UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS

SYLVIO QUEZADO DE MAGALHÃES

D N A :

**BIOELETRETO, FERROELETRICIDADE E NÃO
LINEARIDADE**

*Trabalho apresentado ao Instituto de
Física e Química de São Carlos, para
obtenção do Título de MESTRE EM
FÍSICA APLICADA.*

Departamento de Física e Ciência dos Materiais

São Carlos — SP

Junho de 1978

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS

SYLVIO QUEZADO DE MAGALHÃES

D N A:

BIOELETRETO, FERROELETRICIDADE E NÃO LINEARIDADE

Trabalho apresentado ao Instituto
de Física e Química de São Carlos
para obtenção do Título de MESTRE
EM FÍSICA APLICADA.

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS

São Carlos - SP

Junho 1978

"... perdoa-lhes, porque não sabem o que fazem"

CRISTO

(Evangelho de São Lucas, 23:34)

"Se deres um peixe a um homen,
Ele se alimentará uma só vez,
Mas se o ensinares a pescar,
Ele se alimentará toda a vida"

KUAN-TZU

"Para que todos possam vir,
um dia, a pescar nos lagos
onde existem peixes"

EM RESPOSTA

TRABALHO REALIZADO SOB OS AUXÍLIOS DA
FAPESP, CNPq e FINEP

SUMÁRIO

Agadecimentos	I
Resumo	II
Abstract	III
Prefácio	IV
Capítulo I - INTRODUÇÃO	1
1.1 - A MOLÉCULA DO DNA	3
1.2 - HIDRATAÇÃO DO DNA	6
1.3 - SOBRE POLARIZAÇÃO ELÉTRICA DO DNA	8
1.4 - ELETRETOS E ARMAZENAMENTO DE CARGA E POLARIZAÇÃO	9
Capítulo II - MÉTODOS	13
2.1 - CORRENTE TERMOESTIMULADA	13
2.2 - PRESSÃO TERMOESTIMULADA	16
2.3 - DECAIMENTO ISOTÉRMICO DE POLARIZAÇÃO.....	20
2.4 - NOÇÕES SOBRE FERROELETRICIDADE	21
Capítulo III - SISTEMAS DE MEDIDAS	23
3.1 - CORRENTE TERMOESTIMULADA	23
3.2 - DECAIMENTO ISOTÉRMICO DE POLARIZAÇÃO.....	25
3.3 - PRESSÃO TERMOESTIMULADA	26
3.4 - CURVAS DE HISERESE	28
3.5 - PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	29
Capítulo IV - RESULTADOS EXPERIMENTAIS	31
4.1 - CORRENTE TERMOESTIMULADA	31
4.1.1 - INFLUÊNCIA DA HIDRATAÇÃO	32
4.1.2 - INFLUÊNCIA DO CAMPO DE POLARIZAÇÃO.....	33

4.2 - RESULTADOS DE P.T.E.	34
4.3 - RESULTADOS DAS CURVAS DE HISTERESE	36
4.4 - RESULTADOS DE D.I.P.	39
Capítulo V - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	46
5.1 - FERROELETRICIDADE VERSUS NÃO LINEARIDADE	46
5.2 - COMPORTAMENTO DO BIOELETRETO	49
Contribuições da presente dissertação	52
Sugestões para trabalhos futuros	52

AGRADEÇO

Ao prof. Dr. Sérgio Mascarenhas Oliveira, pela orientação, apoio e estímulo necessários à realização deste trabalho;

Ao Póvoa, companheiro de todas as lutas enfrentadas nesta São Carlos, pela amizade e convivência sadia; pelas discussões em torno deste trabalho;

Aos professores D. Schiel, R. L. Zimmerman pelas sugestões e discussões em torno deste trabalho;

Ao Sanches, pelo apoio técnico na parte experimental e pela amizade, tão necessária a este trabalho;

Aos colegas de laboratório, Tadeu, Heloisa, Pires e José Nelson pela amizade, estímulo e espírito de luta;

Ao José Nelson pelo processamento de dados e medidas de P.T.E.;

À Maria Helena, pelas referências Bibliográficas;

Ao Bedê, pelo estímulo dado durante este trabalho;

A todo o pessoal que compõe a infraestrutura do DFCM, pelo respeito com o qual fui tratado e pelo apoio necessário;

Aos meus familiares, pela complementação da Bolsa;

Ao CNPq, pela Bolsa!

RESUMO

Utilizando-se as técnicas de Corrente Termoestimulada, Pressão Termoestimulada e Decaimento Isotérmico de Polarização, estudou-se o comportamento de bioeletreto das fibras de sal de sódio do ácido desoxiribonucleico (DNA). A formação do bioeletreto é atribuída a cargas espaciais do DNA, apresentando um comportamento não linear, e é fortemente dependente da hidratação. (Polarização armazenada da ordem de 10^{-8} C/cm²)

O DNA apresenta, em umidades elevadas (270 mg OH₂/gDNA) constantes dielétricas elevadas, da ordem de 10^5 , similar às dos ferroelétricos, mas com conceito diferente. Em baixas umidades (30 mg OH₂/ g DNA) as constantes dielétricas são da ordem de 5.

As curvas de histerese, observadas com o circuito de Sawyer-Tower (e citadas na literatura) são atribuídas a não linearidade no transporte elétrico. Esta não linearidade é também confirmada. O alegado comportamento ferroelétrico desaparece quando utilizamos eletrodos bloqueantes.

A alegada temperatura de Curie (60°C) é atribuída à forte desidratação que o material sofre, conforme verificado nas medidas de Pressão Termoestimulada.

ABSTRACT

The bioelectret state of solid sodium deoxyribonucleate fibers was studied using the Thermally Stimulated Depolarization, Thermally Stimulated Pressure and Isothermal Polarization Decay techniques. The bioelectret was found to present a space charge and non-linear behaviour, and is strongly dependent on hydration (stored polarization as high as 10^{-8} C/cm²).

At high relative humidity (270 mg OH₂/g DNA) the DNA fibers show dielectric constants as high as 10^5 , similar to those of ferroelectrics but with a different conception. The dielectric constant is only 5 at low hydration (30 mg OH₂/g DNA).

The histeresis curves, that are observed with Sawyer-Tower circuit (and frequently mentioned in the literature) are ascribed to the non-linear current - voltage relations.

The alleged ferroelectric behaviour disappears when blocking electrodes are used. The alleged Curie temperature (60°C) is found to be caused by the strong dehydration that occurs at this temperature, as measured by the thermally stimulated Pressure technique.

PREFÁCIO

O Grupo de Biofísica do IFQSC encontra-se atualmente envolvido com investigações de propriedades elétricas de macromoléculas biológicas. Resolvemos, então, estudar a molécula do DNA e procurar estabelecer os limites, se é que existentes, da sua alegada ferroeletricidade.

Começamos nosso trabalho estudando o armazenamento de polarização elétrica no DNA, utilizando as técnicas de correntes termestimuladas, decaimento isotérmico de polarização e medidas de desidratação da macromolécula. Estudamos ainda a "histerese de polarização" versus campo elétrico, utilizando o circuito de Sawyer-Tower.

No que segue, faremos uma descrição das principais características estruturais do DNA, das técnicas utilizadas, resultados obtidos, análise e conclusões destes últimos.

Nosso objetivo também é estudar propriedades físicas do DNA que possam servir de base experimental para possível entendimento das suas propriedades biológicas, não realizamos estudos biológicos, e sim física do estado sólido aplicada ao DNA. Fomos, entretanto, motivados pelas possíveis implicações biológicas.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A maioria, se não todas, das questões levantadas, em relação às funções do cérebro de mamíferos, deve esperar por uma explicação dos mecanismos básicos, através dos quais as informações recebidas pelos órgãos sensoriais são armazenadas no cérebro.

O sucesso do modelo de WATSON-CRICK (1) do ácido desoxiribonucleico (DNA), e sua consequente aplicação à genética, por meio de um código químico-molecular, induziu muitos pesquisadores a suporem um código similar no processo de memória. Neste estágio a ideia teve reforço com os trabalhos experimentais de HYDÉN (2) e AGRANOFF (3).

HYDÉN e AGRANOFF realizaram uma série de experimentos nos quais demonstraram que grande quantidade de RNA (ácido ribonucleico) era produzida nas células cerebrais de ratos, quando esses eram submetidos a experiências de aprendizado comportamental. Foi sugerido, então, que a sequência de nucleotídeos poderia ser usada para armazenar informação no cérebro, pelo menos inicialmente, do mesmo modo que essa molécula armazena informação genética. Por duas razões esse mecanismo foi rejeitado (4). Primeiro, não ficou claro como a ausência, ou presença, dos potenciais de ação poderia influir, ou controlar, a sequência de nucleotídeos na cadeia do RNA. A outra razão é baseada em considerações de energia. Considerando a grande quantidade de informação enviada ao cérebro, por unidade de tempo, pelos órgãos sensoriais, uma quantidade ra

zoável de energia seria requerida para reordenar os nucleotídeos necessários para gravar informação. E' fato fisiológico, contudo , que o cérebro humano utiliza energia a baixa velocidade, mesmo quando o indivíduo é submetido a profunda atividade mental.

Supondo que o RNA possuisse a propriedade de se tornar polarizado sob a ação de um campo elétrico e reter essa polarização na ausência do campo, Fong (5) propõe um mecanismo diferente para o armazenamento de informações. A propriedade, acima citada , foi postulada como sendo ferroeletricidade.

O modelo assume que ao serem produzidas fitas de RNA (a partir da ação do DNA) os nucleotídeos são polarizados (induzindo-se o estado ferroelétrico) pelos potenciais de ação que chegam às células. Resulta disso em código tipo binário (polarizado ou não polarizado) no RNA.

Toda essa discussão é extremamente fluida na própria literatura, de modo que não damos caráter quantitativo à mesma, pois apenas a consideramos como sugestões de modelos.

Em 1960 Polonsky e colaboradores (6) observaram o que foi chamado de histerese ferroelétrica, no ácido desoxiribonucleico (DNA).

Somente em 1968 o fenômeno de histerese foi observado (7) no RNA, e novamente evidenciado como ferroeletricidade.

Admitiu-se então, que a origem dessa ferroeletricidade poderia estar ligada a variações na configuração das bases do DNA. Mas, como o RNA consiste numa só cadeia, foi, então, proposto que os potenciais de ação poderiam quebrar o empilhamento dos nucleotídeos que por sua vez, não retornariam à posição inicial em virtude

de da barreira criada por esta quebra.

O modelo de Fong, acima descrito, apoia-se, então, no fato de que, nas moléculas responsáveis diretamente pelos processos de armazenamento de informação, o estado de polarização (ferroelétrica) representa uma memória de seu passado elétrico.

1.1 A MOLECULA DO DNA

Da biologia molecular (8) sabe-se que a informação genética é transmitida por estruturas denominadas cromossomas, as quais estão localizadas no núcleo das células, e cujas subunidades são os gens. Hoje, sabe-se que os gens são constituídos da macromolécula DNA, e que é ela que transmite a informação necessária à direção da síntese de proteínas (biosíntese), preservando e transmitindo essa informação durante a divisão celular.

Em 1953, J. D. WATSON e F. H. C. CRICK (9) propuseram para a molécula de DNA uma estrutura de cadeia longa, cuja espinha dorsal consiste numa alteração regular de açúcares (desoxiribose) e grupos fosfatos. A cada açúcar prende-se uma base nitrogenada, que pode ser de quatro diferentes tipos: duas são purinas (ADENINA e GUANINA) e duas pirimidinas (TIMINA e CITOSINA). Essa proposta baseou-se nos estudos de raios-X feitos por M. H. F. WILKINS e R. FRANKLIN (10) que sugeriam uma conformação helicoidal. A sequência das bases, nesse modelo, é irregular ao longo da cadeia e o monômero, que consiste num grupo fosfato, numa desoxiribose e numa base, chama-se nucleotídeo.

A primeira característica desse modelo é que a molécula

possui duas cadeias enroladas ao longo de um eixo comum. As bases encontram-se voltadas para dentro da molécula e são ligadas às bases da outra cadeia por meio de ligações hidrogênio, o que constitui uma segunda característica do modelo. É importante ressaltar que essas duas características são compatíveis com o modelo genético de duplicação do DNA (8).

É importante ainda notar que somente certos pares de bases se ajustam à estrutura, i.e., um membro deve ser uma purina e o outro uma pirimidina. Pelo modelo, não há espaço para bases do mesmo tipo.

As figuras 1, 2 e 3 ilustram o modelo.

FIGURA 1 - Estrutura geral da molécula de DNA

FIGURA - 3 - Modelo de dupla hélice do DNA

FIGURA - 2 - Distâncias entre os pares de bases no DNA

1.2 HIDRATAÇÃO DO DNA

A interação da água com macromoléculas biológicas é essencial para caracterizar não só estrutura conformacional, como também propriedades elétricas.

Como a hidratação do DNA será importante para os estudos que realizamos, passaremos a discuti-la, com base nos estudos de M. FALK (12, 13).

Sabe-se, de algum tempo, que a estrutura do DNA é sensível à unidade relativa (UR) do meio ambiente no qual a molécula está embebida. Wilkins e colaboradores (11) mostraram que pelo menos quatro diferentes diagramas de difração de raio-X existem. Essas diferenças foram posteriormente interpretadas como devidas a diferentes configurações moleculares das fibras de DNA.

A figura 4 mostra a adsorção e dessorção de água em fibras de DNA. Observa-se que entre 10% e 80% UR existe uma histerese

se na hidratação, a qual não é eliminada mesmo quando se equilibra a amostra por várias semanas (12).

FIGURA - 4

FIGURA - 5
Sítios de hidratação do DNA

O espectro de infra-vermelho do sal de sódio do DNA (NaDNA) foi estudado, na região de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} (13). Ao se variar a umidade relativa, tanto a intensidade como a frequência das bandas de água e do DNA se modificam. Identificando primeiro as bandas e estudando essas modificações, em função da unidade relativa, FALK propõe um modelo para a sequência de hidratação sítios do DNA (13).

Os três subgrupos moleculares do DNA (desoxirribose, base, grupo fosfato) possuem sítios onde a água pode ligar-se. Os cinco possíveis sítios são mostrados na figura 5. Conclui-se dos trabalhos de FALK que os grupos $\text{PO}_2^- \text{Na}^+$ do DNA tornam-se hidratados no intervalo entre 0% e 65% UR, enquanto que a hidratação das bases começa acima desse intervalo. As ligações hidrogênio são

mais fortes para as primeiras moléculas adsorvidas, aproximando-se das ligações da água líquidas a alta UR.

Todas as medidas, por nós realizadas, encontram-se dentro do intervalo de hidratação no qual somente os grupos fosfato encontram-se hidratados.

1.3 SOBRE POLARIZAÇÃO ELÉTRICA DO DNA

Os primeiros trabalhos sobre dispersão dielétrica do DNA (14), realizados por ALLGEN e JUNGER, mostraram que essa molécula possui um momento de dipolo permanente, ao longo de seu eixo menor. Contudo, nesses trabalhos o peso molecular não corresponde à realidade, como hoje entendemos. Dai as discrepâncias com os trabalhos posteriores.

Um momento de dipolo de 10^4 Debyes, perpendicular ao eixo da molécula, foi obtido em trabalhos com DNA em solução a 0°C (15), estimado pela teoria de KIRKWOOD. É difícil acreditar que na molécula do DNA uma distorção eletrônica possa produzir um momento de dipolo dessa ordem de grandeza. A única possível interpretação (15) é que o DNA apresente uma polarizabilidade de orientacional.

Por outro lado, TAKASHIMA (16) sugere que a polarização do DNA, num campo elétrico, é devido ao momento de dipolo induzido, que provém do deslocamento de uma nuvem de contra-ions ao longo da macromolécula, como polieletrólito que é. A dispersão dielétrica de polieletrólitos é explicada por OOSAWA. A teoria (17) é contudo inconsistente com o decréscimo do incremento die

létrico ($\epsilon_g - \epsilon_\infty$) do DNA, resultante da blindagem destes contra-
ions.

O NaDNA foi estudado pelo método de ponte e os resulta-
dos interpretados como uma polarização ocasionada pela água de hi-
dratação (18).

Em 1960, POLONSKY e colaboradores evidenciaram, em fi-
bras de NaDNA, propriedades que denominaram de " ferroelétricas "
(6). Estudos posteriores aos de POLONSKY e colaboradores (19)
mostram que esses efeitos podem ser causados por uma não lineari-
dade das curvas de corrente versus voltagem.

Por outro lado, foi observado o estado de eletreto em
polinucleotídeos (DNA e RNA) (38).

No nosso trabalho reestudamos estes três conceitos (fer-
roeletricidade, não linearidade no transporte elétrico e estado
de eletreto do DNA) procurando correlacioná-los. Isto estimulado
pelo fato da literatura recente (20, 21, 22) continuar citando
os trabalhos de POLONSKY e colaboradores (DNA ferroelétrico) a
pesar do trabalho anterior de BROT e colaboradores (DNA, proprie-
dades não lineares). No último capítulo discutiremos com maiores
detalhes os trabalhos de POLONSKY (6, 23) e o de BROT (19).

1.4 ELETRETOS E ARMAZENAMENTO DE CARGAS E POLARIZAÇÃO

Num sólido, o armazenamento de cargas e polarização po-
de ser produzido por meio de três fenômenos:

a-) submetendo-se o sólido (ou líquido) a uma mudança
de fase onde corrente elétrica e potenciais podem aparecer, cons-
tituindo-se o chamado Efeito Costa Ribeiro (24);

b-) submetendo-se o sólido a um tratamento campo elétrico-temperatura, com a subsequente formação do chamado termoeletreto;

c-) armazenamento de polarização obtido com a ferroelectricidade.

São muito importantes os fenômenos de relaxação, nos quais se estuda a dependência temporal da função resposta (reação) de um sistema, a uma ação externa. Quer seja um vidro que expomos à radiação ultravioleta, quer seja um motor elétrico que ligamos, as reações a tais ações não ocorrem instantaneamente. Os exemplos de respostas atrasadas, em relação ao estímulo, são numerosos ; falaremos em particular da relaxação dielétrica.

O fenômeno de relaxação dielétrica resulta do impedimento criado por forças de atrito ao movimento de cargas espaciais ou à rotação de dipolos. Dessa maneira quando aplicamos (ou retiramos) um campo elétrico a um polímero (polar ou que contenha cargas) este não é carregado (ou descarregado) imediatamente. Somente parte de sua polarização, a originada pelo deslocamento de eletrons e ions, responde quase instantaneamente.

Sabemos, por outro lado, que esse atrito interno depende exponencialmente da temperatura, i. e., o tempo de resposta de dipolos permanentes e cargas livres varia marcadamente com a temperatura. Aquecendo-se a resposta é acelerada; resfriando-se a resposta é retardada. Dessa forma podemos carregar permanentemente tais polímeros submetendo-os a um tratamento campo elétrico-temperatura. Polímeros, ou dielétricos, possuindo uma carga persistente, são chamados eletretos.

Em alguns dielétricos, o carregamento pode ser excitado por luz ou radiação, em vez de aquecimento. Obtemos, então , um fotoeletreto e um radioeletreto.

O estado de eletreto apresenta um campo ineterno induzido por um campo externo, enquanto que o estado ferroelétrico apresenta uma polarização espontânea. O primeiro é um fenômeno de relaxação enquanto o segundo é um fenômeno coletivo, apresentando uma temperatura de transição.

OLIVER HEAVISIDE (25) foi o primeiro a especular sobre a existência de eletretos. Contudo, o primeiro eletreto foi obtido somente trinta anos após o trabalho de HEAVISIDE, em 1922, pelo físico japonês EGUCHI (26). Ele constatou que a conductividade de ceras naturais aumenta fortemente com a temperatura e que no estado líquido é bem maior que no sólido. Concluiu dessa forma que, solidificando um líquido dielétrico num campo elétrico, seria possível " congelar " cargas ou dipolos em posições fixas e, então, criar um corpo dielétrico que produziria um campo elétrico, mesmo após a remoção do campo externo.

O armazenamento de carga e polarização via efeito de eletreto (27, 28) tem sido identificado em grande variedade de materiais como cristais iônicos (29, 30), sólidos moleculares (31), polímeros (32), vidros (33), gelo (34), cristais líquidos (35) e cerâmicas (36).

O armazenamento de polarização elétrica em biopolímeros tem chamado a atenção de inúmeros pesquisadores. Esse fenômeno foi estudado em ossos (37) e materiais estruturais e o termo bioeletreto proposto por S. MASCARENHAS (38) em virtude do

comportamento geral dos biopolímeros como armazenadores de pola rização, eletretos. Esse efeito foi verificado no colágeno (38), polipeptídeos artificiais, proteínas globulares (Hemoglobina e Mioglobina), polissacarídeos, polinucleotídeos (DNA e RNA) (38), em lipídeos e ácidos graxos (lecitina e ácido esteárico) (39). O conceito de bioeletretos tem sido considerado em diversos campos de pesquisa, como o das superfícies autitrombogênicas (40, 41) e o de membranas (42, 43).

A água ligada à estrutura de biopolímeros também pode apresentar o estado de eletreto. Esse efeito estudado na enzima lisozima (44) concluindo-se que a despolarização do bioeletreto é devida a dessorção de dipolos de água ligados à superfície da enzima.

Resumindo, podemos dizer que o estado de bioeletreto pode ser devido a:

- a-) dipolos intrínsecos ou impurezas
- b-) cargas espaciais, eletrônicas ou iônicas
- c-) dipolos de água ligada.

Nosso trabalho visa, então, responder as seguintes perguntas:

- a-) qual o comportamento de bioeletreto do DNA?
- b-) qual a influência da água?

c-) Existe ou não ferroeletricidade no DNA ou ela está relacionada com a não linearidade do seu comportamento elétrico, como proposto por BROU e colaboradores?

CAPÍTULO II

MÉTODOS

2.1 CORRENTE TERMOESTIMULADA

a-) A contribuição de diferentes mecanismos de polarização somente pode ser distinguida na curva de dispersão se os tempos de relaxação correspondentes diferem consideravelmente ;
b-) no caso de materiais com relativa condutividade, o fenômeno de carga espacial, na interface entre a amostra e os eletrodos, pode simular um mecanismo adicional de polarização sobreposto à verdadeira dispersão. Essas duas asserções exemplificam porque a investigação de propriedades dielétricas, pelos métodos de campo alternado, é em geral complicada.

Podendo a descarga espontânea de eletretos ser da ordem de anos, FREI e GROETZINGER (45) propuseram um decaimento termoestimulado, de modo que este pudesse ser estudado num tempo razoável. A técnica consistia em aquecer lentamente o eletreto entre dois eletrodos, conectando-os por um amímetro sensível que media então uma corrente de descarga. Posteriormente, essa técnica foi aperfeiçoada por B. GROSS que em seus trabalhos pioneiros, com cera de carnaúba, estabeleceu as bases teóricas e experimentais para o entendimento geral dos eletretos.

A técnica foi estendida ao estudo de cristais iônicos por BUCCI e colaboradores (29), onde a polarização ocorre em virtude da existência de defeitos iônicos e impurezas.

Para um dielétrico com um único tipo de dipolo, que se

que a lei de Arrhenius,

$$\tau = \tau_0 \exp \{ A/KT \} \quad (1)$$

temos que

$$\frac{dP(t)}{dt} + \frac{P(t)}{\tau(T)} = \frac{\chi_T E}{\tau(T)} \quad (2)$$

onde

τ = tempo de relaxação dos dipolos

τ_0 = constante característica de tempo, cujo inverso é a frequência de escape

A = energia de ativação para rotação do dipolo

K = constante de Boltzman

T = temperatura absoluta (K)

χ_T = susceptibilidade da polarização P

t = tempo

E = campo polarizante

No que segue, desprezamos a variação da susceptibilidade com a temperatura, uma vez que estamos supondo válida a equação (1) e $\chi_T \propto T^{-1}$ de modo que sua variação é desprezível frente à exponencial.

Levando-se o dielétrico à carga total e resfriando-o, a polarização armazenada será

$$P_0 = \chi E \quad (*)$$

Se agora, em $t=0$, o dielétrico é curto circuitado e aquecido, obteremos sua corrente de despolarização pela solução da

(*) Num caso geral o dielétrico não atinge essa condição, de modo que seria necessário introduzir um fator indicando que fração de P_0 foi obtida. Esse fator depende, evidentemente, das condições de polarização.

equação

$$\frac{dP(t)}{dt} + \frac{P(t)}{\tau(T)} = 0 \quad (3)$$

A equação (3) tem como solução

$$P(t) = \chi E \exp \left\{ - \int_0^t \tau^{-1}(T(s)) ds \right\} \quad (4)$$

A densidade de corrente será somente a devida à despolarização, uma vez que estamos considerando medidas em curto circuito, i. e.,

$$J(t) = \frac{\chi E}{\tau(T)} \exp \left\{ - \int_0^t \tau^{-1}(T(s)) ds \right\} \quad (5)$$

Para um aquecimento linear

$$T = T_0 + \beta^{-1} T \quad (6)$$

obtemos

$$J(T) = \frac{\chi E}{\tau_0 \exp(A/KT)} \exp \left\{ \beta \int_{T_0}^T \frac{dT'}{\tau_0 \exp(A/KT')} \right\} \quad (6)$$

Podemos ainda escrever (6) como

$$J(T) = \omega(T) P(T) \quad (6')$$

onde

$$\omega(T) = \tau^{-1}(T).$$

A equação da corrente de despolarização termoestimulada será então:

$$I(T) = \omega(T) Q(T) \quad (7)$$

onde $Q(T)$ é a carga liberada pela amostra até a temperatura T .

A equação (7) pode ainda ser escrita como

$$I(T) = Q \omega_0 \exp(-A/KT) \exp \left\{ -\omega_0 \beta \int_{T_0}^T \exp(-A/KT') dT' \right\}$$

(8) onde

$$Q_0 = P_0 S$$

$$S = \text{área dos eletrodos}$$

$$P_0 = \text{polarização total armazenada}$$

T_0 = temperatura inicial da medida

As principais características da equação (8) são:

a-) é representada por uma banda assimétrica com um máximo à temperatura T_m , onde

$$T_m = \left\{ \frac{A \tau(T_m)}{K\beta} \right\}^{1/2}, \text{ que é independente da temperatura}$$

de polarização;

b-) para baixas temperaturas, $T \sim T_0$, temos que

$$\ln I(T) = \text{constante} - A/KT;$$

c-) a área delimitada pela banda é proporcional ao momento de dipolo por unidade de volume (como já dissemos). Assumindo a estatística clássica de Langevin temos que:

$$\int_0^\infty I(t) dt = N_{\text{dip}} \mu_{\text{ef}}^2 E (3KT_p)^{-1}$$

onde

N_{dip} = número de dipolos por unidade de volume;

μ_{ef} = momento de dipolo efetivo;

T_p = temperatura de polarização.

Podemos, então, a partir da área da curva, calcular uma constante dielétrica aparente pela expressão

$$Q_0 = V_p C = (S \epsilon_{\text{ap}} \epsilon_0 V_p) / d \text{ onde } V_p / d = E, \text{ } d \text{ a espessura}$$

da amostra. Isso admitindo-se uma linearidade na resposta do eletreto com o campo E . Lembramos aqui que a ferroeletricidade não apresenta tal linearidade, sendo ao contrário altamente não linear.

2.2 PRESSÃO TERMOESTIMULADA

Conforme foi estudado por CELASCHI (46), durante o tratamento térmico das medidas de despolarização termoestimulada observa-se o rompimento das ligações de hidrogênio entre moléculas de água e os sítios de hidratação da macromolécula. Essa des-sorção de água provoca o aumento da pressão parcial de OH_2 no recipiente de medida. Monitorando-se esse aumento de pressão, alguns parâmetros relativos à essa des-sorção podem ser medidos.

Se as moléculas de OH_2 estiverem ligadas a sítos idênticos, então todas terão a mesma energia de des-sorção e uma mesma probabilidade de transição do estado ligado para o livre.

Seja $N_D(T)$ o número de moléculas na amostra no tempo t e temperatura T . Num instante posterior, dt , teremos uma variação $dN_D(T)$ tal que

$$dN_D(T) = -\beta \omega_{D \rightarrow 0}(T) N_D(T) dT \quad (9)$$

onde $\omega_{D \rightarrow 0}$ é a probabilidade de transição do estado ligado ao livre,

Supomos também válida a lei de ativação

$$\omega_{D \rightarrow 0} = \omega_{D \rightarrow 0} \exp(-E_D/KT) \quad (10)$$

onde

$$E_D = H_D - TS_D;$$

E_D = energia livre de ligação da água;

S_D = entropia de ativação da des-sorção;

H_D = entalpia de atração da des-sorção;

ω_{D0} = probabilidade por unidade de tempo característica do processo.

No início do processo, $T = T_1$ e $N_D(T_1) = N_1$; como estamos supondo somente dois estados, temos que:

$$N_D(T) + N_0(T) = N_i \quad (11)$$

onde $N_0(T)$ é o número de molécula no estado livre, quando a amostra está a uma temperatura T .

A solução da equação (9) é

$$N_D(T) = N_i \exp \left\{ -\omega_{D0} \beta \int_{T_i}^T \exp(-E_D/KT') dT' \right\} \quad (12)$$

Sendo V o volume do recipiente de medida, a pressão devida a essa dessorção será

$$p(T) = \frac{KT^*}{V} N_D(T) \quad (13)$$

onde T^* é a temperatura das moléculas no estado livre. Obtemos então que

$$p(T) = p_f \left\{ 1 - \exp \left\{ -\omega_{D0} \beta \int_{T_i}^T \exp(-E_D/KT') dT' \right\} \right\} \quad (14)$$

onde

$$p_f = (N_i KT^*)/V \quad (15).$$

A função $p(T)$ foi chamada por CELASCHI de "função pressão termestimulada".

$$\frac{dp(T)}{dT} = \omega_{D0} \beta \exp(-E_D/KT) (p_f - p(T)) \quad (16)$$

$$\omega_{D0} \exp(-E_D/KT) = \frac{1}{\beta (p_f - p(T))} \frac{dp(T)}{dT} \quad (17)$$

Os parâmetros ω_{D0} e E_D podem ser obtidos pela extrapolação e inclinação da reta, obtida ao lançarmos o membro da direita da equação (17), contra o inverso da temperatura, em gráfico de escala semi-log.

Na realidade, esse é um processo de desidratação da amostra, medido por meio da pressão.

Como mencionamos anteriormente (capítulo 1.4), o estado de eletreto pode ser obtido via orientação de dipolos de ligados à superfície da macromolécula. Se durante o processo de aquecimento, nas medidas de C.T.E, ocorre a dessorção de tais di

polos ainda orientados, uma corrente de despolarização será do mesmo modo observada. Como a pressão é proporcional ao número de moléculas, que por sua vez é proporcional à carga liberada, as curvas de $\frac{dp(T)}{dT}$ e $I(T)$ devem ser coincidentes (figura 6).

Desse modo, para verificarmos se a despolarização do bioeletreto se deve à perda de dipolos de água orientados na superfície da macromolécula, comparamos as curvas de $\frac{dp(T)}{dT}$ e $I(T)$, que devem ser coincidentes em caso positivo.

Fig. 6 - Curvas de P.T.E. superpostas às cargas parciais obtidas curvas de C.T.E. (liso-zima) (46)

2.3 DECAIMENTO ISOTÉRMICO DE POLARIZAÇÃO

Um capacitor, com dielétrico sólido, pode ser caracterizado pela ligação em paralelo de um capacitor ideal (capacidade geométrica), uma resistência e um sistema mais complexo que é descrito por sua função resposta sob tensão constante.

Ao aplicarmos uma tensão degrau, num capacitor desse tipo, sua resposta será uma corrente $I(t)$, caracterizada por:

$$I(t) = (C\delta(t) + R^{-1} + \phi(t))V_0 l(t) \quad (18)$$

onde

V_0 = tensão aplicada;

C = a capacidade geométrica (paralela);

R^{-1} = a condutância ohmica;

$\phi(t)l(t)$ = a função de absorção

$l(t)$ = a função degrau $\begin{cases} 0 & \text{para } t < 0 \\ 1 & \text{para } t \geq 0 \end{cases}$

$$\delta(t) = \begin{cases} 0 & t \neq 0 \\ \infty & t = 0 \end{cases}$$

Se agora curto circuitamos o capacitor, sua resposta será

$$I(t) = - (C\delta(t) + \phi(t))l(t) \quad (19)$$

A integral $\int_0^\infty \phi(t)dt$ representa a carga reversível (por unidade de tensão) acumulada (ou armazenada) no capacitor, após carga de duração infinita. Na realidade a duração finita de toda experiência, durante a carga principalmente, garante que a corrente de descarga só será nula quando o tempo de descarga exceder muito o tempo de carga.

Esse tratamento é possível dentro dos limites que excluem aspectos tais como a ruptura elétrica do capacitor e envelhhecimento. Estão ainda definidos (os limites) numa região dentro da qual causa e efeitos estão relacionados por uma lei linear, i. e., o sistema possa ser descrito por uma ou conjunto de equações diferenciais lineares.

Desse modo podemos estudar a linearidade de um dielêtrico, por meio desta técnica, analisando a função $\phi(t)$ e a conductância do material.

Observe-se que dentro desses limites a corrente na carga e na descarga são iguais, descontada a corrente ohmica na carga.

Isso leva a que a carga " absorvida " seja igual a carga durante a despolarização, não sendo válida quando há não linearidade, por exemplo, com cargas espaciais no eletreto.

2.4 NOÇÕES SOBRE FERROELETRICIDADE

O fenômeno da ferroeletricidade foi observado pela primeira vez no sal de Rochelle, em 1921 (47).

Um material ferroelétrico é espontaneamente polarizado, i. e., pode permanecer polarizado mesmo na ausência de um campo elétrico externo e a direção da polarização pode ser alterada pela aplicação de um campo externo.

Contudo, uma fase ferroelétrica não é justificada somente pela existência de uma polarização espontânea. O decrêscimo da polarização espontânea, com o aumento da temperatura, cons

titui uma segunda propriedade dos ferroelétricos. Acima de uma determinada temperatura, chamada temperatura de Curie, a polarização espontânea desaparece.

O comportamento da polarização com o campo externo não é linear e é caracterizado pelo ciclo de histerese (figura 7).

Figura - 7 - Curva de histerese ferroelétrica

Ps = polarização de saturação
Ec = coercividade
P = polarização
E = campo elétrico
BC = ilustra a saturação da curva

Observe-se que a curva de histerese ferroelétrica satura-se com o aumento do campo aplicado.

Na curva de histerese distinguem-se os seguintes parâmetros: Ec (coercividade), Ps (polarização espontânea) (figura 7).

CAPÍTULO III

SISTEMAS MEDIDAS

3.1 CORRENTE TERMOESTIMULADA (CTE)

A figura (8) mostra o diagrama em bloco da aparelhagem utilizada. A amostra é colocada sobre um dedo frio de criostato (figura 9), no qual se faz vácuo, utilizando-se uma bomba mecânica primária (10^{-3} mm Hg). Um monômetro (Varian 856-C) mede a pressão no criostato. A tensão de polarização é aplicada por meio de uma fonte d. c. (H.P modelo 65160 A). Um registrador de de pena dupla (Sargent-Welch modelo BSRG) registra a corrente medida por um eletrômetro (Keithley 610 C). O aquecimento é feito por meio de uma resistência elétrica (de ferro de soldar), na qual se aplica uma tensão, variável para se obter um aquecimento linear.

A figura (10) ilustra a sequência da experiência. A amostra é levada a uma temperatura T_p , aplicando-se então um campo E_p , durante um tempo t_p . A temperatura é então baixada para T_0 . Atingindo-se essa temperatura, desliga-se a tensão polarizate; coloca-se a amostra em curto circuito, conectando-se o eletrômetro. A resistência de medida do eletrômetro deve ser tal que seu valor seja desprezível em relação à resistência da amostra. A temperatura é, então, aumentada linearmente e a corrente de despolarização (banda de C.T.E.) registrada.

Os valores de T_p , t_p e T_0 dependem, evidentemente, das

FIGURA - 8 - Diagrama em bloco do sistema de medida de C.T.E.

E = eletrômetro; F = fonte de tensão; M = manômetro ;
R = registrador; TP = termopar.

FIGURA - 9 - Criostato

J = janela; DF = dedo frio; E = entrada para o eletrômetro; V = conexão com a bomba de vácuo; TP = termopar; A = amostra.

FIGURA - 10 - Sequência das medidas de C.T.E.

características do sistema a ser considerado.

A temperatura é medida por um termopar de cobre-constantan e registrada no registrador.

3.2 DECAIMENTO ISOTÉRMICO DE POLARIZAÇÃO (D.I.P.)

A figura (11) mostra o diagrama em bloco da aparelhagem utilizada.

A amostra é colocada no criostato onde a umidade relativa do ar é controlada, sendo medida por um higrômetro (René Graff).

Aplica-se uma tensão V_p na amostra, registrando-se sua resposta (corrente) no registrador. Colocando-se o capacitor em curto, registra-se, então, sua corrente de descarga. A fonte, o registrador e o eletrômetro utilizados foram os mesmos descritos

FIGURA - 11 - Diagrama em bloco do sistema de medidas D.I.P.

E = eletrômetro; F = fonte de tensão; H = higrômetro ;
M = manômetro; R = registrador

no item anterior. A temperatura é medida por meio de um termopar de cobre-constantan colocado no suporte metálico da amostra, sendo a voltagem lida num milivoltímetro (Phillips PM 2436).

3.3 PRESSÃO TERMOESTIMULADA (P.T.E.)

Para evitar problemas de adsorção de moléculas de água na superfície do criostado, utilizamos um recipiente de vidro, cujas paredes foram aquecidas, por volta de 450 °K, por meio de uma resistência elétrica.

A figura (12) mostra o diagrama em bloco da aparelhagem.

A amostra é colocada numa cavidade feita no dedo frio .

FIGURA - 12 - Diagrama em bloco do sistema de medidas de P.T.E.

M = manômetro; MV = milivoltímetro; TPI = termopar ;
TP2 = termopar

Um termopar de cobre-constantan mede a temperatura da parede do recipiente e o outro do suporte metálico da amostra. O registrador registra então a temperatura do suporte e pressão de água no recipiente que é medida por um manômetro. O aquecimento da amostra é novamente feito por meio de uma resistência elétrica. Uma válvula faz a conexão entre o recipiente e uma bomba de vácuo.

Baixa-se a temperatura da amostra, enquanto é feito vácuo. Quando a pressão atinge um valor de 10 mtorr, com temperatura em torno de 260 °K, fecha-se a válvula de conexão e inicia-se o aquecimento da amostra, registrando-se temperatura e pressão.

A curva de calibração do medidor de pressão (manômetro) foi determinada, medindo-se a pressão por meio de um manômetro de mercúrio, tipo McLeod.

Como o sistema apresenta vasamentos, após a medida, uma

outra deve ser realizada sem amostra no recipiente. A diferença entre as duas medidas nos dá a pressão de água devida à dessorção de moléculas de água da macromolécula.

3.4 CURVAS DE HISTERESE

As curvas de histerese de polarização e campo elétrico podem ser obtidas no osciloscópio por meio do método convencional de investigação em ferroelétricos.

Isso se realiza por meio do circuito de Sawyer-Tomer , mostrado na figura (13).

Nesse circuito a deflexão no osciloscópio, no eixo-X , é proporcional à voltagem de carga na amostra e a deflexão, no eixo-Y, é proporcional à carga transferida, isto é,

$$E_x = V + E_y \sim V \quad (20)$$

$E_y = Q/C_0$ (21), onde Q e V são a voltagem e carga na amostra, na condição da capacidade $C_0 \gg C$, C = capacidade da amostra.

Amostras com relativa condutividade apresentam as pontas arredondadas, conforme mostra a figura (14).

FIGURA - 13 - Circuito de Sawyer-Tower

FIGURA - 14 - Curva de histerese com amostra condutora

Para solucionar o problema de condutividade, um compensador de fase (um resistor) é colocado em paralelo com C_0 . A análise, acima feita, pode ser mais complexa, como mostraremos no último capítulo.

3.5 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todas as medidas foram realizadas com o sal de sódio do ácido desoxiribonucleico (NaDNA), de timo de bezerro, obtido comercialmente da Sigma Chemical Company (Type I - Highly polymerized - M.W. 20×10^6).

As fibras de DNA foram comprimidas manualmente, no vácuo, em forma de um tablete. Sua densidade aparente, após a preparação, é de 700 mg/cm^3 . Obtivemos, desta maneira, amostras semelhantes às usadas pelos outros autores, cujos trabalhos são por nós comentados (POLONSKY (6, 23), BROTH (19)).

As medidas de decaimento isotérmico foram realizadas com a amostra em equilíbrio com atmosfera de unidade relativa controlada. Nas medidas de corrente termoestimulada, as amostras foram hidratadas deixando-as sobre o prato de uma balança analítica até

atingirem uma massa pré-determinada.

A massa da amostra seca foi obtida extrapolando-se a curva de massa versus tempo, para o tempo zero, após deixar a a mostra no vácuo por mais de um dia.

Após algumas medidas de C.T.E. e P.T.E. a absorção ótica da amostra (dissolvida em tampão de pH 7.6) a 260 mμ foi medida no espectrofotômetro (Beckman DK-2). Observou-se, então , um aumento de 10% na absorção a essa frequência, de onde concluimos ser pequeno o grau de desnaturação da amostra.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

4.1 CORRENTE TERMOESTIMULADA

As curvas de corrente termoestimulada são mostradas na figura (15). Na figura graficamos a corrente no eixo vertical, em função da temperatura, no eixo horizontal, para quatro hidratação da amostra.

A temperatura foi medida no suporte da amostra, dedo frio. Contudo realizamos medidas do gradiente de temperatura na amostra, observando, então, ser esse gradiente desprezível na região de interesse para as medidas de corrente termoestimulada.

A temperatura de polarização T_p foi de 25 °C (298 °K), aplicamos uma tensão de polarização de 200 volts, durante 10 minutos, sendo a espessura da amostra 0.59 mm. Com esse tempo de polarização o sistema chega praticamente à carga total, como veremos nas medidas de D.I.P.

A temperatura inicial da medida foi de aproximadamente 80 °K, e utilizamos uma taxa de aquecimento de 0.12 °K seg⁻¹.

Nessas medidas, utilizamos uma resistência de medida do eletrômetro de 10¹⁰ Ω, de modo a garantir uma medida em curto circuito.

Em todas essas medidas, utilizamos eletrodos de ouro.

FIGURA - 15 - Curvas de C.T.E., amostra com várias hidratações.

$H_1 > H_2 > H_3 > H_4$; $T = 25^\circ \text{C}$; $V_p = 200 \text{V}$; $d = 0.59 \text{ mm}$;
 $t_p = 10 \text{ min.}$; $\beta^{-1} = 0.12^\circ \text{K seg}^{-1}$

4.1.1 INFLUÊNCIA DA HIDRATAÇÃO

Observamos, então, uma forte influência da hidratação nas curvas de C.T.E.. O pico na região de 25°C (298°K) desloca-se para regiões de mais alta temperatura ao se desidratar a amostra.

O pico da região de baixa temperatura foi associado à presença de moléculas de água na superfície dos eletrodos, causada pelo resfriamento da amostra. Em medidas simultâneas de P.T.E e C.T.E., realizadas no criostato de metal, observamos o aparecimento de um pico de pressão na mesma região que o pico de bai

na temperatura nas curvas de C.T.E.. Voltaremos a discuti-lo mais adiante.

4.1.2 INFLUÊNCIA DO CAMPO DE POLARIZAÇÃO

Para uma mesma hidratação, 30mg OH₂/g DNA, variamos a tensão de polarização da amostra. Os resultados estão mostrados na figura (16); a espessura da amostra sendo de 1.46 mm.

FIGURA - 16 - Carga versus voltagem

Hidratação da amostra 30 mg OH₂/g DNA

Nessas medidas a temperatura de polarização foi de 25°C (298°K), tendo o campo de polarização sido aplicado durante 10 minutos.

4.2 RESULTADOS DE P.T.E.

As curvas de P.T.E. são mostradas na figura (17). Essas medidas foram obtidas utilizando-se o equipamento esquematizado na figura (12). No eixo vertical graficamos a pressão em função da temperatura do suporte metálico da amostra, no eixo horizontal. A taxa de aquecimento utilizada foi de $0.123^{\circ}\text{K seg}^{-1}$.

FIGURA - 17 - Curvas de P.T.E.
curva 1 e 2 $H = 24 \text{ mg OH}_2/\text{g DNA}$
curva 3 $H = 16 \text{ mg OH}_2/\text{g DNA}$

Nessas medidas, observamos que um pico de pressão em torno de -16°C (257°K) ocorre, sendo independente da hidratação da amostra e dependendo somente da pressão no momento em que resfriamos a amostra. Observamos, ainda, que o mesmo pico ocorre quando realizamos a medida sem amostra no recipiente. Observe-se ainda que esse pico se encontra na mesma região que na lisozima, conforme mostrou S. CELASCHI (46).

Com o intuito de verificarmos se a despolarização do bioeletreto de DNA é causada por perdas de dipolos orientados de OH_2 , lançamos a derivada das curvas de P.T.E. em função da temperatura (figura 18)

Verificamos então, que os picos da derivada da pressão (dP/dT) se deslocam para regiões de temperatura mais elevada quando usamos amostras com menos hidratação.

Na figura (18) constatamos que os picos da derivada da pressão ocorrem em temperaturas superiores a dos picos de C.T.E.. Pensamos, inicialmente, que uma possível causa fosse o tempo de difusão da água na amostra, i. e., a água após romper suas ligações hidrogênio, demoraria algum tempo para contribuir, efetivamente, ao aumento da pressão do recipiente. O problema foi atacado, então, realizando-se medidas com amostras com espessuras diferentes. A figura (17) também ilustra os resultados para duas amostras de espessuras diferentes e mesma hidratação. Realizamos, também, experiências, variando a área da amostra, colocando eletrodos com área diferentes sobre a amostra. Observamos os mesmos resultados.

FIGURA - 18 - Curvas de derivada da pressão
 curva 1 e 2 $H = 24 \text{ mg OH}_2/\text{g DNA}$
 curva 3 $H = 16 \text{ mg OH}_2/\text{g DNA}$

4.3 RESULTADOS DAS CURVAS DE HISTERESE

Utilizando o circuito de Sawyer-Tower (figura 13) obtivemos essencialmente as mesmas curvas de histerese que se encontram na literatura (Polonsky e colaboradores (6, 23), Brot e colaboradores (19)).

O sistema foi testado, utilizando-se um cristal de sal de Rochelle. Com esse cristal observamos que a curva de histerese

se se satura com o aumento da voltagem aplicada e que as pontas das curvas tornam-se arredondadas quando a condutividade da amostra aumenta. (figura 19).

FIGURA - 19 -

As amostras de DNA comportaram-se de modo totalmente diferente dos materiais ferroelétricos (sal de Rochelle no nosso caso), i. e., não apresentaram nenhuma saturação ao aumentarmos a voltagem. As curvas obtidas foram simplesmente elipses distorcidas (figuras 20, 21, 22).

O nosso problema de pesquisa no aspecto é essencialmente o seguinte:

a-) POLONSKY e colaboradores encontraram curvas de histerese para o DNA e concluíram que o mesmo seria ferroelétrico . Encontraram também evidências para uma temperatura de Curie;

b-) BROT e colaboradores analisaram os efeitos como devidos a não linearidade nas curvas $i \times v$ do DNA e concluíram pela não existência da ferroeletricidade. Contudo, outros autores de grande relevância (B. T. MATTHIAS, GUTMANN e LYONS, FONG) mantiveram, mesmo em época recente, a afirmação inicial de POLONSKY e colaboradores, alegando ferroeletricidade no DNA.

FIG. 20

Voltagem = 75 V, 150 V, 250 V

Frequência = 8 Hz

Medida realizada com amostra
a baixa hidratação, após pre-
paração da amostra.

FIG. 21

Voltagem = 2 V, 4,2 V, 10 V

Frequência = 80 Hz

U.R. = 80%

FIG. 22

Voltagem = 100 V

Frequência = 8 kHz

U.R. = 70%

Amostra com eletrodo bloque-
ante.

Propusemo-nos, então, a esclarecer a questão sob o ponto de vista experimental.

Observamos que a s curvas de histerese, elipses destorcidas, desapareceram quando introduzimos em filme de mylar fino entre os eletrodos e a amostra. Aumentando-se a voltagem e frequência as elipses voltaram a aparecer.

Isso nos indicou que, realmente, estas distorções poderiam ser causadas pela condutividade do material.

Resolvemos, assim, estudar a condutividade das amostras.

4.4 RESULTADOS DE D.I.P.

A figura (23) exemplifica o comportamento geral das medidas de decaimento de polarização, à temperatura constante. Os decaimentos foram medidos à temperatura de 23°C (296°K). Ao aplicarmos uma voltagem tipo degrau, a corrente de carga decresce e em 10 minutos, aproximadamente, atinge um valor praticamente constante.

A figura (24) mostra os valores da corrente, 15 segundos após a aplicação da voltagem. A espessura da amostra usada foi de 1.42 mm e as curvas foram obtidas deixando-se a amostra entrar em equilíbrio com a umidade do criostato, mantida constante.

A figura (25) mostra os valores da corrente quando esta atinge valores praticamente constantes. Observamos, então , que abaixo de 2 volts, aproximadamente, a corrente é proporcional à voltagem, para uma hidratação de 120 mg $\text{OH}_2/\text{g DNA}$.

FIGURA - 23 - Carga e descarga isotérmica

As curvas são caracterizadas por um $\omega = 7 \times 10^{-3}$ Hz

FIGURA - 24 - Corrente de carga

Observe-se a não linearidade das curvas

FIGURA 25 - Corrente de carga; estacionária

Além disso as corrente de carga e descarga, descontada a corrente estacionária daquela, somente podem ser superpostas a baixo desse limiar de voltagem. Observamos ainda que os resultados não são reprodutíveis se o tempo durante o qual a amostra permanece em curto, não foi da ordem de dias.

Observamos ainda que esse limiar de voltagem diminui ao aumentarmos a hidratação da amostra e para 52% de umidade relativa (275 mg OH₂/g DNA), nenhuma região de proporcionalidade, entre corrente e voltagem, foi detectada.

Na figura (26) lançamos para três diferentes voltagens os valores da corrente de carga nas três hidratações estudadas. O gráfico é apenas qualitativo, visto que temos apenas três pontos em cada curva, e ilustra talvez uma tendência de variação exponencial da corrente com a hidratação.

Da área delimitada pela curva de carga, descontada a corrente estacionária, podemos calcular uma constante dielétrica aparente da amostra. Para uma voltagem de 1 volt obtivemos os seguintes valores:

HIDRATAÇÃO (mg OH ₂ /g DNA)	CONSTANTE DIELÉTRICA APARENTE
120	1 x 10 ³
150	7 x 10 ³
270	408 x 10 ³

As curvas com hidratação de 270 mg OH₂/g DNA apresentaram um comportamento diferente das demais, a partir de 7 volts (1.42 mm de espessura). Esse comportamento é demonstrado na figura (27).

FIGURA - 26 - Tendência de variação exponencial da corrente de carga com o aumento da hidratação.

FIGURA - 27 - A alta umidade, as curvas de carga começam a apresentar um comportamento diferente.

CAPÍTULO V

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

5.1 FERROELETRICIDADE VERSUS NÃO LINEARIDADE

Como dissemos anteriormente, o fenômeno de ciclos de histerese, a baixa frequência, similar aos dos ferroelétricos, foi observado pela primeira vez por POLONSKY e colaboradores (1960). Mencionamos também que, em 1965, BROT e colaboradores deram uma explicação fenomenológica para o problema, baseados nas características não lineares das curvas de corrente versus voltagem. Segundo BROT essa não linearidade pode, então, simular curvas de histerese.

Apesar dessa explicação para o fenômeno, muitos autores ainda continuaram a discutir e a citar a ferroeletricidade do DNA (B. T. MATTHIAS, GUTMANN e LYONS, FONG). Nosso objetivo neste ponto é reanalisar o problema e discuti-lo.

Se consideramos um sistema que tenha uma capacidade γ e uma condutividade G (paralela), então a equação do circuito (Sawyer-Tower) será

$$\gamma \frac{d(V-v)}{dt} + (V-v)G = \Gamma \frac{dv}{dt} + \frac{v}{R} \quad (22)$$

onde V é a voltagem aplicada; Γ a capacidade em série, incluindo a de entrada do osciloscópio; R a resistência de entrada do osciloscópio; v a voltagem medida na resistência R (canal Y do osciloscópio).

Fazendo $V = V_0 \exp (j\omega t)$ na equação (22), obtemos

$$\frac{dv}{dt} + v \left(G + \frac{1}{R} \right) \left(\frac{1}{\Gamma + \gamma} \right) = V \frac{(j\omega\gamma + G)}{\Gamma + \gamma} \quad (23)$$

dividindo por V e lembrando que

$$\frac{1}{V} \frac{dv}{dt} = \frac{d}{dt} \left(\frac{v}{V} \right) + j\omega \left(\frac{v}{V} \right) \quad (24)$$

obtemos

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{v}{V} \right) + \left(\frac{v}{V} \right) (j\omega + (G + \frac{1}{R}) \left(\frac{1}{\Gamma + \gamma} \right)) = \frac{j\omega\gamma + G}{\Gamma + \gamma} \quad (25)$$

A solução dessa equação no estado estacionário é

$$\frac{v}{V} = \frac{\omega^2 \gamma^2 + G^2}{G^2 + G/R + \omega^2 \gamma (\Gamma + \gamma) + j\omega (G\Gamma - \gamma/R)} \quad (26)$$

Essa solução descreve uma elipse, cujo sentido de rotação depende do sinal de $(G\Gamma - \gamma/R)$.

BROT considerou um sistema cuja condutividade variasse com a voltagem alicada na forma seguinte:

$G = G_0 (1 + (V-v)^2/E^2)$ onde G_0 e E^2 são constantes. Substituindo essa expressão para G, na equação (22), obtem-se, então,

$$\gamma \frac{d}{dt} (V-v) + (V-v) G_0 (1 + (V-v)^2/E^2) = \Gamma \frac{dv}{dt} + \frac{v}{R} \quad (27)$$

A equação (27) foi resolvida por BROTH e colaboradores, por métodos computacionais e traçada sua solução, no estado estacionário, obteve-se curvas semelhantes àsquelas dos ciclos de histerese do DNA (19).

Uma explicação para a escolha da dependência quadrática de $G(V)$ está no fato das curvas $I \times V$ não poderem ter derivada negativa, o que acarretaria uma condutividade negativa; a primeira aproximação, então, é a quadrática.

Nossos resultados conferem, pois, aqueles obtidos por BROTH: a alegada ferroeletricidade do DNA é na realidade um efeito

to causado pela não linearidade da corrente em função da voltagem, que acarreta uma distorção nas elipses que normalmente obtemos com dielétricos.

Uma outra corroboração a tal conclusão é a não existência de saturação nos ciclos de histerese das amostras de NaDNA, quando aumentamos a voltagem aplicada.

Também o uso de eletrodos bloqueantes (filme de mylar fino), mostrou que o fenômeno é na realidade provocado pelos eletrodos, provavelmente injeção de cargas ou eletrólise.

Entretanto, BROTH e colaboradores não discutiram outra evidência em favor da ferroeletricidade, apresentada por POLONSKY e colaboradores. Referimo-nos a resultados que indicam uma temperatura de Curie.

A sequência de ciclos, obtidos ao se aumentar a temperatura (figura 1 , ref. 6) é explicada por BROTH (19) como causada pelo aumento da condutividade iônica.

Contudo, a citada temperatura de Curie não pode ser explicada com base nesse argumento. Foi verificada (19) a existência de uma voltagem limite V_d para que as elipses comecem a se distorcerem. Essa voltagem foi verificada ser proporcional à razão f/f_c , onde f é a frequência e f_c a frequência crítica do sistema. Ao aumentarmos a temperatura, f_c aumenta e f/f_c diminui de modo que V passará a ser maior que V_d e as elipses começarão a apresentar distorções. Como os resultados experimentais mostram que o sistema volta a ser linear (6), a argumentação falha nesse ponto.

Nossos resultados de P.T.E. indicam que a alegada temperatura de Curie pode ser explicada como sendo causada pela de

sidratação da amostra. Como vimos, as curvas de P.T.E. mostram u ma variação máxima na desidratação por volta de 70⁰C. Por outro lado, as medidas de D.I.P. nos indicam que a não linearidade do sistema depende não só da voltagem como também da hidratação.

5.2 COMPORTAMENTO DO BIOELETRETO

Em relação ao comportamento do bioeletreto, podemos di zer que este pode ser caracterizado pelas curvas de C.T.E., P.T.E, e D.I.P.. Há, pois, um comportamento marcante de armazenamento de polarização pelo DNA como bioeletreto (σ da ordem de 10^{-9} C/cm)

Nossos resultados permitem concluir que:

a-) nas curvas de C.T.E. a maior contribuição se deve provavelmente à carga espacial;

b-) o bioeletreto é também dependente da hidratação , sua carga armazenada variando com a hidratação;

c-) diferentemente da Lisozima (46), a água de hidra tação do DNA parece não contribuir nas curvas de C.T.E. por quebra de ligações hidrogênio, causando uma despolarização por per da de dipolos, uma vez que os picos de dP/dt não ocorrem na mes ma temperatura;

d-) além do mais, como mostra a figura (26), existe u ma tendência de aumento exponencial da corrente isotérmica com a hidratação, o que não seria de se esperar se realmente ocor resse relaxação causada por dipolos de água.

O fato de tanto a capacidade como a condutividade di minuïrem quando diminuimos a hidratação, indica que os princi

país portadores de carga são ions.

O fenômeno de não linearidade pode ser atribuído ao movimento iônico e eventualmente à eletrólise.

A não linearidade nas curvas $Q \times V$, obtidas a partir das curvas de C.T.E. (figura 16), deve-se provavelmente ao fato dos eletrodos não se comportarem como bloqueantes ideais ou ainda à distribuição de cargas espaciais.

e-) a baixas hidratações, das curvas de C.T.E., obtemos constantes dielétricas aparentes, da ordem de 5, chegando até 20 em hidratações pouco mais elevadas; nas medidas de D.I.P. essa constante atingiu valores de até 10^5 ! Isto é, constantes dielétricas semelhantes as de ferroelétricos, porém conceitualmente diferentes.

Resumindo, concluimos que:

I-) A alegada ferroeletricidade é na realidade causada por um efeito de não linearidade no transporte elétrico do DNA, confirmando os resultados de BROT (19);

II-) A temperatura de Curie, observada por POLONSKY (6), se deve, na realidade, à desidratação da amostra, que torna o sistema linear;

III-) As experiências com eletrodos bloqueantes revelam a importância da condutividade nos ciclos de histerese, corroborando a conclusão I;

Quanto ao bioeletreto podemos dizer que:

I-) Pode ser caracterizado por C.T.E., P.T.E. e D.I.P., apresentando forte armazenamento de polarização;

II-) O tempo de decaimento a 23°C é da ordem de 10^2seg.

III-) As constantes dielétricas aparentes podem atingir valores de 10^5 (para material hidratado com 270 mg OH / g DNA);

IV-) O bioeletreto é altamente dependente da hidratação e sua formação se deve, possivelmente, à carga espacial, em face da presença de contra-ions do polieletrólito do DNA.

Nesse caso poderíamos caracterizar o DNA como um bioeletreto não linear. Infelizmente, não há, ainda, modelos teóricos para tratar tal sistema, visto que o modelo de GROSS se aplica a sistemas lineares.

CONTRIBUIÇÕES DA PRESENTE DISSERTAÇÃO

- 1 - Estudo do bioeletreto do DNA ea influência da hidratação.
- 2 - Reanálise do problema da ferroeletricidade do DNA e a confirmação de que a não linearidade no transporte elétrico é a responsável pelas curvas de histerese.
- 3 - Investigações, com várias técnicas (C.T.E., P.T.E. e D.I.P.), do comportamento elétrico do DNA e em particular sua cinética de desidratação.
- 4 - A alegada temperatura de Curie é atribuída à forte desidratação que ocorre no material, naquela região conforme observado com a técnica de P.T.E..

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- 1 - Estudo das curvas de histerese do RNA, observadas por STANFORD (7) e base física do modelo de FONG (5), incluindo o comportamento a baixas frequências.
- 2 - Estudo do bioeletreto do DNA, preparado sob diversas condições (força iônica).
- 3 - Análise quantitativa do bioeletreto não linear.
- 4 - Melhorar o sistema de medidas para controlar as baixas hidratações.
- 5 - Construção de uma balança acoplada ao sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WATSON, J. D. & CRICK, F. H. C. - Nature, 171 : 737 (1953)
- 2 - HYDEN, H. - Scientific American, 62 : 205 (1961)
- 3 - AGRANOFF, B. W. - Scientific American, 115, : 216 (1967)
- 4 - STANFORD Jr., A. L. - Foundations of Biophysics, Academic Press
New York, 1975
- 5 - FONG, P. - Bull. Georgia Acad. Sci., 30 : 13-23 (1972)
- 6 - POLONSKY, DOUZOU & SADRON - Comptes Rendus, 250 . 3414 (1960)
- 7 - STANFORD Jr., A. L. - Nature, 219 : 1250 (1968)
- 8 - WATSON, J. D. - Molecular biology of the gene, 3rd ed.,
W. A. Benjamin Inc., New York, 1976
- 9 - In ref. 1
- 10 - WILKINS & FRANKLIN - Nature, 171 : 738 (1953)
- 11 - WILKINS et al., Nature, 175 : 834 (1955)
- 12 - M. FALK, J. Amer. Chem. Soc. 84 : 3843 (1962)
- 13 - M. FALK, J. Amer. Chem. Soc. 85 : 387 (1963)
- 14 - WAYARD Ed. - Solid State Biophysics, McGraw-Hill, New York, 1969
- 15 - GOSWAMI & GUPTA - Biopolymers, 13 : 1549 (1974)
- 16 - TAKASHIMA, S. - Biopolymers, 12 : 145-156 (1963)
- 17 - OOSAWA, F. - Biopolymers, 9 : 677-688 (1970)
- 19 - BROU, C. et al. - J. Chem. Phys., 43 : 3603 (1965)
- 18 - JACOBSON, B. - J. Amer. Chem. Soc., 77 : 2919 (1955)
- 20 - MATTHIAS, B.T. - Proc. 3rd Int. Conf. From Theoretical Physics
to Biology, Versailles 1971, pp 12-20 (Karger,
Basel 1973)
- 21 - GUTMANN & LYONS - Organic Semiconductors, John Wiley & Sons,
New York, 1967
- 22 - MATTHIAS, B.T. - Mat. Res. Bull., 6 : 1005 (1971)
- 23 - POLONSKY, et al. - Comptes Rendus, 251 : 970 (1960)
- 24 - COSTA RIBEIRO, J. - An. Acad. Bras. Ci., 22 : 325 (1950)
- 25 - HEAVISIDE, O. - Electrical Papers, I. P. 488 Macmillan, London
1892
- 26 - EGUCHI, M. - Proc. Phys. Math. Soc. Japan, I, 326 (1919)
- 27 - GROSS, B. - Charge Storage in Solid Dielectrics, Elsevier,
Amsterdam, The Netherlands
- 28 - BAXT, L. & M. PERLMAN (Eds) - Electrets and Related Electrostatic
Charge Storage Phenomena, The Electrochemistry Society
Inc., New York, 1968
- 29 - BUCCI & FIESCHI, Phys. Rev. 12 : 16 (1964)
- 30 - JANUZZI, N. & MASCARENHAS, S., 1968, In Electrets M. Perlman Ed.,
41, The Electrochemistry Society, New York
- 31 - CAMPOS, M., MASCARENHAS, S., G. LEAL FERREIRA - Phys. Rev. Lett,
27 : 1243 (1971)
- 32 - TURNHOUT, J. VAN - Ph.D. Thesis (1972)
- 33 - GROSS, B. - Phys. Rev., 107 : 368 (1957)
- 34 - MASCARENHAS, S. - In: Physics of Ice. Riehl, Bullmer & Engelhardt
Eds. : 483. Plenum Publ. Corp. New York, 1969.

- 35 - BINI, S. & CAPELLETI, R. - In : Electrets. M. Perlman Ed.:66
The Electrochemistry Society, New York, 1973.
- 36 - FRIDKIN, V. & ZHLUDEV - Photoelectrets and electrophoto Graphic
Process. Consultant Bureau, New York, 1971.
- 37 - MASCARENHAS, S. - In : Electrets. Ed. M. Perlman, The Electro
chemistry Society, New York, p. 650, 1973.
- 38 - MASCARENHAS, S. - An. N.Y. Acad. Sci. 238 : 36 (1974)
- 39 - QUEZADO, S. & MASCARENHAS, S. - 29ª Reunião Anual da SBPC,
Resumo 440 - D1, 1977.
- 40 - MURPHY, P. - Charge Storage and Transport in Dielectrics,
M. Perlman ed. : 627 (1973). The electrochemistry
Society, New York.
- 41 - MASCARENHAS, S. - In : ídem :657.
- 42 - LINDER & MILLER - J. Phys. Chem., 76 : 3434 (1972)
- 43 - WOBSCHALL, O. J. - Theor. Biol., 21 :439 (1968)
- 44 - CELASCHI, S. & MASCARENHAS, S. - Biophysical Journal, 20 : 273(1977)
- 45 - FREI & GROETZINGER - Physik. Z., 37 : 720 (1936).
- 46 - CELASCHI, S. - Dissertação de Mestrado. IFQSC-USP. (1977)
- 47 - VALASEK - J. Phys. Rev., 17 : 475 (1921).
- 48 - SAWYER & TOWER - Phys. Rev., 35 :269 (1960).