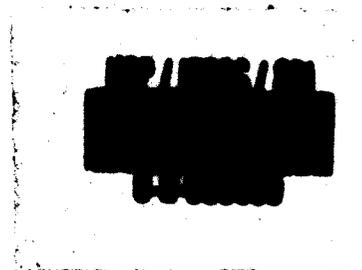


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS



MARIA LUIZA RIZZI STARR

**PROPRIEDADES PIEZOELÉTRICAS DE COLÁGENO
RECONSTITUIDO E ORIENTADO**

Orientador: ROBERT LEE ZIMMERMAN

Tese apresentada no Departamento de Física
e Ciência dos Materiais, para obtenção do
título de Mestre em Física e Ciência dos
Materiais.

1978

Dedico a meus Pais e
a meu esposo Edwin

Este trabalho foi financiado pela

CAPES

FAPESP

CNP
q

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho houve cooperação de muitas pessoas citarei algumas e peço desculpas se me esquecer de

Agradeço ao prof.Dr. ROBERT L. ZIMMERMAN pela orientação.

Ao prof.Dr SERGIO MASCARENHAS pela amizade e apoio.

Ao Dr. RICARDO MANRIQUE do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia pela preparação do colágeno solúvel.

Ao prof.Dr. OTACIRO NASCIMENTO pela ajuda na leitura dos rascunhos deste trabalho.

Ao prof.Dr. THOMAZ GHILARDI NETTO por seu apoio.

Ao amigo CARLOS SUCHICITAL pelo imenso apoio e colaboração.

A MARIA HELENA P. SCANDIUZZI pelo trabalho de datilografia e pela amizade.

As amigas HELOISA FERREIRA E IGNEZ CARACELLI pela amizade, incentivo e colaboração.

Aos colegas de laboratório JOSÉ, SINÉZIO, SAKAMOTO e MARIO, que direta ou indiretamente colaboraram.

Ao Sr. SANCHES e a ROSE MARY PRADO pela amizade e apoio nos problemas de laboratório.

A MARIANGELA TASSINARI pela ajuda e amizade.

A todos os técnicos que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

A meus Pais e meu esposo EDWIN pela paciência, compreensão e apoio que deram para que este trabalho fosse realizado.

Aos profs. e alunos de pós graduação do Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Rib. Preto.

A todas as pessoas que não foram citadas mas que colaboraram.

ÍNDICE

	página
RESUMO	1
CAPÍTULO I - Introdução	2
CAPÍTULO II - Aspectos Bioquímicos do Tecido Con- juntivo	6
CAPÍTULO III - Aspectos Teóricos de Piezoeletrici- dade	12
III-1 Tensão	12
III-2 Deformação	14
III-3 Efeito Piezoelétrico	17
III-4 Significado Físico da Parte Real e Imaginária do Coeficiente Piezo- elétrico d_{14}	21
Parte Experimental	
CAPÍTULO IV - Preparação de Amostras	23
IV-1 Preparação de Colágeno Solúvel	23
IV-2 Preparação de Filmes Amorfos	24
IV-3 Preparação de Filmes Orientados ...	25
IV-4 Preparação de Amostras	27
CAPÍTULO V - Métodos de Medida e de Cálculo	30
V-1 Método de Medida - Descrição do Apa- relho	30
V-2 Método de Cálculo do Coeficiente Piezoelétrico	37
CAPÍTULO VI - Resultados e Discussões	42

	página
CAPÍTULO VII - Conclusões	49
Sugestões para Trabalhos Futuros	50
Contribuições Originais Deste Trabalho	51
BIBLIOGRAFIA	52
Apêndice I	57

R E S U M O

Utilizamos neste trabalho filme de colágeno re constituído e orientado, obtido a partir da extração ácida, usando como fonte de matéria prima tendão de Aquiles de boi. Fez-se uso do método de deteção síncrono nulo para efetuar medidas do coeficiente piezoelétrico de tensão d_{14} versus tem peratura. Observou-se que quanto mais seca está a amostra maiores são os coeficientes piezoelétricos. A medida que a tempe ratura aumenta os valores dos coeficientes diminuem e quando a amostra é resfriada os coeficientes tornam a aumentar mas com valores diferentes dos valores do aquecimento, em geral os valores obtidos no resfriamento são mais altos do que os obtidos no aquecimento.

CAPÍTULO I

Introdução

Baseado na suposição de Coulomb, que eletricidade poderia ser produzida por compressão, Hauy e depois A. C. Becquerel, realizaram experiências nas quais certos cristais mostravam efeitos elétricos quando lhes era aplicada uma pressão.

A piezoelectricidade é uma propriedade que certos materiais tem de apresentar carga elétrica proporcional a uma tensão mecânica. Esta palavra provem de um sufixo grego, "piezein" que significa precionar.

Uma melhor definição foi dada por Cady (1): "Piezoelectricidade é a polarização elétrica produzida pela deformação mecânica em cristais pertencentes a certas classes cristalográficas, a polarização é proporcional à deformação e acompanha-a nas trocas de sinal."

Os irmãos Pierre e Jacques Curie em 1880 descobriram que alguns cristais, quando tensionados mecanicamente, desenvolviam em suas faces, cargas negativas e positivas. Em seguida começou-se a pensar que esses materiais deveriam apresentar o efeito inverso, isto é, apresentar uma deformação proporcional a uma voltagem aplicada. Mais tarde em 1881 baseado na termodinâmica, Lippmann predisse o efeito piezo-

elétrico inverso. No final desse mesmo ano, os irmãos Curie verificaram esse efeito e mostraram que os valores dos coeficientes piezoelétricos direto e inverso para o quartzo eram iguais.

Durante muito tempo o fenômeno piezoelétrico ficou esquecido, sendo reutilizado na época da 1ª Guerra Mundial por Langevin, que utilizou placas de quartzo eletricamente excitadas para gerar ondas sonoras.

A partir daí, o interesse pela piezoeletricidade começou a aumentar, em 1918, Nicholson patenteou um circuito oscilador utilizando um cristal de sal de Rochelle, em 1920, Cady patenteou um circuito oscilador no qual utilizava um cristal de quartzo como controlador de frequência.

Até a década de cinquenta, efeitos piezoelétricos em materiais não cristalinos eram encontrados em borraça, parafina, vidro (4,19,20), cabelo humano (3) madeira. Shubnikov e Martin foram os que iniciaram trabalhos em materiais anisotrópicos e não cristalinos. Quase a totalidade dos trabalhos realizados até então eram qualitativos. Foi Fukada em seu trabalho "Piezoeletricidade em Madeira" quem fez a primeira medida quantitativa, em materiais não cristalinos, para os efeitos direto e inverso mostrando ainda que havia alguma semelhança entre a madeira e materiais cristalinos.

Fukada e colaboradores determinaram os efeitos piezoelétricos em polímeros sintéticos, a eles se deve grande parte dos trabalhos sobre piezoeletricidade em polímeros

naturais e sintéticos e biopolímeros. Fukada e Yasuda em 1957 após terem publicado um trabalho sobre fibras de seda (11), publicaram um trabalho sobre propriedades piezoelétricas em osso (4), que muito provavelmente ainda é dos mais importantes trabalhos da área.

Estudos realizados por Braden e outros em 1966 (24) detetaram comportamento piezoelétrico em osso e concluíram que essa resposta não se originava na hidroxiapatita. Também foi mostrado por Shamos e Lavine (25) que todos os materiais contendo colágeno eram piezoelétricos e baseados em trabalhos de Fukada (5), comentam a utilização do colágeno como transdutor. Mas o papel do colágeno "in vivo" ainda não está completamente entendido, muito embora muitos acreditem que esteja de algum modo relacionado com o crescimento do tecido.

Ultimamente tem-se dado muita importância aos estudos de piezoeletricidade em biomateriais (26), estudando-se o comportamento da água em tendão e osso. Existem também muitos pesquisadores estudando o estado de eletreto em osso polímeros e proteínas.

Devido ao fato de todos os materiais que contém colágeno apresentarem piezoeletricidade achamos interessante estudar essa propriedade em colágeno puro e orientado, independente de qualquer outra substância contida nos tecidos nos quais ele é encontrado. Para tanto foi necessário extrair o colágeno solúvel do tendão, utilizando-se o método de extração ácida (capítulo IV).

Em tecido conjuntivo adulto são encontrados tres tipos de colágeno: um tipo solúvel em ácido acético; um tipo solúvel em solução salina e por fim um tipo insolúvel . Neste trabalho usamos colágeno de extração ácida.

Todas as medidas foram feitas em função da temperatura (capítulo VI), usamos filmes de colágeno orientado. Esta orientação foi feita com um método mecânico (capítulo IV). Em todas as medidas houve um controle qualitativo da umidade, feito através de uma amostra "irmã" (capítulo V).

O intervalo de temperatura escolhido foi de 22°C a 65°C porque estão contidos a temperatura de desnaturação do tecido vivo (44°C) e a temperatura do corpo (36°C).

CAPÍTULO II

II-1 Bioquímica das Fibras de Tecidos Conjuntivos

A pele dos animais foi e é ainda muito usada para fazer couro, essas peles, ossos e tendões eram também usadas para fazer gelatina e goma (cola). A palavra colágeno significava uma forma de cola, sendo usada durante o século XIX para designar o material de tecidos responsáveis pela formação da cola, quando esses tecidos eram cozidos em água e depois a solução evaporada. Por alguns a palavra era utilizada para significar todos os tecidos, para outros significava somente os componentes fibrosos que produziam gelatina quando aquecidos em água. Somente mais tarde, e muito vagarosamente é que se começou distinguir colágeno e gelatina. Esta passou a ser o protótipo da cola de materiais dos tecidos, e os colóides, substâncias que em solução não difundem através de uma membrana animal, e que em muitos casos mostra um comportamento surpreendente; gelatina forma um gel rijo quando a solução de colóides é esfriada, esse gel bem como o pró-colágeno incham quando colocados em meio ligeiramente ácido.

Colágeno agora tem um significado específico, é uma proteína particular dos mamíferos, a proteína dominante da "dermi", osso, cartilagem tendão, etc., em sua forma mais comum é insolúvel em água. Ele aparece em tecidos na



forma de fibras e é inteiramente extra celular, e é também um dos principais tecidos de estrutura do corpo animal. Tem uma função no animal algo similar à da celulose nas plantas. É o componente forte no qual são arranjadas as células e os órgãos de um animal. A característica fibrosa e a insolubilidade em água são propriedades do colágeno.

Nos mamíferos o colágeno aparece em todos os tecidos conjuntivos e este difunde-se pelo corpo todo. A natureza das fibras do colágeno é muito óbvia no tendão, o qual é composto quase inteiramente por feixes paralelos de fibra. Tendão de rabo de rato ou de rabo de canguru, são comumente usados como fontes de colágeno relativamente puras. No couro (pele), as fibras de colágeno são estreitamente entrelaçadas e perfazem um total de aproximadamente 70% a 85% do seu peso seco. Na cartilagem embora as fibras sejam pouco aparentes devido ao tamanho, em geral chega a 50% do total do peso seco. No osso o colágeno aparece impregnado por cristais salinos e no total encontramos 30% do peso do tecido seco.

Em diferentes tecidos o colágeno tem diferentes diâmetros vistos com microscópio de luz. Em tendão o diâmetro é de uns 100 microns, na pele o diâmetro varia muito entre 10 e 50 microns. Em tecido conectivo em geral, fibras com um micron podem ser vistas. Com microscópio eletrônico fibras muito finas chamadas fibrilas aparecem em todos os tecidos variando entre 0,05 a 50 microns. Acredita-se que haja uma variação de diâmetro das moléculas de colágeno, desde

15 Å até um milímetro. As fibras de colágeno são totalmente extracelulares, elas formam correntes traçadas, estrutura como membranas, tubos, sacos, e enchimento para compartimentalizar o corpo, para separar ou conectar órgãos e geralmente para manter o corpo. O arranjo das fibras em diferentes tecidos é caracteristicamente diferente e aparentemente funcional.

Colágeno é uma proteína com várias propriedades inusuais, algumas talvez únicas, abaixo estão esquematizadas algumas das mais importantes propriedades:

- 1) Colágeno é a mais abundante proteína nos mamíferos, um terço do total de proteínas.
- 2) Em sua forma madura nativa é fibrosa, extracelular e insolúvel em solução salina.
- 3) Essas fibras tem uma temperatura de contração bem definida em torno de 65°C e igual para a maioria dos mamíferos.
- 4) Aquecida em água a uma temperatura superior a 100°C, as fibras insolúveis desnaturam-se formando gelatina solúvel.
- 5) A cadeia protéica do colágeno contém: pontes de hidrogênio, pontes ou ligações covalentes, pontes de ésteres, ligações peptídicas e também pontes de -glutamil amido.
- 6) Colágeno contém tres aminoácidos não usuais em proteínas, que são: 4- hidroxiprolina, σ - hidroxilisina e em pouca quantidade 3- hidroxiprolina.
- 7) Fibras de colágeno natural e fibrilas de tropocolágeno em geral, quando examinadas com microscópio eletrônico mos-

tram uma periodicidade de 640 \AA , distância essa que foi denominada de D. No entanto, o comprimento molecular não é um número inteiro de D, mas sim $4,4 D$. Isso pode ser explicado lembrando-se que a fibra de colágeno nas suas extremidades não se encontra na forma de hélice, e é esse terminal que se acopla com outro semelhante para formar estruturas supramoleculares. A fig II- 1 mostra um esquema dessa característica repetitiva (37).

A molécula de colágeno é de formato de um bastão ($2900 \times 15 \text{ \AA}$) e é composta por tres cadeias polipeptídicas com um eixo comum, de modo a formar uma estrutura de tripla hélice. A molécula é sintetizada na célula, acredita-se que nos fibroblastos, na forma de precursores que são espontaneamente transformados em moléculas de colágeno na região extra celular. A cadeia polipeptídica (na pele e tendão) tem pouco mais de 1000 resíduos, tendo a glicina em todas as terceiras posições, e adota uma configuração de tripla hélice ao longo de quase toda a cadeia.

Colágeno de tendão, de pele e de osso parecem que tem sequência de aminoácidos idênticas (colágeno tipo I) e contém dois tipos de cadeias diferentes chamadas α_1 e α_2 . Cada tripla hélice contém duas cadeias α_1 e uma cadeia α_2 . Recentemente a sequência da cadeia α_1 de pele de rato e bezerro foram determinadas em vários laboratórios entre eles: P. Fiestzek, P. Bornstein, W. Butler, J. Gross, e aproximadamente metade da cadeia α_2 já está sequenciada. Colágeno de

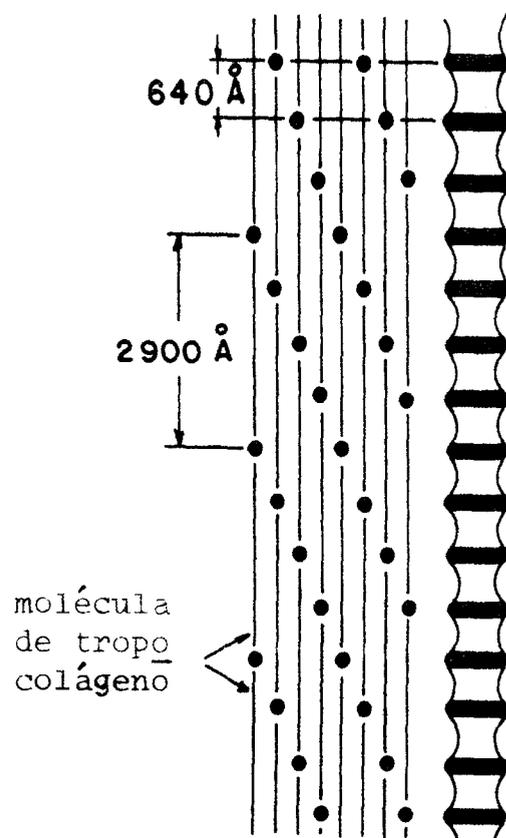


FIG. II-1 Modelo das bandas do colágeno
 Característica repetitiva de comprimento 640 Å denominada D. Uma molécula de tropocolágeno é composta de 4,4D.

cartilagem contém tres cadeias idênticas e a sequência difere da que foi encontrada para pele e tendão (30,31). O colágeno da cartilagem foi denominado por colágeno tipo II. Mais recentemente verificou-se a existência de colágeno na aorta, em lesões e pele de feto, que foi denominado de colágeno tipo III (32,33,34). Há evidências que a parte interior de membranas constituem um tipo diferente chamado colágeno tipo IV (35).

As tres cadeias que formam essa tripla hélice são mantidas por pontes de hidrogênio distribuidas ao longo da cadeia. Dois modelos foram propostos para esta distribuição: Ao primeiro foi proposto por Rick e Crick com uma ponte de hidrogênio para cada tres resíduos de aminoácidos, o segundo modelo, de Ramachandran e Kartha com duas pontes de hidrogênio para cada tres resíduos, sendo uma ligação do tipo NH-CO e outra do tipo CH-O (19,20,21,28,29).

No próximo capítulo vamos ver alguns aspectos teóricos a respeito de piezoelectricidade. E vários conceitos vistos neste capítulo a respeito das características do colágeno serão usadas no capítulo IV para a preparação do colágeno solúvel.

CAPÍTULO III

III-1 Tensão

Considerando-se uma barra de material determinado, com seção transversal de área (A) uniforme e sujeito a tensões (\bar{F}), perpendiculares a superfície, iguais e opostas (fig. III-1), diz-se que esta barra está sob tensão, a qual é definida como:

$$\bar{T} = \bar{F}/A \quad (\text{Newtons} / \text{m}^2) \quad \text{III-1}$$

Quando a força \bar{F} não é normal à superfície, pode ser decomposta em tensão normal e tensão tangencial (cisalhamento).

Podemos considerar tres tipos de tensão:

- 1 - tensão de tração (fig. III-1a e III-1b)
- 2 - tensão de compressão (fig. III-1c e III-1d)
- 3 - tensão de cisalhamento, quando a face superior do corpo é solicitada para a esquerda e a face inferior para a direita.

Sabemos que força por unidade de área é um vetor, mas para o caso de elasticidade e piezoeletricidade as tensões são expressas em termos de pares de forças por unidade de área, que são as componentes de um tensor simétrico.

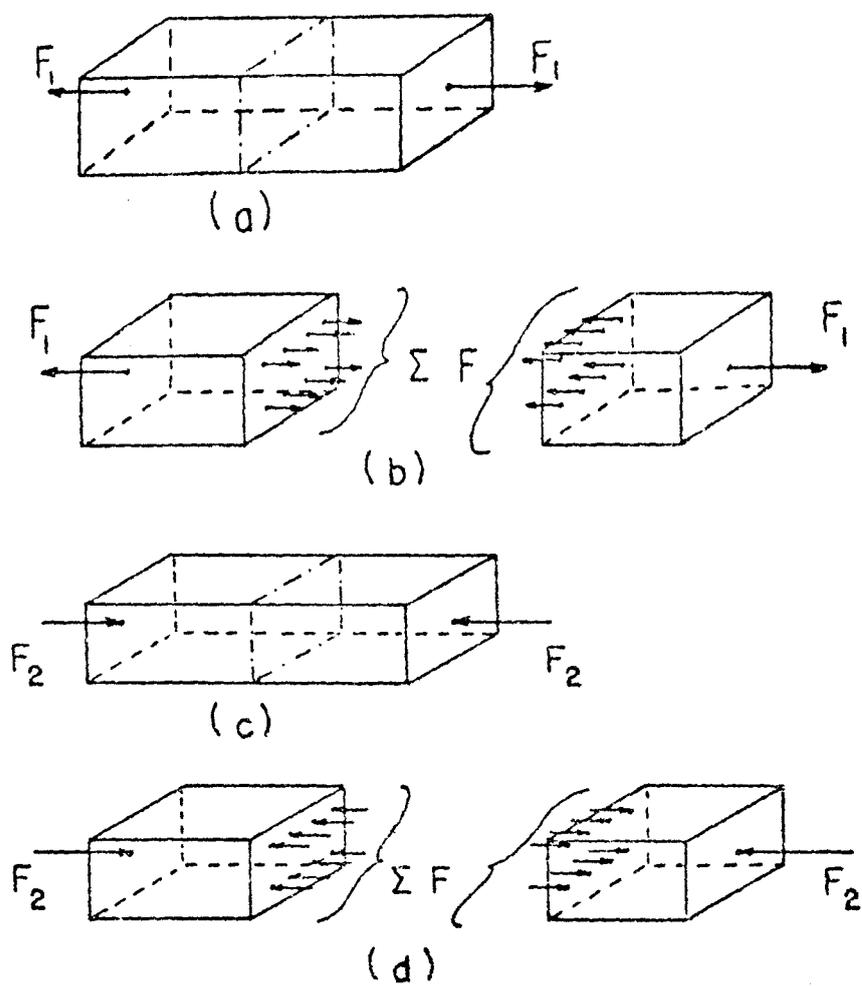


FIG. III-1 Corpo sujeito a tensões iguais e opostas, perpendiculares a superfície.

III-2 Deformação

Deformação são variações na forma ou dimensões de um corpo, produzidas por tensões a que está submetido. A medida da deformação é a relação entre duas grandezas lineares, portanto adimensional.

Para cada tensão esta associada uma deformação. Assim na fig. III-2a uma tensão de tração F/A resulta em um alongamento BB' e uma deformação

$$\frac{BB'}{AB} = \frac{\Delta l}{l_0} = \text{deformação de tração} \quad \text{III- 2}$$

Uma deformação de cisalhamento é representada na fig. III-2b, na qual uma tensão de cisalhamento F_2/A produz um deslocamento $CC' = \Delta D$. Geralmente o deslocamento é pequeno, a deformação é expressa em função do ângulo de cisalhamento (θ) que é dado em radianos:

$$\theta = \frac{\Delta D}{l} \quad \text{III- 3}$$

Olhando-se no interior de uma barra de material e focalizando-se um ponto em uma posição particular P , conforme fig. III-3a. Uma tensão de tração homogênea fará com que o ponto P se desloque até P' , o deslocamento u_x do ponto x é proporcional a sua posição original em x , ou seja, conforme fig. III-3b

$$\frac{\Delta l}{l} = \frac{u_x}{x} \quad \text{III- 4}$$

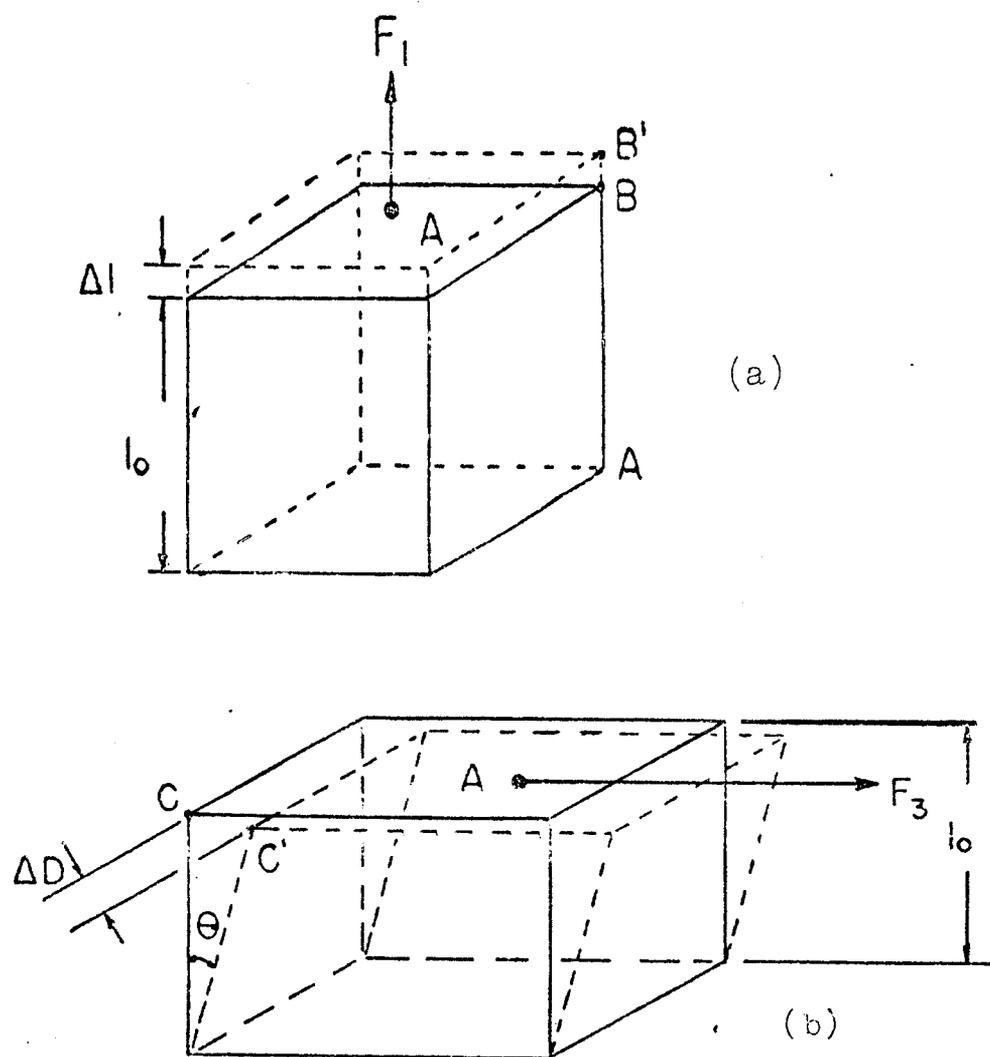


FIG. III-2 Deformação causada por aplicação de uma tensão (a)
Deformação causada por uma tensão de cisalhamento (b).

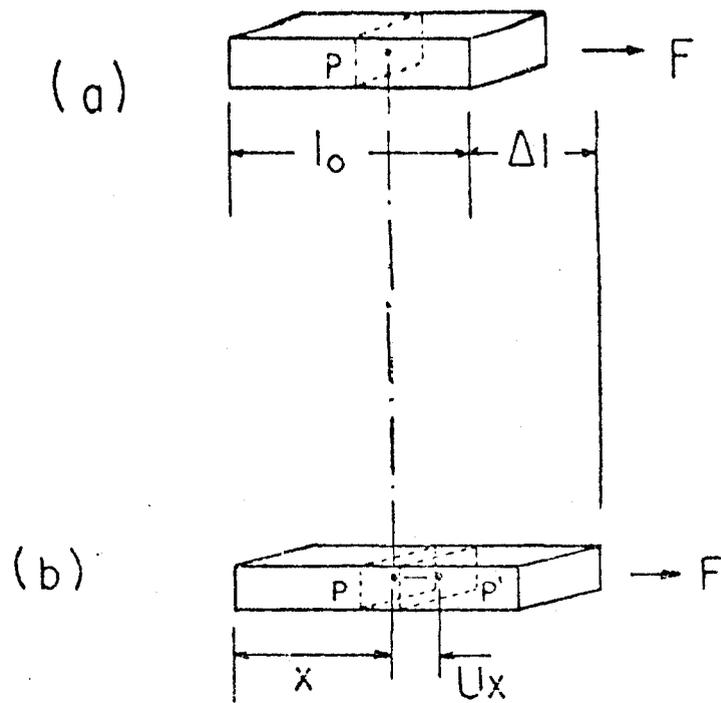


FIG. III-3 Mudança de posição do ponto P devido a aplicação de uma tensão.

Se a deformação não é uniforme, a relação entre u_x e x variará de ponto para ponto no material. Faz-se necessário definir uma deformação local ($\partial u_x / \partial x$), ou seja: deformação de tração $s_x = \frac{\partial u_x}{\partial x}$ III- 5

A figura III-4 mostra a deformação de cisalhamento, a variação na forma é definida pelo ângulo de cisalhamento θ , quando este é pequeno, a deformação pode ser expressa como a relação entre o deslocamento Δx e a dimensão y_0 .

$$\text{deformação de cisalhamento} = \frac{\Delta x}{y_0} \quad \text{III- 6}$$

Vemos que esta relação envolve uma razão entre dois comprimentos, sendo portanto adimensional (52).

III-3 Efeito Piezoelétrico

Podemos novamente voltar à definição que foi dada para o efeito piezoelétrico (cap. I) e reenunciá-la da seguinte maneira: " Ao aplicar uma tensão em alguns cristais, estes adquirem um momento de dipolo elétrico cuja intensidade é proporcional a tensão aplicada" - efeito piezoelétrico direto. (1)

Quando se aplica uma tensão de tração (T) uniaxial em um cristal piezoelétrico, a intensidade do momento elétrico por unidade de volume, ou carga de polarização por unidade de área é:

$$P = dT$$

III- 7

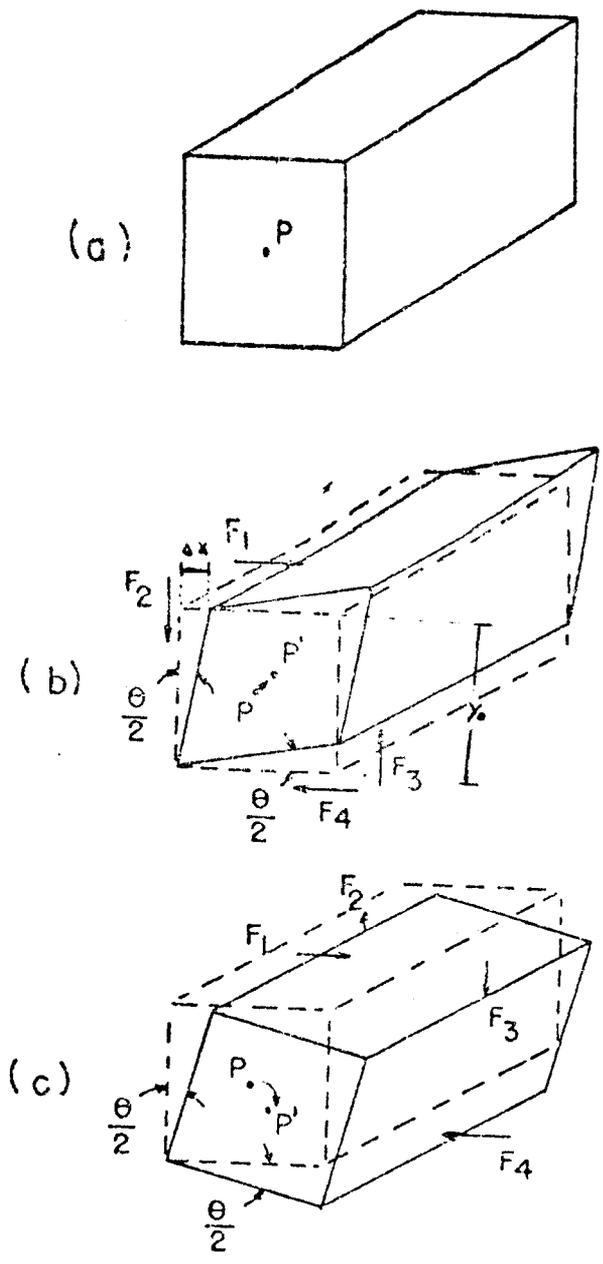


FIG. III-4 a) Estado fundamental de um corpo sem tensão.
b) Deformação do corpo devido a aplicação de uma tensão de cisalhamento.
c) Rotação pura do corpo.

Onde d é uma constante chamada módulo piezoelétrico. Pode-se observar nesta equação que uma mudança da tensão de tração para tensão de compressão equivalente, inverterá a direção da polarização. De modo geral pode-se escrever a equação III-7 como

$$P_i = \sum d_{ij} T_j \quad \text{III- 8}$$

$$i = 1, 2, 3$$

$$j = 1, \dots, 6.$$

Se no lugar de uma tensão aplica-se um campo \underline{e} létrico no cristal piezoelétrico, este vai deformar-se ligeiramente (efeito piezoelétrico inverso). Nota-se uma relação linear entre os componentes do vetor E_i e as componentes do tensor S_j (que descreve a variação na forma do cristal). Mais explicitamente se o efeito direto é dado pela equação III-8, o efeito inverso é dado por:

$$S_j = d_{ij} E_i \quad \text{III- 9}$$

$$i = 1, 2, 3$$

$$j = 1, 2, \dots, 6)$$

Sintetizando as relações piezoelétricas, vistas acima, em notação matricial temos:

		S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	S_6
		T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
P_1	E_1	d_{11}	d_{12}	d_{13}	d_{14}	d_{15}	d_{16}
P_2	E_2	d_{21}	d_{22}	d_{23}	d_{24}	d_{25}	d_{26}
P_3	E_3	d_{31}	d_{32}	d_{33}	d_{34}	d_{35}	d_{36}

Multiplicando-se em colunas (por exemplo $d_{11}T_1 = P_1$) obtem-

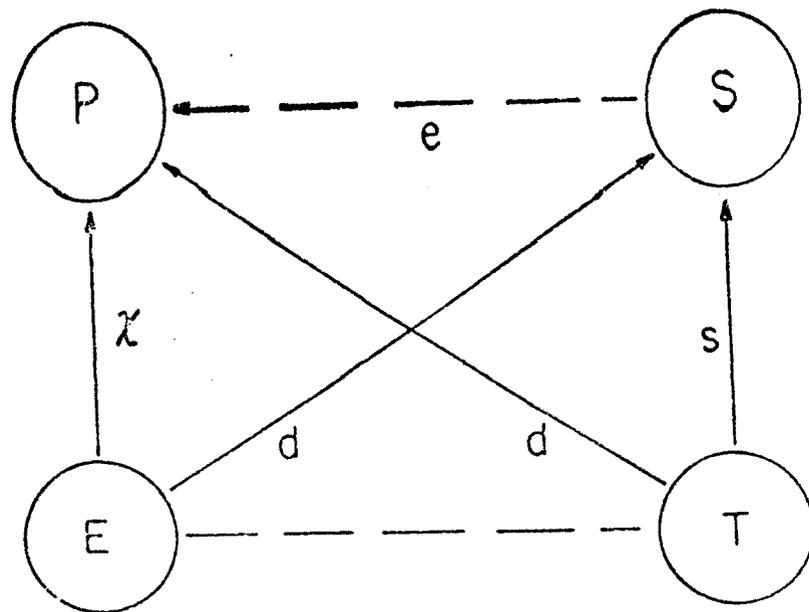


FIG. III-5 Coeficientes que relacionam a tensão (T), a deformação (S), a polarização (P), e o campo elétrico (E).
 Como foi definido neste capítulo, $P = dT$ e $S = dE$. Pode-se, observando a figura, verificar que $P = eS$ onde e é o coeficiente piezoelétrico de deformação. Vê-se também que $P = \chi E$ onde χ é a susceptibilidade elétrica, assim $E = dT/\chi$. Verifica-se que $S = sT$ onde s é a constante elástica; estão também relacionados e , s , e d , na seguinte igualdade $d = e.s$. Assim d , e , s e χ são os coeficientes que relacionam E, P, S, T, entre si.

-se a deformação.

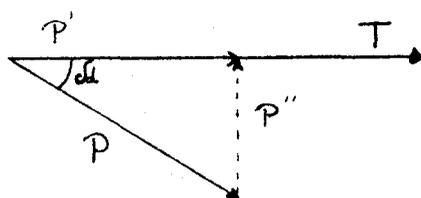
A fig. III-5 resume as relações paramétricas entre as variáveis independentes E , T e as resultantes S e P .

III-4 Significado Físico da Parte Real e Imaginária do Coeficiente Piezoelétrico $d(14)$.

Até agora encaramos as quantidades d' e d'' como a parte real e imaginária do coeficiente piezoelétrico d sem considerar o seu significado físico; vamos analisá-lo agora.

A polarização elétrica pode ser atrasada ou adiantada em relação a tensão aplicada; da mesma forma que existe um atraso entre a deformação e a tensão.

Em geral a polarização P atrasa em relação a tensão (T) de um certo tempo, como mostra a figura abaixo.



Se a tensão é representada por $T = T_0 \exp(i\omega t)$ a polarização é representada por: $P = P_0 \exp i(\omega t - \phi_d)$, onde ϕ_d é o ângulo de fase entre a tensão e a polarização. A polarização P tem duas componentes, P' que está em fase com a tensão e P'' que está 90° fora de fase com a tensão. Se considerarmos T uma quantidade real P é expresso por um número

complexo: $P = P' - iP''$. Consequentemente o módulo piezoelétrico é escrito: $d = d' - id''$, onde

$$d' = P'/T \quad \text{e} \quad d'' = P''/T$$

E o ângulo de fase δ_d é dado por: $\tan \delta_d = d''/d'$.

CAPÍTULO IV

IV-1 Preparação de colágeno solúvel

Utilizamos como método inicial de preparação de colágeno solúvel o mesmo método que estava sendo utilizado em Harvard, que consistia no seguinte: pegou-se tendão de boi, este foi cortado e colocado em uma solução de ácido acético 14%. O tendão era deixado no ácido por 4 ou 5 dias, a solução obtida era então colocada em tubos de celofane e era feita uma diálise em água. Obtinha-se assim um volume muito pequeno de colágeno.

Passamos a experimentar modificações da técnica e chegamos a um método que se mostrou muito produtivo, este método é descrito abaixo.

Utilizamos tendão de Aquiles de boi, como fonte de colágeno. O tendão deve ser limpo de todas as envolturas fibrosas e exaustivamente lavado em água destilada. Depois de limpo o tendão é cortado em pequenas fatias e exposto à ação de ácido acético 14% por seis horas e mantido a baixa temperatura (0 a 4°C) e com agitação constante; depois deste tempo um "buffer" de β alanina é acrescentado, a temperatura é mantida sempre baixa e a agitação é constante. O tendão é deixado sob a ação desse "buffer" por mais seis horas. Neste período o tendão torna-se translucido, perdendo a

sua característica fibrosa. Um fator de controle importante é a não presença de fibras.

Mediante um sistema de rotação lenta, a mistura é fracionada liberando as camadas já solubilizadas e expondo as camadas ainda insolúveis a ação da solução. É crítico nesta fase realizar uma separação cuidadosa para evitar que colágeno insolúvel se misture com o resto da solução, este procedimento é realizado também a baixa temperatura. O material obtido é denso, translucido, e cheio de bolhas de ar. Para a retirada destas bolhas usa-se ultracentrifugação.

Para evitar o crescimento bacteriano é conveniente manter o pH da solução baixo.

Obtido esse material a primeira pergunta que nos fizemos foi: "Mas isto é colágeno?" Para respondê-la foram feitos dois testes. O primeiro foi a dosagem de prolina e hidroxiprolina, pois é sabido que o colágeno possui 1/4 do total de seus aminoácidos compostos por esses dois componentes(27). Este teste foi satisfatório. O segundo teste foi de agregação plaquetaria, que se mostrou também satisfatório. Tivemos então certeza de que nosso material era colágeno nativo.

IV-2 Preparação de Filmes Amorfos

Tendo em mãos a solução de colágeno polimerizado pH 5, colocamos um volume de solução (25ml aproximadamen-

te) em um cubinho de lucite (volume = 24cm^3), e deixamos o filme secar naturalmente. Esse processo leva em torno de trinta e seis horas, dependendo das condições de tempo.

Quando seco o filme se solta facilmente do cubinho de lucite. Assim obtemos um filme de colágeno quase que totalmente amorfo, pois a maioria das fibras estão orientadas ao acaso.

IV-3 Preparação de Filmes Orientados

Depois de obtido o filme amorfo utilizamos como método de orientação o esticamento mecânico do filme em ambiente úmido.

O filme é colocado no aparelho mostrado na figura IV-1, em seguida é umidecido com água deslilada a pH 7 e a medida que o filme se torna úmido, vai sendo esticado lentamente. O máximo esticamento obtido foi de 64%. O filme usado neste trabalho foi esticado 58,4%.

Para varificação qualitativa do grau de orientação do filme usamos luz polarizada observada através de analisadores. Utilizamos também um modelo geométrico desenvolvido pelo professor Robert Lee Zimmerman, que é descrito no apêndice I. . Esse método nos dá quanto por cento o valor do coeficiente piezoelétrico obtido é menor do que o valor obtido desse mesmo coeficiente se todas as fibras estivessem orientadas.

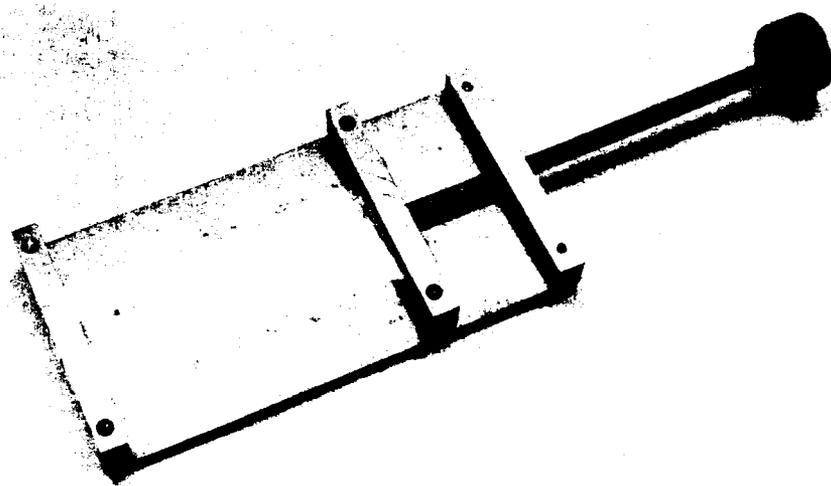


FIG. IV-1 Aparelho usado para esticamento do filme de colágeno.

IV-4 Preparação de Amostras

Depois de esticado e seco, o filme de colágeno reconstituído foi cortado a 45° em relação a direção de esticamento. A fig. IV-2 mostra a anisotropia no efeito piezoelétrico para colágeno. Tensão aplicada em direções paralelas e perpendiculares ao eixo de orientação do colágeno não produzem polarização. Tensão aplicada a 45° em relação ao eixo produz máxima polarização. Uma tensão de cisalhamento dá uma polarização em uma direção normal ao plano de tensão.

Adotamos como eixo z a direção de esticamento do filme, eixo y perpendicular e no mesmo plano que z e eixo x é perpendicular aos outros dois. Se aplicarmos uma tensão de cisalhamento T_4 como mostra a fig. IV-3 vamos ter uma polarização P_1 na direção x e o coeficiente piezoelétrico será o d_{14} (definições do cap. III-6). Os eixos x e y são arbitrários, por isso se invertermos suas posições, vamos ter uma tensão de cisalhamento T_5 e uma polarização P_2 na direção y e o coeficiente piezoelétrico será o d_{25} . Como há simetria em x e y temos:

$$d_{25} = -d_{14}$$

No filme já cortado, foram pintados eletrodos de grafite de ambos os lados da amostra, esses eletrodos são colocados de tal modo que todos os efeitos de borda fiquem eliminados.

Assim preparada a amostra é colocada no crios-

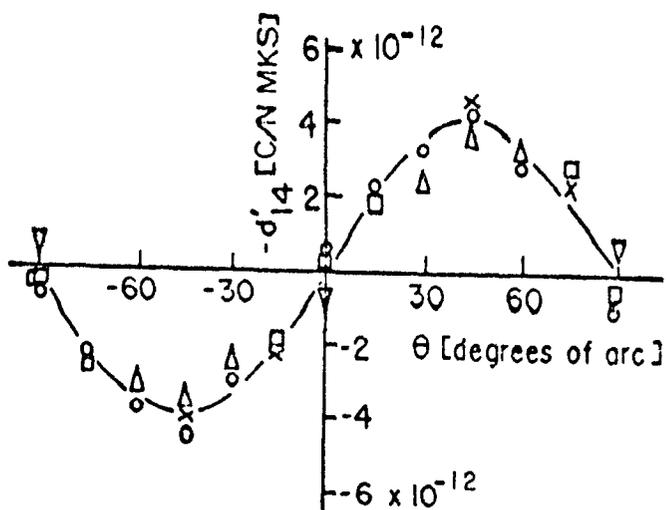


FIG. IV-2 Anisotropia do efeito piezoelétrico em colágeno .
 θ é o ângulo entre a direção da tensão e o eixo de esticamento do filme.

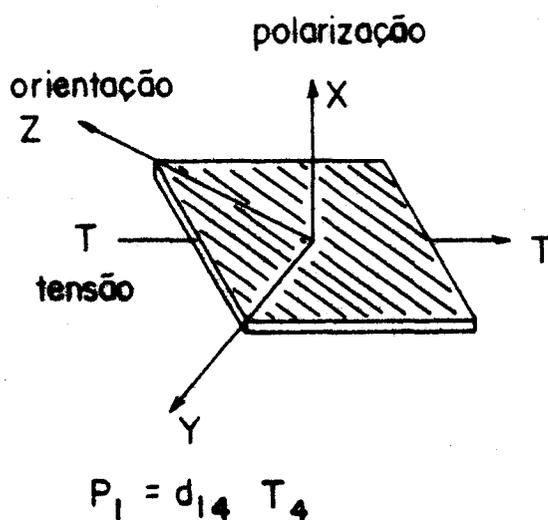


FIG. IV-3 Orientação dos eixos usada.

tato fixada nos parafuso (Cap. V- fig.V-5), e as medidas são realizadas.

As dimensões da amostra bem como as dos eletrodos são dadas abaixo e serão usadas no próximo capítulo para o cálculo do coeficiente piezoelétrico.

área dos eletrodos $-A = 85,73 \times 10^{-6} \text{ m}^2$

comprimento da amostra $-c = 9,40 \times 10^{-3} \text{ m}$

largura da amostra $-b = 14,56 \times 10^{-3} \text{ m}$

espessura da amostra $-a = 95,9 \times 10^{-6} \text{ m}$

área da seção transversal $-a.b = 13,96 \times 10^{-7} \text{ m}^2$

fator de esticamento $f = \frac{l}{l_0} = 1,58$

l_0 (comprimento da amostra antes de esticar)

l (comprimento da amostra depois de esticada)

CAPÍTULO V

V-1 Método de Medida - Descrição do Aparelho

Para determinação da constante piezoelétrica fez-se uso de um eletrometro diferencial cujos princípios básicos são descritos abaixo.

O aparelho é baseado em uma idéia de E. Fukada. O método depende do cancelamento da carga de polarização piezoelétrica com uma carga determinada por um potencial conhecido e aplicado através de uma capacitância também conhecida; assim o nulo é detectado. O cancelamento da tensão gerada pela carga de polarização piezoelétrica implica a condição de campo elétrico nulo na amostra durante todo o ciclo da aplicação da força, condição esta que é essencial na determinação dos coeficientes piezoelétricos de tensão, pois se houver campo elétrico na amostra, haverá a superposição de dois efeitos, o efeito piezoelétrico direto e o inverso. Este sistema também permite medir amostras com resistências relativamente baixas, mantendo a condição de ausência de corrente de condução, muito importante quando fazemos medidas em amostras hidratadas.

A fig. V-1 mostra um diagrama simplificado do aparelho utilizado para medir simultaneamente os efeitos piezoelétricos e condutividade elétrica em biomateriais. Na

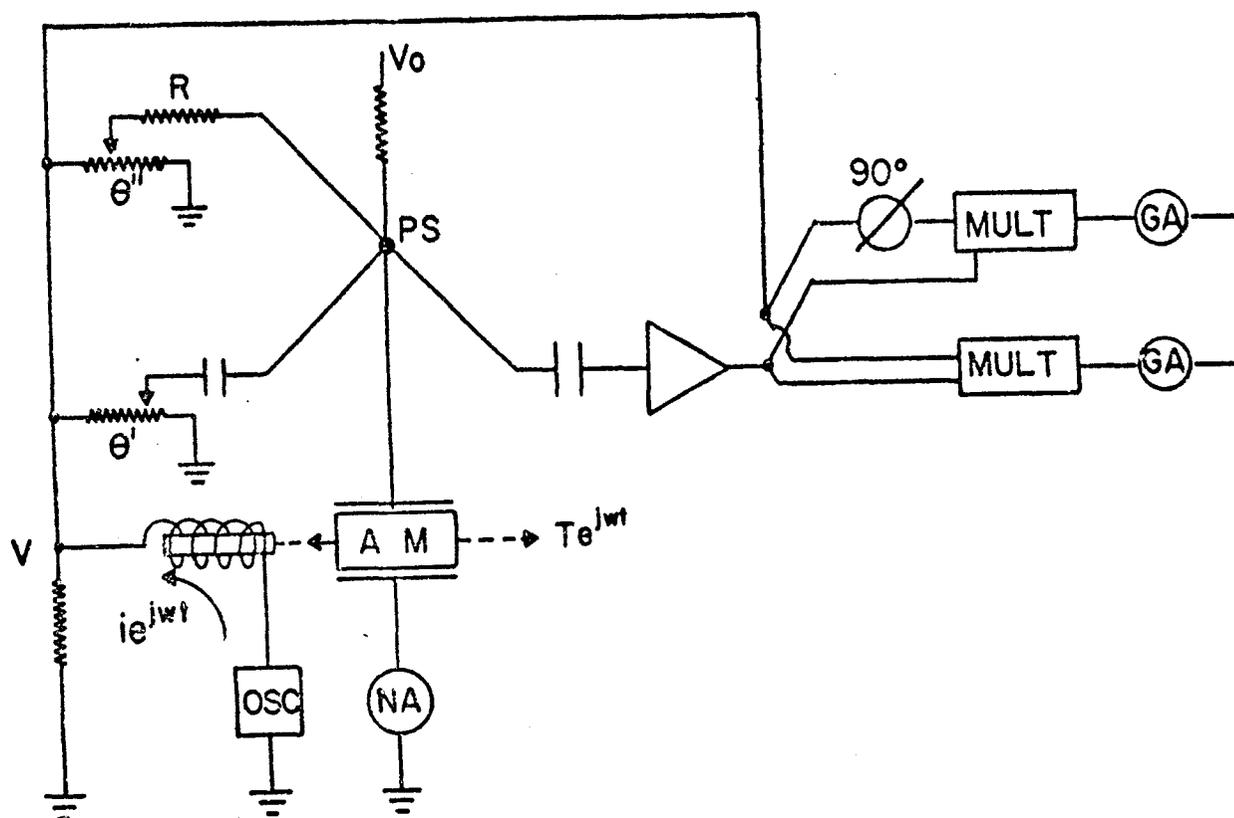


FIG. V-1 Esquema simplificado do aparelho para as medidas simultâneas de condutividade e piezoeletricidade. Para uma indicação nula nos galvanômetros (GA), os potenciômetros (θ' e θ'') indicam as componentes real e imaginária do coeficiente piezoelétrico da força. Simultaneamente o eletrômetro (NA) mede a corrente de condução e a polarização induzida pelo campo elétrico ou, com a fonte ligada a terra, mede a corrente de despolarização da amostra.

fig. V-2 podemos ver um diagrama esquemático mais completo do sistema. Uma oscilação senoidal é aplicada longitudinalmente a um filme em uma frequência de 20 Hz por meio de um transdutor eletromagnético. A corrente na espiral do transdutor indica a intensidade da força deformativa na amostra. Para cancelar a voltagem piezoelétrica no filme, devido à corrente impulsora, uma voltagem canceladora é fornecida à amostra através de uma capacitância C e de uma resistência R conhecidas. A primeira cancela a componente da voltagem piezoelétrica em fase com a força, e a segunda cancela a componente da voltagem piezoelétrica noventa graus fora de fase. A voltagem que a amostra gera é conduzida a detetores sensíveis à fase, que tem uma voltagem de referência em fase e noventa graus fora de fase com a corrente impulsora. Pelo ajuste de dois potenciômetros observa-se o ponto nulo (das voltagens de saída dos detetores de fase) nos galvanômetros GA.

Contudo, fazendo-se as determinações piezoelétricas a amostra fica sujeita a um potencial constante V_0 , aplicado através de um filtro. O nanoamperímetro NA permite determinar simultaneamente a condutividade elétrica e a corrente de despolarização e as constantes piezoelétricas na amostra.

A fig. V-3 mostra os componentes do circuito eletrônico essencial. Os circuitos integrados são representados por amplificadores e por retificadores síncronos. As malhas chaves e potenciômetros são os que desenvolvem a tensão elétrica para o cancelamento do sinal piezoelétrico na amos-

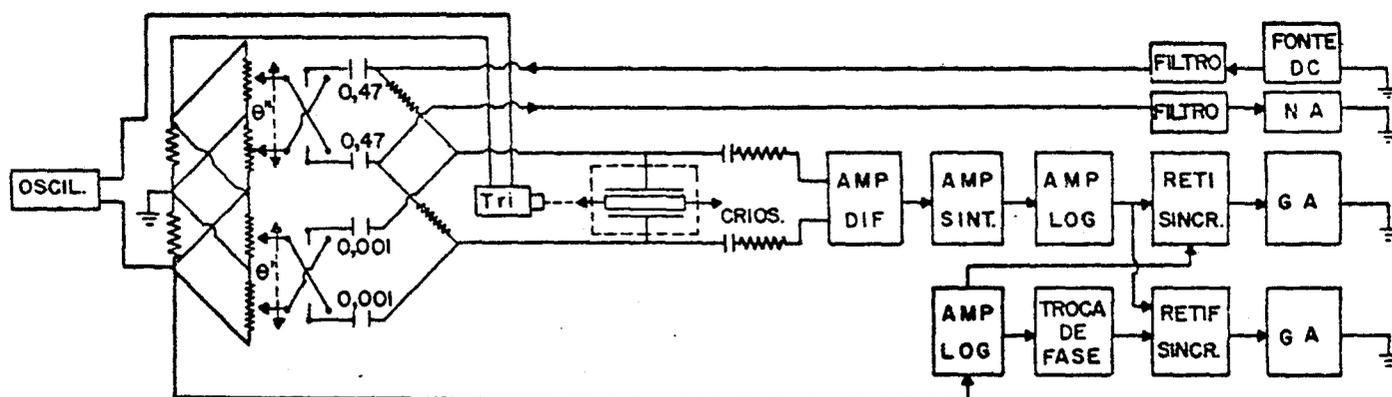


FIG. V-2 Diagrama esquemático do aparelho para medidas piezoelétricas induzidas por um campo ou intrínsecas. Com uma indicação de nulo nos galvanômetros, os potenciômetros dão a leitura das componentes real e imaginária da constante piezoelétrica de deformação $d = d' - id''$. Simultaneamente o nanoamperímetro mede a condução induzida pelo campo e a corrente de polarização; ou mede a corrente de despolarização com a fonte DC aterrada.

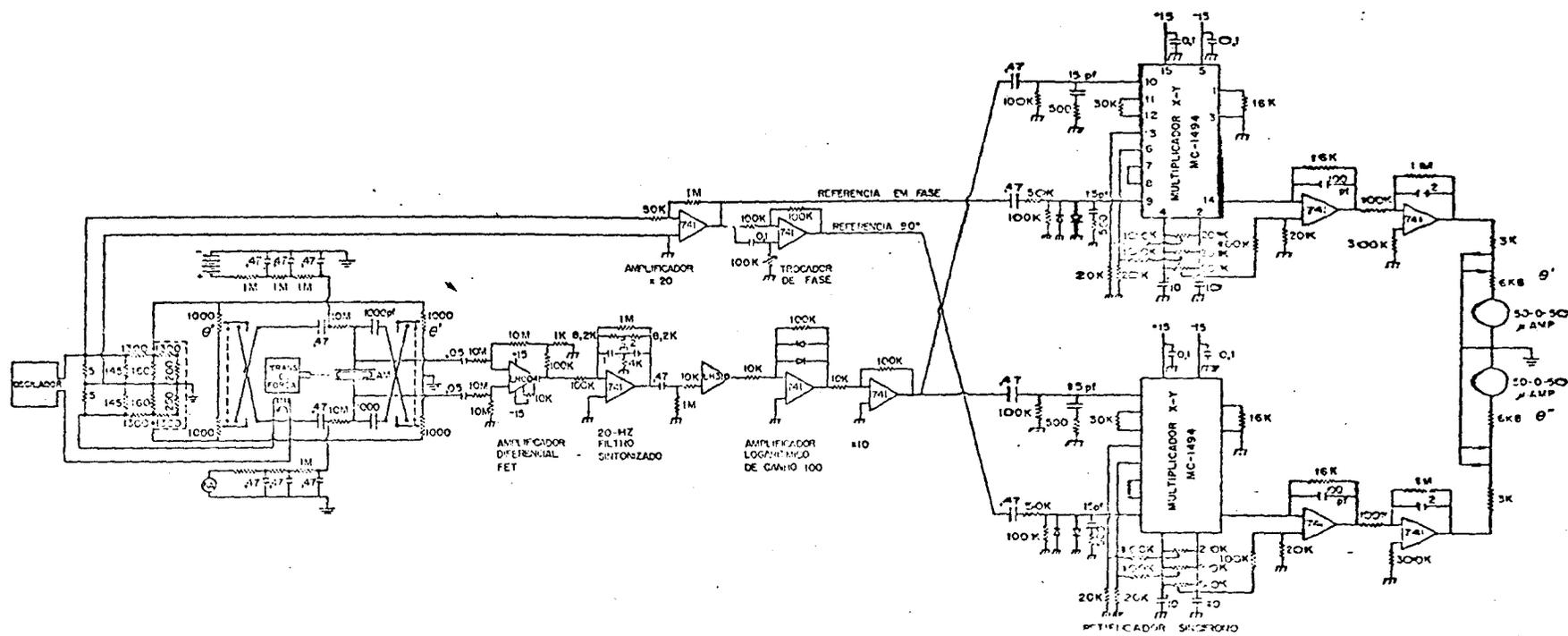


FIG. V-3 Esquema completo do aparelho.

tra. A amplificação do erro é primeiramente feita por um amplificador diferencial de transistores FET, em seguida por uma série de amplificadores sintonizados e estabilizados. O sinal é dirigido a um multiplicador xy, que multiplica o erro e o sinal de referência procedente da tensão aplicada ao transdutor de força. O produto é convertido em tensão e integrado de modo que somente a frequência do transdutor tenha componente não nula. O erro pode ser anulado por meio de potenciômetros (um para cada fase).

A fig. V-4 mostra um esquema do criostato no qual pode-se variar a temperatura. O criostato consiste essencialmente em tres caixas concêntricas. A caixa externa é eletricamente isolada das outras, serve como isolante térmico para as outras. A caixa intermediária contém o elemento aquecedor e serve também como reservatório para o líquido frio quando usamos temperaturas abaixo da temperatura ambiente. A caixa interna é a camera da amostra. A monitoria da temperatura é feita por meio de um termopar de cobre-constantan a coplado a um milivoltímetro digital.

A amostra já cortada no tamanho adequado e com eletrodos depositados é colocada no criostato e fixada no lugar por meio de dois braços de teflon e porcas metálicas, as quais estão em contato elétrico com o resto da aparelhagem por meio dos eletrodos da amostra. Como vemos na figura V- 5 os braços são alinhados e não entram em contato com o criostato.

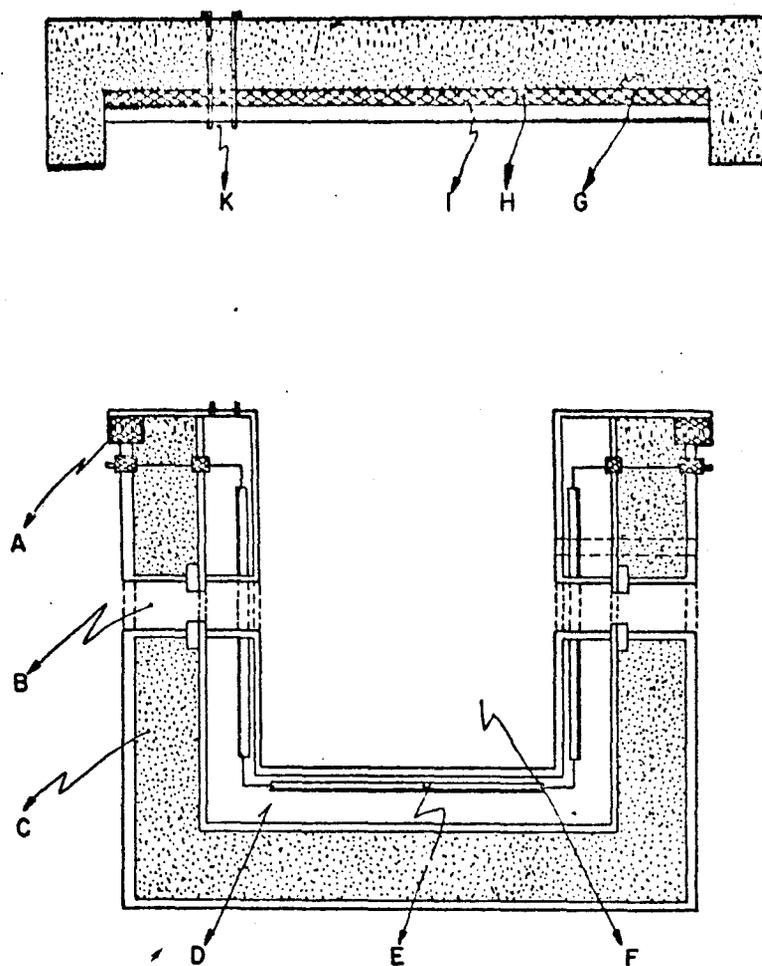


FIG. V-4 Esquema do criostato

Criostato no qual as amostras são colocadas para as medidas. A- isolante elétrico (teflon); B- orifício para suporte das amostras; C- isolante térmico (diatomita); D- vão para o líquido refrigerador; E- elementos aquecedores; F- câmara da amostra; G- isolante térmico (cortiça); H- isolante térmico (teflon); I- orifício para o termopar (cobre-constantan); K- orifício para a colocação do líquido refrigerador.

A tensão de deformação constante, a qual é aplicada na amostra por meio de um parafuso metálico com passo conhecido e que se encaixa em um dos braços de teflon. O outro braço de teflon é encaixado no transdutor, que aplica uma tensão de deformação senoidal de 20 Hz à amostra. Essa tensão pode ser observada, juntamente com a tensão aplicada pelo parafuso por meio do deslocamento de um ponto luminoso (sobre um papel milimetrado) refletido num espelho e procedente de uma fonte de luz coerente. O espelho por estar em contato com o transdutor, vibra na mesma frequência. A localização da fonte luminosa e do papel milimetrado são conhecidas, desta maneira é possível detectar qualquer perda da tensão aplicada (fig. V-6).

Todas as medidas foram feitas em função da temperatura.

A monitoria da hidratação foi qualitativa, usando-se uma amostra "irmã", isto é, obtida do mesmo filme utilizado para a amostra. Após cada ciclo de medidas a amostra "irmã" era pesada e assim tinha-se uma idéia de quanta água era perdida em cada ciclo. A amostra "irmã" foi colocada sobre um cilindro de teflon dentro do criostato ao lado da amostra e na mesma altura.

V-2 Método de Cálculo do Coeficiente Piezoelétrico d

Com o aparelho descrito acima, não medimos di-

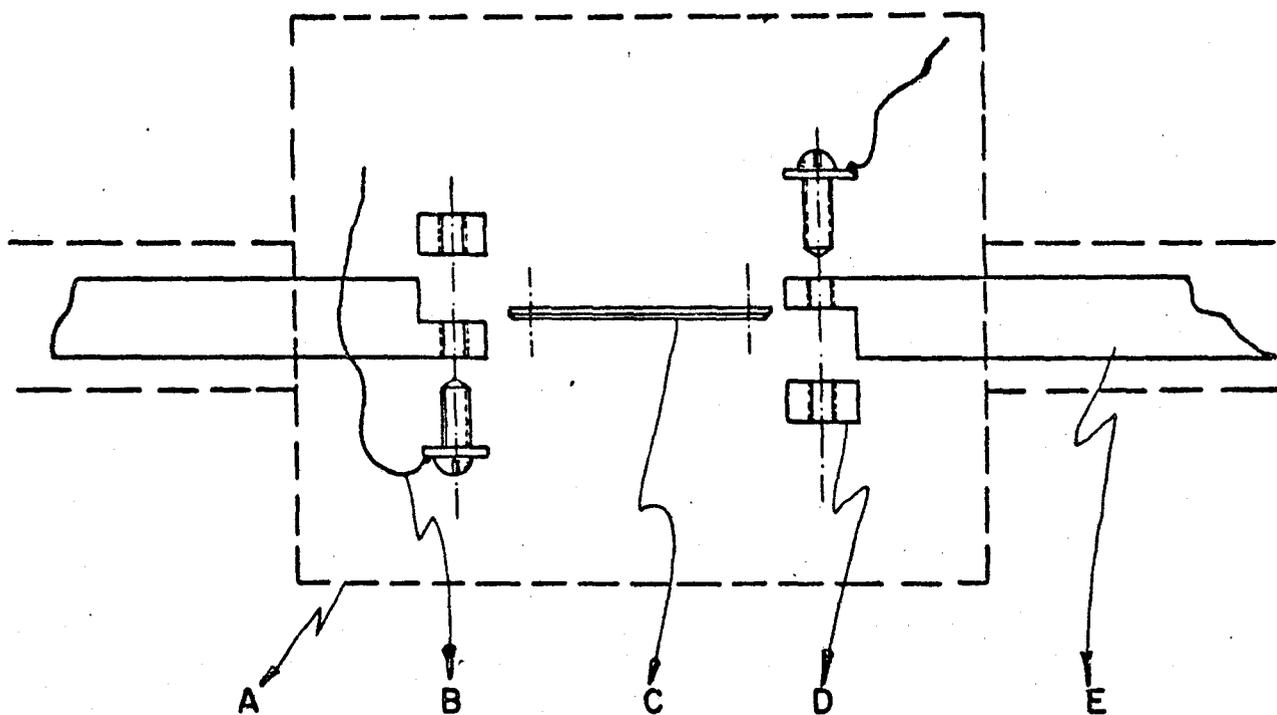


FIG. V-5 Sistema de suporte da amostra no criostato. (A) criostato; (B) ligação elétrica; (C) amostra ; (D) porca e parafuso metálicos; (E) braços suporte de teflon.

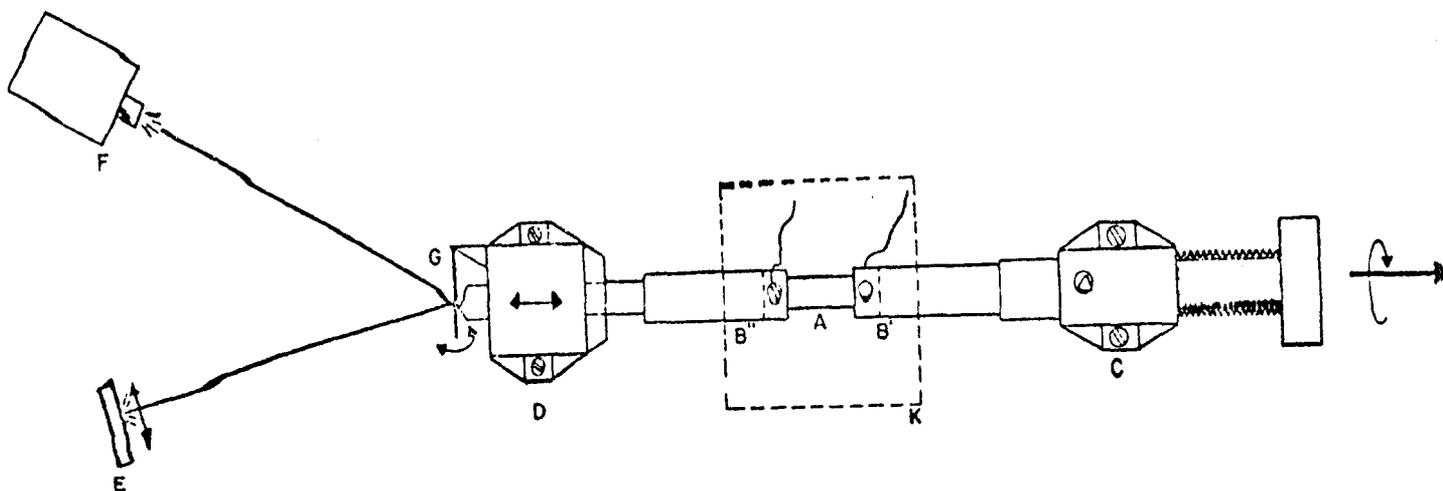


FIG. V-6 Sistema de deformação aplicada
 A amostra (A) é fixada nos braços suportes (B). Um dos braços suportes (B') pode ser movido ao longo do eixo e mantido em uma determinada posição por um sistema de parafusos concêntricos (C). O outro braço suporte (B'') é acoplado ao transdutor (D) que está recebendo um sinal de 20 Hz aplicando assim na amostra uma tensão deformativa senoidal nessa mesma frequência. O ponto luminoso, no papel milimetrado (E) procedente de um fonte de luz coerente (F) é refletido no espelho (G), que permanecerá na posição de "não tensão" enquanto a amostra se encontrar livre de qualquer tensão deformativa. No momento em que os parafusos (C) fizerem com que o braço suporte (B') se desloque a amostra estará submetida a uma tensão deformativa constante; o braço (B'') se deslocará uma distância equivalente e o espelho (G) acompanhará este movimento fazendo com que o ponto luminoso em (E) ocupe uma nova posição.

retamente d , mas sim a tensão de cancelamento Θ , por ser experimentalmente mais simples.

As equações operacionais são descritas baseadas na fig. V-1. Chamamos V a tensão elétrica aplicada ao transdutor e Θ' e Θ'' as frações desta tensão aplicada a capacitância C e a resistência R respectivamente; as cargas de cancelamento para um nulo nos galvanômetros são:

$$Q' = \Theta' CV \quad V-1$$

$$Q'' = \Theta'' w R$$

onde w é a frequência do oscilador e Θ' e Θ'' as indicações das razões dos divisores resistivos da tensão para um nulo nos galvanômetros.

A força gerada pelo transdutor é proporcional a corrente e também a voltagem elétrica, isto é:

$$F = \alpha V \quad V-2$$

onde α é a constante do aparelho.

Como Q' e Q'' são ajustados a fim de cancelar a carga de polarização piezoelétrica, P pode ser escrito como

$$P = Q/A \quad V-3$$

onde A é a área dos eletrodos da amostra.

A tensão mecânica é expressa por:

$$T = F/a \cdot b \quad V-4$$

onde b e a são largura e espessura da amostra respectivamente (Cap. IV). Foi visto no capítulo III que:

$$d = P/T \quad V-5$$

substituindo-se as equações V-1, V-2, V-3, V-4 em V-5 temos

$$d' = \alpha (a.b/A) C \theta'$$

$$d'' = \alpha (a.b/A) (\theta''/wR) \quad V-6$$

$$d = d' - i d''$$

Neste trabalho a resistência, capacitância e constante do aparelho são:

$$\alpha = 2,7 \text{ Volts/Newton}$$

$$C = 1000 \text{ pFaraday}$$

$$R = 10 \text{ M ohms}$$

$$w = 2 \pi \times 20 \text{ rad/segundo}$$

Com esses parametros, mais os que foram dados no capítulo anterior calculou-se os coeficientes piezoelétricos que estão graficados nas figuras do próximo capítulo.

CAPÍTULO VI

Resultados e Discussões

As figuras que se seguem mostram a parte real do coeficiente piezoelétrico d_{14} versus temperatura para filme de colágeno reconstituído e orientado. Cada curva representa um ciclo completo, isto é, aquecimento de amostra até 65°C e resfriamento termal (durante todo o ciclo o criostato é mantido fechado).

A figura VI-1 mostra as três primeiras curvas obtidas, observa-se que a parte real do coeficiente piezoelétrico (d_{14}) é sucessivamente maior a medida que são feitos os ciclos de medidas. Quando essas medidas foram feitas não havia nenhum tipo de controle da perda de água da amostra.

A figura VI-2 mostra dois ciclos de medidas; durante estes ciclos (e em todos os ciclos seguintes) foi colocado dentro do criostato um filme idêntico ao da amostra e que foi denominado de amostra "irmã". Esta amostra "irmã" serviu para um controle qualitativo da perda de água pela amostra. Antes e depois de cada ciclo a amostra era pesada.

No primeiro (1º) ciclo da figura VI-2 a amostra irmã tinha como peso inicial 18,38mg e peso final 17,26mg. No segundo (2º) ciclo, o peso inicial era 17,49mg e o final 17,12mg. Quando fizemos as primeiras medidas, esperávamos que

o aquecimento do segundo ciclo viesse pelo mesmo caminho que o resfriamento do primeiro ciclo. Isto não aconteceu, provavelmente devido a agitação térmica das moléculas de água que entram e saem da amostra. O fato de que em cada ciclo os coeficientes piezoelétricos serem diferentes no aquecimento e no resfriamento pode levar a pensar que há durante o ciclo algum tipo de mudança na conformação da macromolécula do colágeno, modificando os sítios de permanência da água.

A figura VI-3 mostra mais dois ciclos, medidos 11 dias após os ciclos da figura VI-2. Durante esses 11 dias a amostra ficou em contato com o meio ambiente, para hidratar. O peso inicial da amostra no 1º ciclo era 17,59mg e o final 17,23mg, apesar de ter ficado exposta ao meio ambiente, esses onze dias não foram suficientes para a recuperação total da água perdida nas duas primeiras medidas (fig. VI-2). O peso inicial da amostra no 2º ciclo da figura VI-3 era 17,23mg e o final 16,74mg.

Observando-se as tres figuras já mostradas, pode-se perceber que para uma mesma temperatura (em um mesmo ciclo) o coeficiente piezoelétrico no aquecimento é menor do que no resfriamento, este efeito pode ser devido a perda de água e também devido a alguma mudança conformacional na estrutura da macromolécula.

A figura VI-4 mostra dois ciclos de medidas, no primeiro ciclo (1º) o peso inicial da amostra era 17,24mg e o peso final 17,18mg. No segundo ciclo (2º) o peso inicial

era 17,18mg e o final 17,20mg, este ciclo de medidas foi feito em ambiente úmido, neste caso, o caminho no aquecimento foi aproximadamente igual ao caminho no resfriamento. Tal resultado é um reforço para a hipótese de que o comportamento da amostra em um ciclo comum é devido a perda de água.

Todos os dados descritos acima referem-se à parte real do coeficiente piezoelétrico de tensão d'_{14} ; a parte imaginária (d''_{14}) não foi mostrada pois os resultados não traziam informação nenhuma a respeito do comportamento da amostra, a ordem grandeza da parte imaginária foi de 10^{-14} C/N.

Os valores obtidos para d'_{14} neste trabalho não são os valores que seriam obtidos se o filme estivesse 100 % orientado. Tendo em vista a Teoria Geométrica do Esticamento descrita no apêndice I, pode-se verificar que com o grau de orientação que temos ($f = 1,58$) o d'_{14} obtido experimentalmente é:

$$d'_{14} = 0,23 d'_{14} \text{ efetivo}$$

A parte real do coeficiente piezoelétrico para um filme 100 % orientado será 4,34 vezes maior do que os resultados aqui obtidos.

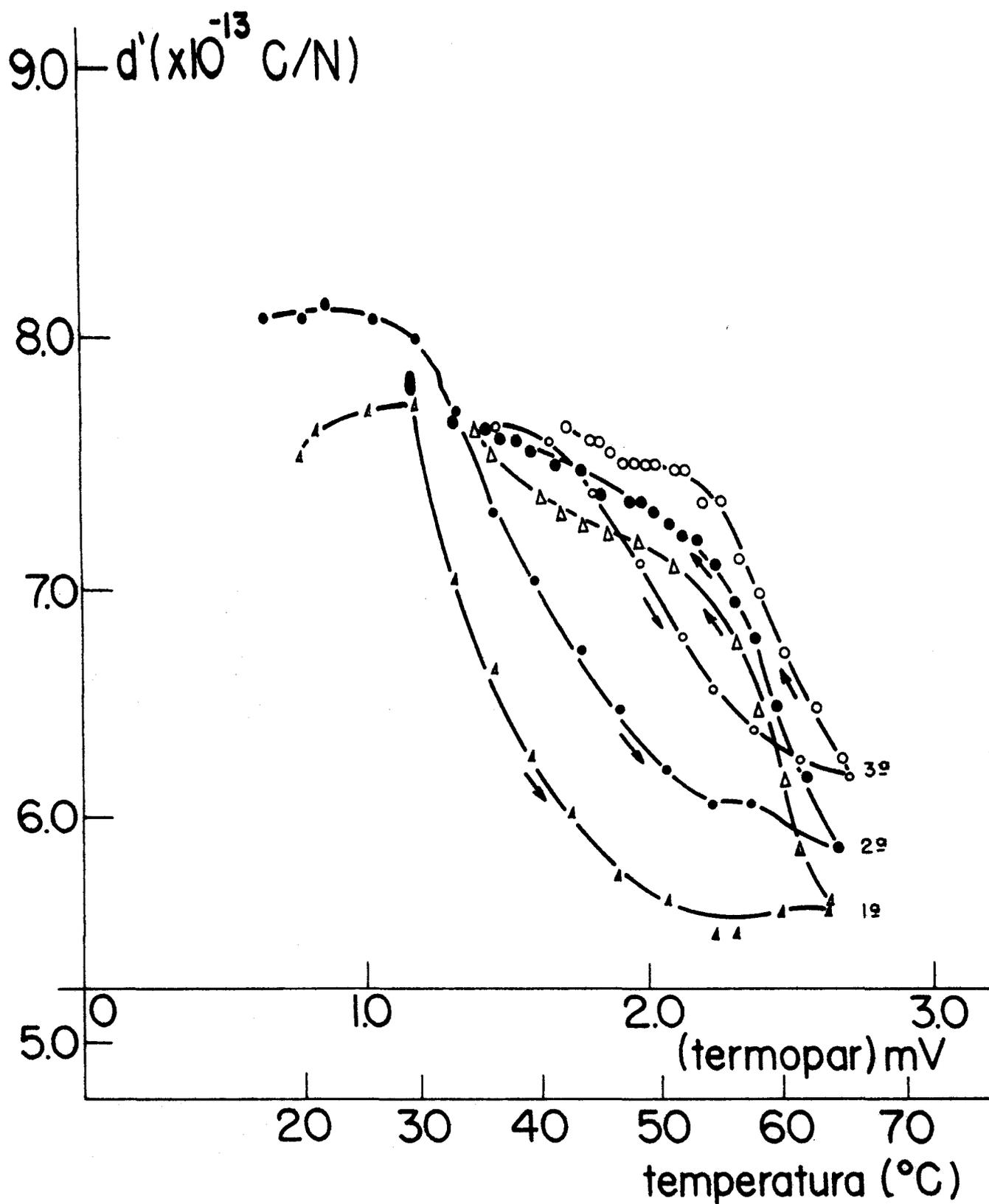


FIG. VI-1 Coeficiente piezoelétrico d_{14} para filmes de colágeno reconstituído e orientado versus temperatura.

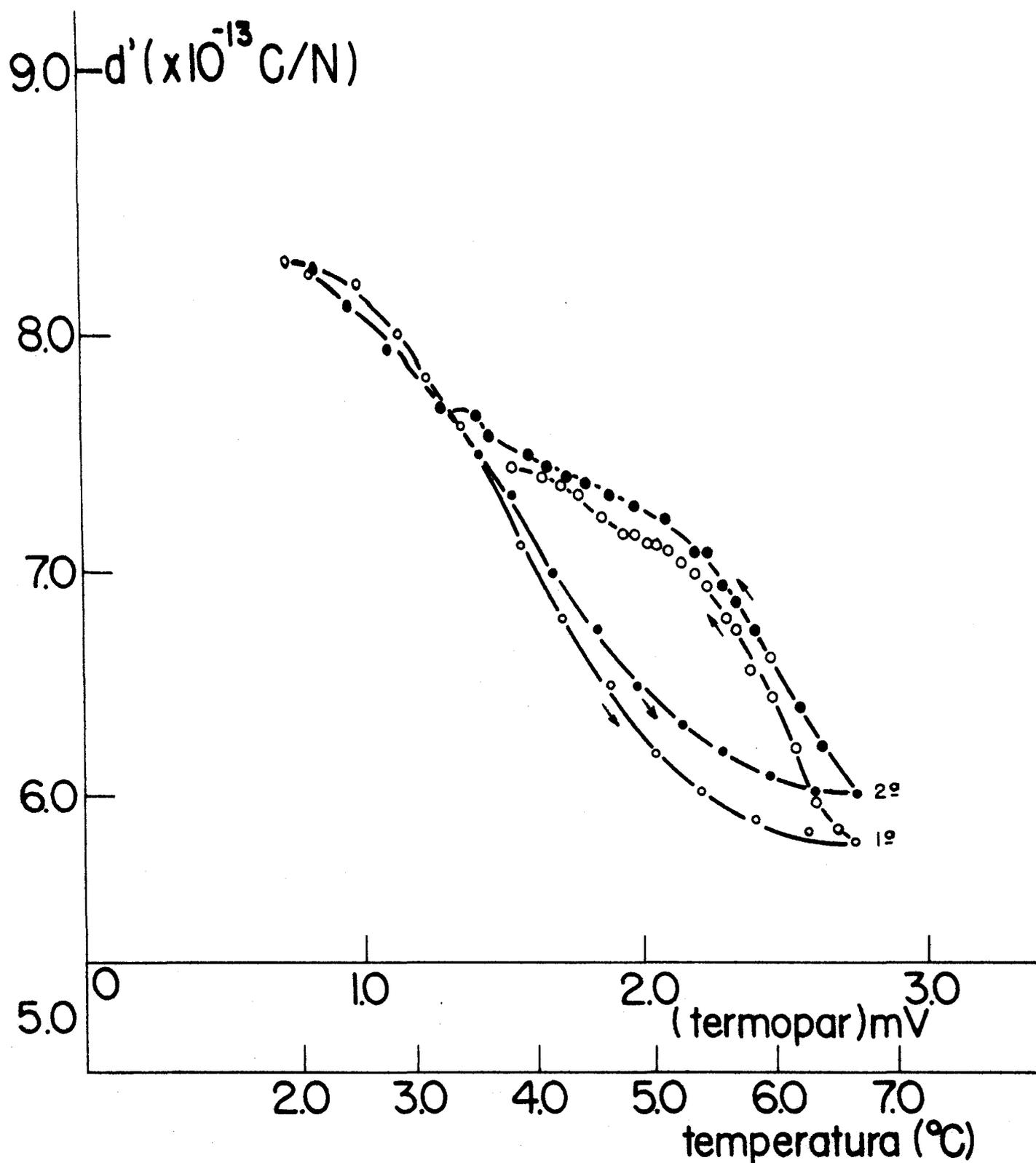


FIG. VI-2 Coeficiente piezoelétrico d_{14} para filmes de colágeno reconstituído e orientado versus temperatura.

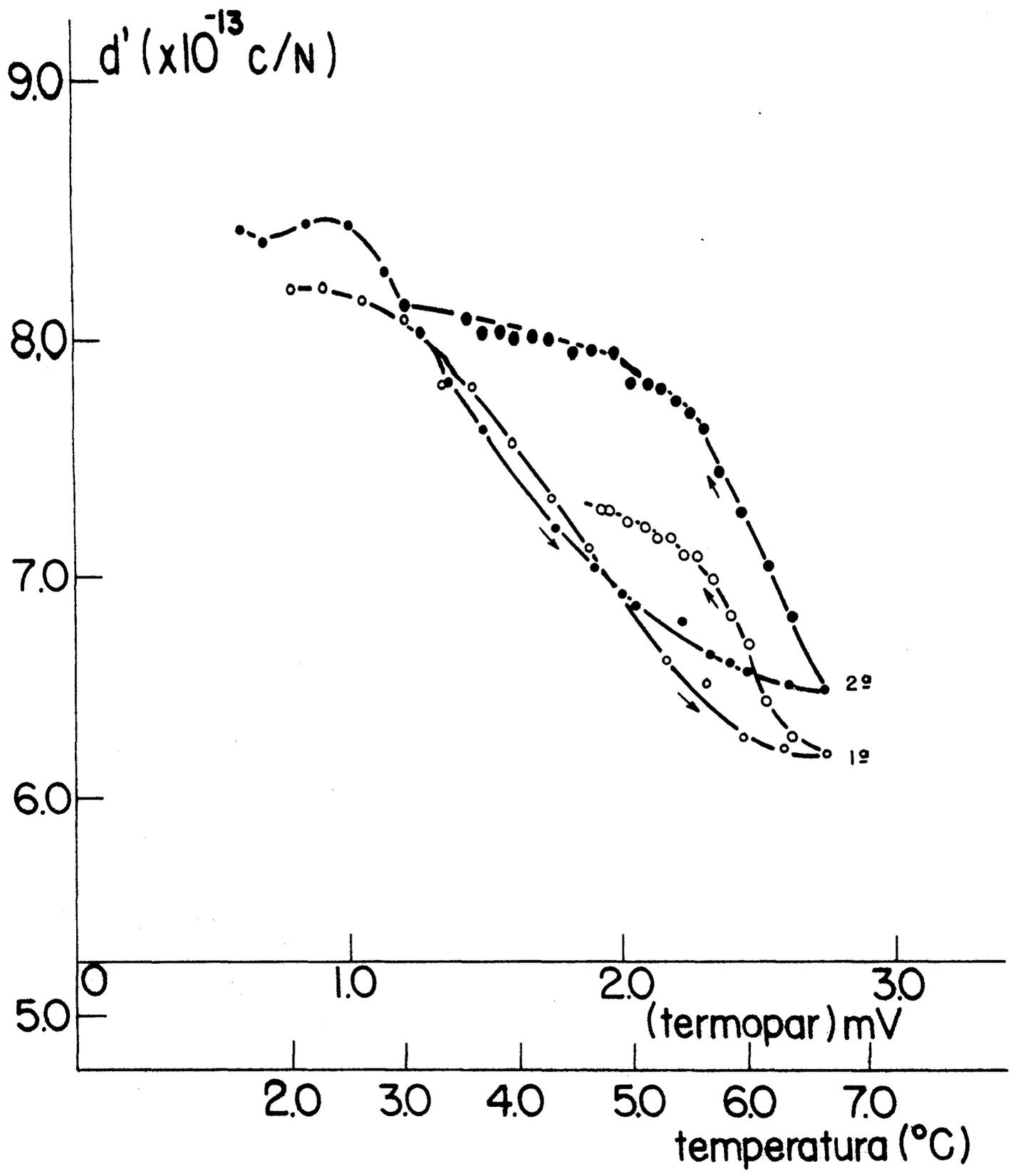


FIG. VI-3 Coeficiente piezoelétrico d_{14} para filmes de colágeno reconstituído e orientado versus temperatura.

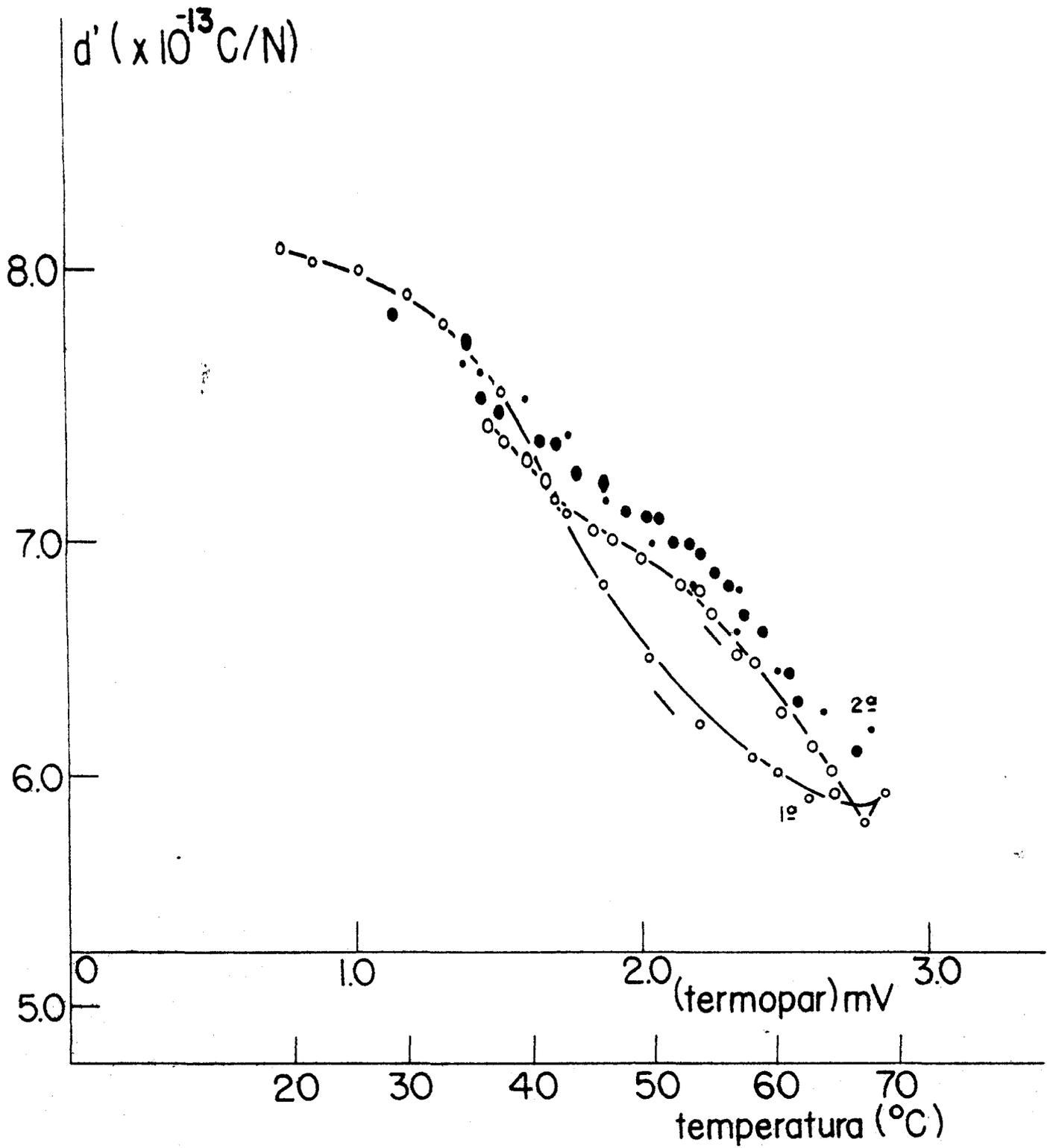


FIG. VI-4 Coeficiente piezoelétrico d_{14} para colágeno versus temperatura. Nesta figura vê-se duas curvas, a primeira idêntica as anteriores, a segunda foi feita em ambiente úmido para verificação se o efeito mostrado nas curvas anteriores era devido a perda de água. Esse gráfico revelou que os coeficientes são aproximadamente iguais tanto no aquecimento como no resfriamento devido.

CAPÍTULO VII

Conclusões

Baseados nos dados do capítulo anterior, verificamos que a amostra depois de sucessivas medidas não recupera seu peso na totalidade, mesmo sendo deixada exposta a ambientes úmidos.

Verificamos também que em ciclos consecutivos os valores dos coeficientes piezoelétricos do último ciclo são bem maiores do que os valores do primeiro ciclo.

Quando as medidas são realizadas em ambientes úmido, os valores do coeficiente piezoelétrico no aquecimento e no resfriamento são aproximadamente iguais.

Pode-se concluir também que quanto mais seca está a amostra maior é o valor do coeficiente piezoelétrico.

SUGESTÕES

- 1) MEDIDA DO COEFICIENTE PIEZOELÉTRICO VERSUS TEMPERATURA E VERSUS HIDRATAÇÃO PARA FILMES DE COLÁGENO IMPREGNADO COM DIVERSOS TIPOS DE IMPUREZA OU SAIS E COMPARÁ-LOS COM OS OBTIDOS EM OSSO, TENDÃO E NESTE TRABALHO.

- 2) MONTAGEM DE UM SISTEMA DIFERENTE DE CRIOSTATO PARA SE FAZER MEDIDAS COM UMIDADE RELATIVANDO AR CONSTANTE E MONITORADA E FAZER MEDIDAS DOS COEFICIENTES PIEZOELÉTRICOS VERSUS TEMPO E VERSUS HIDRATAÇÃO.

CONTRIBUIÇÕES ORIGINAIS DESTE TRABALHO

- Preparação de colágeno

 - Método de orientação dos filmes

 - Controle qualitativo da hidratação
- 

BIBLIOGRAFIA

- 1 - CADY, W.G., "Piezoelectricity", Dover, New York (1946).
- 2 - SHUBNIKOV, A.V., "Piezoelectric Textures", Akademy Nank SSSR, Moskow (1946).
- 3 - MARTIN, A.J.P., "Tribo-electricity in wood and hair" Proc. Phys. Soc. 53, 186 (1941).
- 4 - FUKADA, E. and YASUDA, I., "On the piezoelectric effect of bone", J. Phys. Soc. Japan 12, 1158 (1957).
- 5 - FUKADA, E. and YASUDA, I., "Piezoelectric effect in collagen" Japan J. Appl. Phys. 3 117 (1964).
- 6 - FUKADA, E.; DATE, M. and HIRAI, N., "Piezoelectric effect in poly ~~f~~ methyl- l- glutamate" Nature Lond. 211, 1079 (1966).
- 7 - FURUKAWA, T.; UEMATSU, Y.; ASAKAWA, K.;, and WADA, Y; "Piezoelectricity, pyroelectricity and thermoelectricity of polymer films" J. Appl. Polym. Sci., 12, 2675 (1968).
- 8 - FURUKAWA, T., and FUKADA, E. "Piezoelectric effect and its temperature variation in optically active polypropilene oxide", Nature, 221, 1235 (1969).
- 9 - DATE, M., TAKASHITA, S., and FUKADA, E. "Temperature variotion of piezoelectric moduli in oriented poly-methyl-L-glutamate" J. Polym. Sci. A28 ,

- 61 (1970).
- 10 - FUKADA, E. Progress in Polymer Science, Japan 2 329
(1972).
- 11 - FUKADA, E. "Piezoelectric phenomena in biological
polymers" *Chemica '70*, 56 (1970).
- 12 - FUKADA, E. J. Phys. Soc. Japan, 12 1301 (1956).
- 13 - SHAMOS, M. H. & LAVINE, L.S. & SHAMOS, M.I. Nature 197
81 (1963).
- 14 - SHAMOS, M.H. & LAVINE, L.S. Nature, 213, 267 (1967).
- 15 - ANDERSON, J.C., ERIKISSON, C. Nature 227, 491 (1970).
- 16 - BASSET, L.A.C. Calc.Tiss. Res. 1 252 (1968).
- 17 - BASSET, L.A.C. - Journal of Biomechanics, 5 180 (1972).
- 18 - LIN, JJ, SHAMOS, M.H., BIOPHY J., 11, 648 (1971).
- 19 - RICH, A., CRICK, FHC., J. Mol. Biol., 3 483 (1961).
- 20 - RAMACHANDRAN, GN., KARTHA, G., Nature, 176, 593 (1954).
- 21 - RAMACHANDRAN, G.N., SASISEKHRAN, V., Biochim. Biophys.
Acta 109, 314 (1965).
- 22 - NETTO, T.G. ZIMMERMAN, R.L. Biophysical Journal, 15
573 (1975).
- 23 - ZIMMERMAN, R.L.; SUCHICITAL, C.; FUKADA, E.J; of
Applied Polimer Sci - 19, 1373 (1975).
- 24 - ZIMMERMAN, R.L. Biophys. J. 1341 (1976).

- 25 - SHAMOS, M.H. & LAVINE, L.S. - Clin. Orthop. 35 177
(1964).
- 26 - FUKADA, E. Ultrasonic october - 299 (1968).
- 27 - SCHUBERT, M. & HAMERMAN, D. A primer on Connective
Tissues Biochemistry - cap. 2 Lea & Febiger
Philadelphia -(1968).
- 28 - RAMACHANDRAN, G.N. & KARTHA, G. - Nature (Lond) 218
166 (1968).
- 29 - RAMACHANDRAN, G.N. & VENKATACHALAN, C; N. - Biochim.
Biophys. Acta 120 457 (1966).
- 30 - FIETZEK, P. & REXRODT, F.W. - Eur. J. Biochem. 59 113
(1975).
- 31 - HILLER, E.J. - Biochemistry 10 - 3030 (1971).
- 32 - TRELSTAD, R.L.; KANG, A.H.; IGARASHI, S. and GROSS, J,
Biochemistry 9 - 4993 (1970).
- 33 - TIMPL, R.; GLANVILLE, R.W.; NOWACH, H.; WIEDEMANN, H.
FIETZEK, P. and KUHN, H. - Phys. Chem. 356
1783 (1975).
- 34 - CHUNG, E. & MILLER, D.J. - Science 183 1200 (1974).
- 35 - WIDERMAN, H.; CHUNG, E.; FUJII, T.; MILLER, E.J. & KUHN,
K. -Eur. J. Biochem. 51 363 (1975).
- 36 - KEFALIDES, N.A. - Int. Rev. Conn. Tiss. Res. 6 63
(1973).

- 37 - LEHNINGER, A.L. -"Biochemistry" Worth Publishers Inc.
2ª edição.
- 38 - MARTIN, A.J.P. Proceeding of the Physical Society 53
186 (1941).
- 39 - DUCHESNE, J.; DEPIREUX, J.; BERTINCHAMPS, A.; CORNET, N.
and van der KAA, J.M. Nature 188 405 (1960).
- 40 - HAUVER, G.E. J. of Applied Physics 36 2113 (1965).
- 41 - BASSET, C.A.L. & BECKER, R.O. Science 137 1063 (1962).
- 42 - SHAMOS M.H. & LAVINE, L.S. Cil Orthop 35 177 (1964).
- 43 - ANDERSON, J.C. & ERIKSSON, C. Nature (Lond) 218 166
(1968).
- 44 - FUKADA, E. Advan. in Biophys. 6 121 (1974).
- 45 - STARK, L. & AGARWAL, G. Plenum Press - N. York 1969 .
- 46 - HIPPEL, A. R.von "Dielectric and Waves" J.W. & Sons
1954 vol. I.
- 47 - HIPPEL, A.R.von "Dielectric Materials and Applications"
J.W. & Sons 1954 vol. II .
- 48 - NYE, J. "Physical Properties of Cristal" Oxford Uni.P
Prees 1957 .
- 49 - KITTEL, C. Introduction to Solid State Physics 4ª Ed.
Jhon Wiley & Sons 1971 .
- 50 - MASON, W.P. & THURSTON, R.N. Physical Acoustic vol.IX
Academic Press 1972 .

- 51 - NETTO, T.G. Tese de Mestrado Ins. Fis. Quím. S.Car-
los 1973 .
- 52 - NETTO, T.G. Tese Doutoramento F.F.C.L. de Ribeirão
Preto 1973 .
- 53 - FUKADA, E. "Piezoelectricity" Privative Publications
Instituto de Física e Química de São Carlos -
1974 .
- 54 - FUKADA, E. "Biorheology" 5 199 (1968).
- 55 - PANY, D.A.D. Polymer 18 1091 (1977).

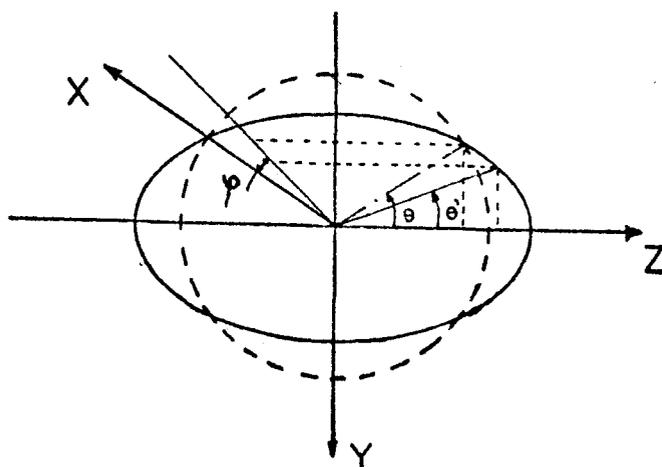
APÊNDICE I

Modelo geométrico de orientação de fibras.

Supondo-se válido que o coeficiente piezoelétrico d é proporcional à diferença entre as médias $\cos \theta'$ e $\sin \theta' \cos \psi$, isto é:

$$d = C \left[\langle \cos \theta' \rangle - \langle \sin \theta' \cos \psi \rangle \right]$$

Os ângulos ψ e θ são mostrados na figura e C é a constante de proporcionalidade.



onde- θ = ângulo entre a direção de esticamento e o eixo da molécula (antes do esticamento)

θ' = o mesmo ângulo acima depois do esticamento

ψ = ângulo entre a projeção do eixo da amostra sobre o plano xy (Perpendicular à direção de esticamento) e o eixo x.

Este ângulo não varia se a amostra é esticada ao longo do eixo z.

Sendo f o fator de esticamento, a relação entre θ e θ' é:

$$\text{tg } \theta' = \text{tg } \theta / f^{3/2}$$

o valor médio de $\cos \theta'$ é:

$$\cos \theta' = \frac{f^3 - f^{3/2}}{f^3 - 1}$$

e o valor médio de $\sin \theta' \cos \psi$ é:

$$\sin \theta' \cos \psi = 2 D(k) / \pi f^{3/2}$$

$$\text{onde } D(k) = \pi \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n}{2n-1} \left[\frac{(2n-1)!}{2^n n!} \right] k^{2(n-1)}$$

$$\text{e } k = \frac{(f^3 - 1)^{1/2}}{f^{3/2}}$$

para cada valor de k ($k < 1$ pois $f \geq 1$) a série $D(k)$ converge.

Agora podemos escrever o coeficiente d assim:

$$d = \left[\frac{f^3 - f^{3/2}}{f^3 - 1} - \frac{2}{\pi f^{3/2}} D(k) \right] C$$

Em particular quando $f=1$ $d=0$ (amostra não esticada).

A fig. 3 mostra a relação do fator de esticamento f com o coeficiente d .

