa) é a água, a emulsão é classificada como O/A e no caso inverso como A/O. As emulsões mais adequadas para uso cosmético são as do tipo O/A por terem aspecto menos oleoso sendo, portanto mais confortáveis. Também são mais facilmente espalhadas e têm maior afinidade com as camadas da pele.

Diversos estudos empregam a difração de raios-X para caracterização, não só de sistemas água / tensoativo [2] como também de emulsões e micro emulsões [3], inclusive estudos já efetuados por um dos autores [4]. Tal técnica tem se mostrado muito útil na elucidação da interação entre as porções parafínicas e aquosas em sistemas complexos submetidos à variação de temperatura, como as emulsões. Por meio desta técnica é possível verificar se os glóbulos das mesmas são estabilizados por filme monomolecular ou por estruturas lamelares, determinar a distância entre as lamelas e ainda, a disposição das cadeias carbônicas destas.

Estruturas lamelares na fase gel consistem em bicamadas de moléculas do tensoativo separadas por água livre. Estas podem ser formadas em meio aquoso por uma gama de agentes de superfície, como por exemplo os tensoativos não iônicos derivados de álcoois ou ácidos graxos de cadeia longa, quando submetidos a condições específicas. Elas conferem à emulsão propriedades como proteção de ativos incorporados, aumento do poder hidratante e aumento da estabilidade físico-química. As cadeias carbônicas na bicamada estão agrupadas em uma sub-célula hexagonal onde as cadeias estão ordenadas.

2. Amostras

Os tensoativos são moléculas anfifílicas, que possuem uma parte com características hidrofílicas e outra com características lipofílicas. Para quantificar a relação existente entre as porções hidrofílicas e lipofílicas, Griffin, em 1948, introduziu o conceito de EHL, que é o valor numérico usado para expressar a hidrofília e lipofília [5]. Um tensoativo ou par de tensoativos é usado para a determinação do EHL da fase oleosa que corresponde ao EHL da emulsão. O EHL crítico, é aquele onde há maior estabilidade do sistema. Este valor numérico pode ser determinado por meio de fórmulas que se aplicam muito bem à tensoativos não iônicos. Estes são menos irritantes para a pele e apresentam menos incompatibilidades com outros componentes da formulação (óleos vegetais) além de provavelmente facilitarem a formação de estruturas lamelares anisotrópicas. Sabe-se que a quantidade de água presente

na formulação tem influência sobre a formação e espessura das estruturas lamelares [3]. Pesquisou-se então a influência da variação quantitativa das fases aquosa e oleosa sobre as estruturas lamelares.

Para a produção das amostras, foram adotados os valores de EHL 7 e 9, que correspondem a diferentes proporções do par de tensoativos empregado, o *PEG-80 Sorbitan Laurate* / *Steareth-2*. A composição das amostras referentes ao trabalho de mestrado do primeiro autor estão descritas na tabela 1. Os resultados dessas amostras constam de resumo submetido em setembro de 2009 ao World Congress on Emulsion 2010, a realizar-se em Lyon, França. Foi também medida outra amostra, designada N, cujos resultados constam de um segundo resumo submetido ao mesmo congresso (vide informações adicionais no final deste relatório).

Tabela 1: Composição das amostras analisadas para ambos os valores de EHL.

Componentes	Composição das amostras (% p/p)		
	36	35	03
Óleos (andiroba e copaíba 2:1)	7,0	14,0	3,5
Manteiga de cacau	2,0	4,0	1,0
Manteiga de cupuaçu	1,0	2,0	0,5
Tensoativos*	10,0	10,0	10,0
Água purificada	80,0	70,0	85,0

* *tensoativos*: EHL = 7 *PEG-80 Sorbitan Laurate* (16,28%) / *Steareth-2*. (83,72%); EHL = 9 *PEG-80 Sorbitan Laurate* (31,78%) / *Steareth-2*. (68,22%)

3. Resultados e Discussão

As duas series de medidas, separadas por 2 meses, permitiram estudar o efeito do envelhecimento das preparações. Todas as medidas foram efetuadas no Nanostar com 40 Kv/30mM, com amostras em capilar cilíndrico de vidro com diâmetro interno de 1.5 mm. Foi usado dodecyl sulfato de sódio em pó como padrão para calibrar a distancia amostra - filme. Medidas de alto e baixo ângulo foram efetuadas na temperatura ambiente.

Alem disso foi feita uma medida a mais alta temperatura, com vedação a fogo do capilar. Foi confirmada alteração no padrão de difração, como esperado pelas alterações vistas na amostra no microscópio óptico, acima da temperatura de transição ordem-desordem das cadeias carbônicas. Mas o foco do trabalho são as estruturas na temperatura ambiente, de uso dermatológico.

Resultado obtidos com a amostra 36 são vistos na figura 1A (baixo ângulo) e 1B (alto ângulo). Em SAXS aparecem 4 ordens de picos lamelares, com pouca variação em função do envelhecimento da amostra : a intensidade dos picos diminui cerca de 20%, apesar da intensidade na posição do feixe direto ser um pouco maior, o que pode indicar um deslocamento do zero, com pouca diferença na posição dos picos, conforme visto na tabela 2. A distancia de repetição é da ordem de 200 Å.

A literatura reporta [3] que em emulsões à base de tensoativos não-iônicos foram observadas diferentes distâncias interplanares de acordo com o conteúdo de água do sistema. Observou-se que o aumento da distância era proporcional ao aumento da quantidade de água. variando de 77Å à 357Å para 28% e 90% de água respectivamente.

O conteúdo de água das amostras analisadas nesta pesquisa variou entre 70 e 85% (amostra 36 = 80%, amostra 35 = 70%, amostra 03 = 85%). As distâncias interplanares calculadas são compatíveis com os resultados obtidos em [3], porém, não foi observada grande diferença entre as amostras com 70% e 85% de água.

Observando as distâncias interplanares entre T0 e Tf nas amostras analisadas nesta pesquisa não é observada grande variação. Isto sugere que não ocorreu a entrada de água entre as lamelas proposta pelos resultados de Eccleston [3].

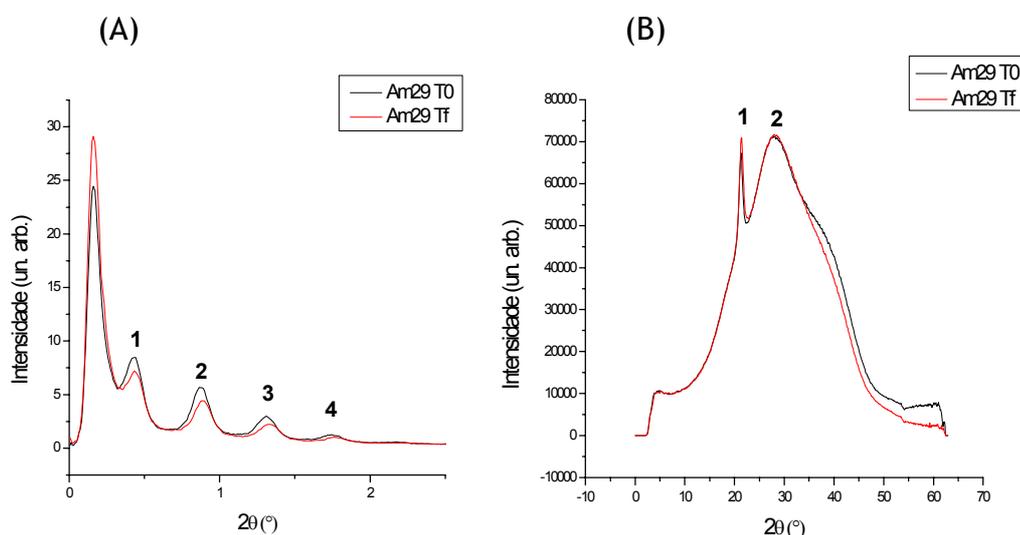


Figura 1 - Amostra 36 EHL = 9 - SAXS(A) e WAXS(B)

Tabela 2 - Picos lamelares da amostra inicial T0 e envelhecida Tf

Am36 EHL9		SAXS			
Picos	T0		Tf		
	2θ (°)	d (Å)	2θ (°)	d (Å)	
1	0,43	205,5	0,43	205,5	
2	0,87	202,9	0,89	198,9	
3	1,31	202,0	1,33	199,4	
4	1,75	202,2	1,78	198,3	

Os resultados das medidas de alto ângulo (WAXS) na mesma amostra, vistos na Figura 1B, revelam um pico definido em torno de 4,1 Å e outro mais largo em torno de 3,3 Å, correspondentes aos bem conhecidos picos de bicamadas lipídicas cujas cadeias carbônicas estão organizadas na fase gel e à banda da água [2]. O resultado se repete em todas as amostras analisadas e nos dois tempos do teste.

Tabela 3 - Picos em alto ângulo da amostra inicial T0 e envelhecida Tf

Am36 EHL9 Picos	WAXS			
	T0		Tf	
	2θ (°)	d (Å)	2θ (°)	d (Å)
1	21,3	4,1	21,4	4,15
2	28,0	3,2	28,0	3,2

A literatura [3] de amostras preparadas com água e surfactantes não-iônicos indicam que amostras com conteúdo de água a partir de 47% apresentam em alto ângulo um pico largo em 4,04 Å, indicando a presença de bicamadas lipídicas na fase gel organizadas em sub-células hexagonais. Sistemas formados por água e lipídios cujas cadeias estão organizadas como cristais líquidos quando submetidos a medidas de difração de raios-X exibem pico largo na região de 4,5 Å [2].

4. Conclusões

As emulsões dermatológicas estudadas apresentam estruturas lamelares em fase gel na temperatura ambiente, que não se alteram de forma marcante com envelhecimento de 2 meses. Este resultado é bastante positivo pois demonstra estabilidade do sistema. A água armazenada entre as bicamadas do tensoativo e sua permanência ao longo do tempo de armazenamento garantem o potencial hidratante diferenciado que as emulsões com estruturas lamelares em fase gel apresentam em relação às emulsões comuns.

Tendo em vista que as distâncias interplanares calculadas mostraram que não houve aumento da água interlamelar ao longo de dois meses, estão previstos estudos reológicos para verificar mudanças na viscosidade do sistema. Um aumento na viscosidade da emulsão é esperado quando há aumento da água interlamelar e pode representar maior estabilidade. Entretanto, uma grande variação da consistência pode acarretar em problemas farmacotécnicos como de escoamento do produto.

4. Referências

[1] Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J.L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, 2001.

[2] Luzatti, V.; Mustacchi, H.; Skoulios, A. *Nature* **180**, 600-601, 1957.; Luzatti, V.; Husson, F. *The Journal of Cell Biology* **12**, 207-219, 1962.

[3] Eccleston, G. M. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* **41**, 1-22, 1990; Eccleston, G. M. et al. *International Journal of Pharmaceutics* **203**, 127-139, 2000.

[4] Polizelli, A.; Telis, V. R. N.; Amaral, L. Q.; Feitosa, E. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Aspects* **281**, 230-236, 2006;

[5] Pasquali, R. C.; Sacco, N., Bregni, C. *Latin America Journal of Pharmacy* **28(2)**, p.313-317, 2009.

Apêndice 9

Estudo das propriedades estruturais de filmes de elastômeros derivados de celulose (HDI/APC).

C. Sena^a e A.M. Figueiredo Neto^a.

^a*Departamento de Física Experimental, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.*

1. Introdução

Filmes derivados de celulose preparados com soluções precursoras anisotrópicas de (*acetoxypopyl*) celulose (APC) termotrópica ou liotrópica, em um solvente isotrópico adequado, podem exibir propriedades mecânicas anisotrópicas que refletem o estado de orientação molecular resultante do fluxo da solução precursora sob a tensão de cisalhamento aplicada durante a preparação do filme. A natureza das soluções precursoras influencia fortemente as propriedades mecânicas de filmes cuja base é APC preparados com a técnica de tensão de cisalhamento. Soluções líquido cristalinas dão origem as propriedades mecânicas anisotrópicas. Os filmes são frágeis quando esticados paralelamente à direção de cisalhamento e dúcteis quando esticados perpendicularmente a ele [1, 2].

Pretendemos estudar filmes de 75% de APC com diferentes proporções de 1.6-*hexamethylenediisocyanate* (HDI). Sob atmosfera de nitrogênio, o HDI é utilizado para efetuar as ligações cruzadas nos filmes de APC. O processo de síntese desses filmes é feita de acordo com as referências [1, 2]. Inicialmente mostraremos alguns resultados com filmes de 0,5% HDI / 75% APC. Nos quais observaremos a orientação do diretor devido ao estiramento na mesma direção ou perpendicular ao cisalhamento. Com isto, pretendemos deformar o filme até a região de patamar (máxima orientação do diretor nemático) e em seguida analisar a evolução dos padrões de difração em função do tempo à medida que o filme recupera suas dimensões iniciais. Por fim, verificar se a estrutura inicial é recuperada. No presente trabalho mostraremos apenas os resultados dos estiramentos até a região de máxima orientação do diretor.

As amostras estudadas foram expostas aos raios X por 3h, usando a geometria de Laue por transmissão. A deformação (estiramento) aplicada aos filmes é calculada através da relação $\Delta L/L_0$, onde $\Delta L = L - L_0$, L é o comprimento da região útil do material no instante a ser medida a deformação, e L_0 é o comprimento inicial da região útil.

2. Resultados e discussão

A Figura 1 mostra os padrões de difração do filme de 0,5% HDI/70% APC para diferentes estiramentos na direção paralela ou perpendicular a direção média do diretor nemático. A banda interna relacionada ao empacotamento da cadeia lateral da APC nos fornece uma distância de repetição de $1,13 \pm 0,01$ nm, calculada de acordo com a lei de Bragg [3], similar a outros filmes derivados de celulose anisotrópica [1,4]. A banda externa nos fornece uma distância de repetição de $0,46 \pm 0,01$ nm relacionada a matriz elastomérica. Ambas distâncias de repetição são independentes dos estiramentos aplicados ao filme elastomérico. Os padrões de difração observados mostram o continuo crescimento da ordem do diretor nemático quando aplicamos um campo mecânico uniaxial (estiramento) ao longo da direção média do diretor (Figura 1a). Evidentemente, já esperávamos que ao esticar o sistema da cadeia nemática principal seria realmente suprimir as bandas originadas pelo cisalhamento e reforçar a ordem. Na sequência de padrões de difração para estiramentos

perpendiculares à direção média do diretor nemático, vemos que a banda interna vai perdendo intensidade e ordem com o aumento do estiramento e esperamos observar uma forte ordem do diretor, com sua direção média rotacionada de 90° , se aplicarmos um estiramento superior a $\Delta L/L_0 = 4$ (Figura 1b). Este resultado é semelhante ao observado nas referências [1, 5] e teoricamente descrito na referência [6]. As correspondentes intensidades difratadas da banda interna em função do ângulo azimutal para direção de estiramento paralela ou perpendicular ao diretor são mostradas na Figura 2a e 2b. O comportamento do parâmetro de ordem orientacional foi estimado através da relação $PO = (\pi - \Delta\varphi)/\pi$, onde $\Delta\varphi$ é a largura na meia altura da máxima intensidade da difração em função do ângulo azimutal φ . No estado inicial, relaxado, o filme de APC apresenta um parâmetro de ordem de $\sim 0,6$. Para sucessivos estiramentos paralelos ao eixo do diretor, a magnitude do parâmetro de ordem pode aumentar até $\sim 0,82$ (Figura 3a). Para sucessivos estiramentos perpendiculares ao eixo do diretor, observamos um contínuo decréscimo do parâmetro de ordem (Figura 3b). A máxima deformação aplicada até o momento foi de $\Delta L/L_0 = 4$ para a qual obtemos um parâmetro de ordem de $\sim 0,44$. O parâmetro de ordem da banda externa nas direções paralela ou perpendicular é de $\sim 0,55$, independente do estiramento.

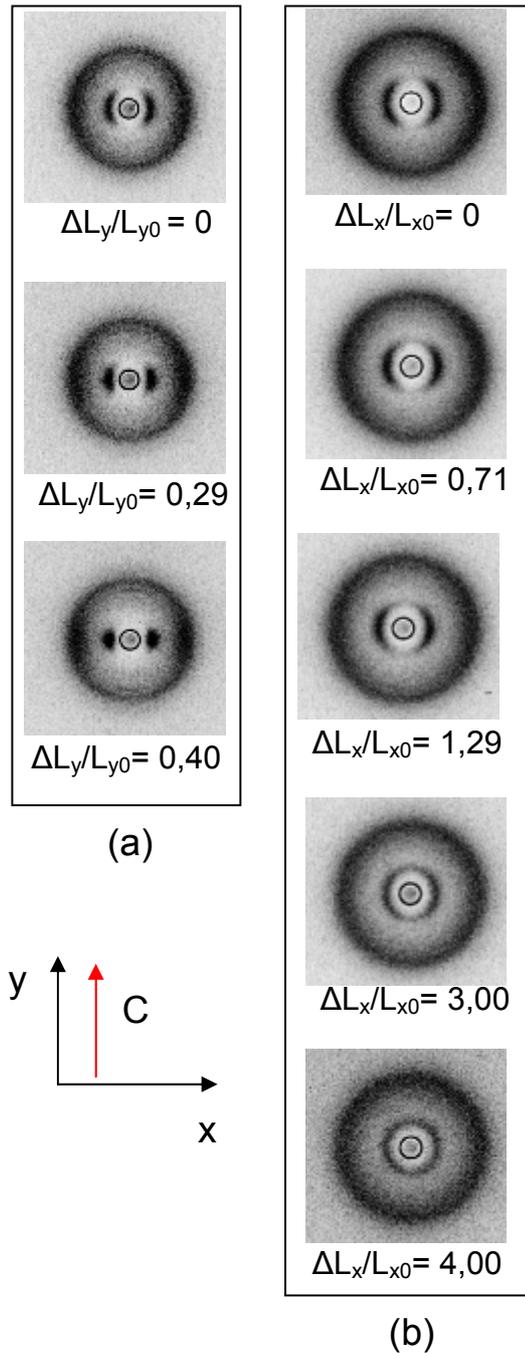


Figura 1: Difratoigramas das bandas de difração obtidos para diferentes valores de deformação: (a) direção de estiramento paralelo ao eixo do diretor nemático; (b) direção de estiramento perpendicular ao eixo do diretor nemático. A seta vermelha indica a direção de cisalhamento aplicado ao filme no momento de sua preparação.

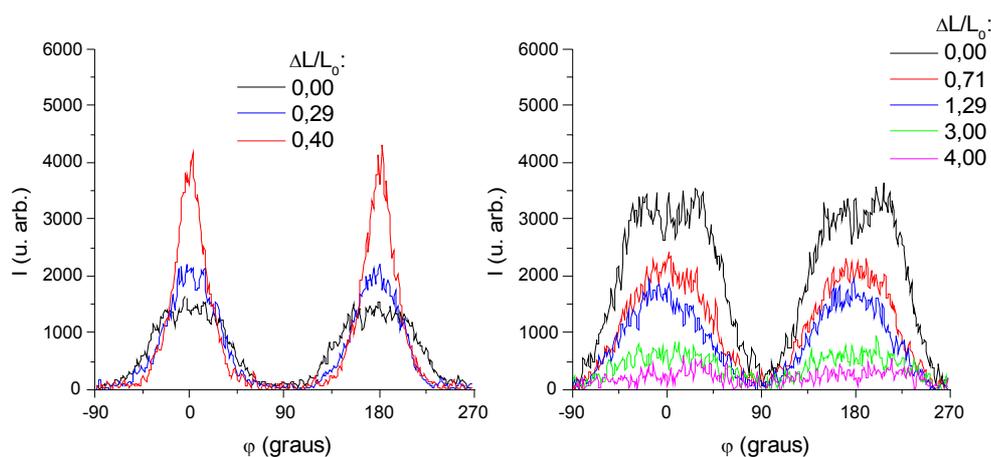


Figura 2: Gráficos das intensidades difratadas da banda interna em função do ângulo azimutal para diferentes valores de deformação. (a) direção de estiramento paralelo ao eixo do diretor nemático; (b) direção de estiramento perpendicular ao eixo do diretor nemático.

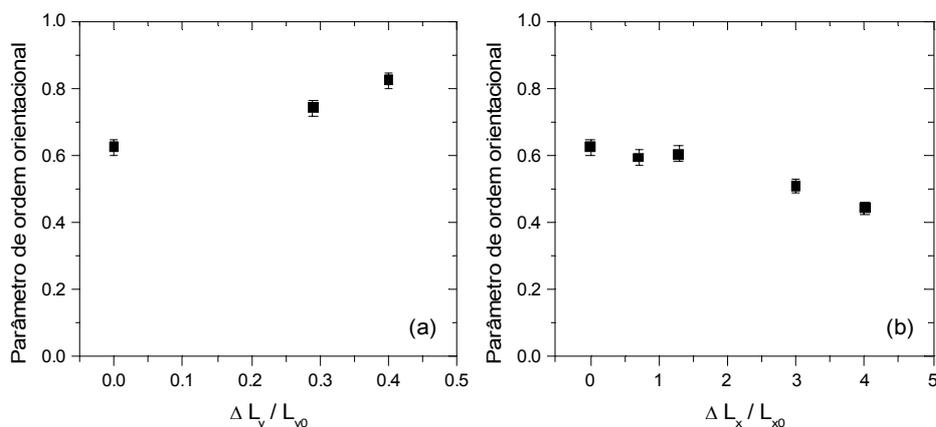


Figura 3: Gráfico do parâmetro de ordem orientacional da banda interna em função da deformação. (a) direção de estiramento paralelo ao eixo do diretor nemático; (b) direção de estiramento perpendicular ao eixo do diretor nemático.

3. Conclusões

Todos os resultados apresentados estão em acordo com o que esperávamos. Porém, a deformação perpendicular ao cisalhamento do filme de celulose ainda não foi suficiente para observarmos a inversão da direção média do diretor nemático. Assim, temos como perspectivas fazer mais um estiramento para observar esta inversão do diretor. Em seguida, relaxar o filme para analisarmos a evolução dos padrões de difração em função do tempo à medida que o filme recupera suas dimensões iniciais. Com isto, verificar se a estrutura elastomérica recupera seu estado inicial. Finalizada esta etapa, repetiremos este procedimento (deformação-relaxação) para as diferentes proporções de HDI/70% APC. Também temos como perspectiva calcular o parâmetro de ordem orientacional utilizando a fórmula desenvolvida por Deutsch [7] para cristais líquidos.

4. Referências

- [1] Godinho, M.H., Filip, D., Costa, I., Carvalho, A.-L., Figueirinhas, J.L., Terentjev, E.M., *Cellulose*, **16**, 199 (2009).
- [2] Costa, I., Filip, D., Figueirinhas, J.L., Godinho, M.H., *Carbohydrate Polymers*, **68**, 159 (2007).
- [3] Cullity, B.D., *Elements of X-Ray Diffraction*, second ed., Addison-Wesley Publ. Co. Inc. USA, 98(1978).
- [4] Evmenenko, G., Yu, C.-J., Kewalramani, S., Dutta, P., *Langmuir*, **20**, 1698 (2004).
- [5] Roberts, P.M., Mitchell, G.R., Davi, F.J., *J. Phys. II*, **7**, 1337 (1997).
- [6] Bladon, P., Warner, M., Terentjev, E.M., *Macromolecules*, **27**, 7067 (1994).
- [7] Deutsch, M., *Physical Review A*, **44**, 8264 (1991).

Apêndice 10

Protocolo de preparação e caracterização de sílica mesoporosa ordenada cúbica

Cíntia Fabiana Kanagussuko e Marcia C. A. Fantini

Instituto de Física da USP, Departamento de Física Aplicada, São Paulo, Brasil

1. Introdução

Nesse trabalho analisamos a dissolução do novo polímero Vorasurf 504 da Dow Chemical Co. em vários álcoois para a preparação de fases cúbicas de sílica mesoporosa ordenada e também o efeito da concentração do ácido nas propriedades estruturais desse sistema.

2. Resultados e Discussão

A seguir é exibida tabela com a descrição das amostras medidas e seus resultados. Todas as amostras medidas foram calcinadas em atmosfera de nitrogênio a 540 °C com velocidade 2 °C/min. para remoção do polímero.

Amostra	Data	Condições experim.
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (4mol/l) sem álcool	26/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (2mol/l) sem álcool	26/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (4mol/l) e dissolvida em metanol	27/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (2mol/l) e dissolvida em metanol	26/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (4mol/l) e dissolvida em etanol	27/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (2mol/l) e dissolvida em etanol	27/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (4mol/l) e dissolvida em isopropanol	27/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (2mol/l) e dissolvida em isopropanol	27/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (4mol/l) e dissolvida em butanol	26/1/2009	20kV; 15mA - 900s
Amostra de Sílica produzida com vorasurf, TEOS, HCl (2mol/l) e dissolvida em butanol	26/1/2009	20kV; 15mA - 900s

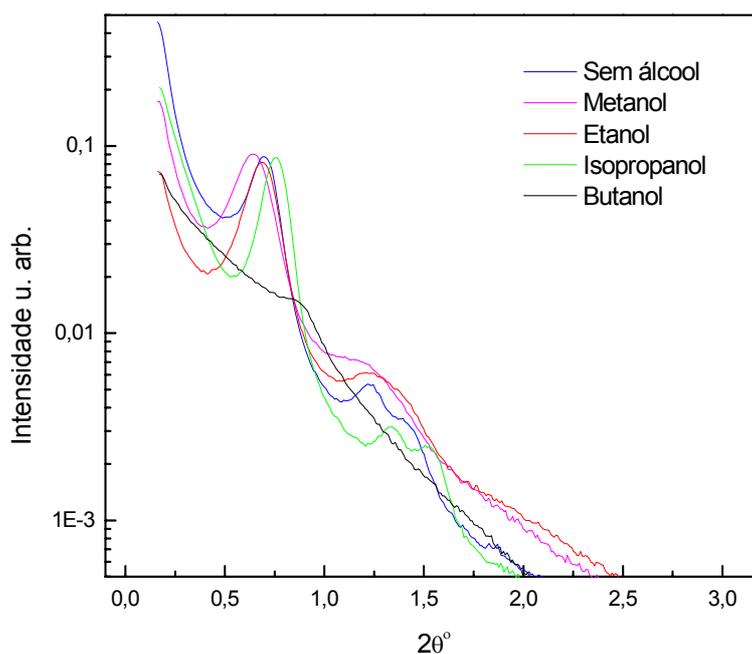


Fig. 1 : SAXS das amostras produzidas com 2 mol/L de HCl.

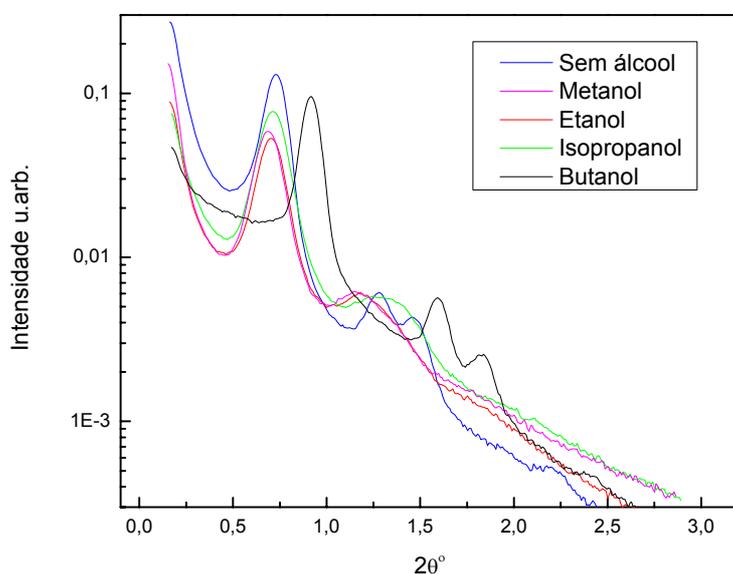


Fig. 2: SAXS das amostras produzidas com 4mol/L de HCl.

Outro resultado importante obtido foi a constatação de que o material é ordenado na ausência de álcool, ou seja, não é necessário dissolver o Vorasurf 504, menos viscoso que o B50-6600, para se obter o FDU-1. Esse resultado poderia sugerir a eliminação de uma etapa na preparação do material, ganhando-se em economia de reagentes. Entretanto, verificou-se que a dissolução do polímero na solução aquosa ácida é difícil e demorada.

A tabela 1 a seguir exhibe os valores de área, pico, largura, altura de pico, distância interplanar e parâmetro de rede de cada amostra.

Tabela 1: Resultados de SAXS

Amostra	Concentração de HCl	Área (u.arb.)	Pico (grau)	Largura (grau)	Altura (u.arb.)	Distância Interplanar (nm)	Parâmetro de rede (nm)
Sem álcool	2 mol/l	0,0095	0,70	0,14	0,06	12,6	21,9
Sem álcool	4 mol/l	0,0164	0,73	0,12	0,11	12,0	20,8
Metanol	2 mol/l	0,0129	0,65	0,18	0,07	13,7	23,7
Metanol	4 mol/l	0,0085	0,69	0,15	0,05	12,8	22,2
Etanol	2 mol/l	0,0125	0,69	0,16	0,07	12,8	22,2
Etanol	4 mol/l	0,0075	0,71	0,15	0,05	12,5	21,6
Isopropanol	2 mol/l	0,0108	0,76	0,13	0,07	11,6	20,1
Isopropanol	4 mol/l	0,0119	0,72	0,16	0,07	12,4	21,4
Butanol	4 mol/l	0,0106	0,92	0,11	0,09	9,6	16,7

Tabela 2: Resultados de adsorção.

Amostra	Área Superficial (m ² /g)	Volume de poro (cm ³ /g)	Diâmetro de poro (nm) [#]	Diâmetro de poro (nm) [*]	Espessura da Parede (nm) [*]
Sem álcool - 2M	454	0,81	11,3	13,7	4,3
Sem álcool - 4M	541	0,77	10,2	12,9	4,3
Metanol - 2M	510	0,98	13,0	15,1	4,2
Metanol - 4M	549	0,80	10,2	13,9	4,4
Etanol - 2M	479	0,92	11,2	14,1	4,1
Etanol - 4M	445	0,92	10,2	13,7	4,0
Isopropanol - 2M	512	0,70	9,6	12,3	4,0
Isopropanol - 4M	543	0,84	10,2	13,4	4,2
Butanol - 2M	534	0,88	8,7	-	-
Butanol - 4M	468	0,98	9,5	10,7	3,0

Pela tabela 1 é possível ver que todas as distâncias interplanares e conseqüentemente, os parâmetros de rede, são bem similares, com exceção da amostra diluída em butanol, cuja única vantagem é o pico de grande intensidade (área) o que demonstra um bom ordenamento em presença de solução mais ácida.

As sílicas foram também analisadas por NAI, os resultados estão mostrados nas Figuras 3 e 4. A Tabela 2 apresenta os dados de adsorção, mostrando as diferenças estruturais das várias amostras.

A tabela 2 mostra que o metanol com menor concentração de ácido e o butanol com maior concentração de ácido apresentam o maior volume de poros, mas com diâmetro médio de poros diferente, o que é importante quando se pretende armazenar maiores quantidades de substâncias de diferentes tamanhos, ou seja, adequar a estrutura ao composto a ser encapsulado. Além disso, a presença de álcool na síntese induz uma menor espessura de parede.

Diferenças em diâmetros de poros, determinados pelo método BJH e através dos dados de BJH+SAXS, apresentam discrepâncias associadas a aproximações no método de cálculo BJH e/ou avaliação do conteúdo de microporos (0.2).

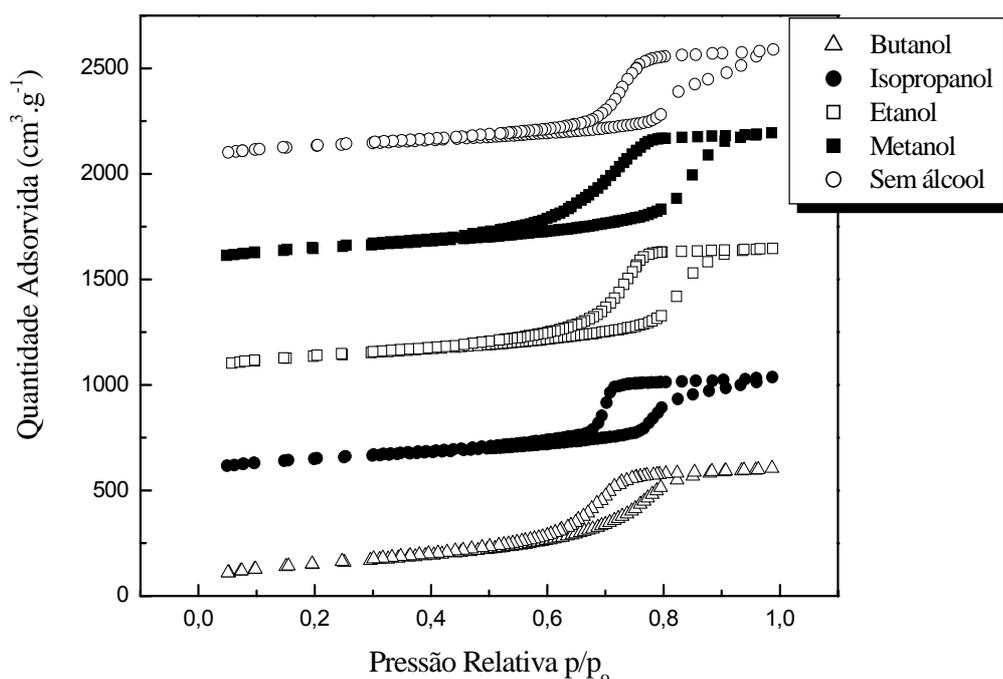


Fig. 3: Gráfico de isothermas tratadas em nitrogênio das amostras calcinadas sintetizadas com concentração de HCl 2 mol.L⁻¹.

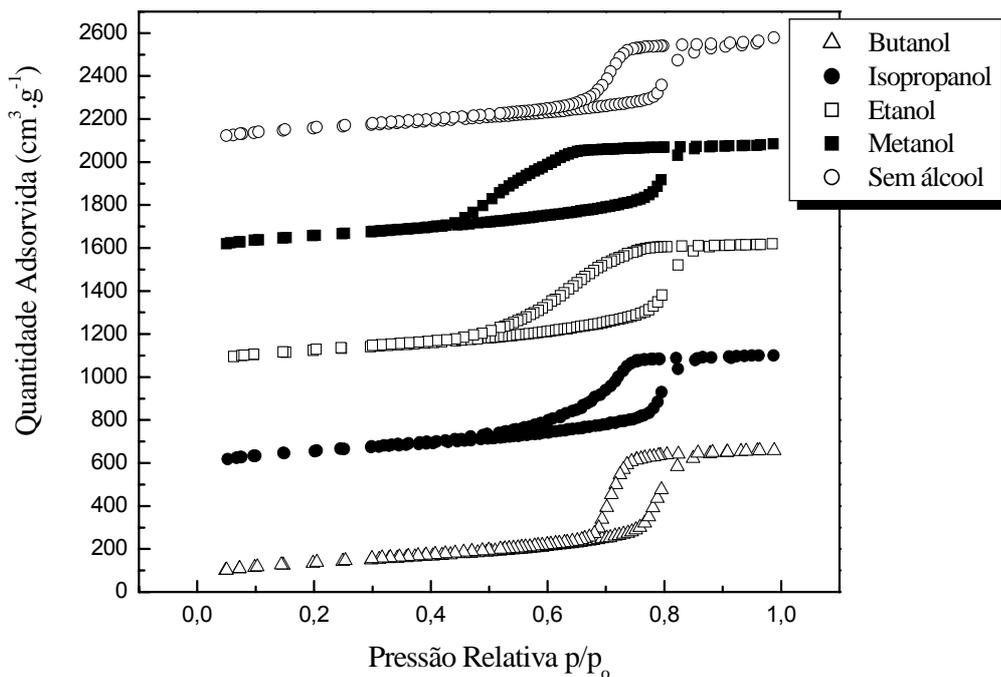


Fig. 4: Gráfico de isothermas tratadas em nitrogênio das amostras calcinadas sintetizadas com concentração de HCl 4 mol.L^{-1} .

As isothermas de adsorção/desorção (apresentadas com um deslocamento vertical) e os dados da Tabela 2 comprovam que a amostra diluída em metanol, o álcool menos hidrofóbico da série analisada, e preparada com 4 mol.L^{-1} de ácido clorídrico fornece a estrutura de sílica cúbica tipo gaiola (tinteiro) mais característica, ou seja, com grande poro interno e pequenos poros no gargalo. Entretanto o volume de poros é menor que o obtido para amostra preparada com 2 mol.L^{-1} de HCl e a área sob o pico de difração (111) também, indicando, portanto, que o aumento na concentração de ácido implica numa pior ordenação dos poros.

A tabela 2 não mostra o valor do parâmetro de rede para a amostra preparada com butanol e 2 mol.L^{-1} de HCl, pois não houve estruturação possível de ser detectada na medida de SAXS.

Pela tabela 1 pode-se observar que, com exceção da amostra preparada com isopropanol de maior hidrofobicidade, concentrações menores de ácido resultam em sílicas com maior parâmetro de rede. Uma possível explicação é que o meio mais ácido promove o encolhimento das micelas, bem como induz desordem estrutural na presença de álcoois mais hidrofílicos. Efeito oposto é observado na presença de álcoois hidrofóbicos.

3. Conclusões

O que se procurou nesse trabalho foi determinar a síntese que conduz a picos de difração com maior intensidade integrada, o que indica uma melhor estrutura e maiores parâmetros de rede para encapsulamento de maior quantidade de material em aplicações práticas. À exceção dos processos com diluição do polímero em butanol, os parâmetros de rede são comparáveis, da ordem de $(22 \pm 2) \text{ nm}$, sendo superiores aos valores da síntese com butanol. Verificou-se também que a maioria das amostras apresenta uma tendência de ter parâmetro de rede maior quando preparadas em meio menos ácido. O meio mais ácido promove o encolhimento das micelas. Um resultado importante é a possibilidade de formação da

estrutura cúbica sem dissolução do polímero em álcool, dando origem a um processo de síntese mais barato, com parâmetro de rede adequado e boa ordem estrutural. É importante salientar que o polímero tem baixa solubilidade na solução aquosa ácida, portanto, como não foi obtido um resultado distintamente melhor sem álcool, a remoção do processo de diluição em álcool não é aconselhada.

O uso de álcoois mais hidrofóbicos também contribui para um encolhimento das micelas, dando origem a poros de menor diâmetro.

Os resultados mostraram que a diluição do polímero em metanol é o procedimento mais adequado para preparar o material com maior área superficial e estrutura mais próxima da cúbica do tipo gaiola, que é o fator mais relevante.

Quanto a concentração de ácido clorídrico, para a obtenção da estrutura cúbica com poros de entrada menores, o mais adequado é a concentração de 4 mol.L^{-1} , porém, a concentração menor de 2 mol.L^{-1} fornece uma estrutura mais ordenada e de maior volume de poros; a decisão quanto à acidez da síntese dependerá da substância a ser encapsulada na sílica.

A síntese da sílica mesoporosa ordenada com estrutura FDU-1 com molde de Vorasurf 504 ainda precisa ser mais investigada, através de um estudo do tipo de ácido, e da quantidade de álcool para dissolver o polímero, bem como deve-se ainda avaliar se a temperatura de síntese pode influenciar nos resultados, pois sabe-se que esse polímero pode induzir um melhor ordenamento micelar quando aquecido a 50°C .

[1] Mark. E. Davis, Nature 417 (2002) 813.

[2] D.Zhao et al., Science 279 (1998) 548.

[3] C. Yu et al., Chem. Comm. (2000) 575.