

CENTRO BRASILEIRO DE PESQUISAS FISICAS

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA E DAS CARGAS
SUPERFICIAIS SOBRE A ESTABILIDADE MECÂNICA
DA MEMBRANA DO ERITRÓCITO

CÉLIA CORTEZ-MAGHELLY
(Tese de Doutorado)

Rio de Janeiro

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA E DAS CARGAS SUPERFICIAIS SOBRE A

1991



1991109

C828

020914

CÉLIA CORTEZ MAGHELLY

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA E DAS CARGAS
SUPERFICIAIS SOBRE A ESTABILIDADE MECÂNICA
DA MEMBRANA DO ERITRÓCITO**

**Tese apresentada ao Centro Brasileiro
de Pesquisas Físicas, visando a obten
ção de grau de Doutor em Ciências.**

Rio de Janeiro

1991

*Ao Mauro, companheiro e
amigo de todos os momentos.*

Ào Christian e à Madelayne

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Paulo Mascarello Bisch pela orientação e pelos ensinamentos.

À Prof.^a Nice Maria Americano da Costa Pinto, companheira de grupo e contemporânea do CBPF, pelas discussões sobre alguns aspectos da análise linear.

Ao meu marido, Mauro, e aos meus filhos, Christian e Madelayne, pela paciência e incentivo.

Ao Luiz Antônio Reis, o Lu do CBPF, pela minha iniciação na computação científica.

À Prof. Walda Sardenberg Xavier Queiroga, da Comissão de Valores Mobiliários, pela suporte técnico na parte de software.

Ao Prof. Renato Portugal, do DRP, pelo processamento dos dados no *REDUCE* para a obtenção da solução analítica do determinante da matriz da Relação de Dispersão.

Aos colegas do CBPF pelas discussões e ensinamentos, pela amizade e incentivo nas horas mais difíceis.

Aos funcionários administrativos do CBPF, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho. Quero destacar Wanda Wood de Carvalho, do DMF, Maria Betânia Perri Santos e Jacira Ramos da Silva Bastos, do DME, e Myrian Simões Coutinho, da CFC, sempre solícitas e eficientes.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Enfim, à todos que tornaram possível que eu galgasse mais esse degrau em minha vida.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I - A Membrana Biológica	6
1 - Constituição e Organização da Membrana biológica	6
1.1-Bioquímica da Membrana	6
1.2-Modelos de Membrana	9
2 - Características Elétricas da Membrana Biológica	15
3 - O eritrócito e sua Membrana	21
CAPÍTULO II - DISTRIBUIÇÃO DE POTENCIAL E CARGAS ELÉTRICAS ATRAVÉS DA MEMBRANA	26
1 - Modelo Adotado	26
2 - Cálculo do Perfil do Potencial	28
2.1-Solução da Equação de Poisson-Boltzmann para a Membrana	33
2.2-Cálculo dos Potenciais Superficiais	35
3 - O Perfil do Potencial para a Membrana do Eritró- cito	38
4 - Discussão e Conclusões	46

CAPÍTULO III - A ANÁLISE LINEAR E A PERTURBAÇÃO DO POTENCIAL ELÉTRICO 50

1 - Introdução..... 50

2 - Equações Básicas da Hidrodinâmica Interfacial 50

2.1-Equação de Navier-Stokes..... 50

2.2-Dinâmica Superficial 52

2.2.1-Balanco do stress 54

2.2.2- Cinética da matéria adsorvida 54

3 - Análise Linear da Perturbação 55

3.1-Campo de Velocidade do Estado Perturbado..... 56

3.2-As Condições de Contorno na Superfície Perturbada... 57

3.3-Determinação das Perturbações Superficiais de..... 65

3.4-Determinação das Perturbações dos Potenciais nas fases..... 71

3.4.1-As Perturbações do Potenciais nas Fases Externas.. 71

3.4.2-As Perturbação do Potencial Intrínseco da Membrana 73

3.5-Determinação das Perturbações do Potencial nas Superfícies. 75

3.5.1-Aplicação das Condições de Contorno em S1..... 75

3.5.2-Aplicação das Condições de Contorno em S2..... 77

3.5.3-As Perturbações dos Potenciais Superficiais..... 79

3.6-As Perturbações dos Campos Elétricos em S1 e S2..... 82

CAPÍTULO IV - ANÁLISE LINEAR DA PERTURBAÇÃO E RELAÇÃO DE DISPERSÃO 84

1 - Introdução 84

2 - Balanco dos Momentos 84

2.1-Stress Normal.....	84
2.2-Stress Longitudinal.....	90
3 - Relação de dispersão.....	95
4 - Conclusões.....	102

CAPÍTULO V - APLICAÇÃO DA ANÁLISE DA PERTURBAÇÃO À MEMBRANA DO ERITRÓCITO.....	104
1 - Introdução.....	104
2 - Método de Solução da Equação de Dispersão.....	105
3 - Dados Numéricos e suas Correlações.....	108
4 - Influência das Densidades de Carga na Estabilidade da Membrana.....	114
5 - Influência da Força Iônica na Estabilidade da Mem- brana.....	122
6 - Discussão e Conclusões.....	135
6.1-Densidade de Carga e Estabilidade.....	138
6.2-Força Iônica e Estabilidade.....	141
CONCLUSÕES GERAIS.....	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	151

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.....	7
Figura 1.2.....	9
Figura 1.3.....	13
Figura 1.4.....	24
Figura 2.1.....	27
Figura 2.2.....	40
Figura 2.3.....	42
Figura 2.4.....	43
Figura 2.5.....	44
Figura 4.1.....	96
Figura 5.1.....	112
Figura 5.2.....	116
Figura 5.3.....	117
Figura 5.4.....	120
Figura 5.5.....	121
Figura 5.6.....	123
Figura 5.7.....	124
Figura 5.8.....	127
Figura 5.9.....	128
Figura 5.10.....	130
Figura 5.11.....	132
Figura 5.12.....	133
Figura 5.13.....	134

RESUMO

A Análise Linear em Modos Normais pode ser aplicada como um método matemático no estudo da evolução de perturbações ondulatórias em membranas biológicas. No presente trabalho, essa análise é desenvolvida para um modelo que toma a membrana do eritrócito como um filme fluido, plano e infinito de espessura h ($z=-h/2$ a $z=h/2$) e de reologia intrínseca. Esse filme separa duas fases volumétricas viscosas, sendo o problema formulado sob o ponto de vista hidrodinâmico. Dessa forma, obtem-se a equação de dispersão típica do movimento da membrana. Nesta, utilizando dados numéricos relativos à membrana do eritrócito, estudamos as curvas de estabilidade crítica em função da carga elétrica superficial e de força iônica.

Segundo esses resultados, a estabilidade mecânica da membrana aumenta com a diminuição do valor absoluto da carga elétrica da superfície externa da célula. Da mesma forma conclui-se que as alterações do potencial transmembranar e da carga superficial, que acompanham qualquer mudança de força iônica, são as grandes responsáveis pelo aumento da estabilidade que é observada quando essa força é diminuída.

A comparação dos resultados aqui obtidos com os experimentais apresentados por Coackley e Deeley [19] indicam que a análise hidrodinâmica linear constitui um método eficiente para o estudo da influência de parâmetros físico-químicos sobre a estabilidade da membrana. Embora esse método não permita a previsão do tempo de ruptura, pois é capaz apenas de descrever a

fase inicial do processo de formação das perturbações, quando estas ainda são pequenas em comparação com as dimensões do sistema, é possível com ele determinar o número médio de ondulações por célula.

ABSTRACT

Normal Modes Linear Analysis can be applied to study the evolution of perturbations in biological membranes. This analysis is developed for a model that assumes the erythrocyte membrane as a plane infinite fluid film of thickness h . The film has an intrinsic rheology and separates two viscous bulk phases. The problem is formulated from a hydrodynamical point of view. The characteristic dispersion equation is obtained by solving the dynamic equations. The numerical values related to erythrocyte membrane are applied to obtain the critical stability curves as a function of surface electric charge and of ionic strength.

According to these results, the mechanical stability of the membrane increases with the decrease of the absolute value of the electric charge on the outer membrane surfaces. We conclude that the changes of the transmembrane potential and surface charge that follow to the change of ionic strength are the responsible for the stability increase observed when the ionic strength is diminished.

The comparison to the experimental results presented by Coackley and Deeley [19] indicates that the method of linear hydrodynamical analysis can be used to study the effect of physico-chemical parameters on the membrane stability. Although this method does not permit to obtain the membrane rupture time, since it is only able to describe the initial steps of evolution, when the perturbations are smaller as compared to system dimensions, it is possible to obtain the average number of waves per cell.

INTRODUÇÃO

Muitos estudos foram desenvolvidos nos últimos anos, em busca de uma compreensão melhor dos critérios de estabilidade relativos a uma interface entre dois fluidos imiscíveis [9,20,41,43,83,91]. Sabemos que essa região de transição entre os dois meios apresenta propriedades físico-químicas particulares, que são responsáveis por uma série de fenômenos observados em diversos tipos de sistemas, incluindo os biológicos.

Durante qualquer movimento e qualquer deformação de uma interface, tanto suas propriedades mecânicas quanto as eletroquímicas sofrem mudanças locais e tais mudanças podem promover uma instabilidade interfacial [9]. As interações célula-célula e célula-substrato são exemplos de fenômenos ainda pouco compreendidos, que podem encontrar no conceito de instabilidade interfacial um meio de elucidação [17,44].

Muitas das funções celulares estão associadas com a ocorrência de deformações ondulatórias da membrana e o crescimento dessa deformação termina, normalmente, com a formação de vesículas. Um exemplo disto é o transporte de substâncias do aparelho de Golgi para outras partes da célula, que é feito, de acordo com a microscopia eletrônica, através de vesículas que se formam das ondulações superficiais dessa organela [44,68]. Esse é um processo espontâneo, mas a formação desse tipo de perturbação em membranas também pode ser observada durante uma excitação de origem externa, tal como o aquecimento do meio de dispersão das células [18,25,26,108]. Neste caso, a velocidade com

que se desenvolve o processo até a formação de vesículas depende da taxa de crescimento da temperatura [19].

Há cerca de 100 anos atrás, *Schultze* [74] observou a formação de tais ondulações superficiais na borda de hemácias, a partir do momento em que a temperatura do meio onde se encontravam as células atingia 52°C. Seguia-se, então, um processo de segmentação, com o aparecimento de fragmentos mais ou menos esféricos resultantes do crescimento das ondulações. Esses fragmentos permaneciam em contato com a célula através de uma "fina haste"; porém, essa fissão não levava a uma perda de hemoglobina pela célula.

Coackley e Deeley [18,19,21] estudaram intensamente esse fenômeno e observaram o aparecimento de tais vesículas 0.3s após o início da formação da primeira onda; isto para uma taxa de aquecimento de 1°C/s. Nesse caso, as células se encontravam em solução cuja a força iônica era 0.20M e os autores demonstraram experimentalmente a importância da força iônica e da carga superficial externa para a formação desse tipo de perturbação ondulatória e a posterior formação de vesículas.

Muitos autores indicam que essas mudanças que ocorrem nas membranas, à temperaturas superiores a 48°C, estão relacionadas com a desnaturação da espectrina [11,29,79,85]. Mas, a importância das forças eletrostáticas na membrana biológica como um fator determinante na estrutura, forma e alterações morfológicas da membrana já foi ressaltada por diversos autores e muita atenção tem sido dada ao papel desempenhado por esse tipo de interação nesses fenômenos [12,19,55,106].

Estudos calorimétricos de fragmentos de membrana demonstram a existência de cinco transições térmicas [11]. A tab.I.1 apresenta as temperaturas dessas transições. As principais mudanças morfológicas ocorrem nas temperaturas relativas as transições A,C e D.

TABELA I.1
Transições Térmicas de Fragmentos de Membranas de Eritrócitos.

TRANSIÇÃO TERMICA	TEMP. (°C)	MUDANÇA CELULAR	TEMP. (°C)
A	49.5	Fragmentacao	50
B	55		
B	62		
C	66	Hemolise	65
D	77	Microvesiculacao	>70

Brandts [11] e Coackley [20].

A transição A envolve a desnaturação da espectrina (ver cap.I), com redução no conteúdo α -hélice dessa proteína. A transição C corresponde a desnaturação da porção transmembranar das proteínas e quanto a transição D, ainda não se conhece a correspondência.

Durante o desenvolvimento de tais fenômenos, a membrana do eritrócito apresenta dois tipos básicos de instabilidade:

- a) Buckling - resultando em "dobras" da membrana, sem variação na sua espessura;
- b) Ruptura - devido a variação da espessura, o que leva à fragmentação, ou à hemólise.

Dois métodos matemáticos podem ser usados para descrever fenômenos dinâmicos desse tipo: a análise hidrodinâmica linear e a não-linear [44]. A análise linear assume que pequenas mudanças interfaciais podem ser amplificadas, dependendo das condições físico-químicas do meio [4,29]. Nesse caso, a deformação de uma superfície plana pode ser expressa como uma integral de Fourier que inclui todos os comprimentos de onda (λ) possíveis da perturbação. Se todas as perturbações diminuem com o tempo, o sistema é estável; caso contrário, se para algum λ a perturbação cresce, o sistema é instável [44]. Esse método foi utilizado por Chandrasekhar [14] na determinação da área de expansão de um colóide e estudo da sua estabilidade interfacial.

A análise linear descreve o desenvolvimento inicial de pequenas perturbações comparadas às dimensões do sistema; no caso de grandes perturbações, a análise não-linear torna-se o método indicado [4].

Em nosso trabalho desenvolvemos a análise hidrodinâmica linear em modos normais para um modelo de membrana e verificamos o grau de eficiência desse método matemático para o estudo da influência de certos parâmetros físico-químicos sobre a estabilidade mecânica da membrana do eritrócito, pela comparação dos nossos resultados com os experimentais obtidos por Coackley et al [19].

Para o estudo da resposta de um dado sistema a uma perturbação, é necessário que o estado inicial (não-perturbado) do mesmo seja bem determinado [57]. Por isto, no capítulo II, desenvolvemos a solução da equação de Poisson-Boltzmann para a

determinação do perfil do potencial da membrana biológica, estabelecendo, assim, as condições iniciais do sistema, ou condições de referência. Aplicamos a estes resultados dados numéricos referentes à membrana do eritrócito e discutimos a influência da força iônica e das cargas superficiais sobre o perfil de potencial dessa célula. Mas antes, no capítulo I, fazemos uma breve revisão bibliográfica geral sobre a membrana biológica e, em particular, sobre a membrana da nossa célula-modelo, o eritrócito, que é, sem dúvida, aquela para a qual é possível obter-se, até o presente momento, a maior quantidade de informações na literatura.

No capítulo III, iniciamos o processamento da análise linear para o estudo do estado perturbado e obtemos as equações para as perturbações dos potenciais nas duas interfaces deformadas.

No capítulo IV, calculamos a equação de dispersão típica do movimento de uma membrana, na qual são aplicados, no capítulo V, dados numéricos relativos à membrana do eritrócito, obtendo-se, então, os gráficos necessários para a análise da estabilidade dessa estrutura, diante de variações na força iônica e nas cargas superficiais. Neste mesmo capítulo, desenvolvemos a discussão sobre os resultados aqui obtidos de tal análise, traçando um paralelo entre esses e aqueles encontrados em experimentos com hemácias aquecidas. Ao final, relacionamos nossas conclusões gerais.

CAPÍTULO I

A MEMBRANA BIOLÓGICA

1. Constituição e Organização da Membrana Biológica.

Há cerca de meio século atrás, já era aceita a idéia de que a membrana biológica fosse constituída por uma bicamada de lípidios. Em 1925, *Goter e Grendel* [45], usando uma técnica de extração de lípidios de eritrócitos e dispersão em interface água-ar, demonstraram que a área de um filme monocamada de lípidios, formado pelo conteúdo de extração, era duas vezes a área superficial da célula. Concluíram assim, que os eritrócitos eram revestidos por uma camada bimolecular de fosfolípidios. Pesquisas mais recentes confirmaram esse modelo [102].

Nas membranas biológicas as estruturas moleculares predominantes são os *fosfoglicerídios*, ou *fosfolípidios*; mas, também são encontrados *esfingolipídios*, porém em quantidades bem menores. Estes são lípidios complexos que apresentam como esqueleto fundamental a *esfingosina* ou seus derivados [59].

1.1- Composição Lipídica da Membrana.

Todo fosfoglicerídio é classificado de acordo com a constituição estrutural da sua cabeça polar e das cadeias carbônicas que o compõe. A cabeça polar, que contém o grupamento fosfato, pode apresentar íons híbridos ou carregados (também chamados *zwitterions*) [63].

Na *fig.1.1* podemos ver as estruturas de dois tipos característicos de cadeias carbônicas e de quatro tipos de estruturas que podem ocupar a "cabeça polar" da molécula. Para o caso dos fosfoglicerídios híbridos, temos como exemplo as *etanolaminas* e as *colina-fosfoglicerídios* ou *fosfatidilcolina* (também chamadas de *lecitinas*). Para o caso dos fosfoglicerídios carregados, podemos citar as *cardiolipinas* (difosfatidilglicerol) ou *ácido fosfatídico*, que é o composto fundamental dos fosfoglicerídios, e as *serina-fosfatídeas*. Quanto as cadeias hidrocarbônicas, estas são caracterizadas pelo seu comprimento e seu grau de saturação [90].

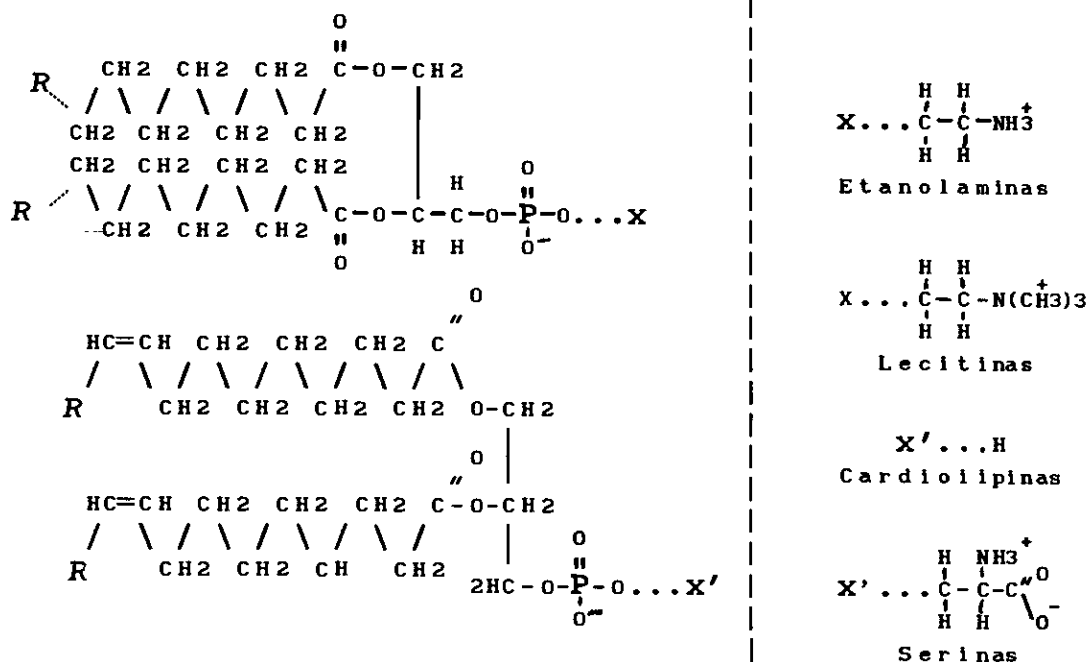


Fig. 1.1: Tipos de cadeias carbônicas que constituem os fosfolipídios e radicais que podem ser encontrados na cabeça polar [90].

Os fosfolipídios são moléculas do tipo anfipáticas (que têm propriedades ao mesmo tempo hidrofílicas e hidrofóbicas) e uma característica importante desse tipo de molécula, evidenciada pela análise de difração de raio x, é a multiplicidade de estruturas que são capazes de formar, quando em água [13]. Esse polimorfismo fosfolipídio-água é determinado pela configuração das cadeias carbônicas, bem como pelo estado (fluido ou cristalino) em que se encontra a mistura [59].

Os esfingolipídios são importantes componentes das membranas, tanto de células vegetais como animais. Estão presentes em maior concentração nas membranas de células nervosas. Todos os esfingolipídios contêm três blocos fundamentais construtivos: um constituído por um ácido graxo, um pela esfingosina (ou um dos seus derivados) e um outro que contém o grupo polar - a cabeça - que pode ser muito grande e complexo. Nesse caso, a esfingosina (*fig.1.2a*) tem conectada em seu grupo amino, através de uma ligação do tipo amida, longo ácido graxo saturado ou monoinsaturado de 18 a 26 carbonos. O composto resultante, que possui 2 cargas, é chamado de *ceramídeo* e forma a estrutura fundamental do esfingolipídio (*fig.1.2b*) [59]. A este podem ligar-se, no grupo hidroxílico da posição 1, diferentes grupamentos polares, dando formação a um complexo.

Assim como os fosfoglicerídeos, os esfingolipídios podem ser encontrados na forma de zwitterons em pH 7.0, são as *esfingomielinas*. Estas contêm a *fosforiletanolamina* (*fosforilcolina*) ou resíduos de açúcar neutro como grupamento polar da cabeça (*fig.1.2c*); sendo que as esfingomielinas mais simples, são aquelas que contêm nesta posição monossacacarídeos e, neste caso,

cas demonstravam que esses lipídios eram moléculas anfipáticas, o que foi confirmado por Korn [57]; c) o nível de capacitância das membranas sugeria para os lipídios um tal arranjo com faixas diferentes de carga; e d) as tensões na superfície de uma célula eram muito baixas (0,003- 1,000 dyn/cm) quando comparadas com as gotas de óleo (9,0 dyn/cm), levando a crer num revestimento protéico para as camadas lipídicas.

De fato, a microscopia eletrônica demonstra que a membrana celular apresenta uma estrutura trilaminar (duas linhas simples densas separadas por uma zona luminosa), o que sugere uma unidade constituída de uma camada bimolecular de lipídios, interposta entre duas camadas finas de proteínas hidratadas que se mantêm em contato íntimo com os grupamentos polares desses lipídios [29,39,88,89].

A coesão interlipídica é o resultado de interações *London-Van der Waals*, enquanto que as ligações proteína-proteína e proteína-lipídio estão envolvidas com um equilíbrio de forças dos tipos ponte de hidrogênio e iônica [101].

Em 1962 *Mueller et al* [75] conseguiram sintetizar membranas lipídicas – as chamadas "*membranas artificiais*", a partir de uma mistura de lipídios polares e solvente orgânico. As membranas artificiais assemelham-se em espessura e constante dielétrica com as membranas biológicas. A vantagem do seu uso é que elas permitem uma investigação direta de certas propriedades. Em particular, os mecanismos da penetração e passagem de partículas carregadas através de estruturas lipídicas podem ser estudados, pela aplicação de métodos elétricos e dielétricos e

análise do comportamento tensão-corrente [65]. A tab.1.1 permite uma comparação entre algumas das propriedades de membranas naturais e artificiais [74].

TABELA 1.1

Comparação de algumas propriedades de membranas artificiais com as da membrana biológica [74]

PROPRIEDADE (unidade)	MEMBRANA	
	BIOLÓGICA	ARTIFICIAL
<i>Imagem microsc. elet.</i>	Trilaminar	Trilaminar
<i>Espessura (Å)</i>	60-100	40-90
<i>Capacitância (F/cm²)</i>	0,5-1,3	0,38-1,0
<i>Resistência (ohm/cm²)</i>	10 ² -10 ⁵	10 ⁶ -10 ⁹
<i>Breakdown dielétrico (mV)</i>	100-200	150-200
<i>Tensão Superficial (dyn/cm)</i>	0,03-1,0	0,5-2,0
<i>Permeabilidade à água (m/s)</i>	0,37-400	31,7

Os estudos de padrões de difração de raios-X indicam a presença de irregularidade na orientação das cadeias carbônicas da bicamada. As moléculas de fosfolipídios são orientadas; porém, o interior da bicamada não apresenta um aspecto cristalino e sim, uma certa fluidez. Isto sugere um estado líquido-cristalino. Assim, o movimento constante, resultante dessa fluidez, confere à membrana uma certa flexibilidade, a qual facilita o deslocamento de substâncias solúveis em lipídios através da membrana [81].

Uma análise detalhada da composição química da bicamada lipídica demonstra a existência de outras moléculas, nessa região, além dos fosfolipídios e das proteínas; tais como moléculas de colesterol [15,109]. Já foi observado que a fluidez da membrana fica modificada pela inclusão de tal substância na matriz

lipídica [36,37]. A formação de filmes de colesterol-fosfolípídeos é governada por um certo número de fatores que incluem: interações de Van der Waals, efeitos configuracionais de entropia e alterações na estrutura da água adjacente à monocamada. Estes fatores dependem do comprimento da cadeia carbônica e do seu grau de insaturação [24].

Preparações por congelamento e fratura de membranas mostram a existência de inúmeras estruturas globulares na composição da região hidrofóbica da membrana. Estas partículas recebem uma denominação genérica de "*partículas intramembranares*" (IMPs) e são muito grandes, estendendo-se por toda a largura da membrana. Justamente por serem extensas, há grande probabilidade que correspondam à moléculas isoladas de proteínas, complexos lipídeo-proteína ou grandes complexos protéicos com diversas subunidades [77].

O modelo "mosaico fluido" [28,94,95] representa a estrutura básica atualmente aceita para a membrana celular. Nesse modelo 70% da superfície membranar é formada por uma bicamada lipídica fluida, com proteínas ("integrals" proteínas) anfipáticas embebidas nessa matriz, distribuídas randomicamente e livres para difusão no plano da membrana. Além disso, são encontradas proteínas superficiais ("periplurals" proteínas) associadas às cabeças polares dos lipídios (*fig.1.3*).

Parece que em média, cada proteína embebida na matriz lipídica é circundada por aproximadamente 600 moléculas de lipídios e que cerca de 130 dessas moléculas estão acopladas à proteínas [97], formando uma auréola onde as ligações lipídeo-lipídeo são perturbadas [74]. Cerca de 70-80% das proteínas mem

branares são do tipo "integral". Estas incluem a maioria das enzimas associadas à membrana, proteínas autogênicas, as proteínas de transporte, receptores de drogas e hormônios etc. [95]. As proteínas superficiais parecem estar fracamente ligadas à membrana e não parecem interagir com os lipídios, enquanto que as "integrals" estão fortemente ligadas a estes.

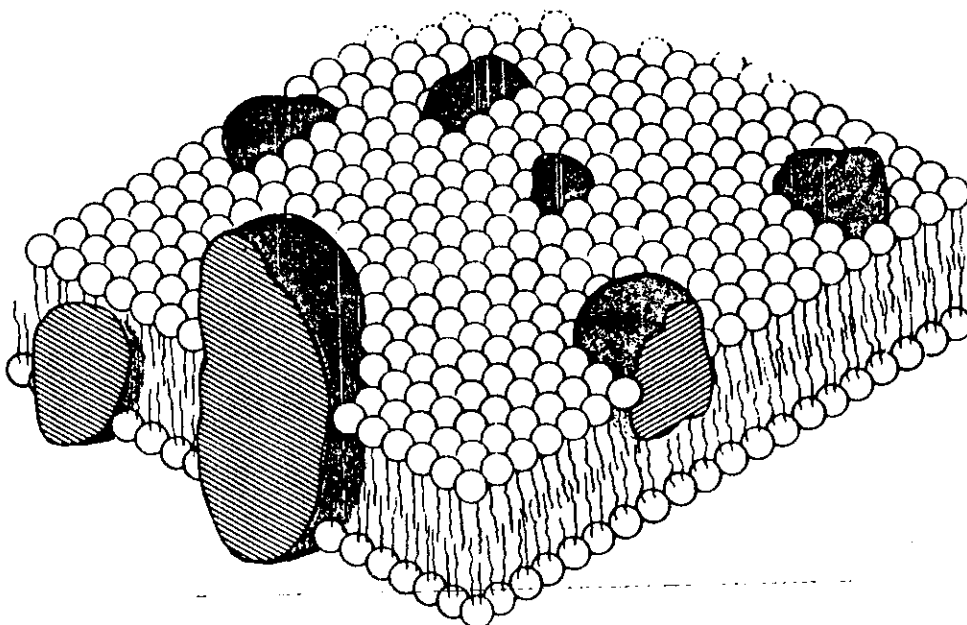


Fig. 1.3: O modelo mosaico fluido [94].

Vários estudos foram realizados através do uso de diversos tipos de técnicas, visando a determinação da área ocupada por cada molécula ou complexo molecular na superfície celular. Pela análise dos padrões característicos da espectroscopia de infravermelho e da rotação ótica de um sistema fosfolipídio-água preparado com moléculas extraídas de membranas celulares de cérebro humano, *Maddy e Malcolm* [66] determinaram que cada mo-

lícula lipídica ocupava uma área correspondente a 70 \AA^2 .

Bar [7] estudou a área relativa a um complexo fosfolipídio-colesterol (extraído de membranas de eritrócitos), relacionando-a com a pressão exercida sobre a superfície do sistema. Encontrou o valor de $125,5 \text{ \AA}^2$ para uma pressão de 9 dyn/cm .

Já Demel [27], estudando monocamadas formadas por moléculas também extraídas de eritrócitos, determinou áreas entre $100-110 \text{ \AA}^2$, isto para alta compressão.

Os estudos teóricos de Elgelman [32], que se basearam no cálculo da configuração molecular, o levaram a concluir que o complexo formado por uma molécula de colesterol e uma de lipídio ocuparia uma área aproximadamente de $58,5 \text{ \AA}^2$. Este autor explica as disparidades entre os seus resultados e os de Demel, o qual usou o modelo do "mosaico fluido" como base para seus cálculos. Segundo Elgelman, neste referido modelo há proteínas localizadas na camada lipídica, que projetam-se para além da porção ocupada pelas cabeças polares e que fazem contato hidrofóbico com as cadeias de hidrocarbonetos. Isto teria gerado um aumento no valor encontrado por Demel para a área ocupada pelo complexo colesterol-fosfolipídio.

Na superfície externa da membrana são encontradas cadeias glicídicas que são hidrófilas e estão em associação com moléculas, em geral, de proteínas e glicolipídios que compõem a bicamada. Esses glicídios tem grande importância, pois estão envolvidos com as diversas características da superfície celular. O termo "glicocálix" é utilizado para a denominação da camada onde se distribuem esses grupos que constituem aproximadamente

10% do peso da membrana. É provável, dada a região onde localizam-se, que estejam envolvidos com interações do tipo célula-substrato e célula-célula [77,81].

Às vezes, é difícil delimitar onde termina o glicocálix e começam as substâncias extracelulares, pois o primeiro é uma camada relativamente extensa, de espessura aproximada entre 5,5 e 10nm [41]. É sabido que moléculas tais como a *fibronectina*, que compõem o glicocálix, têm como uma das prováveis funções a de fixar moléculas extracelulares à superfície celular [77].

O polimorfismo apresentado pelas bicamadas fosfolipídicas levou diversos autores ao estudo da transição gel-líquido cristalino e a sua dependência da composição química, da temperatura, do pH, da presença de certos cátions ou ânions em solução etc. [13,15,16].

Gulik-Krzywicki et al [47] estudaram sistemas proteína-lipídio-água e seus resultados os levaram a sustentar a hipótese de que transições polimórficas devem ocorrer nas membranas biológicas e que isso deve ter grande importância na fisiologia celular.

2. Características Elétricas das Membranas Biológicas.

Sabe-se que o grupamento que compõe a cabeça de um fosfolipídio pode se apresentar em estado dissociado ou não-dissociado. O primeiro representa, em pH fisiológico a liberação de um próton na solução aquosa. Sendo assim, a carga superficial e a

energia eletrostática livre das membranas dependem desse grau de dissociação, que por si depende do pH e da força iônica das fases adjacentes [49]. A densidade superficial de carga diminui, em valor absoluto com o decréscimo do pH e com o da força iônica [8].

Em membranas naturais, normalmente, a distribuição dos fosfolipídios nas duas porções da bicamada é assimétrica; podendo acontecer de certos fosfolipídios serem encontrados apenas numa das monocamadas. Essa assimetria, mesmo que seja acidental, deve ter grande significado nas propriedades da membrana, podendo influenciar no comportamento das suas proteínas ou nos vários processos a que estas se associam (por ex. transporte), na sua fluidez ou, ainda, na mudança do campo elétrico transmembranar. A origem desta assimetria e a razão pela qual é mantida durante toda a vida ainda são desconhecidas. Mas, alguns autores [78,87] já demonstraram que a própria manutenção da morfologia de uma célula está envolvida com a conservação da assimetria característica da sua membrana.

A assimetria do íon hidroxil, ou protônica, existente na superfície da célula gera uma diferença entre o pH próximo a esta e o pH da fase homogênea distante da membrana celular. Esse efeito também deve ter grande envolvimento com os diversos fenômenos fisiológicos. Craxford et al [47] achavam que uma definição estrita de "pH superficial" era inadequada, devido a não homogeneidade da região normal ao plano superficial. Mas, uma análise pode ser feita, considerando a distribuição de Boltzmann e os efeitos de solvatação, como foi sugerido por

Pethica [82]. Assim, tem-se que para o pH próximo à superfície (pH_s) vale a equação:

$$\text{pH}_s = \text{pH} + \frac{e\phi_s}{2,3KT} \quad (1.1)$$

onde ϕ_s é o potencial superficial ou na dupla camada, e é a carga do próton, K a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta. O valor de ϕ_s depende da densidade de carga superficial e da concentração dos sais, ou força iônica, da solução.

No meio aquoso, na região adjacente a uma superfície carregada, ocorre uma concentração de íons de sinais opostos aos existentes na mesma. Essa concentração é muito importante, pois define as propriedades elétricas da interface [82]. A adsorção de íons móveis e/ou a polarização do material da membrana é que deve originar as cargas superficiais da membrana, cujo aparecimento é compensado pelas cargas próximas, das camadas difusas das fases aquosas adjacentes.

Alguns autores acreditam que os fosfolipídios, tais como a cardiolipina, a fosfatidilserina, o fosfatidilglicerol etc., sejam os maiores responsáveis pela carga elétrica superficial, mas que as proteínas e o colesterol também devem contribuir. Assim, os grupamentos na superfície celular seriam fosfatídicos e amínicos, sendo que alguns grupos carboxílicos também podem contar [6,98].

Os anions adsorvidos a uma interface tipo membrana-solução aquosa geram uma atmosfera difusa e positivamente carregada na face adjacente, que contém diferentes tipos de eletrólitos.

Wang e Bruner [106] partiram do princípio que a um modelo desse tipo, considerando a distribuição de carga uniforme, poderia ser aplicada a lei de Gauss, o que significa considerar o campo elétrico da dupla camada lipídica (eletricamente neutra, como um todo) estaria confinado inteiramente na solução lateral ao plano de adsorção. Então, eles aplicaram o método das imagens eletrostáticas para estudar o efeito de cargas discretas dentro das bicamadas lipídicas. Nesse caso, eles consideraram a atmosfera difusa como um espelho condutor infinito e perfeitamente plano.

O modelo elétrico adotado por Adams [1] para a membrana celular foi o de uma camada material que apresentava cátions univalentes distribuídos na sua face externa e ânions, também univalentes, na sua face interna. Esse arranjo de cargas caracteriza uma distribuição de dipolos elétricos, no qual a espessura da camada material corresponde à separação dipolar. Ele considerou uma densidade de carga superficial média, σ , que variava ponto a ponto da superfície, já que o momento de dipolo por área era constante e a espessura da interface era variável. No caso de uma membrana plana, σ pode ser considerada igual às densidades de cargas dos dois lados da superfície de separação. Mas, para uma superfície curva, essa condição não é muito satisfatória e as densidades superficiais de carga dos dois lados devem ser consideradas diferentes entre si, desde que seja levada em conta a neutralidade elétrica sobre regiões macroscópicas .

Através de uma monocamada fosfolipídica que separa ar-água,

observa-se um salto negativo do potencial elétrico; sendo a maior contribuição para este, o salto dado pela porção dipolar dessas moléculas [5]. Sabe-se que todas as membranas de células eucarióticas apresentam gradientes de concentração para vários íons (Na^+ , K^+ , Cl^- etc) e um gradiente elétrico, sendo polarizadas, apresentando o citoplasma um potencial elétrico negativo em relação ao meio extracelular. Pensa-se hoje, que esta diferença de potencial, que é chamado de *Potencial de Repouso*, se deve especialmente à permeabilidade seletiva das membranas ao íon K^+ , pois foi demonstrado que o potencial da célula em repouso muda consideravelmente com a variação da concentração deste íon no meio extracelular. Quando ocorre um aumento desta, o potencial da membrana varia, podendo chegar a zero quando o gradiente de concentração do K^+ se anula. [81].

A dependência do potencial em relação às concentrações dos vários íons, para os quais a membrana é permeável, leva em conta a permeabilidade relativa (P_γ) de cada um dos íon (γ) e é dada por

$$\phi_{tm} = (RT/F) \ln \frac{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_e}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_i} \quad (1.2)$$

Esta equação é chamada de *Equação de Voltagem GHK*, onde $[\gamma]_e$ e $[\gamma]_i$ representam as concentrações do íon γ , respectivamente, nos lados externo e interno da membrana [46,53].

Coster [24] estudou o potencial de repouso usando um modelo que tomava a membrana como um reticulado de cargas fixas. Con-

cluiu que a expressão para esse potencial é similar, na forma, ao dado pela equação de Voltagem GHK, embora o valor correspondente à razão P_{c_1}/P_x seja, sob certas condições, dependente da concentração iônica e do potencial.

As células biológicas estão sujeitas a estimulação tanto por aplicação de correntes sobre sua superfície como por influência de células vizinhas ativadas eletricamente [69]. Esta estimulação, ou excitação, caracteriza-se por provocar alterações no potencial de repouso, dando-se o nome de "potencial de ação" (PA) a essas variações do potencial de membrana observadas pós-estimulação [56,81].

A capacidade de excitação da membrana depende de suas características tensão-corrente e das cargas das partículas ativas existentes na solução adjacentes à membrana que interagem com as substâncias membranares [70] e o fenômeno chamado de PA apresenta características bem peculiares, tais como: o fato de ser um fenômeno do tipo "tudo ou nada" e o de apresentar um período de refratariedade e uma relação duração-força.

Em 1969, Wei [92] sugeriu que o impulso nervoso (resultante do potencial de ação produzido na célula nervosa) poderia ser visto como uma manifestação macroscópica de uma transição quântica de dipolos elétricos localizados na superfície da membrana. Além disso, mostrou que os eventos observados na transmissão nervosa (que é a propagação do potencial de ação) relacionados com as características intrínsecas do PA citadas acima (a resposta "tudo ou nada" etc) poderiam estar associados à transições dipolares entre dois estados.

Nesse caso a redistribuição de íons ou a reorientação de dipolos na membrana, geralmente, está associada com um fluxo de corrente elétrica no circuito interno da membrana. Foi demonstrado que a existência desse fluxo resulta da abertura e fechamento de canais de Na^+ e K^+ , em axônios [84]. Assim, dipolos membranares ou regiões dipolares participam na transição estrutural cooperativa, durante o processo de excitação elétrica. Isto pode ser visto como uma interação de dipolos, via "acoplamento cooperativo", seguida de um "trigger" ou disparo que dá início a mudanças conformacionais das macromoléculas em função do tempo, que geram aberturas e fechamentos de canais [2].

Em suma, vários autores evidenciam a existência de um potencial dipolar na membrana biológica e muitos estudos tem sido realizados, baseados em tal modelo [60,68,100].

3. O Eritrócito e sua Membrana.

O eritrócito normal quando disperso em solução isotônica tem a forma de um disco bicôncavo e quando em solução hipotônica adquire rapidamente a forma esférica, com diâmetro de aproximadamente $8\mu\text{m}$. No estado normal, todos eritrócitos possuem mais ou menos a mesma forma, o mesmo diâmetro, a mesma coloração e qualquer mudança nesses parâmetros indica um fenômeno patológico [74,81].

Análises químicas revelam que o conteúdo dessa célula é de:

água, hemoglobina, ions (principalmente K^+), enzimas, glicose; mas nenhuma organela é distinguida no seu interior, quando observada ao microscópio eletrônico. Porém, no eritrócito jovem, ou reticulócito, são encontradas algumas organelas (mitocôndrias e polirribossomos) [81].

A hemoglobina, que é o componente essencial do eritrócito, representa, aproximadamente, um terço da massa celular. São funções da célula vermelha do sangue: assegurar o transporte e a manutenção do estado funcional da hemoglobina, que é a molécula transportadora de O_2 e parte do CO_2 do sangue [74].

O mecanismo pelo qual a forma bicôncava da célula vermelha é mantida tem sido objeto de numerosos estudos [7,73,74] e um dos fatores importantes para a manutenção dessa morfologia parece ser o nível de ATP e a sua interação com proteínas contráteis, que formam as fibrilas celulares, ou a interação do Ca^{+2} , Mg^{+2} e ATP com proteínas estruturais da membrana [35,78,93].

Assim, as proteínas da hemácia, incluindo a hemoglobina e as enzimas (que catalizam as reações indispensáveis às funções da célula), são responsáveis pela estrutura e pela forma dessa célula, bem como, pelas suas alterações mecânicas da maleabilidade e pelo aumento de sua fragilidade [61].

Vários autores [31,62,73,97] já demonstraram que mudanças na forma da célula vermelha do sangue podem resultar dos efeitos de forças de origem eletrostática sobre a sua membrana. Katnik *et al* [54,55] observaram que surgem alterações na esfericidade (mudanças na relação superfície/volume) de eritrócitos aspirados por micropipetas, em resposta à submissão dessas células

las a ação de um campo elétrico gerado por potenciais aplicados entre o eixo da pipeta e a solução de dispersão. A magnitude dessas deformações é inversamente proporcional à concentração de soluto na solução e parece que as cargas superficiais também têm um efeito mediador sobre tal fenômeno.

A membrana da hemácia, de estrutura semelhante a de outras membranas celulares, apresenta uma camada dupla de fosfolípidios estabilizada por moléculas de colesterol [67] e proteínas intercaladas; existindo, ainda, uma camada externa suplementar rica em mucopolissacarídeos, além das substâncias que caracterizam os grupos sanguíneos. Já é bem conhecido que a distribuição dos fosfolípidios nas duas partes componentes da bicamada é assimétrica. A fosfatidilserina e a fosfatidiletanolalanina são encontradas apenas na camada interna, enquanto que a fosfatidilcolina e a esfingomiélin, são descobertas na camada externa [87].

No lado interno da membrana, existe uma rede fibrilar protéica que a sustenta — a *espectrina* — que compreende 20-25% do total de proteínas existentes [34]. A *espectrina* é, portanto, uma proteína extrínseca da face citoplasmática da membrana, que é associada ao citoesqueleto da célula [64,65]. Estudos empregando anticorpos conjugados com ferritina possibilitaram a localização de um complexo *espectrina-actina* na superfície interna da membrana dessa célula [76].

Há evidências de que mudanças na composição em espécie de fosfolípidio e a perturbação da interação destes com as proteínas do citoesqueleto estejam associadas à existência de eritró-

citados [64].

As hemácias, em solução de NaCl (pH ~ 7,0) apresentam uma mobilidade eletroforética negativa, que resulta da distribuição dos grupamentos ionogênicos em sua superfície [8,39]. Esta região interfacial da célula pode ser definida, do ponto de vista hidrodinâmico, como uma região de 5Å de extensão interna, a partir do plano de corte onde inicia uma mudança considerável nas propriedades reológicas do meio de suspensão e pode ser vista como análoga a uma malha tridimensional, em vez de uma região sólida, devido a permeabilidade que a membrana apresenta aos anions, álcoois polihídricos e açúcares. No interior das fendas dessa malha, deve ocorrer uma mudança contínua nas suas características elétricas, dada a distribuição dos grupamentos ionogênicos, positivos e negativos, em qualquer plano que seja definido, arbitrariamente, dentro desta região [49]. A *fig.1.4* mostra o esquema representativo dessa distribuição sugerida para as camadas externas da membrana.

Heinrich e colaboradores [50] determinaram o potencial elétrico da membrana do eritrócito pela integração da equação de *Poisson-Boltzmann*. Em seu modelo matemático eram consideradas as cargas da *glicoforina A* (que é um mucopolissacarídeo), da *espectrina*, da *hemoglobina* e da *fosfatidilserina*. Eles calcularam a densidade de carga elétrica na superfície interna da membrana, levando em conta apenas a contribuição das moléculas de *fosfatidilserina*. Como cerca de 28% das 3×10^8 moléculas de *fosfolipídios* por eritrócito são *fosfatidilserina*, o número de cargas negativas vem a ser $8,4 \times 10^7$. Demonstraram que o poten-

cial transmembranar do eritrócito é sempre negativo para qualquer valor de força iônica entre 10 e 140mmol/l, quando o estado

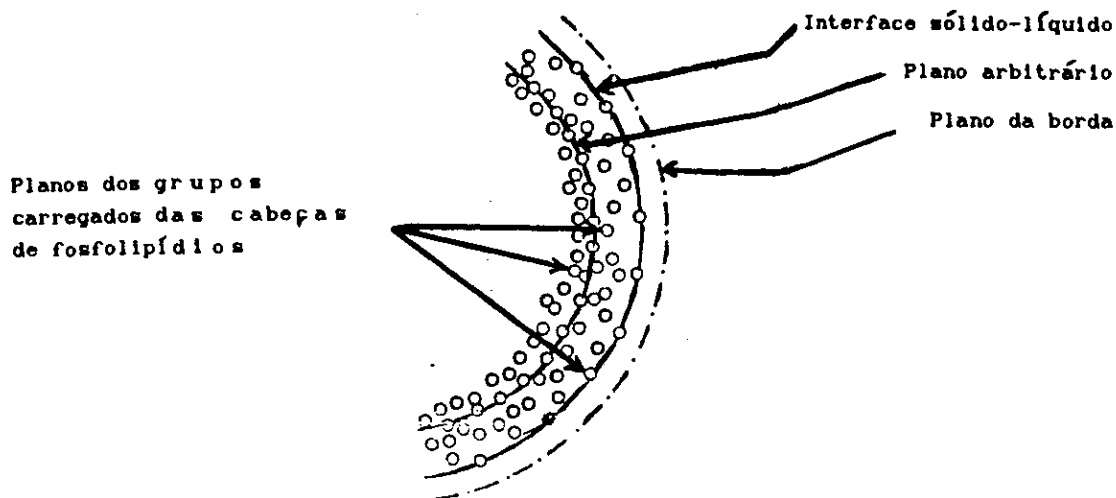


Fig.1.4: Estrutura superficial sugerida para a célula vermelha mostrando a distribuição dos grupamentos iogênicos através da malha que compõe a região interfacial da célula [39].

Donnan é considerado. Afirmam que, embora seus cálculos sejam baseados em valores realísticos para as cargas fixas, a questão de os altos potenciais negativos da superfície interna corresponderem ou não à situação fisiológica real permanece sem definitiva. Segundo eles, é possível que o número de cargas negativas da fosfatidilserina seja parcialmente reduzido pela ligação específica de cations tais como o Mg^{+2} e Ca^{+2} .

CAPÍTULO II

DISTRIBUIÇÃO DE POTENCIAL E CARGAS ELÉTRICAS ATRAVÉS DA MEMBRANA

1. Modelo Adotado.

A *fig.2.1* esquematiza o modelo geométrico que vamos adotar em nossos cálculos. É uma bicamada fluida e plana de espessura h e constante dielétrica ϵ_f , que separa duas fases aquosas com diferentes concentrações de eletrólitos e com constantes dielétricas ϵ_i , sendo $i=1,2$. Na *fig.2.1*, a região à esquerda do filme corresponde à fase 1 e à direita temos a fase 2. No centro do filme está localizada a origem dos eixos das coordenadas cartesianas; dessa forma, a membrana se estende de $z=-h/2$ até $z=h/2$. Nestes pontos localizam-se as duas interfaces, S_1 e S_2 , entre a membrana e as fases aquosas adjacentes. Logo, S_1 representa a interface *meio extracelular-membrana* e S_2 a interface *membrana-citoplasma*.

As superfícies S_1 e S_2 correspondem às regiões onde mudanças bruscas nas propriedades físicas e químicas do sistema são observadas. Estas zonas de transição são muito estreitas quando comparadas com a espessura h e têm propriedades físico-químicas intrínsecas (tais como: tensão superficial, elasticidade, carga e viscosidade superficiais etc) [107].

A porção da fase líquida mais próxima a essa zona de transição constitui a camada difusa, onde se estabelece uma distribuição iônica muito particular, em consequência da proximidade

das cargas superficiais da membrana. A camada de ions imediatamente adjacente à interface forma uma dupla camada elétrica com as cargas interfaciais. A camada difusa se estende ao longo de z , até a região homogênea da solução eletrolítica (a fase "bulk") que circunda a membrana [9].

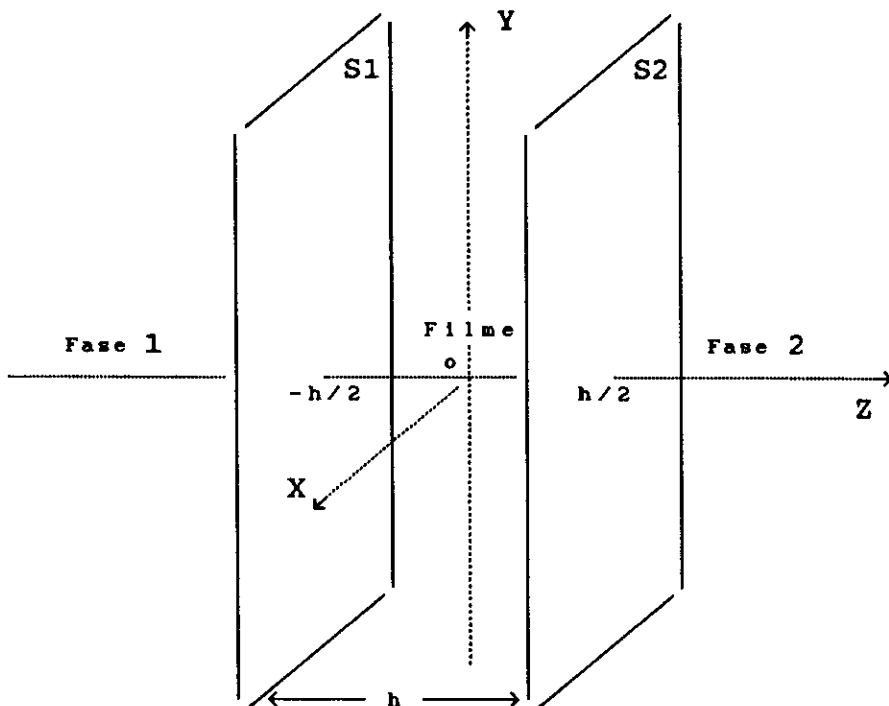


Fig.1.1: Modelo de membrana adotado- as superfícies nas posições $Z=\pm h/2$ correspondem aos limites entre as fases aquosas e a membrana.

No nosso modelo consideramos que a distribuição superficial de cargas na membrana (plano x,y) é homogênea, ficando a variação do potencial dependente apenas da coordenada z .

Tanto na região 1 ($z < -h/2$) quanto na região 2 ($z > h/2$),

os potenciais eletroquímicos, respectivamente μ_1° e μ_2° , de cada componente química são considerados constantes, pois assumimos que os processos de difusão através das interfaces são muito rápidos. Vamos adotar o uso do expoente zero para definir as grandezas relativas ao estado não-perturbado ou de referência. Assim,

$$\begin{aligned} \mu_{1(+)}^{\circ} &= \mu_{1(-)}^{\circ} = \text{cte} & (a) \\ \mu_{2(+)}^{\circ} &= \mu_{2(-)}^{\circ} = \text{cte} & (b) \end{aligned} \quad (2.1)$$

A densidade de carga no interior do filme-bicamada (ρ_f) é nula ($\rho_{f(+)} = \rho_{f(-)} = 0$).

2. Cálculo do Perfil do Potencial.

Sabemos que ocorre uma queda do potencial elétrico na passagem do meio externo (meio 1) da célula para o meio interno (meio 2) e o perfil de potencial entre estes dois meios extremos pode ser obtido a partir da equação de Poisson [58]

$$\nabla^2 \phi_i = -\frac{4\pi}{\epsilon_i} \rho_i, \text{ para } i=1,2 \quad (2.2)$$

$$\nabla^2 \phi_i = 0, \text{ para } i=f \quad (2.3)$$

onde $i=1,2$, sendo $i=1$ para o meio extracelular, $i=f$ para a região intrínseca da membrana e $i=2$ para o meio citoplasmático (ver *fig. 2.1*).

A densidade de carga em cada um dos meios é dada diretamente pela soma das cargas de todos os íons encontrados nessa

fase [105].

$$\rho_1 = \sum_{\gamma} Z_{\gamma} e \eta_{\gamma 1}^{\circ} \quad (2.4)$$

onde o índice γ define diferentes espécies químicas. O $Z_{\gamma} e$ define a carga elétrica molar de cada espécie química na solução e $\eta_{\gamma 1}^{\circ}$ é a concentração molar do íon γ na solução da fase i .

As condições de contorno a serem utilizadas são:

- I. para $z \rightarrow -\infty$: a) o potencial elétrico tende à um valor limite ϕ_{o1}° ;
- b) a concentração iônica tende para um valor limite $\eta_{\gamma o1}^{\circ}$ ($\sum_{\gamma} Z_{\gamma} e \eta_{\gamma 1}^{\circ} = 0$).
- II. para $z = -h/2$: a) vale a continuidade do potencial, que assume o valor ϕ_{s1}° nessa superfície (S1 corresponde a interface meio 1-membrana);
- b) vale a descontinuidade do vetor deslocamento elétrico, de forma que

$$(\epsilon_f \vec{E}_f^{\circ} - \epsilon_1 \vec{E}_1^{\circ}) \cdot \hat{n} = 4\pi Z \Gamma_{s1}^{\circ} \quad (2.5)$$

- III. para $z = h/2$: a) vale a continuidade do potencial, que assume o valor ϕ_{s2}° (S2 corresponde interface membrana-meio 2);
- b) vale, também, a descontinuidade do vetor deslocamento elétrico em S2,

$$(\epsilon_2 \vec{E}_2^{\circ} - \epsilon_f \vec{E}_f^{\circ}) \cdot \hat{n} = 4\pi Z \Gamma_{s2}^{\circ} \quad (2.6)$$

onde E_i° é o campo elétrico no meio i e $Z \Gamma_{s1}^{\circ}$ a densidade de carga na superfície S_1 .

- IV. para $z \rightarrow \infty$: a) o potencial tende a um valor limite ϕ_{o2}° ;

b) a concentração da espécie química tende ao valor limite $\eta_{\gamma 01}^{\circ}$ ($\sum_{\gamma} Z_{\gamma} e \eta_{\gamma 1}^{\circ} = 0$).

Sabemos que o potencial eletroquímico ($\tilde{\mu}$) para um eletrólito diluído em i pode ser dado por [9]:

$$\tilde{\mu}_i^{\circ} = \tilde{\mu}_i^{\circ*}(P, T) + KT \ln \eta_{\gamma 1}^{\circ} + Z_{\gamma 1} e \phi_1^{\circ} \quad (2.7)$$

Nesta equação (2.7), o primeiro termo do lado direito é a contribuição dependendo apenas da temperatura e da pressão. O segundo é referente a concentração iônica (K é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta) e o terceiro é o termo elétrico.

Aplicando o operador ∇ à eq.2.7 vem que

$$\nabla \tilde{\mu}_{\gamma 1}^{\circ} = \nabla \tilde{\mu}_{\gamma 1}^{\circ*}(P, T) + KT \nabla (\ln \eta_{\gamma 1}^{\circ}) + \nabla Z_{\gamma 1} e \phi_1^{\circ} \quad (2.8)$$

observando que as derivadas referentes às coordenadas x e y são nulas, pois consideramos haver homogeneidade nestas direções; assim,

$$\nabla_z \tilde{\mu}_{\gamma 1}^{\circ} = \nabla_z \tilde{\mu}_{\gamma 1}^{\circ*}(P, T) + KT \nabla (\ln \eta_{\gamma 1}^{\circ}) + \nabla Z_{\gamma 1} e \phi_1^{\circ} \quad (2.9)$$

No equilíbrio eletroquímico de Boltzmann, temos que

$$\nabla_z \tilde{\mu}_{\gamma 1}^{\circ}(P, T) = 0 \quad (2.10)$$

a eq. 2.9 se reduz a

$$KT \frac{\partial}{\partial z} \ln \eta_{\gamma 1}^{\circ} + Z_{\gamma} e \frac{\partial}{\partial z} \phi_1^{\circ} = 0 \quad (2.11)$$

Podemos efetuar as seguintes integrais:

$$\int_{\eta_{\gamma o1}^{\circ}}^{\eta_{\gamma 1}^{\circ}} d(\ln \eta_{\gamma 1}^{\circ}) = - (Z_{\gamma} e / KT) \int_{\phi_{o1}^{\circ}}^{\phi_1^{\circ}} d\phi_1^{\circ} \quad (a)$$

para $-\infty$ a $-h/2$

(2.12)

$$\int_{\eta_{\gamma 2}^{\circ}}^{\eta_{\gamma o2}^{\circ}} d(\ln \eta_{\gamma 1}^{\circ}) = - (Z_{\gamma} e / KT) \int_{\phi_2^{\circ}}^{\phi_{o2}^{\circ}} d\phi_1^{\circ} \quad (b)$$

para $h/2$ a ∞

onde $\eta_{\gamma i}^{\circ}(z)$ e $\phi_i(z)$ são os valores da concentração e do potencial no estado estacionário em um ponto arbitrário z do meio i ($i=1,2$) e cujas soluções são:

$$\eta_{\gamma 1}^{\circ} = \eta_{\gamma o1}^{\circ} \exp [-Z_{\gamma} e (\phi_1^{\circ} - \phi_{o1}^{\circ}) / KT] \quad (a)$$

meio 1

(2.13)

$$\eta_{\gamma 2}^{\circ} = \eta_{\gamma o2}^{\circ} \exp [-Z_{\gamma} e (\phi_2^{\circ} - \phi_{o2}^{\circ}) / KT] \quad (b)$$

meio 2

ou seja,

$$\eta_{\gamma i}^{\circ} = \eta_{\gamma o i}^{\circ} \exp [-Z_{\gamma} e (\phi_i^{\circ} - \phi_{o i}^{\circ}) / KT] \quad (2.14)$$

Substituindo as eqs. 2.13 em 2.4 e usando a notação mais geral, como em 2.14, temos que

$$\rho_1^{\circ} = \sum_{\gamma} Z_{\gamma} e \eta_{\gamma o1}^{\circ} \exp [-Z_{\gamma} e (\phi_1^{\circ} - \phi_{o1}^{\circ}) / KT] \quad (2.15)$$

Assim, podemos obter a equação de Poisson-Boltzmann, que nos descreve as variações do potencial elétrico nas fases 1 e 2. Su

bstituindo a eq. 2.15 na 2.2, de forma que

$$\nabla^2 \phi_1^0 = -\frac{4\pi}{\epsilon} \sum_{\gamma} Z_{\gamma} e \eta_{\gamma o1}^0 \exp [-Z_{\gamma} e (\phi_1^0 - \phi_{o1}^0)/KT] \quad (2.16)$$

Considerando eletrólitos simétricos, $Z_{\gamma(+)} = -Z_{\gamma(-)} = Z_o$, e levando em conta a condição de eletroneutralidade, $\sum_{\gamma(+)} Z_o e \eta_{\gamma o1}^0 = \sum_{\gamma(-)} Z_o e \eta_{\gamma o1}^0$, a eq. 2.16 pode ser escrita na forma:

$$\nabla^2 \phi_1^0 = -\frac{4\pi e}{\epsilon} \sum_{\gamma} Z_o \eta_{\gamma o1}^0 \{ \exp [-x_1] - \exp [x_1] \} \quad (2.17)$$

$$\text{onde} \quad x_1 = -Z_o e (\phi_1^0 - \phi_{o1}^0)/KT \quad (2.18)$$

Logo,

$$\nabla^2 \phi_1^0 = \frac{8\pi e}{\epsilon_1} \sum_{\gamma} \eta_{\gamma o1}^0 Z_o \sinh [x_1] \quad (2.19)$$

$$\nabla^2 \phi_1^0 = \frac{8\pi Z e}{\epsilon_1} \eta_{o1}^0 \sinh [x_1] \quad (2.20)$$

O operador Laplaciano se reduz a d^2/dz^2 , visto que há homogeneidade nas direções x e y, como dito anteriormente. Chamando d^2/dz^2 de \mathbb{D}^2 , podemos escrever que

$$\mathbb{D}^2 \phi_1^0 = \xi_1 \sinh [\beta (\phi_1 - \phi_1)] \quad (2.21)$$

$$\text{onde} \quad \xi_1 = \frac{8\pi e}{\epsilon} Z_o \eta_{o1}^0 \quad (2.22)$$

$$\text{e} \quad \beta = \frac{Ze}{KT} \quad (2.23)$$

A solução da eq. 2.21 nos dá o potencial dependente de z,

em qualquer ponto das fases aquosas que cercam a membrana, no estado estacionário .Esse potencial é do tipo:

$$\phi_1^{\circ} = \frac{2}{\beta} \ln \left(\frac{1 + \chi_1^{\circ}}{1 - \chi^{\circ}} \right) + \phi_{o1}^{\circ} \quad (2.24)$$

$$u_1^{\circ} = 2 \ln \left(\frac{1 + \chi_1^{\circ}}{1 - \chi^{\circ}} \right) \quad (2.25)$$

sendo $u_1^{\circ} = \beta (\phi_1^{\circ} - \phi_{o1}^{\circ})$ (2.26)

De acordo com as condições de contorno I,II e III, podemos escrever que

$$\chi_1^{\circ} = \operatorname{tgh} \left(\frac{\beta}{4} \phi_{s_{o1}}^{\circ} \right) \exp [k_1 (\pm z + h/2)] \quad (2.27)$$

onde $\phi_{s_{o1}}^{\circ} = \phi_{s1}^{\circ} - \phi_{o1}^{\circ}$ (2.28)

e $k_1 = \frac{16\pi}{\epsilon} \frac{(Ze)}{KT} \eta_{o1}^{\circ}$ (2.29)

k_1 é o dobro do inverso do comprimento de Debye.

2.1 - Solução da Equação de Poisson-Boltzmann na Membrana.

Para conhecermos o potencial dependente de z em qualquer ponto dentro do filme (ou da membrana), devemos resolver a eq.

2.3. Esta se reduz a uma equação diferencial de 2ª-ordem e homogênea da variável z :

$$D^2 \phi_f^o = 0 \quad (2.30)$$

cuja a solução é a família de funções lineares

$$\phi_f^o(z) = c z + d \quad (2.31)$$

Usando a condição de contorno IIa, determinamos que

$$d = \phi_{s1}^o + ch/2 \quad (2.32)$$

e com a condição IIb, considerando a aproximação eletrostática de Maxwell ($\vec{E} = -\nabla \phi$), tiramos que

$$-\epsilon_f \left. \frac{\partial}{\partial z} \phi_f^o \right|_{-h/2} + \epsilon_1 \left. \frac{\partial}{\partial z} \phi_1^o \right|_{-h/2} = 4\pi Z \Gamma_{s1}^o \quad (2.33)$$

$$\therefore c = \frac{1}{\epsilon_f} (2\epsilon_1 k_1 \phi_1^o - 4\pi Z \Gamma_{s1}^o) \quad (2.34)$$

onde

$$\phi_1^o = \frac{1}{\beta} \frac{n_1}{(1 - n_1^2)} \quad (2.35)$$

e

$$n_1^o = \operatorname{tgh} \left[\frac{\beta}{4} \phi_{s01}^o \right] \quad (2.36)$$

Substituindo a eq. 2.34 na 2.32, dá

$$d = \phi_{s1}^o + \frac{1}{\epsilon_f} \left(\epsilon_1 k_1 h \phi_1^o - \frac{4\pi h}{2} Z \Gamma_{s1}^o \right) \quad (2.37)$$

Assim, obtivemos c e d em função dos parâmetros referentes ao meio 1. Usando as condições IVa e b, obteremos as equações de c e d em função dos parâmetros do meio 2, ou seja,

$$c = \frac{1}{\epsilon_f} (4\pi Z\Gamma_{s2}^{\circ} + \epsilon_2 k_2 \phi_2^{\circ}) \quad (2.38)$$

como $d = \phi_{s2}^{\circ} - ch/2 \quad (2.39)$

$$d = \phi_{s2}^{\circ} - \frac{1}{\epsilon_f} \left(\frac{4\pi h}{2} Z\Gamma_{s2}^{\circ} + \epsilon_2 k_2 h \phi_2^{\circ} \right) \quad (2.40)$$

onde $\phi_2^{\circ} = \frac{1}{\beta} \frac{n_2^{\circ}}{(1 - n_2^2)} \quad (2.41)$

e $n_2^{\circ} = \operatorname{tgh} \left(\frac{\beta}{4} \phi_{s02}^{\circ} \right) \quad (2.42)$

Agora, somando as eqs. 2.34 e 2.38 entre si e 2.37 e 2.40, também entre si, obtemos as expressões que representam os coeficientes c e d numa forma simplificada

$$c = - E_f^{\circ} \quad (2.43)$$

e $d = \frac{\phi_{s1}^{\circ} + \phi_{s2}^{\circ}}{2} \quad (2.44)$

logo, podemos escrever que

$$\phi_f^{\circ}(z) = E_f^{\circ} z + \frac{\phi_{s1}^{\circ} + \phi_{s2}^{\circ}}{2} \quad (2.45)$$

2.2 - Cálculo dos Potenciais Superficiais.

Como as eqs. 2.34 e 2.37, bem como as 2.36 e 2.39, devem ser equivalentes, igualando-as entre si obtemos

$$4\pi \sum_1 [Z\Gamma_{s1}^{\circ}] = 2 \sum_1 [\epsilon_1 k_1 \phi_1^{\circ}] \quad (2.46)$$

e

$$4\pi \Delta_1 [Z\Gamma_{s1}^0] = -2\epsilon_f E_f^0 - 2 \sum_1 [\epsilon_1 k_1 \phi_1] \quad (2.47)$$

que são, respectivamente, a soma e a diferença entre as densidades superficiais de carga, sendo que Δ [meio 2 - meio 1]. Assumimos que E_f^0 é intensidade do campo elétrico dentro da membrana, e seu valor dado por

$$E_f^0 = \frac{\phi_{s1}^0 - \phi_{s2}^0}{h} \quad (2.48)$$

Ainda podemos escrever, a partir dessas relações, que

$$4\pi Z\Gamma_{s1}^0 = \epsilon_f E_f^0 + 2 \epsilon_1 k_1 \phi_1^0 \quad (2.49)$$

e

$$4\pi Z\Gamma_{s2}^0 = -\epsilon_f E_f^0 - 2 \epsilon_2 k_2 \phi_2^0 \quad (2.50)$$

que são as densidades superficiais de carga nas superfícies S1 e S2, respectivamente.

Das eqs. 2.45 e 2.46 obtemos que

$$\begin{cases} \epsilon_1 k_1 \sinh \left(\frac{\beta}{4} \phi_{s01}^0 \right) = \beta \left(4\pi Z\Gamma_{s1}^0 - \epsilon_f E_f^0 \right) & (a) \\ \epsilon_2 k_2 \sinh \left(\frac{\beta}{4} \phi_{s02}^0 \right) = -\beta \left(4\pi Z\Gamma_{s2}^0 + \epsilon_f E_f^0 \right) & (b) \end{cases} \quad (2.51)$$

cuja solução nos dá

$$\phi_{s1}^0 = \frac{2}{\beta} \ln \left[\kappa_1^0 + \sqrt{(\kappa_1^0)^2 + 1} \right] + \phi_{o1}^0 \quad (2.52)$$

$$\phi_{s2}^{\circ} = \frac{2}{\beta} \ln \left(\kappa_2^{\circ} + \sqrt{(\kappa_2^{\circ})^2 + 1} \right) + \phi_{o2}^{\circ} \quad (2.53)$$

ou seja,

$$\phi_{s1}^{\circ} = \frac{2}{\beta} \ln \left(\kappa_1^{\circ} + \sqrt{(\kappa_1^{\circ})^2 + 1} \right) + \phi_{o1}^{\circ} \quad (2.54)$$

$$\text{onde } \kappa_1 = \frac{\beta}{\epsilon_1 k_1} \left(4\pi Z \Gamma_{s1}^{\circ} \pm \epsilon_f E_f^{\circ} \right) \quad (2.55)$$

sendo, portanto, a diferença de potencial superficial dada pela seguinte expressão:

$$\Delta\phi_s^{\circ} = \frac{2}{\beta} \ln \left(\frac{\kappa_2^{\circ} + \sqrt{(\kappa_2^{\circ})^2 + 1}}{\kappa_1^{\circ} + \sqrt{(\kappa_1^{\circ})^2 + 1}} \right) + \Delta\phi_o^{\circ} \quad (2.56)$$

Por motivo de simplificação passaremos a chamar $Z \Gamma_{s1}^{\circ}$ de Q_{s1}° , ou seja,

$$4\pi Z \Gamma_{s1}^{\circ} = 4\pi Q_{s1}^{\circ} \quad (2.57)$$

A equação 2.56 nos dá o valor da queda do potencial dentro da membrana ($\phi_{s1} - \phi_{s2}$) e as de 2.52 e 2.53 nos dão os potenciais superficiais.

A equação para o potencial transmembranar pode ser tirada da eq.2.55, como podemos ver. Assim,

$$\Delta\phi_o^{\circ} = - \frac{2}{\beta} \ln \left(\frac{\kappa_2^{\circ} + \sqrt{(\kappa_2^{\circ})^2 + 1}}{\kappa_1^{\circ} + \sqrt{(\kappa_1^{\circ})^2 + 1}} \right) + \Delta\phi_s^{\circ} \quad (2.58)$$

Como discutido por muitos autores [13,26,44], o potencial transmembranar para o eritrócito é bem aproximado pela equação de Nernst para o cloreto:

$$\phi_d = (RT/F) \ln \frac{[Cl^-]_2}{[Cl^-]_1} \quad (2.59)$$

3. O Perfil do Potencial para a Membrana do Eritrócito.

Para o cálculo do perfil de potencial correspondente à membrana do eritrócito no estado de referência em condições fisiológicas, usamos os valores numéricos mostrados na tabela 2.1.

Tabela 2.1

Alguns Valores Paramétricos da Membrana do Eritrócito Adotados para o Estado de Referência

PARAMETRO	(SIMBOLO)	VALOR	[REF.]
Força Iônica Externa	(F_1^0)	0,172M	[8]
Espessura da bicamada	(h_b)	75Å	[50]
Espessura média da membrna	(h)	100Å	[81]
Potencial transmembranar	(ϕ_0^0)	-12mV	[41]
Constante dielétrica da memb.	(ϵ_f)	2	[41]
Const. diel. das fases aquosas	(ϵ_1)	81	[41]
Densidade de carga superf. int.	(q_{s2}^0)	-27000UCGS	[50]
Densidade de carga superf. ext.	(q_{s1}^0)	-4243UCGS	
Inverso do Comp. de Debye ext.	(k_1)	$1,34 \times 10^7/cm$	

UCGS=unidades do CGS de carga

A maioria desses valores provém de dados obtidos experimentalmente, como por exemplo a densidade de carga da superfície externa (Q_{s1}°). Já a densidade de carga superficial interna (Q_{s2}°), entre outros parâmetros, resulta de cálculos baseados em um modelo teórico, para a mesma escolhemos o valor calculado por *Heinrich* [50], dado na *tab.2.1*, e escolhemos um outro que é aproximadamente a metade deste; ficando, assim, entre os limites de valores apontados por diversos autores [44,98].

Como um dos nossos interesses é o estudo da influência da variação da força iônica sobre o perfil do potencial e sabendo-se que a mudança nessa força pode alterar a carga superficial externa, calculamos a densidade de carga Q_{s1}° para quatro diferentes valores de força iônica, pelo uso dos dados da mobilidade obtidos por *Bateman e Zellmer* [8] em seus experimentos de eletroforese. O potencial Zeta ξ , que corresponde à diferença $\phi_{s1}^{\circ} - \phi_{o1}^{\circ}$ da eq. 2.28, relaciona-se com a mobilidade u dada pela equação de *Helmholtz-Smoluchowski*:

$$\xi = (4\pi/\epsilon) \cdot \mu \cdot u \quad (2.60)$$

onde μ é a viscosidade. Esta relação nos dá o potencial ϕ_{s1}° , já que $\phi_{o1}^{\circ} = 0$.

Usando as eq.s 2.53 e 2.54, para valores fixos de ϕ_{s1}° e Q_{s2}° , por meio do método de interpolação obtemos o potencial ϕ_{s2}° , a diferença de potencial $\Delta\phi_s^{\circ}$ e a densidade de carga Q_{s1}° . Aplicando estes resultados na eq.s 2.28 e 2.29 e substituindo nas eq.s 2.27 e 2.25, obtem-se os perfis de potencial nas fases

aguosas. Das eq. 2.31-2.48 podemos obter, finalmente, o perfil do potencial intramembranar.

Em relação ao potencial transmembranar adotamos duas situações para sua determinação: situação A - na qual consideramos a membrana impermeável a todos os íons e o potencial transmembranar mantém-se constante quando a força iônica do meio externo (F_1^o) varia; situação B - na qual a quantidade intracelular de cátions é praticamente fixa, enquanto que o anion Cl^- atravessa a membrana livremente e o potencial químico intra e extracelulares são equilibrados, embora a concentração celular de Cl^- permaneça fixa para manter a eletroneutralidade dentro da célula. Neste caso, o potencial transmembranar muda significativamente com a F_1^o , de acordo com a eq. 2.59.

Inicialmente, vamos considerar a situação A, logo o valor do potencial transmembranar é o mesmo para todos os valores de F_1^o . A *fig. 2.2* mostra o perfil do potencial elétrico ao longo da dimensão z , para quatro diferentes valores de F_1^o : $F_1^o = F_{1o}^o$ (\square), $F_1^o = 0,5F_{1o}^o$ (Δ), $F_1^o = 0,25F_{1o}^o$ e $F_1^o = 0,1F_{1o}^o$, onde F_{1o}^o é o valor de referência da força iônica, valor fisiológico (ver tabela 2.1).

Apesar da variação da F_1^o , consideramos, neste caso, que a densidade de carga Q_{s1}^o e o potencial transmembranar eram constantes, e seus valores, bem como o da densidade Q_{s2}^o , podem ser encontrados na *tabela 2.1*.

Podemos ver nessa figura (*fig. 2.2*) que quando a F_1^o decresce, o potencial superficial em $S1$, ϕ_{s1}^o , cai progressivamente, reduzindo o campo elétrico intramembranar.

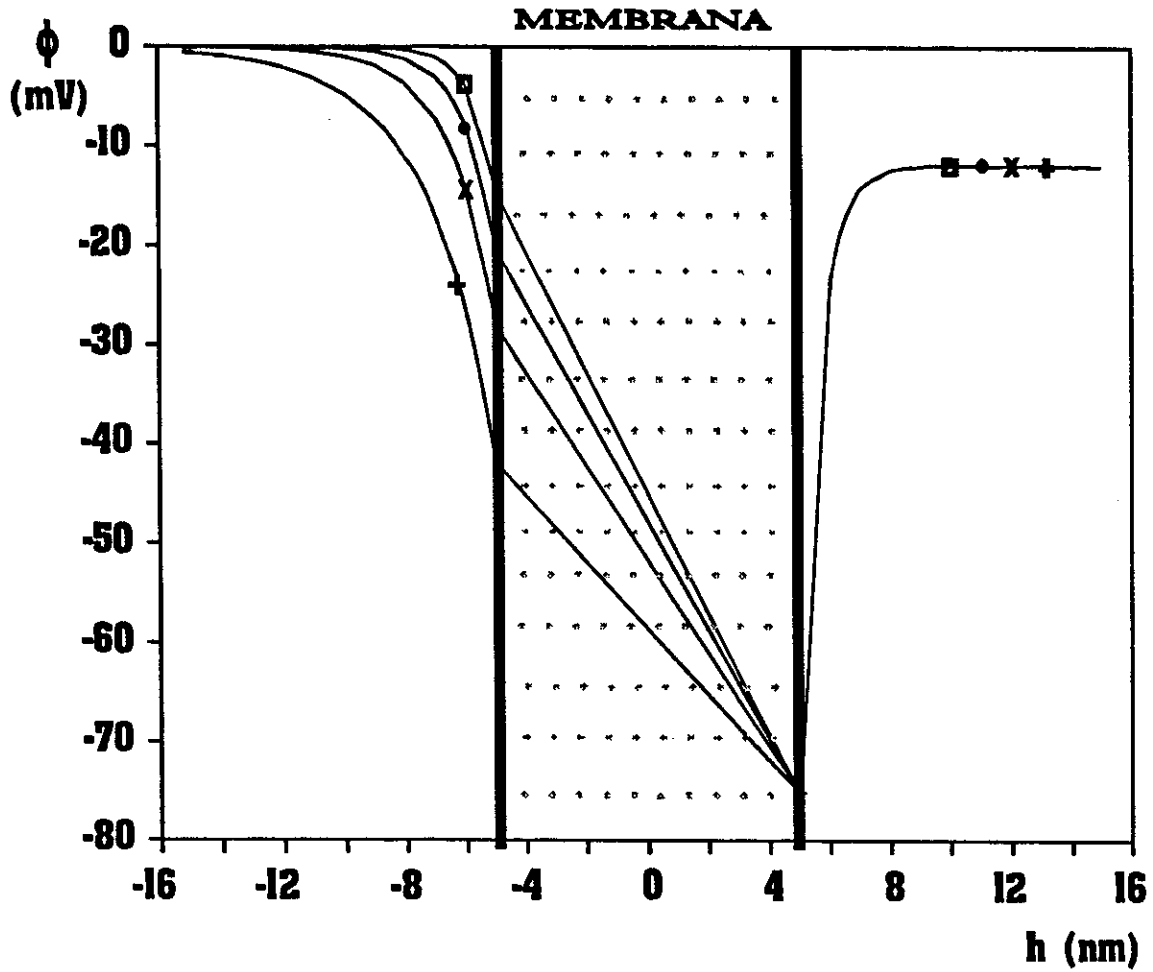


Fig. 2.2.: Perfil de potencial através da membrana do eritrócito para 4 casos de diferentes forças iônicas: $F_i^o/F_{i0}^o = 1(\square)$, $0,5(\Delta)$, $0,25(X)$ e $0,1(\circ)$, mantendo constante Q_{s1} . F_{i0}^o e a força iônica de referência, Q_{s2} é dada na tab. 2.1.

A influência da variação da Q_{s1} que resulta da variação da F_1 sobre o perfil do potencial é mostrada na *fig.2.3*. A carga Q_{s1} foi calculada para cada valor de F_1 pela aplicação dos valores da mobilidade eletroforética [8] na eq.2.60 e uso das 2.48, 2.53 e 2.54. A tabela 2.2 mostra esses valores. Pode ser visto na *fig.2.3* que, quando para cada F_1 associamos um valor diferente de Q_{s1} , a queda sofrida pelo potencial elétrico em S1 é menor que no caso da *fig.2.2*, onde a Q_{s1} é a mesma para todos os valores de F_1 .

Tabela 2.2
Força Iônica versus Densidade de Carga Superficial

Força Iônica (molar)	U (10^{-5} cm/V.s)	Q_{s1} (UCGS)
0,1720	-10,6	-4243
0,0860	-13,1	-3742
0,0430	-17,4	-3581
0,0172	-22,2	-2971

O efeito produzido pela variação da força iônica no potencial transmembranar, quando se considera a situação B, é mostrado nas *fig.s 2.4 e 2.5*.

Neste caso, o potencial transmembranar varia com a força iônica, sendo seu valor calculado pela eq.2.59. Os valores de Q_{s1} utilizados são os mesmos da figura anterior (2.3). Em ambas figuras, 2.4 e 2.5, são mostrados perfis para os mesmos valores de F_1 e Q_{s1} ; porém, na *fig.2.4* consideramos Q_{s2} igual ao valor dado na *tabela 2.1*, enquanto que na *fig.2.5*, Q_{s2} assume um valor que é aproximadamente a metade daquele dado na *tabela 2.1*.

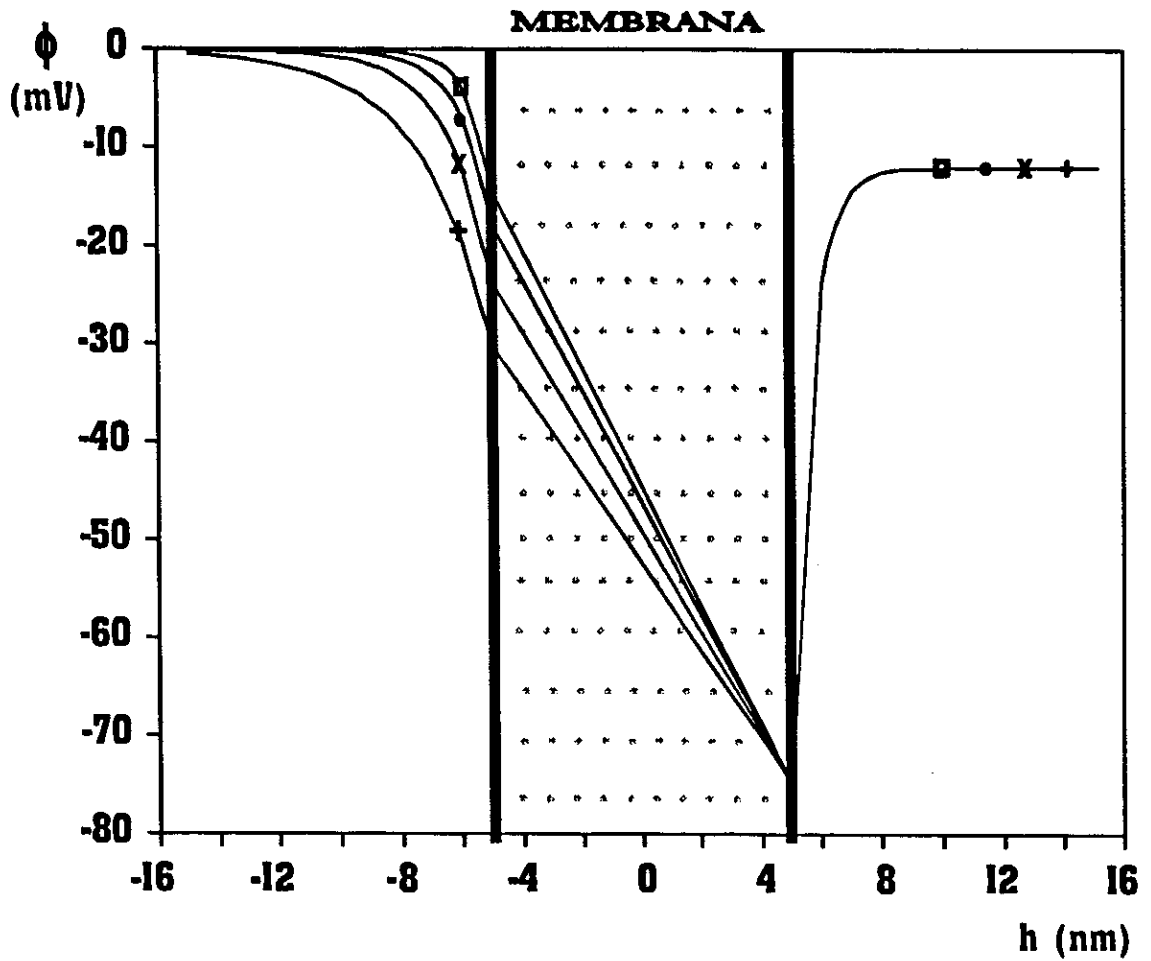


Fig. 2.3: Perfil de potencial através da membrana do eritrócito, para 4 casos de diferentes forças iônicas: $F_i^o/F_{io}^o = 1$ (\square), 0,5 (Δ), 0,25 (\times) e 0,1 (\circ). Qs_1 varia com F_i . F_{io}^o e a força iônica de referência (Qs_2 é dada na tab. 2.1).

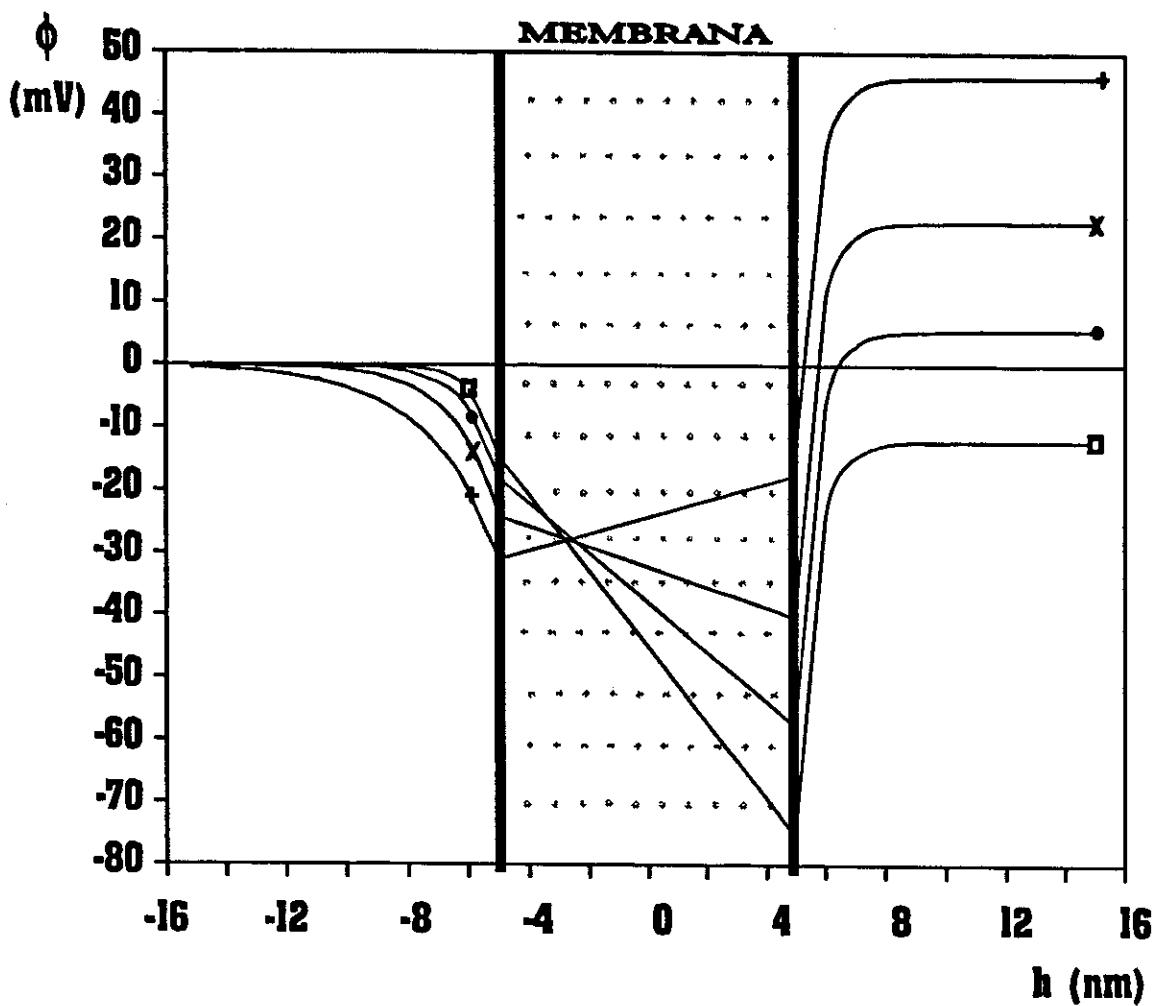


Fig. 2.4: Perfil de potencial através da membrana do eritrócito, para 4 casos de diferentes forças iônicas: $F_i^0/F_{i0}^0 = 1$ (\square), $0,5$ (Δ), $0,25$ (X) e $0,1$ (\circ), levando em conta a variação do potencial transmembranar (situação B) e da $Qs1$. F_{i0}^0 e a força iônica de referência ($Qs2$ é dada na tab. 2.1).

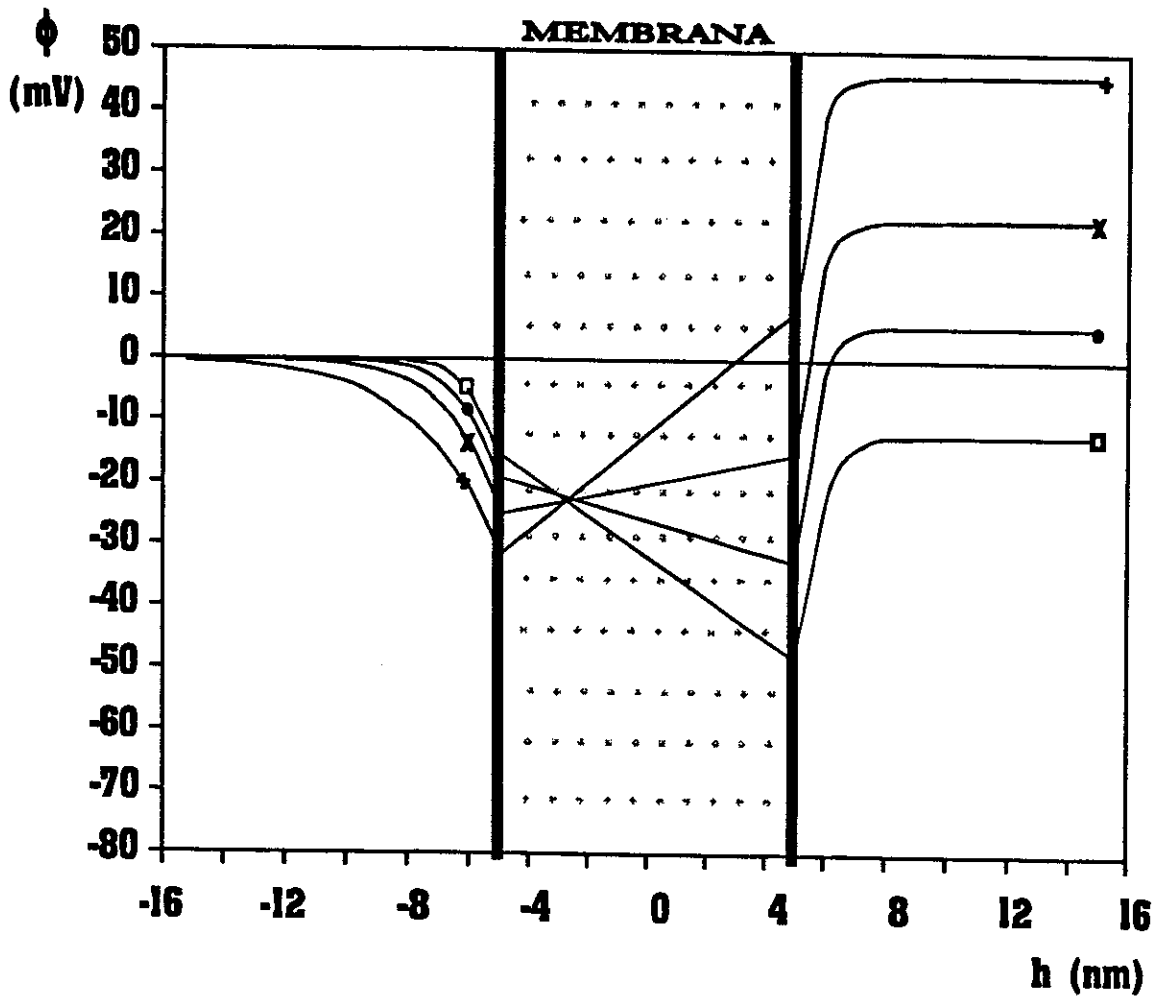


Fig.2.5: Perfil do Potencial através da membrana do eritrócito, para 4 casos de diferentes forças iônicas: $F_i^0/F_{i0}^0 = 1(\square)$, $0,5(o)$, $0,25(X)$ e $0,1(+)$, para a situação B, $Qs1$ e $\Delta\phi_0^0$ variam com F_i^0 , $Qs2 \approx$ metade do valor dado na tab.2.1. (F_{i0}^0 , valor de referência, e h são dados na tab.2.1).

Em ambos os casos, podemos observar que o potencial transmembranar e os superficiais (ϕ_{s1}° e ϕ_{s2}°) são afetados pela diminuição de F_1° . O potencial na superfície interna (ϕ_{s2}°) torna-se gradualmente menos negativo quando decresce a força iônica externa, até assumir valores positivos. Isto produz uma profunda alteração na diferença de potencial superficial ($\Delta\phi_s^{\circ}$). Contudo, a queda de potencial que ocorre no meio intracelular ($\phi_{s2}^{\circ} - \phi_{s1}^{\circ}$) é menos negativa no resultado da *fig. 2.5* que na *2.4*.

Esses resultados são consistentes com aqueles obtidos por *Heinrich et al* [50] que investigaram o perfil de potencial para a membrana do eritrócito pela solução da equação de *Poisson-Boltzmann*, tomando em consideração as cargas fixas do glicocálix, da espectrina e da hemoglobina. Eles mostraram que mudanças drásticas na carga da superfície externa não influenciam no potencial superficial da face interna. Isto pode ser constatado nas *fig.s 2.4 e 2.5*.

4. Discussão e Conclusões.

Neste capítulo determinamos as equações de potencial em função da variável z referentes ao estado estacionário, para um modelo que simula a membrana de um eritrócito, através do desenvolvimento da equação de *Poisson-Boltzmann*. Quando aplicamos valores numéricos nessas expressões, fixando o valor do potencial transmembranar obtivemos como resultados perfis de potencial (*fig. 2.2 e 2.3*) apresentando uma queda pronunciada através do

meio intramembranar, ou seja, na região entre as duas superfícies que limitam a membrana. Isto era esperado, pois é sabido que nas regiões de interface entre o filme (membrana) e as duas fases aquosas, são observadas mudanças bruscas nas propriedades físico-químicas do sistema trifásico: meio externo-membrana-citoplasma.

A queda de potencial entre a fase externa e a superfície interna da membrana é atenuada através da camada difusa e uma subida do potencial no meio intracelular é observada, até que este atinja a um nível dentro daqueles correspondentes ao potencial transmembranar ($\Delta\phi_o^\circ$), como é chamada a queda de potencial entre os meios extra e intracelulares.

Os resultados apresentados na *fig.2.2* mostram que, quando consideramos apenas a variação da força iônica do meio externo, ignorando, portanto, os seus efeitos sobre a carga superficial e sobre o potencial transmembranar, uma variação significativa do potencial elétrico na superfície externa (ϕ_{s1}°) é observada. Porém, seu efeito sobre o potencial na superfície interna (ϕ_{s2}°) é desprezível. Observa-se, então, uma mudança importante do campo elétrico intramembranar (E_f°), que pode ser avaliada na mesma figura.

Nas *fig.s 2.3, 2.4 e 2.5* levamos em conta a ação da variação da força iônica sobre a densidade de carga superficial. Assim, associamos aos efeitos produzidos diretamente pela variação da força iônica, mostrados pela *fig.2.2*, os efeitos devidos à variação da densidade de carga superficial; provocados pela própria variação da força iônica.

De acordo com *Tatulian et al* [96], a mudança na carga superficial que resulta da variação da força iônica se deve à alterações no número de sítios iônicos de ligação em exposição na superfície da membrana e que, portanto, a interpretação desse fenômeno deve ser feita baseada nas transformações estruturais do revestimento da superfície celular produzidas pela variação daquela força.

Vários autores [8,39,49] já demonstraram que a diminuição desta força é acompanhada por um aumento da carga superficial (esta torna-se menos negativa). *Bateman e Zellmer* [8] calcularam os valores das densidades de carga na superfície externa da membrana de eritrócitos para vários valores de força iônica. Eles utilizaram seus resultados de experimentos de eletroforese aplicando-os nas equações de *Gouy* modificada por *Gorin*. Demonstraram que, para uma queda de 100 vezes da força iônica, o módulo da densidade de carga superficial caía para um valor que era 1,58 daquele correspondente à força iônica inicial. Porém, nesses cálculos, o campo intramembranar não era considerado.

Na *fig.2.3*, onde não levamos em conta o efeito da variação da força iônica sobre o potencial transmembranar, observa-se que a diminuição do potencial superficial ϕ_{s1}° resultante da queda dessa força torna-se menos acentuada que aquela observada na *fig.2.2*. Isto significa que o aumento da carga superficial, ou seja, que a alteração que surge na superfície da membrana, devida a alteração da força iônica da fase aquosa, contribui para a atenuação deste efeito. força. Então, podemos dizer que o efeito da mudança da carga superficial é no sentido contrário

do efeito da simples mudança de concentrações na fase aquosa.

Quando consideramos a situação na qual o potencial transmembranar varia com a força iônica, de acordo com a eq. 2.60, verificamos que o perfil do potencial sofre grandes alterações. A diminuição da força iônica para 1/2 do valor inicial (F_{10}°), leva o potencial transmembranar para valores positivos (fig.s 2.4 e 2.5).

Os efeitos da F_1° tanto sobre o potencial superficial externo (ver fig.s 2.2 e 2.3) quanto sobre o potencial transmembranar (ver fig.s 2.4 e 2.5) são bem evidentes, contribuindo ambos para as mudanças do perfil do potencial. Entretanto, a contribuição devida ao último citado é mais importante que aquela devida ao primeiro, destacando-se, nesse caso, a profunda alteração produzida no potencial superficial interno ϕ_{s2}° que resulta da variação do $\Delta\phi_0^{\circ}$. Quando F_1° decresce, o ϕ_{s2}° torna-se gradualmente menos negativo, assumindo valores positivos.

A análise da influência da densidade de carga superficial e da força iônica externas sobre a queda do potencial na membrana é de grande importância no nosso estudo, visto que em trabalhos experimentais esses dois parâmetros são frequentemente mencionados por serem de fácil controle em pesquisas experimentais com células.

CAPÍTULO III

A ANÁLISE LINEAR E A PERTURBAÇÃO DO POTENCIAL ELÉTRICO

1. Introdução.

Nas seções anteriores nos preocupamos em determinar as equações relacionadas com o estado de referência da membrana, podemos, agora, investigar o estado perturbado. Neste capítulo, inicialmente, apresentamos as equações básicas da hidrodinâmica que nortearam o desenvolvimento da análise linear e as condições de contorno que consideramos para o estado perturbado e, em seguida, resolvemos a equação de *Navier-stokes*, obtendo as equações das componentes do campo de velocidade do sistema perturbado. Depois, calculamos as equações das perturbações dos potenciais nas fases externas e intramembranares e, pelo uso das condições de contorno, obtemos as perturbações dos potenciais nas superfícies.

2. Equações Básicas da Hidrodinâmica Interfacial.

2.1 - Equação de Navier-Stokes.

Quando se considera uma interface plana entre dois fluidos imiscíveis submetido à ação de forças elétricas ou eletroquímicas, o movimento convectivo de um elemento de volume das fases, constituídas de fluido Newtoniano e incompressível, é perfeita-

mente descrito pela equação de Navier-Stokes:

$$\rho \frac{d}{dt} \vec{v} = - \nabla \cdot \vec{p} + \mu \nabla^2 \vec{v} + \vec{F}_{ext} \quad (3.1)$$

onde ρ é a densidade total de massa, d/dt é a derivada no tempo, \vec{v} é o vetor velocidade baricêntrica, \vec{p} é o tensor de pressão, \vec{F}_{ext} é a força externa, μ é a viscosidade do meio e ∇ é o operador diferencial

$$\vec{v} = \frac{\partial}{\partial x} \hat{e}_x + \frac{\partial}{\partial y} \hat{e}_y + \frac{\partial}{\partial z} \hat{e}_z. \quad (3.2)$$

A velocidade baricêntrica é dada por

$$\vec{v} = \frac{1}{\rho_\gamma} \sum_\gamma \rho_\gamma \vec{v}_\gamma \quad (3.3)$$

ou seja, é o somatório dos produtos massa x velocidade dos diversos elementos da solução em um volume considerado. Quanto as forças externa, não consideramos as gravitacionais e as magnéticas (os movimentos iônicos são lentos), importando-nos apenas com as de origem elétrica. Assim,

$$\vec{F}_{ext} = \nabla \cdot \vec{T} \quad (3.4)$$

onde o \vec{T} tensor de stress de Maxwell [9], que é dado por

$$(T)_{ij} = \frac{1}{4\pi} E_i E_j - \frac{1}{8\pi} (\sum_k E_k^2) \delta_j^i \quad (3.5)$$

Nessa equação, δ_j^i é o delta de Kronecker e E_i , E_j e E_k são as componentes do vetor campo elétrico nas direções i, j e k

(i, j, k = x, y, z). A componente i-j do tensor pressão é definida como

$$(p)_{ij} = p \delta_{ij} - \mu \left(\frac{\partial}{\partial j} v_i + \frac{\partial}{\partial i} v_j \right) \quad (i, j = x, y, z) \quad (3.6)$$

onde μ é a viscosidade e a condição de incompressibilidade requer que

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{v} = 0 \quad (3.7)$$

2.2 - Dinâmica Superficial.

Para qualquer grandeza superficial Q , associada a uma interface entre dois fluidos imiscíveis, a equação de balanço tem a forma [77]:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} Q &= Q_s \left(\vec{\nabla}_s \cdot \vec{v} + \frac{\dot{a}}{2a} \right) && \text{convecção superficial} \\ &- \nabla_s \cdot \vec{J} (Q_s) && \text{difusão superficial} \\ &+ R_s (Q_s) && \text{fonte superficial} \\ &- \Delta_s [Q_v (v - v_s)] \cdot \hat{n} && \text{fluxos convectivos} \\ & && \text{oriundos das fases} \\ & && \text{adjacentes} \\ &- \Delta_s [J_v (Q_v)] \cdot \hat{n} && \text{fluxos de difusão} \\ & && \text{oriundos das fases} \\ & && \text{adjacentes} \end{aligned} \quad (3.8)$$

A velocidade superficial intrínseca \vec{v} , tem suas componentes v^α bidimensionais relacionadas com as coordenadas superficiais intrínsecas u^α , da seguinte forma

$$v^\alpha = \frac{d}{dt} u^\alpha \quad (3.9)$$

e a divergência de qualquer vetor \vec{A} é dada pela derivada superficial covariante

$$\vec{\nabla}_s \cdot \vec{A} = \frac{\partial}{\partial x_\alpha} A^\alpha \quad (3.10)$$

A quantidade a , do primeiro termo do lado direito da eq. 3.8 está relacionada ao tensor métrico superficial

$$a = \det (a_{\alpha\beta}) \quad (3.11)$$

A velocidade superficial tridimensional \vec{v}_s está relacionada com \vec{v} , através da seguinte expressão:

$$(\vec{v}_s)^i = \frac{\partial}{\partial u_\alpha} x^i \frac{d}{dt} u^\alpha + \frac{\partial}{\partial t} x^i = t_\alpha^i v^\alpha + \dot{x}^i \quad (3.12)$$

onde x^i são componentes do vetor posição na superfície (x_s) no espaço tridimensional e $t_\alpha^i = \frac{\partial}{\partial u_\alpha} x^i$.

A quantidade Q_v , que aparece no penúltimo termo da eq. 3.8, cuja diferença entre as duas fases adjacentes representa o fluxo convectivo, leva em conta a diferença entre as velocidades baricêntricas na superfície (\vec{v}_s) e na fase "bulk"; \hat{n} é o vetor unitário no sentido da fase 2 para a fase 1.

Finalmente, o último termo da eq. 3.8 é dado pela diferença de

$$J_v (Q_v) = Q_v (\vec{v}_0 - \vec{v}) \quad (3.13)$$

onde \vec{v}_0 é a vetor velocidade no espaço tridimensional de Q_v [84].

2.2.1 - Balanço do Stress.

Da equação geral (3.8), fazendo $Q = \Gamma_t v_s$, obtemos a equação de balanço de stress,

$$\Gamma_t \frac{d}{dt} \vec{v}_s = \vec{v} \cdot (\hat{\Pi}) + \hat{F}_s + [-\hat{P} + \hat{T}] \cdot \hat{n} \quad (a) \quad (3.14)$$

com
$$\vec{v} \cdot (\hat{\Pi})^i = \frac{\partial}{\partial x} (t_\alpha^i \Pi^{\alpha\beta}) \quad (b)$$

onde $\hat{\Pi}$ é o tensor stress superficial e \hat{F}_s é a força superficial intrínseca. \hat{P} e \hat{T} são os tensores de stress de pressão e de Maxwell, relativos às fases adjacentes.

2.2.3 - Cinética da matéria adsorvida.

Usando a eq. 3.8, também podemos escrever a equação do balanço de massa para cada componente γ da camada superficial. Assim,

$$\frac{d}{dt} \Gamma_\gamma + \Gamma_\gamma (\vec{v}_s \cdot \vec{v} + \frac{\dot{a}}{2a}) + \vec{v}_s \cdot \vec{J}_{\gamma s} + R_{\gamma s} = - \Delta_s [\vec{J}_{v\gamma}] \cdot \hat{n} \quad (3.15)$$

onde $\vec{J}_{\gamma s}$ é o fluxo de difusão através da superfície, $R_{\gamma s}$ é a fonte química superficial e $\vec{J}_{v\gamma}$ relaciona-se com o intercâmbio de massa entre as fases volumétricas e a superfície.

Assumindo que a camada superficial é uma solução diluída, os fluxos de solutos são dados por:

$$\vec{J}_{v_s} = \vec{v}_{\gamma_s} (\vec{v}_s \Gamma_\gamma + Z_\gamma \Gamma_\gamma \vec{v}_s \phi) \quad (3.16)$$

onde o último termo é relacionado com a migração de componentes iônicos. Os fluxos de adsorção-desadsorção $\vec{J}_{v_\gamma} \cdot \vec{n}$ são relacionados com a diferença dos potenciais eletroquímicos entre a superfície e a fase adjacente, logo

$$\begin{aligned} J_{\gamma_1} \cdot \vec{n} &= P_{\gamma_1} (\tilde{\mu}_{\gamma_s} - \tilde{\mu}_{\gamma_1}) & (a) \\ J_{\gamma_2} \cdot \vec{n} &= P_{\gamma_2} (\tilde{\mu}_{\gamma_s} - \tilde{\mu}_{\gamma_2}) & (b) \end{aligned} \quad (3.17)$$

onde P_{γ_v} são os coeficientes de permeabilidade superficial e $\tilde{\mu}_{\gamma_s}$ são os potenciais eletroquímicos superficiais

$$\tilde{\mu}_{\gamma_s} = \mu_{\gamma_s} + Z_\gamma \phi = \mu_{\gamma_s}^* + RT \ln \Gamma_\gamma + Z_\gamma \phi \quad (3.18)$$

sendo μ_{γ_s} o potencial químico superficial e $\mu_{\gamma_s}^*$ o potencial químico padrão (ver cap.II).

Aqui, assumimos que o grau de adsorção-desadsorção superficial é determinante no processo de transferência de todas as espécies químicas através da interface. E, como vimos no capítulo anterior, consideramos os processos de difusão através da interface muito rápidos, sendo, portanto, o potencial eletroquímico constante nas fases volumétricas.

3. Análise Linear da Perturbação.

Se analisarmos as flutuações em torno de um dado estado es-

tacionário, em função das coordenadas espaciais e temporais, quando um sistema é perturbado, estaremos obtendo informações sobre a estabilidade e as propriedades dinâmicas deste sistema. A teoria de análise linear de estabilidade é, sem dúvida, bastante eficiente no estudo da evolução de flutuações espontâneas ou pequenas perturbações.

Considerando Q^0 como uma grandeza referente ao estado estacionário no repouso, qualquer perturbação linear δQ de uma quantidade $Q = Q^0 + \delta Q + \dots$ pode ser expandida em integral de Fourier [82], levando em conta a cinética do estado de referência (não dependente de x e y). Assim,

$$\delta Q(x, y, z, t) = \int d\mathbf{k} \delta Q_{\mathbf{k}}(x, y, z, t) \quad (3.19)$$

onde $\delta Q_{\mathbf{k}} = \delta Q(z) \exp [iK_x x + iK_y y + \omega t]$ (a)

e (3.20)

$$K^2 = K_x^2 + K_y^2 \quad (b)$$

Como já sabemos, z é o eixo normal à interface não perturbada. Por outro lado as quantidades ω e K são integrantes da relação de dispersão característica da resposta cinética do sistema para perturbações lineares. Se assumirmos que K é puramente real, ω deve ser uma quantidade complexa,

e $K = K_R$ (a)

(3.21)

$\omega = \omega_R + i\omega_I$ (b)

Neste caso, em uma dada posição, a perturbação evolui no tempo e ω_i descreve a propagação de uma onda. Quando $\omega_R < 0$, ω_R é o coeficiente de tempo de amortecimento e quando $\omega_R > 0$, ω_R passa a ser o coeficiente de tempo de amplificação da perturbação. Para $\omega_R = 0$, temos um estado de estabilidade marginal, ou crítica. O número de onda é dado por

$$K_R = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (3.22)$$

onde λ é o comprimento de onda.

Quando uma superfície é deslocada da sua posição original z_s^0 ($z_s^0 = \pm h/2$, no nosso estudo), a força e os campos de velocidade são perturbados tanto na superfície quanto nas fases adjacentes. Para um dado modo de *Fourier*, as quantidades Q_k têm que satisfazer a um conjunto completo de equações dinâmicas lineares [91].

3.1 - Campo de Velocidade do Estado Perturbado.

A solução da equação de *Navier-Stokes* (eq. 3.1) nos dá a amplitude das componentes do campo de velocidade. No estado perturbado, consideramos a forma explícita das componentes de *Fourier* para as flutuações (eq. 3.19). Linearizando a equação de *Navier-Stokes*, obtemos para a perturbação de primeira ordem as seguintes equações:

$$iK_x \delta p = -\rho\omega v_x + \mu (\mathbb{D}^2 - K^2) v_x + \delta F_x \quad (a)$$

$$iK_y \delta p = -\rho\omega v_y + \mu (\mathbb{D}^2 - K^2) v_y + \delta F_y \quad (b) \quad (3.23)$$

$$\mathbb{D} \delta p = -\rho\omega v_z + \mu (\mathbb{D}^2 - K^2) v_z + \delta F_z \quad (c)$$

onde $\vec{v} = \delta\vec{v}$ (pois o vetor velocidade no estado estacionário, \vec{v}^0 , é nulo). A densidade e a viscosidade são consideradas constantes e uniformes nas fases volumétricas. As componentes δF_x , δF_y e δF_z da perturbação da força são calculadas a partir das eqs. 3.3 e 3.4, sendo que E_x^0 , E_y^0 , $\frac{\partial}{\partial x} E_z^0$ e $\frac{\partial}{\partial y} E_z^0$ são nulos (devido a homogeneidade ao longo de x e y, no estado não-perturbado). Assim,

$$\delta F_x = D \left(\frac{\epsilon}{4\pi} E_z^0 \delta E_x \right) - ik_x \left(\frac{1}{4\pi} E_z^0 \delta E_z \right) \quad (a)$$

$$\delta F_y = D \left(\frac{\epsilon}{4\pi} E_z^0 \delta E_y \right) - ik_y \left(\frac{1}{4\pi} E_z^0 \delta E_z \right) \quad (b) \quad (3.24)$$

$$\delta F_z = \frac{\epsilon}{4\pi} E_z^0 (ik_x \delta E_x + ik_y \delta E_y) + \frac{1}{4\pi} (2\epsilon - 1) D (E_z^0 \delta E_z) \quad (c)$$

Quando eliminamos δp trabalhando as eq.s 3.23, usamos a condição dada pela eq.3.6

$$ik_x v_x + ik_y v_y + D v_z = 0 \quad (3.25)$$

e a condição que diz que as forças elétricas nas camadas difusas são irrotacionais [77], ou seja,

$$\frac{\partial}{\partial y} F_x = \frac{\partial}{\partial x} F_y \quad (a)$$

$$\frac{\partial}{\partial x} F_z = \frac{\partial}{\partial z} F_x \quad (b) \quad (3.26)$$

$$\frac{\partial}{\partial y} F_z = \frac{\partial}{\partial z} F_y \quad (c)$$

sendo, então, que o campo de velocidade pode ser calculado independentemente das variáveis elétricas. Portanto,

$$(D^2 - K^2) (D^2 - K^2 - \frac{\omega}{\nu}) v_z = 0 \quad (3.27)$$

cujas soluções são:

$$v_1(z) = A_1 e^{Kz} + B_1 e^{q_1 z} \quad z < -h/2 \quad (3.28)$$

$$v_f(z) = A_f e^{Kz} + A'_f e^{q_f z} + B_f e^{-Kz} + B'_f e^{-q_f z} \quad -h/2 < z < h/2 \quad (3.29)$$

$$v_2(z) = A_2 e^{-Kz} + B_2 e^{-q_2 z} \quad z > h/2 \quad (3.30)$$

onde $q_1 = (K^2 + \omega/\nu_1)^{1/2}$, definido tal que $Re(q) > 0$ já que todas perturbações devem se anular longe das interfaces, e $\nu_i = \mu_i/\rho_i$ é a viscosidade cinemática. As constantes A_1 e B_1 devem ser calculadas pelo uso das condições de contorno nas respectivas interfaces.

A equação 3.29 pode ser escrita na forma:

$$v_f(z) = A \cosh(Kz) + A' \cosh(q_f z) + B \sinh(Kz) + B' \sinh(q_f z) \quad (3.31)$$

que contém uma parte simétrica, que chamaremos de $v_A(z)$, e uma parte antisimétrica, que chamaremos de $v_B(z)$, tal que

$$v_A(z) = A_f \cosh(Kz) + A'_f \cosh(q_f z) \quad (a)$$

$$e \quad (3.32)$$

$$v_B(z) = B_f \sinh(Kz) + B'_f \sinh(q_f z) \quad (b)$$

sendo, então,

$$v_f(z) = v_A(z) + v_B(z) \quad (3.33)$$

Assim, a componente z da velocidade e a sua derivada podem ser expressas pelas relações abaixo, que contêm, intrinsecamente, a

interrelação entre as formas simétrica e antissimétrica,

$$v_{s1} = v_{As} - v_{Bs} \quad (a)$$

$$v_{s2} = v_{As} + v_{Bs} \quad (b) \quad (3.34)$$

$$Dv_{s2} = -Dv_{As} + Dv_{Bs} \quad (a)$$

$$Dv_{s1} = Dv_{As} + Dv_{Bs} \quad (b) \quad (3.35)$$

Nas duas interfaces, as componentes v_{As} e Dv_{Bs} têm a mesma intensidade e sentido; assim como, v_{Bs} e Dv_{As} têm sentidos opostos [4].

3.2 - As Condições de Contorno na Superfície Perturbada.

Vamos considerar duas interfaces, S1 e S2, visto que temos três regiões distintas. Seja δQ_{s1} a perturbação de qualquer grandeza numa das superfícies, as condições de contorno a serem consideradas no desenvolvimento do nosso estudo da superfície perturbada são:

I . Condições de velocidade: *Continuidade das velocidades e de suas derivadas.*

Se fizermos Q_s da eq.3.8 igual a Γ_t , que é a densidade superficial de massa total, e considerando que não havendo fontes

de massa os fluxos de difusão se cancelam, obtemos que

$$\frac{d}{dt} \Gamma_t + \Gamma_t \left(\vec{v}_s \cdot \vec{v} + \frac{\dot{a}}{2a} \right) = -\Delta_s [\rho (\vec{v} - \vec{v}_s)] \cdot \hat{n} \quad (3.36)$$

Se as componentes normais da velocidade são iguais na superfície, a eq.3.15 se reduz a:

$$\frac{d}{dt} \Gamma_t + \Gamma_t \left(\vec{v}_s \cdot \vec{v} + \frac{\dot{a}}{2a} \right) = 0 \quad (3.37)$$

Assim, não há intercâmbio de matéria entre a fase "bulk" e a superfície e a variação de massa total só depende do movimento intrínseco superficial, sendo as componentes tangenciais das velocidades iguais entre si [77]. Desta forma, chegamos a uma igualdade vetorial que nos dá a continuidade da velocidade através da superfície,

$$\vec{v}_1 = \vec{v}_s = \vec{v}_2 \quad (3.38)$$

de acordo com a eq. 3.37 e a relação dada por 3.25, temos

$$v_{z1} \Big|_{z_{s1}} = v_1 \Big|_{-h/2} = v_f \Big|_{-h/2} = v_{s1} \quad (a)$$

$$Dv_{z1} \Big|_{z_{s1}} = Dv_1 \Big|_{-h/2} = Dv_f \Big|_{-h/2} = Dv_{s1} \quad (b)$$

$$v_{z_2} \Big|_{z_{s2}} = v_2 \Big|_{h/2} = v_f \Big|_{h/2} = v_{s2} \quad (a)$$

(3.40)

$$Dv_{z_2} \Big|_{z_{s1}} = Dv_2 \Big|_{-h/2} = Dv_f \Big|_{-h/2} = Dv_{s2} \quad (b)$$

onde z_{s1} representa a coordenada z de um ponto na superfície perturbada, enquanto que $z_{s1}^0 = \pm h/2$ é relativa a superfície de referência.

II. Condições elétricas:

a) Continuidade da perturbação do potencial através das superfícies da membrana (condições IIa e IIIa, cap.II), ou seja,

$$\Delta_s \left(\delta\phi_1 \right)_{z_{s1}} = 0 \quad (3.41)$$

Levando em conta o deslocamento (δz) sofrido pela superfície durante sua deformação, a perturbação δQ de uma grandeza física Q pode ser representada na superfície deformada z_s , através da expansão:

$$\delta Q \Big|_{z_s} = Q \Big|_{z_s} - Q^0 \Big|_{z_s} \quad (a)$$

ou

(3.42)

$$\delta Q \Big|_{z_s} = \delta Q \Big|_{z_s^0} + \delta z_s [\nabla Q^0] \Big|_{z_s^0} \quad (b)$$

Dessa forma, podemos escrever que a perturbação do potencial na

superfície perturbada é igual a

$$\delta\phi_1 \Big|_{z_s} = \delta\phi_1 \Big|_{z_s^o} + D\phi_1^o \Big|_{z_s^o} \delta z_{s1} = \delta\phi_{s1} \quad (3.43)$$

onde z_s^o representa a superfície não-deformada, como dito anteriormente.

Assim, aplicando-se à condição dada pela eq.3.41 o resultado da 3.43, temos que

$$\Delta_s [\delta\phi_1] \Big|_z = \Delta_s [\delta\phi_1] \Big|_{z^o} + \delta z_{s1} \Delta_s [D\phi_1^o] \Big|_{z^o} = 0 \quad (3.44)$$

Adotamos o símbolo Δ para representar uma diferença entre grandezas relativas ao lado direito da interface e as relativas ao lado esquerdo (sempre lado direito menos o lado esquerdo), $\Delta_{s1} = [f-1]$ ou $\Delta_{s2} = [2-f]$ ou, ainda, $\Delta_s = [2-1]$.

b) Descontinuidade do deslocamento elétrico, que nos leva à uma descontinuidade da perturbação do campo elétrico (eq.2.5 e 2.6). Assim,

$$\Delta_s \left(\epsilon_1 \delta E_1 \right) \Big|_{z_{s1}} = 4\pi\delta Q_{s1} \quad (3.45)$$

onde δQ_{s1} é a flutuação da densidade de carga na superfície S_1 . Expandindo δE_1 de acordo com 4.8, podemos escrever:

$$\Delta_s [\epsilon_1 \delta E_1] \Big|_{z_s^o} + \delta z_{s1} \Delta_s [\epsilon_1 D E_1^o] \Big|_{z_s^o} = 4\pi\delta Q_{s1} \quad (3.46)$$

Como $E = -\nabla\phi$ a eq.3.46 pode ser escrita na forma

$$\Delta_s [\epsilon_1 \nabla \delta \phi_1] \Big|_{z_0} + \delta z_{s1} \Delta_s [\epsilon_1 \nabla^2 \phi_1^0] \Big|_{z_0} = -4\pi \delta Q_{s1} \quad (3.47)$$

III. Condições mecânicas - Envolvem os balanços dos momentos tangencial e normal na interface que correspondem respectivamente aos stresses tangencial e normal [ver seção 2.2 de 72]:

a) Stress Tangencial (relação de Marangoni) -

$$K^2 \delta \sigma_M - K^2 \eta_s \nabla v_z + \Delta_s \left(\mu (\nabla^2 + K^2) v_z \right) - \delta F_T = 0 \quad (3.48)$$

O termo δF_T é referente à perturbação tangencial da força elétrica exercida pelas fases adjacentes é dado por:

$$\begin{aligned} \delta F_T = & \Delta_s \left(\frac{\epsilon E^0}{4\pi} (iK_x \delta E_x + iK_y \delta E_y) \right) - \\ & - K^2 \left(\Delta_s \left(\frac{\epsilon}{4\pi} (E_z^0)^2 \right) - F_{zs}^0 \right) \end{aligned} \quad (3.49)$$

onde as contribuições intrínsecas das superfícies não são consideradas [107].

Na eq.3.48, $\delta \sigma_M$ é a perturbação na interfacial mecânica, η_s é a soma das viscosidades elástica e de cisalhamento, F_{zs} é a componente na direção z da força elétrica na superfície e δz é a deformação sofrida pela interface, que pode ser expressa em termos da componente normal da velocidade, v_{s1} ,

$$\frac{d}{dt} \delta z_{s1} = v_{s1} \quad (3.50)$$

que é a condição cinemática. Então, para o deslocamento

transversal nas interfaces podemos escrever que

$$\delta z_{s1} = \frac{v_{s1}}{\omega} \quad (3.51)$$

b) Stress Normal (relação de Laplace) [72],

$$K^2 \sigma_H^0 \delta z + \Delta_s \left[(\mu/K^2) (D^2 - K^2) Dv_z - [(\omega\rho/K^2) + 2\mu] Dv_z \right] - \delta F_N = 0 \quad (3.52)$$

onde a componente normal da perturbação da força elétrica é dada por:

$$\delta F_N = (1/K^2) \Delta_s \left[(\epsilon/4\pi) D [E_z^0 (iK_x \delta E_x + iK_y \delta E_y)] \right] + (1/K^2) \Delta_s \left[(2\epsilon/4\pi) E_z^0 \delta E_z \right]$$

$$\text{ou} \quad \delta F_N = \Delta_s \left[(\epsilon/4\pi) (D E_z^0 \delta \phi_s + E_z^0 \delta E_z) \right] \quad (3.53)$$

Nas eq.s 3.48 e 3.52, o penúltimo termo é referente à força viscosa das fases adjacentes, agindo na superfície de separação. A aceleração superficial foi desprezada, pois supomos pequeno o termo relativo a mesma quando comparado com os termos viscosos e com aqueles que envolvem as forças atuantes na superfície.

3.3 - Determinação das Perturbações Superficiais de Massa.

Para uma espécie química γ , a equação do balanço de massa superficial perturbado é [84]:

$$\frac{\partial}{\partial t} \delta\Gamma_\gamma = \omega \delta\Gamma_\gamma = \Gamma_\gamma^0 Dv_s - \nabla_s [\delta J_s] - \Delta_s [\delta J_b] + R_{\gamma s} \quad (3.54)$$

O primeiro termo do lado direito descreve o movimento convectivo superficial, o segundo termo refere-se ao fluxo de difusão-migração superficial e o terceiro representa a diferença finita do fluxo perturbado de matéria entre as fases adjacentes e a superfície, sendo este proporcional à diferença da perturbação do potencial eletroquímico entre cada fase adjacente e a superfície. O quarto representa a fonte de matéria do tipo γ , devida às reações químicas.

Para uma superfície diluída, o termo difusão-migração é escrito, de acordo com *Prevost et al* [84], como:

$$\nabla_s [\delta J_s] = D_{\gamma s} K^2 \left[\delta\Gamma_\gamma + \frac{z_\gamma \Gamma_\gamma}{RT} \delta\phi_s \right] \quad (3.55)$$

onde $D_{\gamma s}$ é o coeficiente de difusão superficial, z_γ é a carga molar da substância γ (que pode ser negativa ou positiva), R é a constante universal dos gases. As flutuações do potencial químico superficial padrão ($\delta u_{\gamma s}^*$) foram desprezadas.

O penúltimo termo da eq. 4.54 permite considerar os efeitos da adsorção superficial, uma vez que, em camadas mais compactas, existem forças de adsorção que contribuem para a tensão superficial, enquanto que nas camadas difusas somente as forças elétricas contam [107]

Em caso de soluções muito diluídas, para descrição da adsorção superficial, podemos usar a aproximação dos gases perfei-

tos, ou o chamado "tratamento de solução superficial" [91].

Assumindo a condição de restauração instantânea da distribuição de Boltzmann, o fluxo líquido da componente γ através de uma interface diluída vem a ser

$$\Delta_s [\delta J_b] = c_\gamma [\delta \Gamma_\gamma + \frac{Z_\gamma \Gamma_\gamma}{RT} \delta \phi_s] \quad (3.56)$$

onde c_γ é o coeficiente de adsorção-desadsorção.

As moléculas que constituem a membrana têm, naturalmente, um certo grau de dissociação que é de grande importância para a densidade de carga superficial. Essa dissociação pode ocorrer de acordo com a equação química:



onde M_d corresponde à moléculas dissociadas, I aos íons livres, M_n à moléculas não dissociadas, k_d e k_e são as constantes cinéticas relativas aos sentidos de reação, da esquerda para a direita e vice-versa, respectivamente. Teremos, então, uma equação de balanço de massa para cada um dos componentes γ da eq. 3.54. De forma que:

a) Para as moléculas adsorvidas não-dissociadas, podemos escrever:

$$\omega \delta \Gamma_n = \Gamma_n^0 D V_z - D_{ns} K^2 \delta \Gamma_n + k_d (\Gamma_d^0 \delta \Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta \Gamma_d) - k_e \delta \Gamma_n \quad (3.58)$$

onde o termo $D_n K^2 \delta \Gamma_n$ corresponde ao fluxo de difusão-migração interfacial. Observe que o termo da eq. 3.55 que contém a per-

turbação do potencial na superfície, $\delta\phi_s$, não aparece na eq.3.58, pois para a molécula não-dissociada a carga é nula, e

$$\nabla_s [\delta J_s]_n = D_n K^2 \delta\Gamma_n \quad (3.59)$$

Além disso, supomos essas moléculas completamente adsorvidas na superfície (isto é, formando a própria superfície), o que anula os seus coeficientes de adsorção-desadsorção e, conseqüente, o termo correspondente da eq.3.56 não aparece na eq.3.58. Assim,

$$k_d (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) - k_e \delta\Gamma_n = R_{ns} = 0 \quad (3.60)$$

b) Para as moléculas adsorvidas dissociadas temos que

$$\begin{aligned} \omega \delta\Gamma_d = \Gamma_d^0 \nabla_z - D_{ds} K^2 (\delta\Gamma_d + \frac{Z_d \Gamma_d^0}{RT} \delta\phi_s) \\ + k_d (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) - k_e \delta\Gamma_n \end{aligned} \quad (3.61)$$

onde D_d é o coeficiente de difusão superficial para as moléculas dissociadas,

$$D_{ds} K^2 (\delta\Gamma_d + \frac{Z_d \Gamma_d^0}{RT} \delta\phi_s) = \nabla_s [\delta J_s]_d \quad (3.62)$$

$$R_{ds} = k_d (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) + k_e \delta\Gamma_n = 0 \quad (3.63)$$

Pela mesma razão apresentada no item a, na equação do balanço de massa para as moléculas adsorvidas dissociadas (eq.3.61) não há contribuição do termo de fluxo líquido através da interface.

c) para os íons livres.

$$\begin{aligned} \omega \delta\Gamma_I = & \Gamma_I^0 \mathbb{D}v_z - D_{Is} K^2 \left(\delta\Gamma_I + \frac{Z_I \Gamma_I}{RT} \delta\phi_s \right) + k_e \delta\Gamma_n \\ & - c_I \left(\delta\Gamma_I + \frac{Z_I \Gamma_I}{RT} \delta\phi_s \right) - k_d (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) \end{aligned} \quad (3.64)$$

$$e \quad k_d (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) + k_e \delta\Gamma_n = R_{Is} \quad (3.65)$$

Assumindo o equilíbrio associação-dissociação,

$$\delta\Gamma_n = \frac{k_d}{k_e} (\Gamma_d^0 \delta\Gamma_I + \Gamma_I^0 \delta\Gamma_d) \quad (3.66)$$

$$\frac{k_d}{k_e} = \frac{\Gamma_n^0}{\Gamma_d^0 \Gamma_I^0} \quad (3.67)$$

Substituindo a eq.3.60 nas eq.s 3.50, 3.61, e 3.64 verificamos que os dois últimos termos se anulam nestas três, resultando em

$$\omega \delta\Gamma_n = \Gamma_n^0 \mathbb{D}v_z - D_{ns} K^2 \delta\Gamma_n \quad (a)$$

$$\omega \delta\Gamma_d = \Gamma_d^0 \mathbb{D}v_z - D_{ds} K^2 \left(\delta\Gamma_d + \frac{Z_d \Gamma_d}{RT} \delta\phi_s \right) \quad (b) \quad (3.68)$$

$$\omega \delta\Gamma_I = \Gamma_I^0 \mathbb{D}v_z - D_{Is} K^2 \left(\delta\Gamma_I + \frac{Z_I \Gamma_I}{RT} \delta\phi_s \right) - c_I \left(\delta\Gamma_I + \frac{Z_I \Gamma_I}{RT} \delta\phi_s \right) \quad (c)$$

Assumindo que o número de íons livres dispersos na camada lipí-

dica (dentro da camada) é desprezível, podemos escrever que

$$\delta\Gamma_I = \frac{\Gamma_I^0}{\Gamma_n^0} \delta\Gamma_I - \frac{\Gamma_I^0}{\Gamma_d^0} \delta\Gamma_d \approx 0 \quad (3.69)$$

Finalmente, podemos concluir que, em uma situação de equilíbrio de adsorção-desadsorção, para a avaliação da densidade superficial de carga no nosso problema, só importa a parte referente à moléculas dissociadas ($\delta\Gamma_I \approx 0$).

$$\delta(Z\Gamma) = \sum_{\gamma} Z_{\gamma} \delta\Gamma_{\gamma} \approx Z_d \delta\Gamma_d \quad (3.70)$$

Tomando todos os resultados encontrados aqui, podemos escrever, finalmente, a equação da perturbação da densidade de carga na forma

$$\begin{aligned} \omega \sum_{\gamma} Z_{\gamma} \delta\Gamma_{\gamma si} &= \sum_{\gamma} Z_{\gamma} \Gamma_{\gamma si}^0 Dv_z - \sum_{\gamma} D_{\gamma si} K^2 Z_{\gamma} \delta\Gamma_{\gamma si} \\ &+ \sum_{\gamma} Z_{\gamma}^2 \Gamma_{\gamma si}^0 D_{\gamma si} K^2 \delta\phi_{si} \end{aligned} \quad (3.71)$$

desta equação podemos tirar que

$$\begin{aligned} \delta(Z \delta\Gamma)_i &= \sum_{\gamma} Z_{\gamma} \Gamma_{\gamma si}^0 \frac{\omega}{\omega + D_{\gamma si} K^2} (Dv_z/\omega) \\ &- \sum_{\gamma} \frac{Z_{\gamma}^2 \Gamma_{\gamma si}^0}{RT} \frac{D_{\gamma si} K^2}{\omega + D_{\gamma si} K^2} \delta\phi_{si} \end{aligned} \quad (3.72)$$

O primeiro termo do lado direito da eq. 3.71 é a contribuição do movimento convectivo à densidade de carga. O segundo termo refere-se a contribuição por parte do potencial.

Simplificando a notação dessa expressão e considerando a igualdade dada pela eq.2.57, podemos escrever:

$$\delta Q_{s1} = G_1 (Dv_s/\omega) - H_1 \delta \phi_{s1} \quad (3.73)$$

onde

$$G_1 = \sum_{\gamma} Z_{\gamma} \Gamma_{\gamma s1}^{\circ} \frac{\omega}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} \quad (a)$$

e (3.74)

$$H_1 = \sum_{\gamma} \frac{Z_{\gamma}^2 \Gamma_{\gamma s1}^{\circ}}{RT} \frac{D_{\gamma s1} K^2}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} \quad (b)$$

3.4 - Determinação das Perturbações do Potencial nas Fases.

3.4.1 - A Perturbação do Potencial nas Fases Externas.

Seja ϕ_1° o potencial eletrostático do estado de referência na fase i e $\delta \phi_1$ a perturbação sofrida pelo potencial, o potencial eletrostático perturbado pode ser escrito na forma

$$\phi_1(x, y, z, t) = \phi_1^{\circ}(z) + \delta \phi_1(x, y, z, t) \quad (3.75)$$

Levando em conta a definição de χ (eq. 2.27), a equação de Poisson-Boltzmann para o estado perturbado pode ser escrita na

forma [71,72]:

$$\begin{aligned} \chi^2 \frac{d^2}{d\chi^2} \delta u(\chi) + \chi \frac{d}{d\chi} \delta u(\chi) - \frac{K}{k^2} \delta u(\chi) \\ - \frac{1}{2} (e^{u(\chi)} + e^{-u(\chi)}) \delta u(\chi) = 0 \end{aligned} \quad (3.76)$$

Cuja a solução, considerando que $\delta u(\chi = 0) = 0$ quando $z = \pm\infty$, é

$$\delta u_i = C_i \chi_i^m \left(1 + 2 \frac{\chi_i^2}{(m+1)(1-\chi_i^2)} \right) \quad (i=1,2) \quad (3.77)$$

Logo, a perturbação do potencial em qualquer ponto ao longo de z é:

$$\delta \phi_i = (1/\beta) C_i \chi_i^m \left(1 + 2 \frac{\chi_i^2}{(m+1)(1-\chi_i^2)} \right) \quad (3.78)$$

onde

$$m_i = \sqrt{1 + (K^2/k^2)} \quad (3.79)$$

Assim, a equação do potencial perturbado (eq. 3.54) passa a ser escrita como

$$\phi(\chi) = 2 \ln \left(\frac{1 + \chi_1}{1 - \chi_1} \right) + C_i \chi_i^m \left(1 + 2 \frac{\chi_i^2}{(m_i+1)(1-\chi_i^2)} \right) \quad (3.80)$$

onde C_i é a constante de integração a ser determinada.

Aplicando a condição de contorno dada pela equação 3.41 na equação 2.43 e considerando a equação 3.43 e a condição cinemá-

tica (eq.3.50), obtemos o coeficiente C_1 da equação da perturbação do potencial ao longo de z nas fases volumétricas adjacentes à membrana (eq.3.57), em função do potencial superficial e da perturbação do mesmo. Assim,

$$C_1 = \pm (m_1 + 1) \frac{[\beta(1-n_1^2) \delta\phi_s - 2k_1 n_1 v_s/\omega]}{n_1^m [m_1 + 1 - n_1^2(m_1 - 1)]} \quad (a)$$

(3.81)

onde
$$n_1 = \tanh \left(\frac{\beta}{4} \phi_{s01} \right) \quad (b)$$

sendo que
$$\begin{cases} \text{para } i=1 \longrightarrow (+) \\ \text{para } i=2 \longrightarrow (-) \end{cases}$$

e ϕ_{s01} é dado pela eq.2.28.

3.4.2 - A Perturbação do Potencial Intrínseco da Membrana.

Para calcularmos a perturbação do potencial no interior do filme membranar, basta-nos resolver a seguinte equação:

$$(D^2 - K^2) \delta\phi_f = 0 \quad (3.82)$$

da qual obtemos que

$$\delta\phi_f = A \cosh(Kz) + B \sinh(Kz) \quad (3.83)$$

que é a perturbação do potencial intrínseco da membrana. A e B são constantes que, tal como C_1 (da eq.3.77), podem ser calculadas através de condições de contorno adequadas.

Assim, podemos escrever a equação do potencial elétrico intrínseco perturbado da membrana, utilizando-nos das eq.s 2.45 e 3.83,

$$\phi_f(z) = -E_f^0(z) + \frac{\phi_{s1}^0 + \phi_{s2}^0}{2} + A \cosh(Kz) + B \sinh(Kz) \quad (3.84)$$

Aplicando as condições de contorno elétricas dadas pelas equações 3.41 e 3.45 na equação 3.83 e considerando a equação 3.43 e a condição cinemática (eq.3.50), chegamos às expressões dos coeficientes A e B da equação da perturbação do potencial intramembranar, em função das cargas superficiais, do campo intramembranar, do potencial na superfície e da perturbação do deste, ou seja,

$$A = \frac{e^{hk/2}}{4k\epsilon_f} \left\{ 4\pi \Delta_s [Q_s^0] + 2k\epsilon_f E_f^0 \frac{v_s}{\omega} + k\epsilon_f \sum_1 [\delta\phi_s] - \Delta_s [\epsilon km' \delta\phi_s] + 2 \sum_1 [\epsilon k^2 \phi_s^0 (b_1 - m_1')] \frac{v_s}{\omega} \right\} \quad (a)$$

(3.85)

$$B = \frac{e^{hk/2}}{4k\epsilon_f} \left\{ -4\pi \Delta_s [Q_s^0] + 2k\epsilon_f E_f^0 \frac{v_s}{\omega} + k\epsilon_f \sum_1 [\delta\phi_s] + \Delta_s [\epsilon km' \delta\phi_s] - 2 \sum_1 [\epsilon k^2 \phi_s^0 (b_1 - m_1')] \frac{v_s}{\omega} \right\} \quad (b)$$

onde

$$m'_1 = m_1 + \frac{4 n_1}{n_1^{m_1} [m_1 + 1 - n_1^2 (m_1 - 1)]} \quad (a)$$

$$b_1 = \frac{1 + n_1^2}{1 - n_1^2} \quad (b) \quad (3.86)$$

$$\phi_1^0 = \frac{n_1}{\beta (1 - n_1^2)} \quad (c)$$

para $i=1,2$.

3.5- Determinação das Perturbações do Potencial nas Superfícies

Utilizando as condições de contorno elétricas para o estado perturbado (eq.s 3.44 e 3.47), poderemos calcular as expressões das variações dos potenciais nas superfícies ($\delta\phi_{s1}$ e $\delta\phi_{s2}$) e das variações do campo elétrico (δE_{s1} e δE_{s2}) quando o sistema é perturbado, dados que serão necessários na determinação das forças que agem nas superfícies do filme.

3.5.1 - Aplicação das Condições de Contorno Elétricas em S1.

Usando a condição de contorno de potencial dada pela eq.3.43 na superfície deformada S1 ($z_{s1} = -\frac{h}{2} + \delta z$), temos que

$$\left. \delta\phi_f \right|_{-h/2} + \left. D\phi_f^0 \right|_{-h/2} \delta z_{s1} - \left. \delta\phi_1 \right|_{-h/2} + \left. D\phi_1^0 \right|_{-h/2} \delta z_{s1} = 0 \quad (3.87)$$

Como nesta superfície o valor de $\delta\phi_1$ assume o valor $\delta\phi_{s1}$, podemos escrever que

$$\delta\phi_f \Big|_{-h/2} + D\phi_f^o \Big|_{-h/2} \delta z_{s1} = \delta\phi_1 \Big|_{-h/2} + D\phi_1^o \Big|_{-h/2} \delta z_{s1} = \delta\phi_{s1} \quad (3.88)$$

De acordo com as eq.s 2.45 e 3.47

$$D\phi_f^o \Big|_{-h/2} = -E_f^o \quad (a)$$

e (3.89)

$$\delta\phi_f \Big|_{-h/2} = A \cosh(hK/2) - B \sinh(hK/2) \quad (b)$$

Substituindo esses resultados (eq.s 3.89 a e b) na eq. 3.88, concluímos que

$$A \cosh(hK/2) + B \sinh(hK/2) - E_f^o \delta z_{s1} = \delta\phi_{s1} \quad (3.90)$$

Usando a equação da descontinuidade do deslocamento elétrico (eq.3.47) em S1 e calculando nesta superfície a diferença Δ , sendo $\Delta_{s1}[f] = f_f(z) - f_1(z)$, obtemos

$$\epsilon_f D\delta\phi_f \Big|_{S1} + \epsilon_f D^2\phi^o \Big|_{S1} \delta z_{s1} - \epsilon_1 D\delta\phi_1 \Big|_{S1} - \epsilon_1 D^2\phi_1^o \Big|_{S1} \delta z_{s1} = -4\pi\delta Q_{s1} \quad (3.91)$$

De acordo com as eq.s 3.78, 3.81, 3.83 e 3.86,

$$D\delta\phi_1 \Big|_{S1} = k_1 m'_1 (\delta\phi_{s1} - E_{s1}^o \frac{vS1}{\omega}) \quad (a)$$

$$D^2\delta\phi_1 \Big|_{S1} = E_{s1}^o b_1 \quad (b) \quad (3.92)$$

$$D\delta\phi_f \Big|_{S1} = K [-A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2)] \quad (c)$$

onde E_{s1}^0 é o campo elétrico em S1, dado por $-\nabla [\phi_1^0(-h/2)]$, m'_1 e b'_1 são dados, respectivamente, por 3.86 a e b (para $i=1$) e $\mathbb{D}^2\phi_f^0 = 0$, segundo a eq. 3.89.

Substituindo as eq.s 3.92 em 3.91, vem que

$$-A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2) = \frac{1}{K\epsilon_f} \left(-4\pi\delta Q_{s1} + \epsilon_1 k_1 m'_1 \delta\phi_{s1} + 2 \epsilon_1 k_1 m'_1 \phi_{s1}^2 (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} \right) \quad (3.93)$$

onde $v_{s1}/\omega = \delta z_{s1}$ de acordo com a eq. 3.51.

Podemos substituir a perturbação da densidade superficial de carga elétrica δQ_{s1} em 3.97 pela expressão dada na eq. 3.74, de maneira que

$$\delta\phi_{s1} = \frac{1}{b'_1} \left[\epsilon_f K [-A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2)] + 4\pi G_1 \frac{\mathbb{D}V_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1} (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} \right] \quad (3.94)$$

onde

$$b'_1 = \epsilon_1 k_1 m'_1 + 4\pi H_1 \quad (3.95)$$

3.5.2 - Aplicação das condições elétricas limites em S2.

Um procedimento análogo ao da seção anterior (usado para as eq.s 3.87-3.89) nos dá, para a superfície S2 ($z_{s2} = \frac{h}{2} + \delta z$), a condição:

$$\delta\phi_2 \Big|_{h/2} + \mathbb{D}\phi_2^0 \Big|_{h/2} + z_{s2} = \delta\phi_f \Big|_{h/2} + \mathbb{D}\phi_f^0 \Big|_{h/2} + z_s = \delta\phi_{s2} \quad (3.96)$$

$$\delta\phi_f \Big|_{h/2} = A \cosh(hK/2) + B \sinh(hK/2) \quad (3.97)$$

e considerando estes resultados e aquele fornecido pela eq.4.12, temos que

$$A \cosh(hK/2) + B \sinh(hK/2) - E_f^0 \delta z_s = \delta\phi_{s2} \quad (3.98)$$

De acordo com as eq.s 3.78, 3.81, 3.83 e 3.86,

$$\mathbb{D}\delta\phi_2 \Big|_{h/2} = -k_2 m'_2 (\delta\phi_{s2} - E_{s2}^0 \frac{v_{s2}}{\omega}) \quad (a)$$

$$\mathbb{D}^2\phi_2^0 \Big|_{h/2} = E_{s2}^0 b_2 \quad (b) \quad (3.99)$$

$$\mathbb{D}\delta\phi_2 \Big|_{h/2} = K [A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2)] \quad (c)$$

onde E_{s2}^0 é o campo elétrico em S2, dado por $-\nabla [\phi_2^0(h/2)]$, m'_2 e b_2 são dados, respectivamente, pelas eq.s 3.86 a e b, com $i=2$. Fazendo as devidas substituições em relação à interface S2 na eq.3.47 e levando em consideração que nesta superfície a diferença Δ , que se refere a $\Delta_{s2}[f] = f_2(z) - f_f(z)$, vamos achar o seguinte resultado:

$$A \sinh(hk/2) + B \cosh(hk/2) = \frac{1}{K\epsilon_f} (4\pi\delta Q_{s2} - \epsilon_2 k_2 m'_2 \delta\phi_{s2} + 2 \epsilon_2 k_2 m'_2 \phi_{s2}^2 (b_2 - m'_2) \frac{v_{s2}}{\omega}) \quad (3.100)$$

Substituindo a δQ_{s2} da eq.3.102 pela expressão dada pela eq.3.73 obtemos

$$\delta\phi_{s2} = \frac{1}{b'_2} [-K \epsilon_f [A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2)] + 4\pi G \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega}] \quad (3.101)$$

onde

$$b'_2 = \epsilon_2 k_2 m'_2 + 4\pi H_2 \quad (3.102)$$

3.5.3 - As Perturbações dos Potenciais Superficiais.

Das eq.s 3.90 e 3.98 obtemos

$$\begin{aligned} & A(b'_1 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2)) - B(b'_1 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2)) = \\ & = 4\pi G \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \end{aligned} \quad (3.103)$$

e das eq.s 3.98 e 3.103,

$$\begin{aligned} & A(b'_2 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2)) + B(b'_2 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2)) = \\ & = 4\pi G \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \end{aligned} \quad (3.104)$$

Somando e subtraindo devidamente as equações 3.103 e 3.104,

$$\begin{aligned} A = \frac{1}{P} \left(\kappa_2^* \left(4\pi G \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) + \right. \\ \left. + \kappa_1^* \left(4\pi G \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) \right) \end{aligned} \quad (3.105)$$

e

$$B = \frac{1}{P} \left(-\kappa_2 \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) + \right. \\ \left. + \kappa_1 \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) \right) \quad (3.106)$$

onde

$$\begin{aligned} \kappa_1 &= b'_1 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2) \quad (a) \\ \kappa_1^* &= b'_1 \sinh(hK/2) + K\epsilon_f \cosh(hK/2) \quad (b) \\ \kappa_2 &= b_2 \cosh(hK/2) + K\epsilon_f \sinh(hK/2) \quad (c) \\ \kappa_2^* &= b'_2 \sinh(hK/2) + K\epsilon_f \cosh(hK/2) \quad (d) \end{aligned} \quad (3.107)$$

e

$$P = b'_1 b'_2 \sinh(hk/2) + K\epsilon_f \Sigma[b'] \cosh(hk/2) + \\ + (K\epsilon_f)^2 \sinh(hk/2) \quad (3.108)$$

Pela substituição das equações 3.108 e 3.109 em 3.90, encontramos a equação da perturbação do potencial na superfície S1,

$$\delta\phi_{s1} = \frac{1}{P} \left(\kappa_2^* \cosh(hK/2) \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) + \right. \\ \left. + \kappa_1^* \cosh(hK/2) \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) + \right. \\ \left. + \kappa_2 \sinh(hK/2) \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) - \right. \\ \left. - \kappa_1 \sinh(hK/2) \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) \right) \\ - E_f \frac{V_{s1}}{\omega} \quad (3.109)$$

Pelo mesmo procedimento podemos escrever $\delta\phi_{s2}$, usando as equações 3.105, 3.106 e 3.95. Assim,

$$\begin{aligned} \delta\phi_{s2} = & \frac{1}{P} \left(\kappa_2^* \cosh(hK/2) \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) + \right. \\ & + \kappa_1^* \cosh(hK/2) \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) - \\ & - \kappa_2 \sinh(hK/2) \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) \frac{V_{s1}}{\omega} + 4\pi b'_1 \right) + \\ & \left. + \kappa_1 \sinh(hK/2) \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) \frac{V_{s2}}{\omega} + 4\pi b'_2 \right) \right) \\ & - E_f \frac{V_{s2}}{\omega} \end{aligned} \quad (3.110)$$

Pelo uso das 4.39 e processando-se as funções hiperbólicas de maneira a simplificar a notação, as equações 3.109 e 3.110 podem ser escritas nas seguintes formas:

$$\begin{aligned} \delta\phi_{s1} = & \frac{1}{P_1} \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \left(\epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) + 4\pi b'_1 E_f^o \right) \frac{V_{s1}}{\omega} \right) + \\ & \frac{1}{P_3} \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \left(\epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) + 4\pi b'_2 E_f^o \right) \frac{V_{s2}}{\omega} \right) \end{aligned} \quad (a)$$

e (3.111)

$$\begin{aligned} \delta\phi_{s2} = & \frac{1}{P_2} \left(4\pi G_2 \frac{DV_{s2}}{\omega} - \left(\epsilon_2 k_2 E_{s2}^o (b_2 - m'_2) - 4\pi b'_2 E_f^o \right) \frac{V_{s2}}{\omega} \right) + \\ & \frac{1}{P_3} \left(4\pi G_1 \frac{DV_{s1}}{\omega} - \left(\epsilon_1 k_1 E_{s1}^o (b_1 - m'_1) - 4\pi b'_1 E_f^o \right) \frac{V_{s1}}{\omega} \right) \end{aligned} \quad (b)$$

Podemos, ainda, escrever que

$$\delta\phi_{s1} = \left[4\pi G_{11} \frac{DV_{s1}}{\omega} + G_{23} \frac{DV_{s2}}{\omega} + (E_{11} - E_f) \frac{V_{s1}}{\omega} + E_{23} \frac{V_{s2}}{\omega} \right] \quad (a)$$

e (3.112)

$$\delta\phi_{s2} = \left[4\pi G_{22} \frac{DV_{s2}}{\omega} + G_{13} \frac{DV_{s1}}{\omega} + (E_{22} - E_f) \frac{V_{s2}}{\omega} + E_{23} \frac{V_{s1}}{\omega} \right] \quad (b)$$

onde

$$E_{11} = \frac{1}{P_1} \left(b'_1 E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1} k_1 (b_1 - m'_1) \right) \quad (a)$$

$$E_{13} = \frac{1}{P_3} \left(b'_1 E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1} k_1 (b_1 - m'_1) \right) \quad (b)$$

(3.113)

$$G_{11} = G_1 / P_1 \quad (c)$$

$$G_{13} = G_1 / P_1 \quad (d)$$

sendo

$$P_1 = b'_1 + K\epsilon_f \frac{b'_{i+1} \coth(hK) + K\epsilon_f}{b'_{i+1} + K\epsilon_f \coth(hK)} \quad (a)$$

(3.114)

$$P_3 = \sinh(hK) \left(\sum [b'_i] \coth(hK) + K\epsilon_f + b'_1 b'_2 / K\epsilon_f \right) \quad (b)$$

considerando que quando $\left\{ \begin{array}{l} i=1, i+1=2 \\ i=2, i+1=1 \end{array} \right.$

3.6 - A Perturbação do Campo Elétrico em S1 e S2.

A perturbação do campo elétrico pode ser escrita utilizando as equações 3.108 e 3.115, já que

$$\delta E_f \Big|_{s1} = -K [-A \operatorname{senh}(hK/2) + B \operatorname{cosh}(hK/2)] \quad (a)$$

e (3.115)

$$\delta E_f \Big|_{s2} = -K [A \operatorname{senh}(hK/2) + B \operatorname{cosh}(hK/2)] \quad (b)$$

Assim, substituindo 3.105 e 3.106 em 3.115 desenvolvendo e simplificando devidamente o resultado, encontramos as equações correspondentes às perturbações no campo elétrico nas interfaces S1 e S2, que são respectivamente:

$$\delta E_{s1} = \frac{-K}{\operatorname{senh}(hk)} \left(4\pi G_{22} \frac{DV_{s2}}{\omega} + G_{13} \frac{DV_{s1}}{\omega} + E_{22} \frac{V_{s2}}{\omega} + E_{13} \frac{V_{s1}}{\omega} - \right. \\ \left. - \operatorname{cosh}(hk) \left(4\pi G_{11} \frac{DV_{s1}}{\omega} + G_{23} \frac{DV_{s2}}{\omega} + E_{11} \frac{V_{s1}}{\omega} + E_{23} \frac{V_{s2}}{\omega} \right) \right) \quad (a)$$

e (3.116)

$$\delta E_{s2} = \frac{-K}{\operatorname{senh}(hk)} \left(4\pi G_{11} \frac{DV_{s1}}{\omega} + G_{23} \frac{DV_{s2}}{\omega} + E_{11} \frac{V_{s1}}{\omega} + E_{23} \frac{V_{s2}}{\omega} \right. \\ \left. - \operatorname{cosh}(hk) \left(4\pi G_{22} \frac{DV_{s2}}{\omega} + G_{13} \frac{DV_{s1}}{\omega} + E_{22} \frac{V_{s2}}{\omega} + E_{13} \frac{V_{s1}}{\omega} \right) \right) \quad (b)$$

CAPÍTULO IV

ANÁLISE LINEAR DA PERTURBAÇÃO E A RELAÇÃO DE DISPERSÃO

1. Introdução.

No capítulo anterior, iniciamos a análise linear estabelecendo as equações hidrodinâmicas relacionadas com o estado perturbado. Determinamos as perturbações do potencial e do campo elétrico nas superfícies da membrana; bem como, a perturbação da massa superficial. Neste capítulo, desenvolvemos a equação do balanço dos momentos, obtendo-se as equações relativas ao stress normal e ao stress tangencial. Disto resulta, então, o determinante secular do qual podemos obter a equação de dispersão característica do problema.

2. Balanço dos Momentos.

O balanço geral de massa e de carga superficiais envolve a adsorção-desadsorção, a convecção e a difusão superficiais, resultantes da fase "bulk". Este balanço nos leva a uma relação de dispersão $\omega = f(K)$.

2.1 - Stress Normal.

No balanço do momento transversal (eq.s 3.52 e 3.53), a aceleração e as forças de capilaridade (que envolvem a tensão superficial σ) são contrabalançadas pelas forças do stress nor-

mal que resulta da ação das fases "bulk" sobre as superfícies.

Das equações 3.52 e 3.53 tiramos que

$$\begin{aligned}
 & K^2 \sigma_{H1}^0 - (\omega/K^2) \Delta_{\bullet} [\rho^0 Dv_{\bullet}] \Big|_{S1} + (1/K^2) \Delta_{\bullet} [\mu(D^2 - K^2) Dv_{\bullet} - 2\mu K Dv_{\bullet}] \Big|_{S1} \\
 & - (\epsilon/4\pi) \Delta_{\bullet} [DE_z^0 \delta\phi + E_z^0 \delta E_z] \Big|_{S1} = 0 \quad (4.1)
 \end{aligned}$$

O primeiro termo da eq. 4.1 envolve a parte mecânica da tensão superficial no estado de referência. Essa contribuição se deve à camada compacta, onde a queda de potencial é negligenciável. Embora estejamos admitindo no estado de referência a homogeneidade no plano x, y , a variação da carga e do potencial elétrico na direção normal (z) resulta em uma contribuição às forças superficiais. Daí, a tensão superficial total pode ser escrita como

$$\sigma_t^0 = \sigma_m^0 - \sigma_e^0 \quad (4.2)$$

da qual podemos tirar que

$$\sigma_m^0 = \sigma_t^0 + \sigma_e^0 \quad (4.3)$$

onde σ_e^0 é componente elétrica da tensão superficial no estado de referência.

Desenvolvendo os dois termos seguintes de 4.1, usando as eqs. 3.28, 3.29 e 3.30, a condição de continuidade das velocidades e das suas derivadas na superfície $S1$ para o cálculo das constantes A_1 e B_1 das velocidades, e considerando as relações dadas nas equações 3.34 e 3.35, podemos escrever:

$$\begin{aligned}
& (1/K^2) \Delta_{s_1} \left[\mu(D^2 - K^2) Dv_s - (\omega \rho + 2\mu K^2) Dv_s \right] \Big|_{-h/2} = \\
& = v_{As} \left(\omega \rho_f q_f \tanh(q_f h/2) (R/K) + \mu_1 (K + q_1) + \omega \rho_1 / K \right) + \\
& + v_{Bs} \left(\omega \rho_f q_f \operatorname{ctanh}(q_f h/2) (S/K) + \mu_1 (K + q_1) + \omega \rho_1 / K \right) + \\
& + Dv_{As} \left(2 \mu_f - \omega \rho_f (R/K) + \mu_1 (q_1 - K) / K \right) + \\
& + Dv_{Bs} \left(2 \mu_f + \omega \rho_f (S/K) - \mu_1 (q_1 - K) / K \right) \quad (4.4)
\end{aligned}$$

e na superfície S2:

$$\begin{aligned}
& (1/K^2) \Delta_{s_2} \left[\mu(D^2 - K^2) Dv_s - (\omega \rho + 2\mu K^2) Dv_s \right] \Big|_{h/2} = \\
& = v_{As} \left(\omega \rho_f q_f \tanh(q_f h/2) (R/K) + \mu_2 (K + q_2) + \omega \rho_2 / K \right) + \\
& + v_{Bs} \left(\omega \rho_f q_f \operatorname{ctanh}(q_f h/2) (S/K) + \mu_2 (K + q_2) + \omega \rho_2 / K \right) + \\
& + Dv_{As} \left(2 \mu_f - \omega \rho_f (R/K) + \mu_2 (q_2 - K) / K \right) + \\
& + Dv_{Bs} \left(2 \mu_f + \omega \rho_f (S/K) - \mu_2 (q_2 - K) / K \right) \quad (4.5)
\end{aligned}$$

onde

$$R = \frac{\tanh(hK/2)}{q \tanh(hq/2) - K \tanh(hK/2)} \quad (a)$$

(4.6)

$$S = \frac{\operatorname{ctanh}(hK/2)}{q \operatorname{ctanh}(q_f/2) - K \operatorname{ctanh}(hK/2)} \quad (b)$$

O último termo da equação 4.1 se refere às forças extrínse-

cas das interfaces e é dado pela eq.3.53, podendo ser escrito na forma:

$$\delta F_N = (1/4\pi) \Delta_s [\epsilon_1 \mathbb{D}E_1 \delta\phi_{s1} + \epsilon_1 E_1 \delta E_1] |_{s1} \quad (4.7)$$

Como $\delta E = -\mathbb{D}\delta\phi$, podemos escrever, de acordo com as eq.s 2.24, 2.27, 2.45, 3.43, 3.73, 3.78, 3.81, 3.83, 3.84, 3.86 que

$$E_1^o \Big|_{\pm h/2} = -\nabla\phi_1^o \Big|_{\pm h/2} = E_{s1}^o \quad (a)$$

$$\mathbb{D}E_1^o \Big|_{\pm h/2} = \pm K E_{s1}^o b_1 \quad \begin{cases} (+), l=1 \\ (-), l=2 \end{cases} \quad (b)$$

$$\mathbb{D}E_f^o \Big|_{\pm h/2} = 0 \quad (c)$$

$$\delta E_1 \Big|_{\mp h/2} = \mp k_1 m_1' (\delta\phi_{s1} + E_{s1}^o m_1 \frac{v_{s1} i}{\omega}) \quad \begin{cases} (-), l=1 \\ (+), l=2 \end{cases} \quad (d) \quad (4.8)$$

$$\delta E_1 \Big|_{\mp h/2} = -K [\mp A \sinh(hK/2) + B \cosh(hK/2)] \quad \begin{cases} (-), l=1 \\ (+), l=2 \end{cases} \quad (e)$$

$$\delta\phi_1 \Big|_{\pm h/2} = \delta\phi_{s1} + E_{s1}^o \frac{v_{s1} i}{\omega} \quad (f)$$

Assim,

$$\begin{aligned} \delta F_{N_1} = & -(1/4\pi) \left\{ \left(4\pi a_1 G_{11} + \frac{4\pi\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{13} - \cosh(hk) G_{11}) \right) \frac{Dv_{s1}}{\omega} \right. \\ & + \left(4\pi a_1 G_{23} + \frac{4\pi\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{22} - \cosh(hk) G_{23}) \right) \frac{Dv_{s2}}{\omega} \\ & + \left(a_1 (E_{11} + E_{s1} - E_f) + \frac{4\pi\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{13} - \cosh(hk) E_{11}) \right) \frac{v_{s1}}{\omega} \\ & \left. + \left(a_1 E_{23} + \frac{4\pi\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{22} - \cosh(hk) E_{23}) \right) \frac{v_{s2}}{\omega} \right\} \quad (4.9) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\delta F_{N_2} = & -(1/4\pi) \left\{ \left(4\pi a_2 G_{13} + \frac{4\pi \epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{11} - \cosh(hk) G_{13}) \right) \frac{DV_{s1}}{\omega} \right. \\
& + \left(4\pi a_2 G_{22} + \frac{4\pi \epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{23} - \cosh(hk) G_{22}) \right) \frac{DV_{s2}}{\omega} \\
& + \left(a_2 E_{13} + \frac{4\pi \epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{11} - \cosh(hk) E_{13}) \right) \frac{V_{s1}}{\omega} \\
& \left. + \left(a_2 (E_{22} + E_{s2} - E_f) + \frac{4\pi \epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{23} - \cosh(hk) E_{22}) \right) \frac{V_{s2}}{\omega} \right\} \quad (4.10)
\end{aligned}$$

onde

$$a_1 = \epsilon_1 k_1 E_{s1}^0 (b_1 - m'_1) \quad (a)$$

e (4.11)

$$a_2 = \epsilon_2 k_2 E_{s2}^0 (b_2 - m'_2) \quad (b)$$

Substituindo 4.4, 4.5, 4.9 e 4.10 em 4.11 e considerando as relações dadas pelas equações 3.31 e 3.32, geradas pelo caráter simétrico/antissimétrico das velocidades, obtemos os stresses normais nas superfícies do filme. Em S1 temos

$$\begin{aligned}
KV_{As} & \left\{ K^2 \sigma_{s1} + \mu_1 (K + q_1) + \omega (\rho_f / K) + \omega^2 \rho_f q_f \tanh(hq_f / 2) (R/K) + \right. \\
& \left. + \frac{1}{4\pi} \left(a_1 (E_{11} + E_{23} + E_{s1} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{13} + E_{22} - \cosh(hk) (E_{11} + E_{23})) \right) \right\} + \\
KV_{Bs} & \left\{ K^2 \sigma_{s1} + \mu_1 (K + q_1) + \omega (\rho_f / K) + \omega^2 \rho_f q_f \coth(hq_f / 2) (S/K) + \right. \\
& \left. + \frac{1}{4\pi} \left(a_1 (E_{23} - E_{11} - E_{s1} + E_f) - \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{13} - E_{22} - \cosh(hk) (E_{11} - E_{23})) \right) \right\} + \\
DV_{As} & \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f R + \omega \mu_1 (q_1 - K) + K a_1 (G_{23} - G_{11}) + \right. \\
& \left. + \frac{\epsilon_f E_f^0 K^2}{\sinh(hk)} (G_{22} - G_{13} + \cosh(hk) (G_{11} - G_{23})) \right) + \\
DV_{Bs} & \left(-2 K \omega \mu_f + \omega^2 \rho_f S - \omega \mu_1 (q_1 - K) + K a_1 (G_{23} + G_{11}) + \right. \\
& \left. + \frac{\epsilon_f E_f^0 K^2}{\sinh(hk)} (G_{22} + G_{13} - \cosh(hk) (G_{11} + G_{23})) \right) = 0 \quad (4.12)
\end{aligned}$$

e em S2:

$$\begin{aligned}
& KV_{As} \left(K^2 \sigma_{m2} + \mu_2 (K+q_2) + \omega (\rho_2/K) + \omega^2 \rho_f q_f \tanh(hq_f/2) (R/K) + \right. \\
& \left. + \frac{a_2}{4\pi} (E_{22} + E_{13} + E_{s2} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{23} + E_{11} - \cosh(hk) (E_{22} + E_{13})) \right) + \\
& KV_{Bs} \left(K^2 \sigma_{m2} + \mu_2 (K+q_2) + \omega (\rho_2/K) + \omega^2 \rho_f q_f c \tanh(hq_f/2) (S/K) + \right. \\
& \left. + \frac{a_2}{4\pi} (E_{22} - E_{13} + E_{s2} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (E_{23} - E_{11} - \cosh(hk) (E_{22} - E_{13})) \right) + \\
& DV_{As} \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f R + \omega \mu_2 (q_2 - K) + a_2 (G_{22} - G_{13}) + \right. \\
& \left. + \frac{\epsilon_f E_f K^2}{\sinh(hk)} (G_{22} - G_{13} + \cosh(hk) (G_{22} - G_{13})) \right) + \\
& DV_{Bs} \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f S + \omega \mu_2 (q_2 - K) + a_2 (G_{22} + G_{13}) + \right. \\
& \left. + \frac{\epsilon_f E_f K^2}{\sinh(hk)} (G_{23} + G_{11} - \cosh(hk) (G_{22} + G_{13})) \right) = 0 \quad (4.13)
\end{aligned}$$

Então, estas são as equações relativas às componentes normais do stress nas interfaces que limitam a membrana, que também podem ser escritas na seguinte forma compactada:

$$\begin{aligned}
& KV_{As} (T_{A1} + T_{B1} + T_C + T_{D1}) + KV_{Bs} (-T_{A1} - T_{B1} - T'_C \pm T'_{D1}) + \\
& + DV_{As} (-C_{A1} - C_C + C_{D1}) + (\pm C'_{A1} \pm C'_C + C'_{D1}) = 0 \quad (4.14)
\end{aligned}$$

para $i = 1 \rightarrow (+)$ e $i = 2 \rightarrow (-)$, onde

$$T_{A1} = \mu_1 (K + q_1) + \omega (\rho_1/K) \quad (4.15)$$

$$T_{B1} = K^2 \sigma_{m1} \quad (4.16)$$

$$T_C = \omega^2 \rho_f q_f \tanh(hq_f/2) (R/K) \quad (4.17)$$

$$T'_c = \omega^2 \rho_f q_f \cotanh(hq_f/2) \quad (S/K) \quad (4.18)$$

$$T'_{D1} = \frac{1}{4\pi} \left(a_1 (E_{11} + E_{23} + E_{s1} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{13} + E_{22} - \cosh(hk) (E_{11} + E_{23})) \right) \quad (4.19)$$

$$T'_{D2} = \frac{1}{4\pi} \left(a_2 (E_{22} + E_{13} + E_{s2} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{11} + E_{23} - \cosh(hk) (E_{22} + E_{13})) \right) \quad (4.20)$$

$$T'_{D1} = \frac{1}{4\pi} \left(a_1 (E_{23} - E_{11} - E_{s1} + E_f) + \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{22} - E_{13} - \cosh(hk) (E_{11} - E_{23})) \right) \quad (4.21)$$

$$T'_{D2} = \frac{1}{4\pi} \left(a_2 (E_{22} - E_{13} + E_{s2} - E_f) + \frac{\epsilon_f E_f^0 K}{\sinh(hk)} (E_{23} + E_{11} - \cosh(hk) (E_{22} + E_{13})) \right) \quad (4.22)$$

$$C_{A1} = \omega \mu_1 (q_1 - K) \quad (4.23)$$

$$C_c = -2 K \omega \mu_f + \omega^2 \rho_f R \quad (4.24)$$

$$C'_c = -2 K \omega \mu_f + \omega^2 \rho_f S \quad (4.25)$$

$$C_{D1} = K \left(a_1 (G_{23} - G_{11}) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{22} - G_{13} + \cosh(hk) (G_{11} - G_{23})) \right) \quad (4.26)$$

$$C_{D2} = K \left(a_2 (G_{22} - G_{13}) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{23} - G_{11} + \cosh(hk) (G_{13} - G_{22})) \right) \quad (4.27)$$

$$C'_{D1} = K \left(a_1 (G_{23} + G_{11}) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{22} + G_{13} - \cosh(hk) (G_{11} + G_{23})) \right) \quad (4.28)$$

$$C'_{D2} = K \left(a_2 (G_{22} + G_{13}) + \frac{\epsilon_f E_f K}{\sinh(hk)} (G_{11} + G_{23} - \cosh(hk) (G_{22} + G_{13})) \right) \quad (4.29)$$

2.2 - Stress Longitudinal.

No balanço dos momentos (eq.s 3.14) as forças relativas à aceleração, à viscosidade e à elasticidade superficiais são con-trabalhadas pelo stress tangencial devido a ação das fases volumétricas sobre as superfícies da membrana. Esse stress é descrito pela relação de Marangoni (eq.3.48) que com a devida substituição do termo δF_T (eq.3.49) fica na forma:

$$K^2 \delta \sigma_m - K^2 \eta_s D v_s + \Delta_s [\mu (D^2 + K^2) v_s] |_{z_s} + (1/4\pi) \Delta_s [K^2 E_z^0 \delta \phi_s] |_{z_s} = 0 \quad (4.30)$$

As flutuações da parte mecânica da tensão superficial $\delta \sigma_m$, que vemos primeiro termo de 4.30, são relacionadas com as variações das concentrações superficiais por um acoplamento mecanicoquímico,

$$\delta \sigma_m = - \sum_{\gamma} \alpha_{\gamma} \delta \Gamma_{\gamma} \quad (4.31)$$

onde o coeficiente α_{γ} independe do campo elétrico.

Usando as eq.s 3.73, podemos escrever que

$$K^2 \delta \sigma_{m1} = - K^2 \left\{ [G_{\alpha 1}] D v_{s1} / \omega - [H_{\alpha 1} \delta \phi_{s1}] \right\} \quad (4.32)$$

$$\text{onde } G_{\alpha 1} = \sum_{\gamma} \alpha_{\gamma} Z_{\gamma} \Gamma_{s1} \frac{\omega}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} \quad (4.33)$$

$$H_{\alpha 1} = \sum_{\gamma} \alpha_{\gamma} \frac{Z_{\gamma}^2 \Gamma_{s1}}{RT} \frac{D_{\gamma s1} K^2}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} \quad (4.34)$$

O desenvolvimento do terceiro termo de 4.30 na interface S1 e S2, se faz pelo uso das equações das velocidades 3.28, 3.29 e 3.30 pela aplicação das relações simétrica e antisimétrica dadas pelas eq.s 3.34 e 3.35. Assim, para S1:

$$\begin{aligned}
 \Delta_{s1}[D^2+K^2] v_{s1} = & DV_{As} \left(\omega \rho_f \operatorname{ctanh}(q_f h/2) R + \mu_1 (K + q_1) \right) + \\
 & + DV_{Bs} \left(-\omega \rho_f \operatorname{tanh}(q_f h/2) S - \mu_1 (K + q_1) \right) + \\
 & + v_{As} \left(2 K^2 \mu_f - K \omega \rho_f R - K \mu_1 (q_1 + K) \right) + \\
 & + v_{Bs} \left(-2 K^2 \mu_f + K \omega \rho_f S - K \mu_1 (q_1 + K) \right) \quad (4.35)
 \end{aligned}$$

e para S2:

$$\begin{aligned}
 \Delta_{s2}[D^2+K^2] v_{s2} = & -DV_{As} \left(\omega \rho_f \operatorname{ctanh}(q_f h/2) R + \mu_2 (K + q_2) \right) + \\
 & - DV_{Bs} \left(-\omega \rho_f \operatorname{tanh}(q_f h/2) S - \mu_2 (K + q_2) \right) + \\
 & - v_{As} \left(2 K^2 \mu_f - K \omega \rho_f R - K \mu_2 (q_2 + K) \right) + \\
 & - v_{Bs} \left(-2 K^2 \mu_f + K \omega \rho_f S - K \mu_2 (q_2 + K) \right) \quad (4.36)
 \end{aligned}$$

A obtenção do último termo da equação 4.30, que é o termo elétrico, se dá pelo uso das eq.s 3.112 a e b e das relações 3.34 e 3.35. Assim, temos em S1:

$$\begin{aligned}
 (K^2/4\pi) \Delta_{s1} [\epsilon E_z^0 \delta \phi_s] = & K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0) \left((G_{23} - G_{11}) \frac{DV_{AS}}{\omega} + \right. \\
 & \left. + (G_{23} - G_{11}) \frac{DV_{BS}}{\omega} + (E_{23} + E_{11} - E_f^0) \frac{V_{AS}}{\omega} + (E_{23} + E_{11} - E_f^0) \frac{V_{BS}}{\omega} \right) \quad (4.37)
 \end{aligned}$$

e em S2:

$$(K^2/4\pi) \Delta_{s2} [\epsilon E_2^0 \delta\phi_s] = K^2 (\epsilon_2 E_{s2}^0 - \epsilon_f E_f^0) \left((G_{22} - G_{13}) \frac{DV_{AS}}{\omega} + (G_{22} + G_{13}) \frac{DV_{BS}}{\omega} + (E_{13} + E_{22} - E_f^0) \frac{V_{AS}}{\omega} + (E_{22} - E_{13} - E_f^0) \frac{V_{BS}}{\omega} \right) \quad (4.38)$$

sendo E_{11}^0 e E_{13} dados pela eq. 3.113 e E_{s1}^0 é o campo elétrico na superfície i ($i=1,2$), que é igual a $-\nabla [\phi_i(\pm h/2)]$.

Finalmente, substituindo na eq.4.30, devidamente, os resultados dados pelas eq.s 4.32, 4.35, 4.36, 4.37 e 4.38, podemos pescrever para o *stress tangencial* em S1 e S2, respectivamente:

$$\begin{aligned} DV_{As} & \left(K^2 \omega \eta_{s1} + \omega \mu_1 (K + q_1) - 4\pi K^2 G_{\alpha 1} + \omega^2 \rho_f c \tanh(hq_f/2) \cdot R - \right. \\ & \quad \left. - K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (G_{23} - G_{11}) \right) + \\ DV_{Bs} & \left(K^2 \omega \eta_{s1} + \omega \mu_1 (K + q_1) - 4\pi K^2 G_{\alpha 1} + \omega^2 \rho_f \tanh(hq_f/2) \cdot S + \right. \\ & \quad \left. - K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (G_{23} - G_{11}) \right) + \\ KV_{As} & \left(2 K^2 \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f \cdot R + \omega \mu_1 (q_1 - K) - \right. \\ & \quad \left. - (K/4\pi) (\epsilon_f E_f - \epsilon_1 E_{s1} - 4\pi H_{\alpha 1}) (E_{23} + E_{11} - E_f^0) \right) + \\ KV_{Bs} & \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f \cdot S + \omega \mu_1 (q_1 - K) - \right. \\ & \quad \left. - (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (E_{23} + E_{11} - E_f^0) \right) = 0 \quad (4.39) \end{aligned}$$

e

$$\begin{aligned} DV_{As} & \left(K^2 \omega \eta_{s2} + \omega \mu_2 (K + q_2) + 4\pi K^2 G_{\alpha 2} + \omega^2 \rho_f c \tanh(hq_f/2) \cdot R + \right. \\ & \quad \left. + K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (G_{22} - G_{13}) \right) + \\ DV_{Bs} & \left(K^2 \omega \eta_{s2} + \omega \mu_2 (K + q_2) + 4\pi K^2 G_{\alpha 2} + \omega^2 \rho_f \tanh(hq_f/2) \cdot S + \right. \\ & \quad \left. + K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (G_{22} + G_{13}) \right) + \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
KV_{AS} & \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f \cdot R + \omega \mu_2 (q_2 - K) - \right. \\
& \left. + (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 + \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (E_{13} + E_{22} - E_f^0) \right) + \\
KV_{BS} & \left(2 K \omega \mu_f - \omega^2 \rho_f \cdot S - \omega \mu_2 (q_2 - K) - \right. \\
& \left. - (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (E_{22} - E_{13} - E_f^0) \right) = 0 \quad (4.40)
\end{aligned}$$

Estas equações ainda podem ser escritas em uma forma generalizada e sumária. Temos, então, para ambas as superfícies:

$$\begin{aligned}
DV_{AS} (L_{A1} + L_{B1} + L_C - L_{D1}) - DV_{BS} (L_{A1} + L_{B1} + L'_C + L'_{D1}) + \\
+ KV_{AS} (C_{A1}^* - C_C^* - C_{D1}^*) + KV_{BS} (-C_{A1}^* + C_C'^* - C_{D1}'^*) = 0 \quad (4.41)
\end{aligned}$$

onde

$$L_{A1} = K^2 \omega \eta_{s1} + \omega \mu_1 (K + q_1) \quad (4.42)$$

$$L_{B1} = 4\pi K^2 G_{\alpha 1} \quad (4.43)$$

$$L_C = \omega^2 \rho_f c \tanh(hq_f/2) \cdot R \quad (4.44)$$

$$L'_C = \omega^2 \rho_f \tanh(hq_f/2) \cdot S \quad (4.45)$$

$$L_{D1} = K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (G_{23} - G_{11}) \quad (4.46)$$

$$L_{D2} = K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (G_{22} - G_{13}) \quad (4.47)$$

$$L'_{D1} = K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (G_{23} + G_{11}) \quad (4.48)$$

$$L'_{D2} = K^2 (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (G_{22} + G_{13}) \quad (4.49)$$

$$C_{A1} = \omega \mu_1 (q_1 - K) \quad (4.50)$$

$$C_{D1}^* = (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (E_{23} + E_{11} - E_f^0) \quad (4.51)$$

$$C_{D2}^* = (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_2 E_{s2}^0 - 4\pi H_{\alpha 2}) (E_{13} + E_{22} - E_f^0) \quad (4.52)$$

$$C_{D1}'^* = (K/4\pi) (\epsilon_f E_f^0 - \epsilon_1 E_{s1}^0 - 4\pi H_{\alpha 1}) (E_{23} - E_{11} - E_f^0) \quad (4.53)$$

$$C'_{D2} = (K/4\pi) (\epsilon_f E_f - \epsilon_2 E_{s2} - 4\pi H_{\alpha 2}) (E_{22} - E_{12} - E_f^0) \quad (4.54)$$

3. Relação de Dispersão.

As equações de *stress* nas superfícies S1 e S2 (equações 4.14 e 4.41) são relações que envolvem as partes simétrica, v_{As} , e antissimétrica, v_{Bs} , das velocidades superficiais e suas derivadas, Dv_{As} e Dv_{Bs} , apresentando forma geral do tipo:

$$T_{xi} K v_{As} + T'_{xi} K v_{Bs} + C_{xi} Dv_{As} + C'_{xi} Dv_{Bs} = 0 \text{ stress normal} \quad (4.55)$$

$$C^*_{xi} K v_{As} + C'^*_{xi} K v_{Bs} + L_{xi} Dv_{As} + L'_{xi} Dv_{Bs} = 0 \text{ stress tangencial} \quad (4.56)$$

onde $x = A, B, C, D$. Estas equações formam um sistema que gera uma matriz 4 x 4, cujos elementos são dados pela soma e pela subtração dos coeficientes das equações. A forma do determinante secular obtido é do tipo

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{cccc}
 \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \downarrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \uparrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} \\
 \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \downarrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \uparrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} \\
 \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \downarrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \uparrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} \\
 \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \leftarrow 0 \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \downarrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array} & \begin{array}{c} \cdot \\ \uparrow \\ \cdot \\ \vdots \end{array}
 \end{array}
 \end{array}
 \begin{array}{c}
 \begin{array}{|c|c|c|c|}
 \hline
 & & & \\
 \hline
 & B & E & C \quad 0 \\
 \hline
 & & & \\
 \hline
 & C & 0 & S \quad Q \\
 \hline
 & & & \\
 \hline
 \end{array}
 \end{array}
 \end{array} = 0 \quad (4.57)$$

e implica na existência de dois possíveis modos de vibração das superfícies (fig. 4.1): o modo *squeezing* (SQ), com uma superposição de v_{B_s} e Dv_{B_s} , e o modo *bending* (BE), com uma superposição de v_{A_s} e Dv_{A_s} . O termo de acoplamento CO (eq.4.57) aparece devido a existência de assimetrias, sejam elétricas ou mecânicas, relativas às duas interfaces.

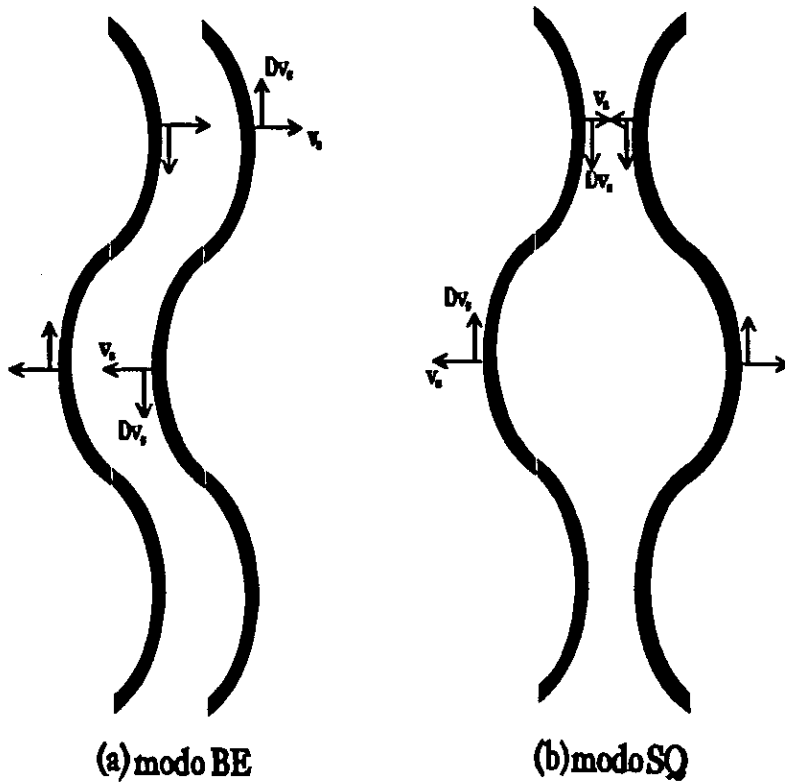


Fig.4.1: Representação dos dois modos de vibração para sistemas simétricos. (a) Modo bending (BE) com os deslocamentos transversais em fase v_s ; (b) modo squeezing (SQ) com os deslocamentos transversais defasados de 180° e os deslocamentos longitudinais em fase Dv_s .

Os modos BE e SQ podem ser estudados separadamente no caso sistemas simétricos, no qual as duas superfícies apresentam a mesma tensão superficial e a mesma elasticidade, além de um dos seguintes perfis elétricos: (1) densidades superficiais de carga iguais e campo externo nulo; (2) campo externo não nulo, mas cargas superficiais nulas. Dessa forma, BE e SQ são desacoplados e a estabilidade para cada um deles pode ser analisada independentemente [83].

T_+ e T_- correspondem respectivamente a soma e a diferença entre os modos transversais em S1 e S2; e L_+ e L_- respectivamente a soma e diferença entre os modos longitudinais entre as mesmas superfícies.

A solução desse sistema de equações existe se o determinante da matriz for igual a zero. Logo, devemos ter

$$\begin{vmatrix}
 Kv_{As} & Dv_{As} & Kv_{As} & Dv_{As} \\
 T_+ & C_{T+} & T'_+ & C'_{T+} \\
 C_{L-} & L_- & C'_{L-} & L'_- \\
 T_- & C_{T-} & T'_- & C'_{T-} \\
 C_{L+} & L_+ & C'_{L+} & L'_+
 \end{vmatrix} = 0 \quad (4.58)$$

sendo que

$$T_+ = \sum_i [T_{Ai} + T_{Bi} + T_{Di}] + 2T_C \quad (4.59)$$

$$C_{T+} = \sum_i [C_{A1} + C_{D1}] - 2C_C \quad (4.60)$$

$$T'_+ = \Delta_1 [T_{A1} + T_{B1}] + \sum_i [T'_{D1}] \quad (4.61)$$

$$C'_{T+} = \Delta_1 [C_{A1}] + \sum_i [C_{D1}] \quad (4.62)$$

$$C_{L-} = -\sum_i [C_{A1}^*] - \Delta_1 [C_{D1}^*] + 2C_C \quad (4.63)$$

$$L_- = -\sum_i [L_{A1} + L_{B1}] + \Delta_1 [L_{D1}] - 2L_C \quad (4.64)$$

$$C'_{L-} = -\Delta_1 [C_{A1}^* + C'_{D1}^*] \quad (4.65)$$

$$L'_- = -\Delta_1 [L_{A1} + L_{B1} + L'_{D1}] \quad (4.66)$$

$$T_- = \Delta_1 [T_{A1} + T_{B1} + T_{D1}] \quad (4.67)$$

$$C_{T-} = \Delta_1 [C_{A1} + C_{D1}] \quad (4.68)$$

$$T'_- = \sum [T_{A1} + T_{B1}] + \Delta_1 [T'_{D1}] + 2T_C \quad (4.69)$$

$$C'_{T-} = \sum_i [C_{A1}] + \Delta_1 [C'_{D1}] - 2C_C \quad (4.70)$$

$$C_{L+} = -\Delta_1 [C_{A1}] - \sum_i [C_{D1}] \quad (4.71)$$

$$L_+ = \Delta_1 [L_{A1} + L_{B1}] + \sum_i [L_{D1}] \quad (4.72)$$

$$C'_{L+} = -\sum_i [C_{A1}^* + C'_{D1}^*] + 2C_C \quad (4.73)$$

$$L'_+ = \sum_i [L_{A1} + L_{B1} + L_{D1}] + 2L'_C \quad (4.74)$$

A resolução do determinante secular gera uma equação de oitavo grau em ω que apresenta coeficientes que são funções de K . Esta equação representa a relação de dispersão que diz respeito a um sistema constituído por um filme de espessura h que se interpõe entre dois meios, cujas interfaces limitantes não são necessariamente simétricas.

Como dissemos acima, a simetria está relacionada com o desacoplamento dos dois modos, BE e SQ, o que requer que a matriz tenha a forma

$$\begin{vmatrix}
 K V_{As} & D V_{As} & K V_{Bs} & D V_{Bs} \\
 T_+ & C_{T+} & 0 & 0 \\
 C_{L-} & L_- & 0 & 0 \\
 0 & 0 & T'_- & C'_{T-} \\
 0 & 0 & C'_{L+} & L'_+
 \end{vmatrix} = 0 \quad (4.75)$$

o que não vale para o caso da membrana biológica que é um sistema que apresenta uma acentuada assimetria elétrica entre as duas superfícies limites.

A solução da equação de oitavo grau obtida do determinante secular fornece raízes complexas, com partes reais e imaginárias ($\omega = \omega_R + \omega_I$). Para uma raiz com parte real (ω_R) positiva, o sistema é instável e a perturbação crescerá exponencialmente; já, para uma raiz com ω_R negativa o sistema é estável, decaindo exponencialmente a perturbação. Para $\omega_R = 0$ e $\omega_I \neq 0$, o sistema

é oscilante.

A partir da relação de dispersão, o valor de K correspondente a $\omega_R=0$ pode ser calculado. Este K representa o número de onda crítico ou marginal (k_c), ou seja, aquele que marca o limite entre os modos estáveis e os instáveis. No domínio dos estados instáveis, $\omega_R > 0$, é importante calcular o comprimento de onda dominante ou máximo (λ_M ou K_M^{-1}), para o qual $d\omega(K)/dK=0$. Este está relacionado com a taxa mais rápida de crescimento da perturbação (ω_M) e a um número de onda máximo K_M . O λ_M é o comprimento de onda mais provável de ser observado no desenvolvimento da perturbação.

No estudo de sistemas de baixa tensão interfacial (como é o caso da membrana biológica), podemos considerar duas situações limites para a dinâmica da membrana, situações estas que simplificam significativamente os cálculos. São elas:

1) *regime rápido* - onde a taxa de crescimento da perturbação é grande (ou o tempo característico do movimento é pequeno) em comparação com os graus de adsorção-desadsorção e de difusão superficial, sendo estes, então, desprezíveis. O fator do movimento é muito maior que o inverso do tempo de relaxação da difusão e de adsorção-desadsorção dos íons nas interfaces. Dessa forma temos:

$$\omega \gg D_s K^2 \quad (4.76)$$

2) *regime lento* - onde a taxa de crescimento da perturbação é pequena (ou o tempo característico do movimento é grande)

em relação aos graus de adsorção-desadsorção e de difusão superficial, de tal maneira que

$$\omega \ll D_{\gamma} K^2 \quad (4.77)$$

Neste regime, o tempo é suficientemente grande que permite uma redistribuição dos íons na interface e entre esta e as fases adjacentes. Assim, há tempo para que o equilíbrio se restabeleça.

Aplicando esses dois critérios sobre a equação que nos dá a perturbação da densidade de carga superficial (3.73), obtem-se:

$$\delta Q_1 = G_1 \mathbb{D}V_s / \omega, \quad \text{no regime rápido} \quad (4.78)$$

$$\delta Q_1 = -H_1 \delta \phi_{s1}, \quad \text{no regime lento} \quad (4.79)$$

onde podemos verificar que no regime rápido a variação da densidade de carga superficial depende somente da variação nas dimensões das superfícies sendo nulo o termo elétrico,

$$H_1 = \sum_i \frac{Z_{\gamma}^2 \Gamma_{\gamma s1}}{RT} \frac{\mathbb{D}_{\gamma s1} K^2}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} = 0 \quad (4.80)$$

e no regime lento, é nulo o termo referente ao movimento convectivo,

$$G_1 = \sum_i Z_{\gamma} \Gamma_{\gamma s1} \frac{\omega}{\omega + D_{\gamma s1} K^2} = 0 \quad (4.81)$$

dependendo, portanto, do potencial elétrico superficial e da densidade de carga. Nos dois casos há dependência dos efeitos migrativos ou estéricos, devido a deformação.

4. Conclusões.

A aplicação das condições de contorno elétricas nesses resultados forneceu-nos as equações das variações sofridas pelo potencial, $\delta\phi_1$, (eq.s 3.111) em função dos campos elétricos, das velocidades e suas derivadas e do número de onda K . Para este cálculo utilizamos as equações obtidas a partir do balanço de massa superficial (eq. 3.73).

A aplicação das condições mecânicas, que descrevem o stress normal e o longitudinal, e a utilização das soluções das variações dos potenciais nos conduziu à relação de dispersão $\omega=f(K)$, que é expressa por um determinante 4×4 (eq.4.57). Este admite a existência de dois modos possíveis de vibração das superfícies: o modo SQ (squeezing), que resulta da superposição da componente simétrica da velocidade e sua derivada (v_{Bs} e Dv_{Bs}), e o modo BE (bending), relacionado com a superposição da componente antisimétrica e sua derivada (v_{As} e Dv_{As}).

Como visto no cap.II, a membrana celular apresenta uma assimetria elétrica entre as duas superfícies que a limitam; devido a isto, não é possível desacoplar os modos BE e SQ. Teremos, portanto, que encontrar a solução do determinante através do estudo da equação de oitavo grau em ω . Procederemos a pesquisa

das raízes, por método computacional, com objetivo de traçar curvas da função $\omega(hK)$ que permitirão o estudo do comportamento do sistema, segundo a análise linear, para várias situações de carga superficial e força iônica do meio externo.

CAPÍTULO V

APLICAÇÃO DA ANÁLISE LINEAR DA PERTURBAÇÃO À MEMBRANA DO ERITRÓCITO

1. Introdução.

A aplicação de valores numéricos característicos da membrana do eritrócito nos resultados encontrados nos capítulos anteriores possibilita a realização de um estudo de como variações dos diversos parâmetros mecânicos e elétricos podem influenciar, segundo a análise linear, na estabilidade mecânica desta membrana.

Neste capítulo, inicialmente, descrevemos o método utilizado na solução da equação de dispersão, quando nela aplicamos os valores numéricos referentes ao eritrócito. Apresentamos as condições adotadas para o nosso estudo, cuja escolha foi baseada em conhecimentos morfológicos desta célula e em dados extraídos de experiências com hemácias aquecidas. Em seguida, apresentamos os resultados gráficos obtidos, que permitiram o estudo da estabilidade da membrana e da influência de parâmetros físico-químicos sobre esta.

Focalizamos nossa atenção sobre os efeitos decorrentes das mudanças da carga superficial externa e da força iônica do meio externo, descrevendo detalhadamente os resultados. Ao final do capítulo, desenvolvemos uma discussão, fazendo um paralelo entre nossos resultados e os resultados experimentais encontrados na literatura, apresentando algumas conclusões.

2. Método de Solução da Equação de Dispersão.

Para estabelecer os critérios que regem a estabilidade da membrana do eritrócito e avaliar a influência que certos parâmetros podem exercer sobre esta, é necessário resolver o sistema de equações representado pela matriz dada pela eq. 4.57 e analisar suas raízes.

Como já disemos no capítulo anterior, a membrana do eritrócito apresenta uma assimetria importante entre as superfícies que a limitam. Então, os dois modos que compõem o determinante secular (eq. 4.57) são acoplados pelos termos de acoplamento CO . Assim, o cálculo das raízes torna-se muito complexo e, em busca de métodos adequados de simplificação, tomamos como recurso alguns dados experimentais tirados da literatura. De acordo com estes, os tempos médios para o desenvolvimento de distúrbios na membrana do eritrócito (contado a partir do delineamento da primeira ondulação, até a fragmentação da membrana) ficam em torno de 0,3s [19]. Isto requer coeficientes de tempo de cerca de 3/s.

O estudo de métodos para simplificação da solução do problema nos mostrou que a adoção da aproximação "regime lento" (eq. 4.77) permitia a anulação, na equação de dispersão, de muitas parcelas integrantes dos coeficientes de ω , aquelas multiplicadas por G_1 que, de acordo com a eq. 4.81, é nulo. Por outro lado, resultados experimentais encontrados na literatura [19] indicam que, entre os dois regimes de aproximação, regimes rápido (eq. 4.76) e lento, este último parece ser o mais adequado

para o estudo da membrana do eritrócito.

O regime lento requer que $\omega(K) \ll D_s K^2$, ou seja, que a taxa de crescimento da perturbação seja pequena em relação ao produto do coeficiente de difusão superficial com o quadrado do número de onda da perturbação (K). Embora não se conheça o coeficiente de difusão da membrana do eritrócito, sabe-se que o coeficiente de difusão dos lipídios para uma membrana de lipídios é relativamente alto, $D_s \approx 1,5 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ [41]. Assim, escolhemos desenvolver nossos cálculos dentro do regime lento; já que, para a membrana do eritrócito, os números de onda devem ser maiores que $3 \times 10^3/\text{cm}$, pois os comprimentos de onda correspondentes não podem exceder ao perímetro da célula, e o diâmetro do eritrócito é cerca de $8 \mu\text{m}$. Além de tudo isso, quando o regime rápido foi considerado (resultados não apresentados), os tempos médios de crescimento das perturbações calculados foram muito pequenos, quando comparados com a escala de tempo obtida em medidas experimentais [19].

Por meio do programa *REDUCE*, obtivemos a solução analítica do determinante secular, com os termos em ω devidamente separados. Isto permitiu que investigássemos a ordem de grandeza de cada coeficiente de ω e a possibilidade de obter simplificações adicionais do problema. Verificamos que os coeficientes decresciam significativamente em valor numérico com o aumento do expoente de ω . Para $K \geq 10^3/\text{cm}$: $C_8 < C_7 < \dots < C_1$, onde C_8 representa o coeficiente de ω^8 , C_7 é do termo ω^7 etc. Esta observação nos demonstrou a possibilidade de redução do nosso problema a uma equação de primeiro grau, para o caso do eritrócito, visto que

para K na ordem de $10^3/\text{cm}$ e ω na ordem de 10^0 até 10^1 , o coeficiente C_1 é uma ordem de grandeza maior que o C_2 , que por sua vez é três ordens maior que C_3 , sendo todos os demais bem menores que C_3 . Para K na ordem de $10^4/\text{cm}$ e ω nos índices citados acima, C_1 é duas ordens maior que C_2 etc.

Assim, verificamos que era razoável tomar a equação de dispersão numa aproximação de primeira ordem, já que era de nosso interesse $K > 3 \times 10^3/\text{cm}$ e coeficientes de tempo cerca de 3/s.

Para o caso de uma equação de dispersão de primeira ordem, vamos ter somente raízes reais, $\omega = \omega_R$, sendo que, para ω_R positivo, o sistema é instável e a perturbação crescerá exponencialmente. Já, para ω_R negativo, o sistema é estável, decaindo exponencialmente a perturbação. Dentre os números de onda possíveis, vamos encontrar um que pode ser chamado de número de onda marginal ou crítico (K_c), para o qual $\omega_R = 0$. Verificamos que, no nosso problema, a região de instabilidade ($\omega > 0$) estava associada aos pequenos números de onda. Nesta região, é possível calcular um K dominante, correspondente ao máximo da função $\omega(K)$, para o qual $d\omega/dK = 0$. Este relaciona-se a um comprimento de onda dominante λ_M e o ω_M correspondente é a taxa mais rápida de crescimento da perturbação, sendo λ_M o comprimento de onda mais provável [19]. Dividindo-se o perímetro da célula por λ_M , obtemos uma estimativa do número de ondas por célula (n). Este corresponde ao número médio de ondas que podem surgir ao longo da superfície celular, pelo desenvolvimento de pequenas perturbações.

O inverso ω_M^{-1} corresponde ao tempo característico da ins-

tabilidade, τ_n , [41], que é contado a partir do instante em que a perturbação de comprimento de onda dominante se estabelece. Porém, não podemos tomar esse tempo como o tempo da ruptura da membrana, visto que a análise linear só é válida para os casos em que as perturbações sobre o sistema são de amplitudes muito pequenas, quando comparadas com a espessura média do filme analisado; não sendo possível, portanto, prever por meio dessa análise se a ruptura vai ocorrer ou quando vai ocorrer [44].

A partir da equação de dispersão, traçamos gráficos de $\omega x K$, que permitem ver a evolução da frequência da oscilação do sistema e avaliar todos os parâmetros definidos acima. O K_c define o ponto de transição entre as frequências positivas e negativas. É o parâmetro base para a construção da curva de estabilidade crítica, que separa a área onde se encontram os modos de vibração relacionados com estados estáveis, daquela onde se encontram os modos instáveis. Esta curva permite a análise da influência de um parâmetro físico-químico qualquer, relacionado com o sistema, sobre a estabilização do mesmo.

3. Dados Numéricos e suas correlações.

Alguns dos valores numéricos que utilizamos aqui foram dados obtidos da literatura, resultantes de pesquisas experimentais feitas com eritrócitos ou de estudos teóricos que usaram como modelo a membrana desse tipo celular.

A tabela 5.1 mostra valores encontrados na literatura, relativos à membrana do eritrócito, de alguns parâmetros que compõem as equações utilizadas na análise linear da perturbação.

Alguns desses valores, tais como o potencial transmembranar e as densidades superficiais de carga, também compõem a tabela 2.1.

Tabela 5.1

Alguns Valores Paramétricos da Membrana do Eritrócito Encontrados na Literatura.

PARAMETRO	(SÍMBOLO)	VALORES	[REF.]
Viscosidade do filme	(μ_f)	1.00P	[83]
Visc. das fases vol.	$(\mu_1 \text{ e } \mu_2)$	0.02P	[83]
Soma das Visc. Sup. Shear e Dilational	$(\eta_{s1} \text{ e } \eta_{s2})$	10^{-6} SP	[83]
Densidade do filme	(ρ_f)	1g/cm ³	[83]
Dens. das fases vol.	$(\rho_1 \text{ e } \rho_2)$	1g/cm ³	[83]
Força iônica externa	(F_1^o)	0,172	[8]
Expassura da Membrana	(h)	100Å	[81]
Potencial Transmemb.	$(\Delta\phi_o^o)$	-12mV	[41]
Const. Diel. da memb.	(ϵ_f)	2	[41]
Const. Diel. das fases vol	(ϵ_1)	81	[41]
Dens. Carga Sup. Interna	(Q_{s2}^o)	-27000 UCGS	[50]
Dens. Carga Sup. Externa	(Q_{s1}^o)	-4243 UCGS	

UCGS=Unidades do CGS

Os potenciais superficiais apresentados na tabela 5.1 foram calculados pelo uso das equações 2.53 e 2.54, encontradas no cap. II, no cálculo do perfil de potencial. Assumimos para valor de referência para a densidade de carga na superfície externa, Q_{s1}^o , aquele mesmo utilizado no cap.II, também dado na tab.5.1. Admitimos iguais entre si as viscosidades μ_1 e μ_2 , o mesmo ocorrendo com as densidades ρ_1 e ρ_2 .

Dentre todos os parâmetros envolvidos em nossa análise, a

densidade superficial interna de carga (Q_{s2}°) e a componente mecânica da tensão superficial (σ_m°) foram aqueles que suscitaram mais dúvidas quanto aos seus valores numéricos, dada a impossibilidade, que persiste até a presente data, na obtenção de métodos precisos de suas medidas diretas ou indiretas. Os valores que encontramos na literatura para esses parâmetros eram resultados de cálculos que basearam-se em modelos teóricos, utilizando dados também originários de cálculos e algumas hipóteses. Em decorrência disso, esses valores apresentaram-se em uma grande escala de variação, de autor para autor.

Com o objetivo de encontrar resultados que se apresentassem em maior correspondência com os obtidos em experiências realizadas com células vermelhas [19], tomamos como ponto de partida estudar um pouco do comportamento desses parâmetros numericamente duvidosos, dentro da equação de dispersão, em situações diversas. Primeiramente, testamos algumas combinações entre valores de densidade de carga das superfícies interna e externa e vários valores de tensão superficial σ_m° . Procedemos a análise do comportamento dessas combinações através de dois dos parâmetros relacionados com os fenômenos perturbativos: a taxa máxima de crescimento da perturbação (ω_M) e o número de onda crítico (K_c), já definidos na seção anterior. Esses resultados são apresentados na tabela 5.2.

Nesta tabela observa-se que, quando σ_m° cresce, os valores de K_c e ω_M decrescem. Observa-se, ainda, que ω_M sofre grande influência do aumento de σ_m° . Para um dado valor desta grandeza, os valores de K e de ω_M diminuem à medida que a relação $Q_{s2}^{\circ}/$

Q_{s1}° . (Q_{s1}° é dada na tabela 5.1) decresce. Podemos ver também, que, quando $Q_{s2}^{\circ}/Q_{s1}^{\circ}$ passa de 6,4 para 3,3, K_c decresce de $37,6 \times 10^4 / \text{cm}$ para $20 \times 10^4 / \text{cm}$ ($\sigma_m^{\circ} = 0,2 \text{ dyn/cm}$) e ω_H passa de 1350/s para 358/s.

Tabela 5.2

$Q_{s2}^{\circ}/Q_{s1}^{\circ}$	σ_m° (dyn/cm)	K_c (/cm)	ω_H (/s)
6,4	0,20	$37,5 \times 10^4$	1350
	0,30	$25,4 \times 10^4$	1027
	0,60	$14,4 \times 10^4$	650
	1,30	$3,0 \times 10^4$	4
3,3	0,20	$20,0 \times 10^4$	358
	0,30	$12,3 \times 10^4$	155
	0,43	$5,8 \times 10^4$	9
1,6	0,15	$10,1 \times 10^4$	8
	0,17	$2,6 \times 10^4$	1

Na fig. 5.1 podem ser avaliadas as formas das curvas representativas da variação do número de onda crítico (K_c), normalizado pela espessura h , em função da tensão superficial mecânica σ_m° para $Q_{s2}^{\circ} = 6,4 Q_{s1}^{\circ}$ (\square), $3,3 Q_{s1}^{\circ}$ (Δ) e $1,6 Q_{s1}^{\circ}$ (\times), sendo Q_{s1}° dada na tab. 5.1. A curva de maior inclinação é aquela correspondente a este último caso (\times), no qual o valor de Q_{s2}° é menor. A diminuição de Q_{s2}° reduz o intervalo entre o maior e o menor valores de σ_m° , respectivamente relacionados com valores de K_c na ordem de 10^5 e 10^0 . Isto significa que pequenas variações de σ_m° correspondem a grandes variações de K_c .

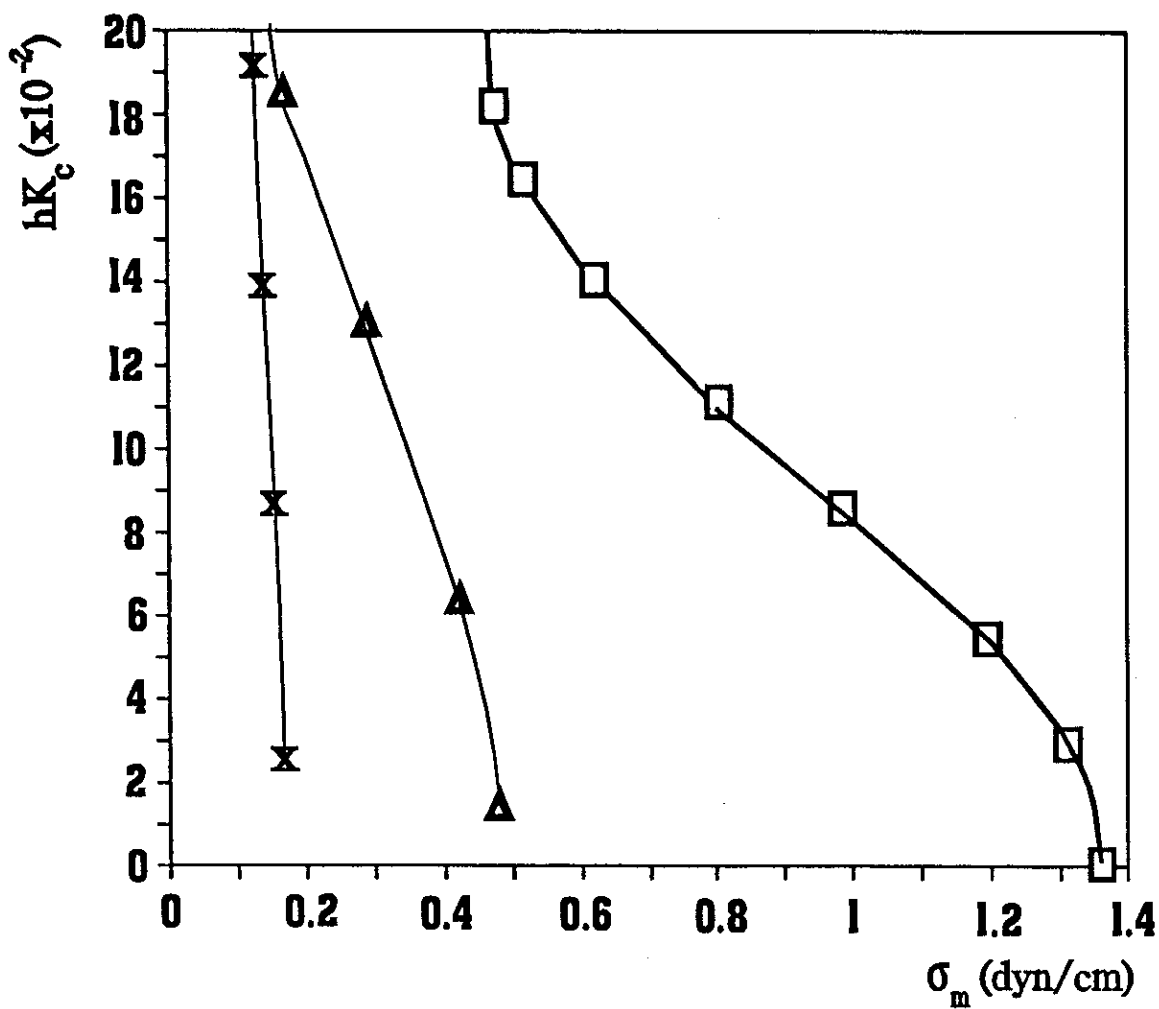


FIG. 5.1: Variação do número de onda, normalizado pela espessura h (hK), com a componente mecânica da tensão superficial, para $Q_{s2}/Q_{s1} = 6,4$ (\square), $3,3$ (\triangle) e $1,6$ (\times). Q_{s1}^0 é dada na tabela 5.1.

Importante observar que, para $Q_{s2} = 1,6Q_{s1}^{\circ}$, $\sigma_m^{\circ} > 0,17 \text{ dyn/cm}$ relaciona-se a um $K_c < 0$, enquanto que para $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s1}^{\circ}$, este mesmo valor de σ_m traduz um K_c na ordem de 10^5 .

Assim, para trabalharmos dentro de uma escala compatível com aquela encontrada nos experimentos feitos com eritrócitos [18, 19], devemos escolher um dado valor de σ_m° relacionado com o K esperado para esta célula, dependendo da Q_{s2}° assumida. Como já mencionado na seção anterior, sendo o diâmetro desta é aproximadamente $8\mu\text{m}$, K deve ser maior que $3 \times 10^3 / \text{cm}$.

Observa-se na tabela 5.2 que, quando K_c é da ordem de 10^4 , o ω_H assume valores na ordem de 1 e que, para os três casos da fig. 5.1, quando σ_m° assume o valor próximo de $0,1 \text{ dyn/cm}$, K_c tende à valores muito grandes e muito próximos, uns dos outros.

A tabela 5.3 mostra o comportamento de K_c quando variam σ_m° , Q_{s2}° e o potencial transmembranar ($\Delta\phi_0^{\circ}$). Para os três valores de $Q_{s2}^{\circ}/Q_{s1}^{\circ}$ estudados (6,4, 3,3, 1,6), observa-se que o aumento do potencial transmembranar, dentro dos limites usualmente considerados para a membrana da hemácia (-9 a -18mV) produz aumento discreto de K_c , ou seja, sua ordem de grandeza é mantida. Quando $\Delta\phi_0^{\circ} = -18\text{mV}$ K_c é apenas 0.85 do valor relativo ao caso em que $\Delta\phi_0^{\circ} = -9\text{mV}$, para todos os valores σ_m° testados.

Assim, de posse dos os dados numéricos necessários para a solução do problema, podemos, então, proceder o estudo da influência da densidade de carga superficial e da força iônica sobre a estabilidade da membrana, que é o objetivo deste trabalho.

Tabela 5.3

Número de Onda Crítico versus Potencial Transmembranar

$Q_{s2}^{\circ} / Q_{s10}^{\circ}$	ϕ_0° (mV)	K_c (cm)		
		σ_m° (dyn/cm)		
		0,4	0,3	0,15
6,4	-9	$19,1 \times 10^4$	$24,2 \times 10^4$	$53,0 \times 10^4$
	-12	$16,8 \times 10^4$	$25,4 \times 10^4$	$56,0 \times 10^4$
	-18	$22,1 \times 10^4$	$28,0 \times 10^4$	$62,6 \times 10^4$
3,3	-9	$6,8 \times 10^4$	$11,3 \times 10^4$	$28,0 \times 10^4$
	-12	$7,4 \times 10^4$	$12,8 \times 10^4$	$30,2 \times 10^4$
	-18	$8,7 \times 10^4$	$14,4 \times 10^4$	$36,0 \times 10^4$
1,6	-9	-	-	$8,4 \times 10^4$
	-12	-	-	$10,1 \times 10^4$
	-18	-	-	$13,6 \times 10^4$

4. Influência das Densidades Superficiais de Carga na Estabilidade da Membrana.

Inicialmente, estudamos a influência da variação da densidade de carga interna (Q_{s2}°) sobre a estabilidade da membrana e, depois, verificamos a influência das cargas superficiais externas (Q_{s1}°).

Para o primeiro estudo, utilizamos um único valor de σ_m° para todos os valores de Q_{s2}° , tendo que ser, portanto, σ_m° um número compatível com todo o espectro de valores de Q_{s2}° testados. Como pode ser observado na tabela 5.2, a medida que Q_{s2}°

diminui, o intervalo de valores possíveis de σ_m^0 se comprime. Assim, escolhemos $\sigma_m^0=0,18$ para este estudo. Já, no segundo estudo, o da carga superficial externa, admitimos diferentes σ_m para os dois valores de Q_{s2}^0 que utilizamos ($Q_{s2}^0 = 6,4Q_{s10}^0$ e $3,3Q_{s10}^0$), de forma que K_c do estado de referência estivesse na ordem grandeza esperada ($>3 \times 10^3/cm$).

Nas *fig.s* 5.2 (a) e (b) podemos ver os resultados obtidos quando se variou a Q_{s2}^0 mantendo-se constante Q_{s1}^0 (tabela 5.1), para $\sigma_m^0=0.18\text{dyn/cm}$. A *fig.* 5.2(a) mostra a curva de estabilidade crítica, ou marginal, $\omega_R=0$, para a variação de Q_{s2}^0 com o número de onda crítico, normalizado pela espessura h (hK_c). Como já dissemos na seção anterior, esta curva define o limite entre a área onde se encontram os modos para os quais o sistema é estável (é a área de estabilidade) e aquela onde estão os modos instáveis (área de instabilidade).

Como podemos ver nesta figura, a diminuição da carga na superfície interna, ou melhor, a diminuição da relação entre as densidades interna e externa de carga Q_{s2}^0/Q_{s10}^0 , leva a um aumento da área de instabilidade. Isto quer dizer que o crescimento de $\Delta\phi_s^0$, expressa pelo aumento da relação Q_{s2}^0/Q_{s10}^0 , produz instabilidade na membrana.

A *fig.* 5.2(b) apresenta o desenvolvimento da taxa de crescimento da perturbação, ω , em função do número de onda normalizado por h , para quatro valores diferentes de $Q_{s2}^0/Q_{s10}^0 = 6,4Q_{s10}^0$ (\square), $3,3Q_{s10}^0$ (Δ) e $1,6 Q_{s10}^0$ (\times). Nesta figura observa-se que a diminuição da carga interna provoca a queda do valor de ω_H e K_H . O K_c também diminui.

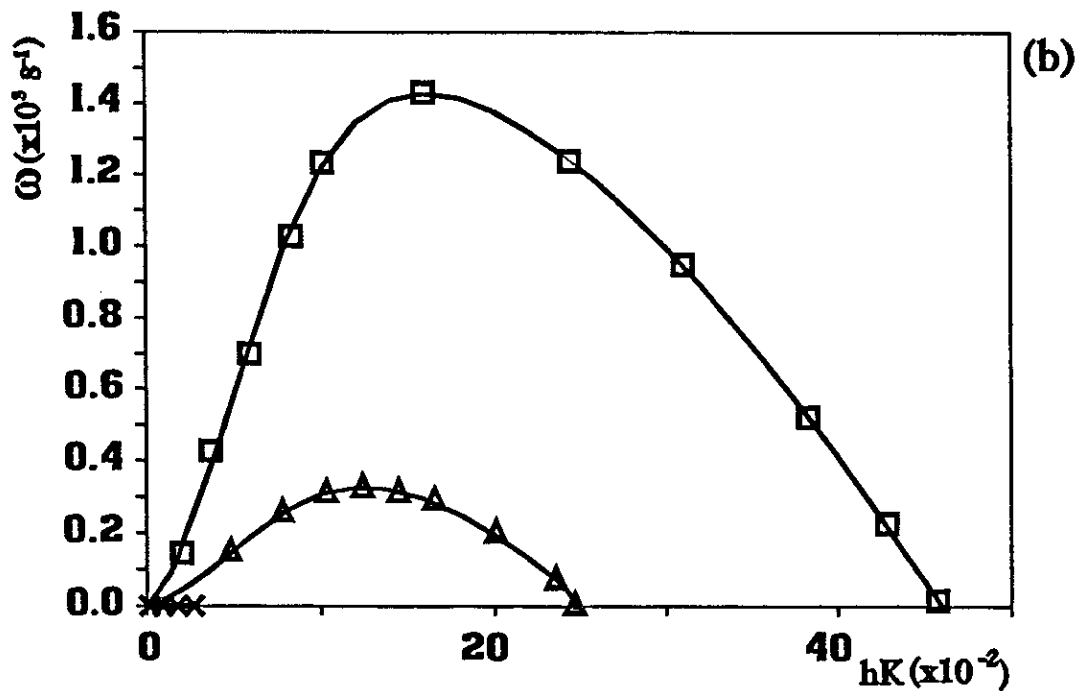
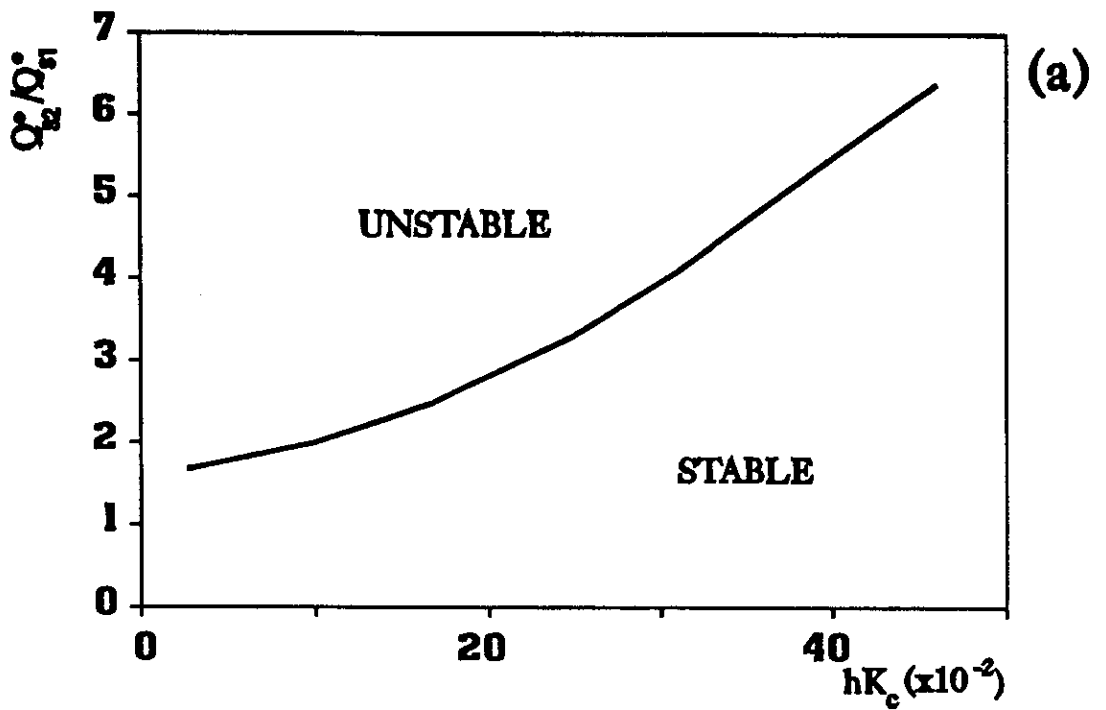


FIG. 5.2: Estudo da influência da variação da carga superficial interna: (a) Curva de estabilidade crítica $\omega=0; Q_2^0/Q_1^0$ versus hK_c . (b) Taxa de crescimento de ω versus hK para $Q_2^0/Q_1^0=6,4(\square)$; $3,3(\Delta)$ e $1,6(X)$. Q_1^0 é dada na tabela 5.1.

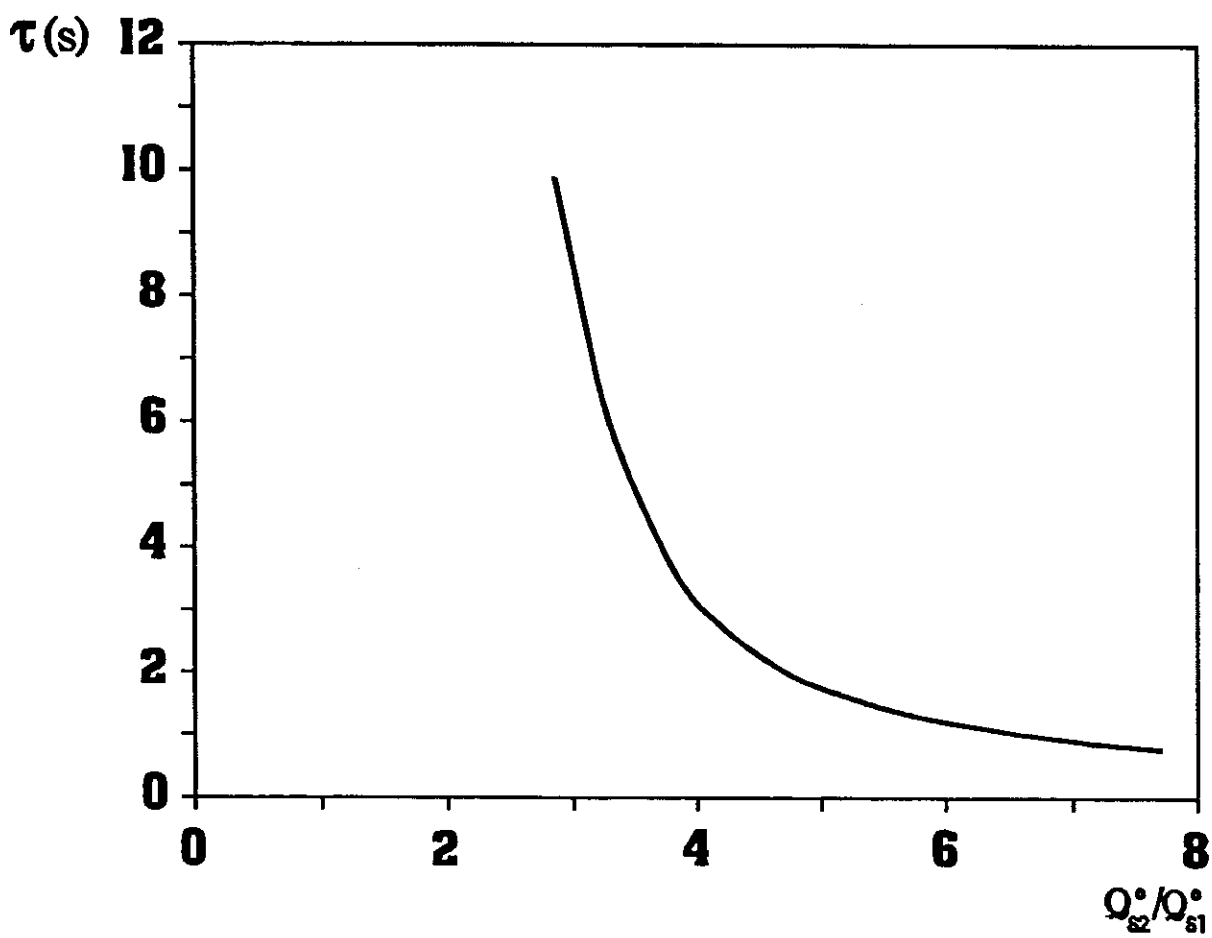


FIG. 5.3: Variação do tempo característico com a carga superficial interna ($\sigma_m = 0,18 \text{ dyn/cm}$, $h = 100 \text{ \AA}$).

As variações nos valores de ω_M são bastante pronunciadas, dentro da escala em que se apresentam, em comparação com aquelas variações observadas em K_c e K_M na escala de hK. Para $Q_{s2}^0 = 6,4Q_{s10}^0$, ω_M é da ordem de $10^3/s$ e, quando a relação Q_{s2}^0/Q_{s10}^0 cai de 3,3 para 1,6, ω_M varia de $10^2-10^1/s$.

A variação do tempo característico τ_M com o aumento da carga superficial interna é mostrada nas *fig.s* 5.3. Podemos ver que τ_M aumenta progressivamente quando Q_{s2}^0 decresce e que, quando Q_{s2}^0 tende para $4Q_{s10}^0$, τ_M passa a crescer rapidamente.

Nas *fig.s* 5.4 e 5.5 são apresentados os resultados obtidos quando se variou a densidade de carga na superfície externa, tendo-se mantido constante a carga na superfície interna. Chamamos de Q_{s10}^0 ao valor de referência da densidade de carga superficial em S1 (dado na *tabela* 5.1). A partir deste, fizemos diminuições em Q_{s1}^0 , simulando a ação de uma enzima ou qualquer outro tipo de processo capaz de produzir tal efeito.

Experimentalmente, a diminuição da carga superficial externa da membrana pode ser obtida pelo tratamento das células com *neuraminidase*, que é uma enzima que age depletando a carga por digestão da superfície celular, removendo moléculas de ácido siálico, que possuem cargas negativas e que, normalmente, são encontradas presentes nas extremidades das cadeias glicídicas [19,77]. Com isto verifica-se a diminuição da carga global (valor absoluto), que se torna negativa, o que proporciona, como visto no cap.II, a diminuição da negatividade do $\Delta\phi_s^0$.

A *fig.* 5.4 (a) mostra a curva de estabilidade crítica para $\omega_R=0$; para a variação de Q_{s1}^0 (expressa pela relação Q_{s1}^0/Q_{s10}^0)

com o número de onda crítico normalizado (hK_c). A densidade de carga na superfície interna é dada na tab. 5.1 ($Q_{s2}^{\circ}=6,4Q_{s1_0}^{\circ}$), que é mantida constante, e a tensão superficial σ_m° adotada foi de 1,3dyn/cm. Nesta figura verificamos que a diminuição da carga Q_{s1}° , a partir do valor $Q_{s1_0}^{\circ}$, dentro dos limites estudados, confere ao sistema maior estabilidade, pois há um crescimento gradativo da área correspondente aos modos estáveis com a queda da relação $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s1_0}^{\circ}$.

A fig. 5.4(b) apresenta a curva da variação da freqüência ω em função de hK para valores de Q_{s1}° iguais a $Q_{s1_0}^{\circ}$ (\square) (curva de referência), a $0,8Q_{s1_0}^{\circ}$ (Δ), $0,5Q_{s1_0}^{\circ}$ (x) e $0,3Q_{s1_0}^{\circ}$ (o), onde se vê que a diminuição da razão $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s1_0}^{\circ}$ resulta na queda do valor de ω_H em relação à curva de referência, bem como do K_c e K_H ; crescendo, assim, a zona de estabilidade com a diminuição de hK .

Na fig. 5.5(a) podemos ver a curva de estabilidade crítica $\omega_R=0$, para $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s1_0}^{\circ}$ versus hK_c , onde a variação da densidade superficial de carga Q_{s1}° é a mesma das fig.s 5.4, sendo Q_{s2}° foi mantida constante, sendo aproximadamente a metade do valor dado na tab.5.1 ($Q_{s2}^{\circ}=3,3Q_{s1_0}^{\circ}$) e $\sigma_m^{\circ}=0.44$ dyn/cm. Neste caso, verifica-se que o crescimento da área de estabilidade com a queda da razão $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s1_0}^{\circ}$ é maior que aquele observado na fig. 5.4(a). Na fig. 5.5(b), onde temos plotada a função $\omega(hK)$ para $Q_{s1}^{\circ}=Q_{s1_0}^{\circ}$ (\square), $0,8Q_{s1_0}^{\circ}$ (Δ), $0,5Q_{s1_0}^{\circ}$ (x) e $0,3Q_{s1_0}^{\circ}$ (+), vemos que ω_H , K_c e K_H decrescem com a queda de Q_{s1}° .

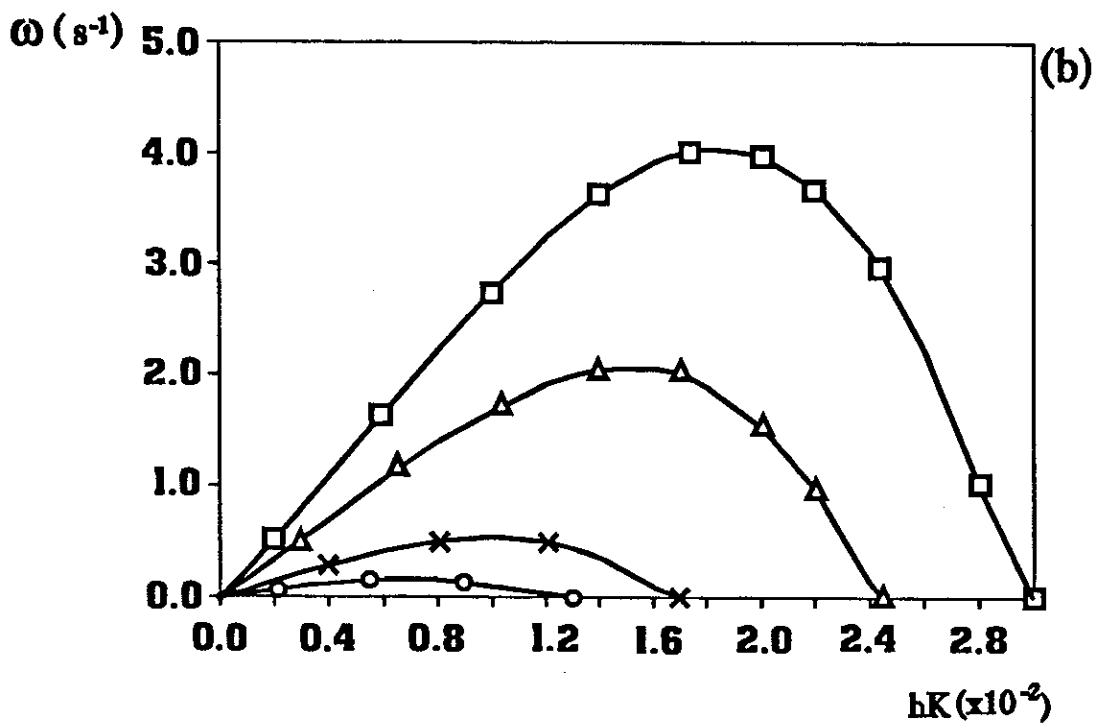
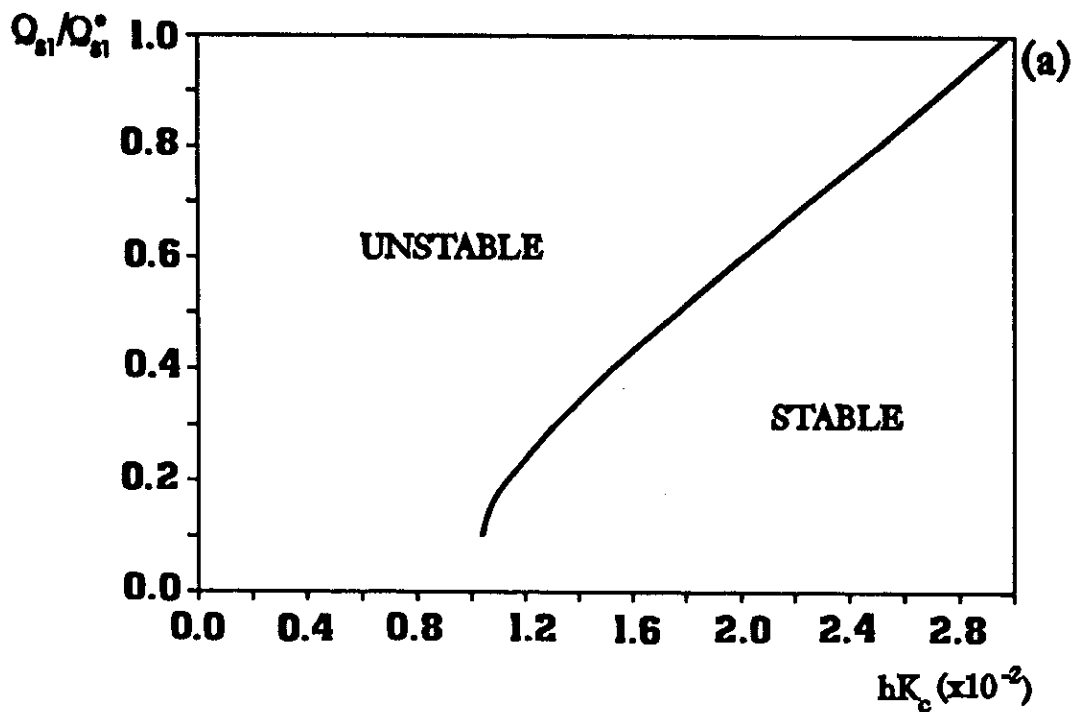


Fig. 5.4.: Estudo da influência da variação da carga superficial externa para $Q_{s2} = 6.4 Q_{s1}^*$ (Q_{s1}^* é o valor de referência-tab. 5.1) (a) Curva de estabilidade crítica Q_{s1}/Q_{s1}^* versus hK_c . (b) Taxa de crescimento de ω versus hK para: $Q_{s1}/Q_{s1}^* = 1,0$ (□), $0,8$ (Δ), $0,5$ (×) e $0,3$ (◦).

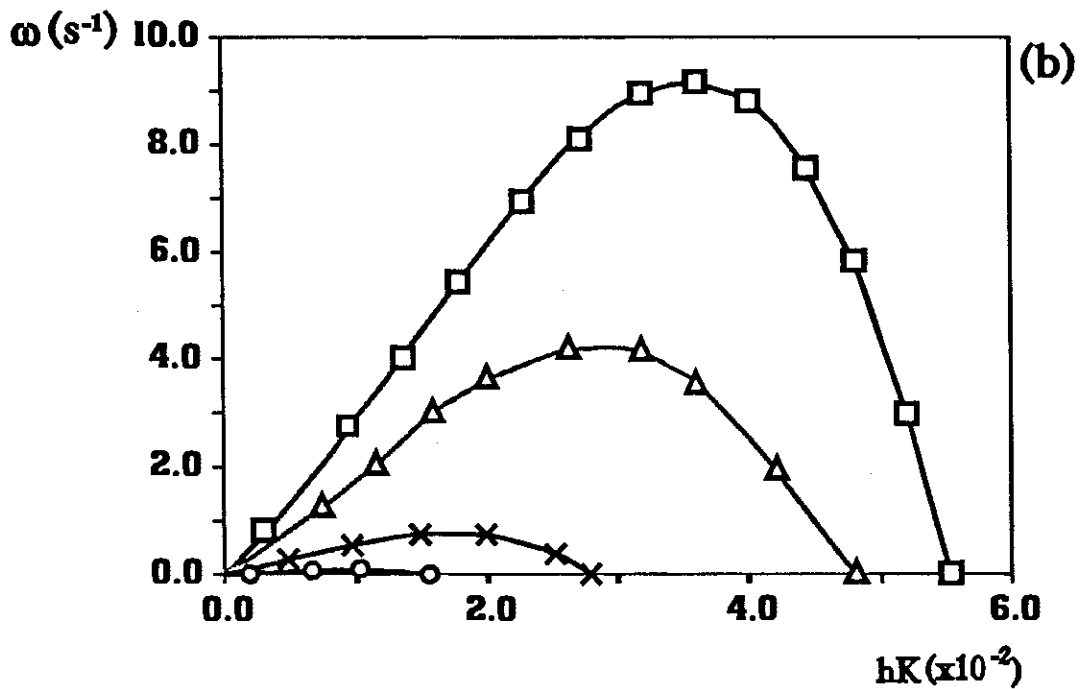
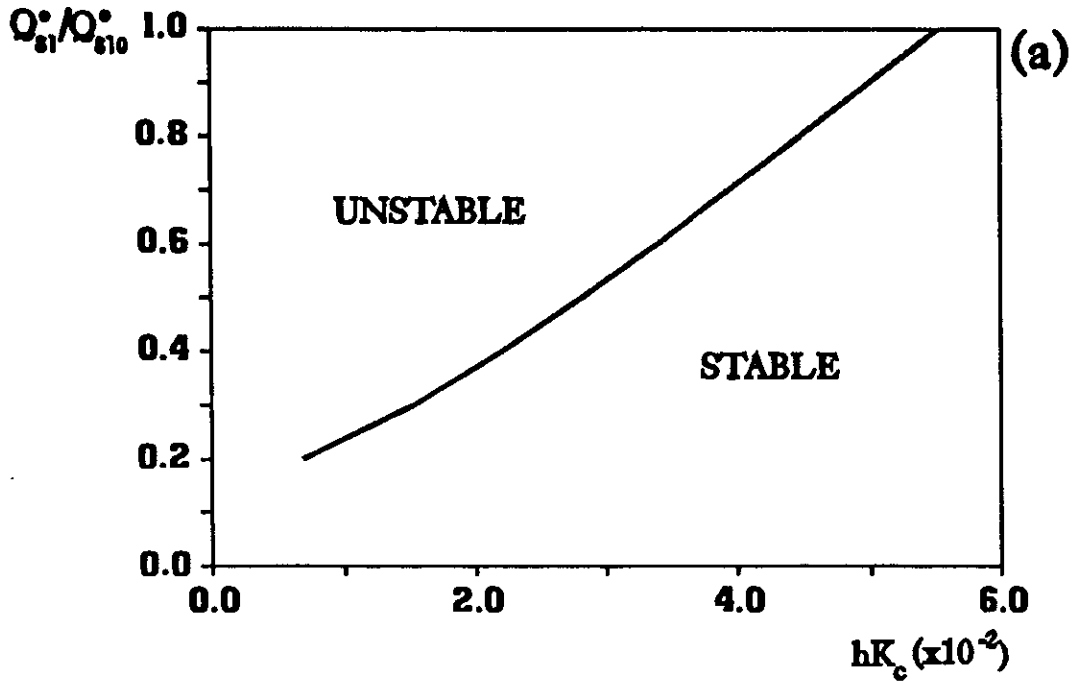


FIG. 5.5: Estudo da influência da variação da carga superficial externa para $Q_{s2}^0=3,3Q_{s10}^0$ (Q_{s10}^0 é o valor de referência-tab.5.1) (a) Curva de estabilidade crítica Q_{s1}^0/Q_{s10}^0 versus hK_c . (b) Taxa de crescimento de ω versus hK para: $Q_{s1}^0/Q_{s10}^0=1,0(\square)$, $0,8(\Delta)$, $0,5(X)$ e $0,3(o)$.

Podemos observar na *fig. 5.6* que a diminuição da carga superficial externa produz efeitos semelhantes no tempo característico para os dois casos estudados: $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s10}^{\circ}$ (\square), e $Q_{s2}^{\circ} = 3,3Q_{s10}^{\circ}$, curva (Δ). Para ambos, os valores de τ_M crescem progressivamente quando Q_{s1}° diminui e tende a valores infinitamente grandes, quando a razão $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s10}^{\circ}$ torna-se menor que 0,5.

A *fig. 5.7* mostra o número de ondas (n) que podem se formar na superfície da célula em função da variação de Q_{s1}° , para os dois casos aqui estudados - $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s10}^{\circ}$ (\square) e $Q_{s2}^{\circ} = 3,3Q_{s10}^{\circ}$ (Δ). Verificamos nessa figura, que n diminui progressivamente com a queda da relação $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s10}^{\circ}$, nos dois casos. Porém, a diminuição sofrida no primeiro caso citado é menor que no segundo. Para o primeiro caso, quando Q_{s1}° é igual ao valor de referência, $n=7$ e, quando $Q_{s1}^{\circ} = 0,1Q_{s10}^{\circ}$, $n=3,5$. Para o segundo caso, $n=14,5$ para $Q_{s1}^{\circ} = Q_{s10}^{\circ}$ e $n=1,3$ para $Q_{s1}^{\circ} = 0,2Q_{s10}^{\circ}$. Então, nesta figura, observa-se que quando a relação $Q_{s2}^{\circ}/Q_{s1}^{\circ}$ é maior, a diminuição da carga superficial externa produz um efeito menor sobre a formação de ondulações nas bordas das células.

5. Influência da Força Iônica na Estabilidade da membrana.

Vimos no capítulo II que a diminuição da força iônica do meio extracelular provoca a diminuição do módulo da carga superficial externa e que, quando se considera a situação de equilíbrio B (na qual o potencial transmembranar é determinado pelo equilíbrio do ion Cl^-), profundas alterações no potencial

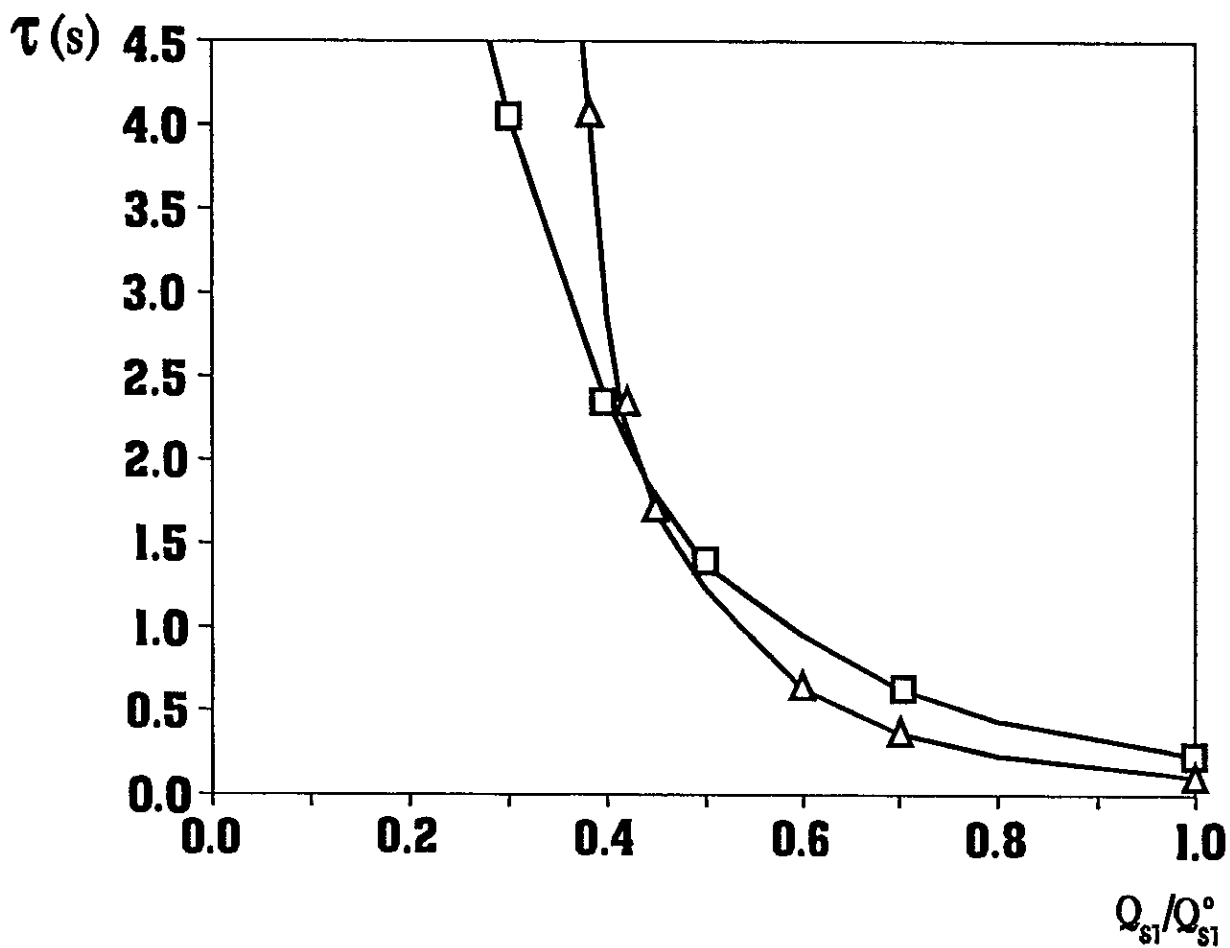


FIG. 5.6: Variação do tempo característico em função da densidade carga superficial externa, para os casos apresentados nas fig.s 5.4 e 5.5. Q_{s1}° é o valor de referência (tab. 5.1).

\square $Q_{s2} = 6,4 Q_{s1}^\circ$ e $\sigma_m^\circ = 1,30 \text{ dyn/cm}$
 \triangle $Q_{s2} = 3,3 Q_{s1}^\circ$ e $\sigma_m^\circ = 0,44 \text{ dyn/cm}$

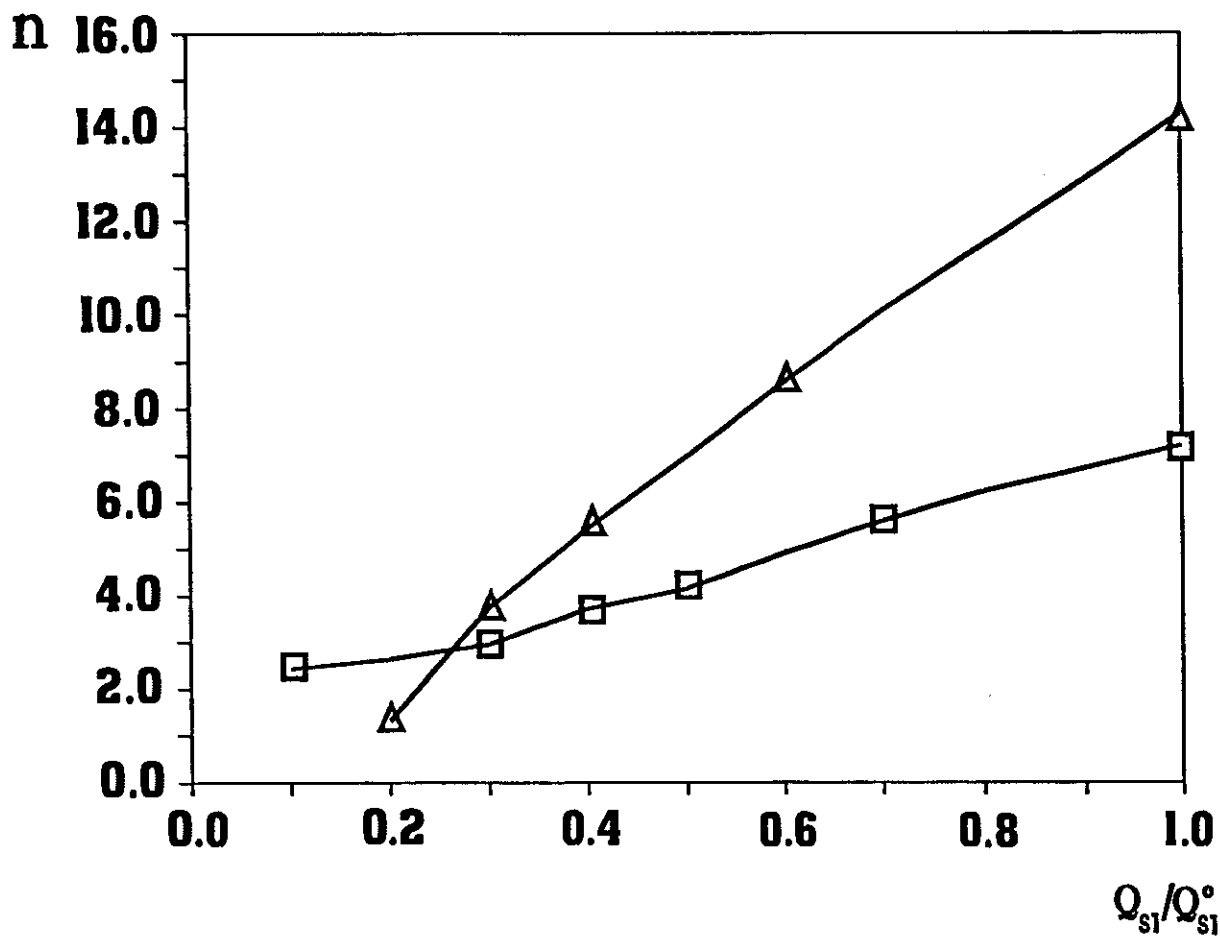


FIG. 5.7: Variação do número de ondas por célula em função da densidade carga superficial externa, para os casos apresentados nas fig.s 5.4 e 5.5. Q_{s1}^0 é o valor de referência da carga (tab 5.1). \square $Q_{s2}=6,4Q_{s1}^0$ e $\sigma_m^0=1,30\text{dyn/cm}$
 Δ $Q_{s2}=3,3Q_{s1}^0$ e $\sigma_m^0=0,44\text{dyn/cm}$

transmembranar também são observadas. Aqui, fazemos uma análise sistemática de como tais modificações contribuem no efeito ocasionado pela redução da força iônica sobre a estabilidade do nosso modelo de membrana.

Inicialmente, estudamos o efeito puro da variação da força iônica (F_1^0), não levando em consideração que a alteração desse parâmetro produz efeitos subsequentes. Para isto, fizemos variar a F_1^0 mantendo para Q_{s1}^0 e $\Delta\phi_0^0$ valores fixos, considerando a situação de equilíbrio A definida no capítulo II.

No segundo momento, ainda considerando a situação A, analisamos a influência da variação da força iônica sobre a estabilidade da membrana, quando as subsequentes alterações da carga superficial externa são consideradas. E, por último, partimos para o estudo do efeito da variação da força iônica somada àqueles produzidos pelas duas subsequentes alterações: da carga superficial externa e do potencial transmembranar. Neste caso, então, consideramos a situação B, definida no capítulo II.

A *fig. 5.8(a)* mostra a curva de estabilidade crítica $\omega_R=0$, da relação F_1^0/F_{10}^0 versus hK_c , para o caso em que se fez variar F_1^0 , mantendo-se constante Q_{s1}^0 e $\Delta\phi_0^0$ ($Q_{s1}^0=Q_{s10}^0$ e $\Delta\phi_0^0=\Delta\phi_{00}^0$ - tabela 5.1), nas condições: $Q_{s2}^0=6,4Q_{s10}^0$ e $\sigma_m^0=1,3$ dyn/cm. Observa-se nesse gráfico que, à medida que a força iônica do meio extra-celular decresce, a partir do valor de referência F_{10}^0 , a área dos modos instáveis inicialmente aumenta, diminuindo posteriormente. O ponto em que K_c assume o maior valor é aquele para o qual F_1^0/F_{10}^0 é 0,25, a partir deste, o K_c diminui gradativamente.

Na *fig. 5.8(b)* temos a representação gráfica da função $\omega(hK)$

para cinco valores F_1° : F_{10}° (\square), $0,5F_{10}^{\circ}$ (Δ), $0,25F_{10}^{\circ}$ (\times) e $0,1F_{10}^{\circ}$ (\circ). Os valores de ω_M , K_c e K_M crescem progressivamente quando F_1° decresce até o valor de $1/4F_{10}^{\circ}$. Para F_1° menores que este valor, o K_c começa a diminuir, sendo menor para $F_1^{\circ}=0,1F_{10}^{\circ}$ que para $F_1^{\circ}=F_{10}^{\circ}$, embora o valor de ω_M seja maior.

O efeito da variação de Q_{s1}° dependente da força iônica sobre a estabilidade da membrana pode ser visto na *fig. 5.9(a)*. As condições adotadas para a elaboração desta figura foram as mesmas utilizadas nas *fig.s 5.8*. O valor dado pela *tabela 5.1* para Q_{s1}° valeu como o valor de referência, ao qual chamamos de Q_{s10}° . Os demais valores de Q_{s1}° , resultantes das variações da força iônica, foram aqueles mesmos usados capítulo II (*tabela 2.2*).

Como podemos ver, a forma da curva da *fig. 5.9(a)* pouco difere da curva *5.8(a)*; sendo, porém, o valor máximo atingido por K_c na primeira menor que na segunda figura.

Na *fig. 5.9(b)* podemos avaliar o comportamento de ω em função do K normalizado por h , para os mesmos valores de F_1° utilizados na *fig. 5.8(b)*. Observar que os valores de K_c , para os casos em que F_1° é igual a $1/2$, $1/4$ e $1/10$ do valor de referência, se aproximam bastante entre si, em relação aos da *fig. 5.8(b)*. Por outro lado, os valores de ω_M são menores. Além disso, o ω_M no caso em que $F_1^{\circ}=0,1F_{10}^{\circ}$ é menor que para $F_1^{\circ}=0,25F_{10}^{\circ}$, ao contrário da *5.8(b)*. Isto reflete a influência que a diminuição da carga Q_{s1}° , que acompanha a queda da força iônica, tem sobre a estabilidade e sobre os parâmetros K e ω . Segundo estes resultados, enquanto a diminuição da força iônica tende a aumentar o ω_M , a queda de Q_{s1}° contribui para a diminuição do desta.

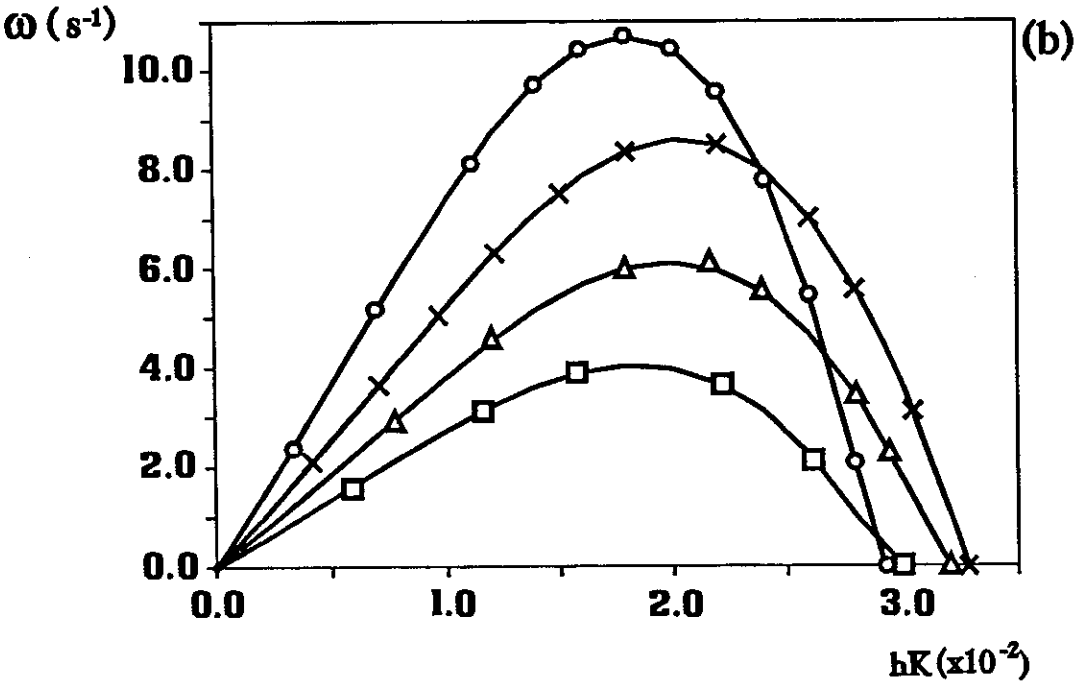
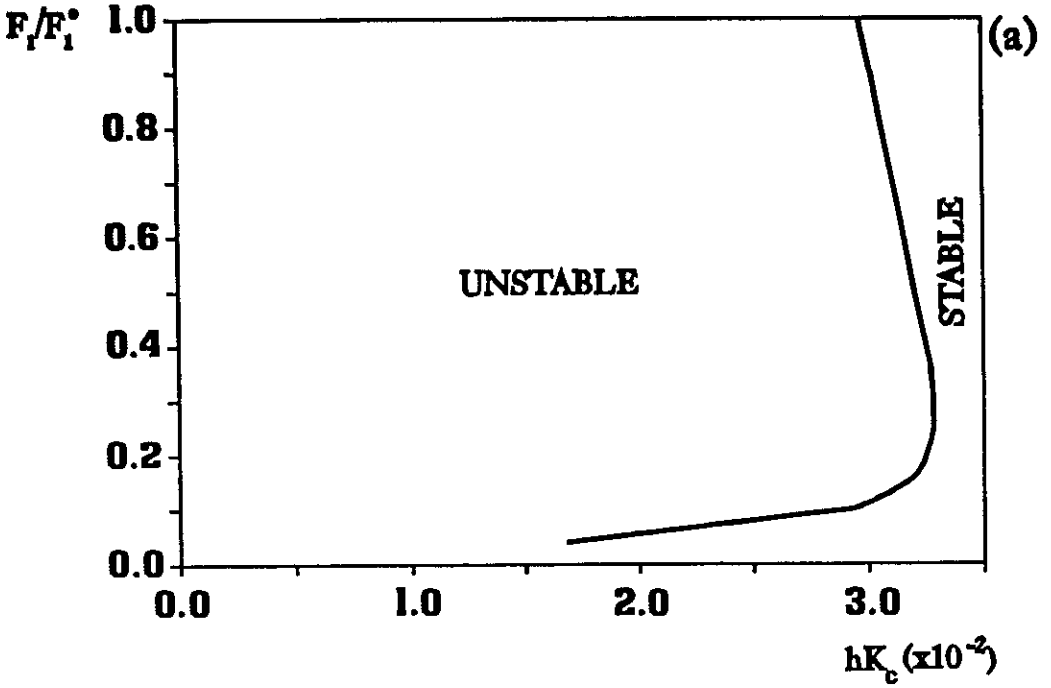


FIG. 5.8: Estudo da influência da variação da força iônica externa (F_1) para a situação A. As densidades de carga Q_{s1} e Q_{s2} são fixas e dadas na tab.5.1. (a) Curva de estabilidade crítica $\omega=0$; F_1/F_1^* (F_1^* é o valor de referência) versus hK_c . (b) Taxa de crescimento de ω versus hK para: $F_1/F_1^*=1,0$ (\square), $0,8$ (Δ), $0,25$ (x) e $0,3$ (\circ).

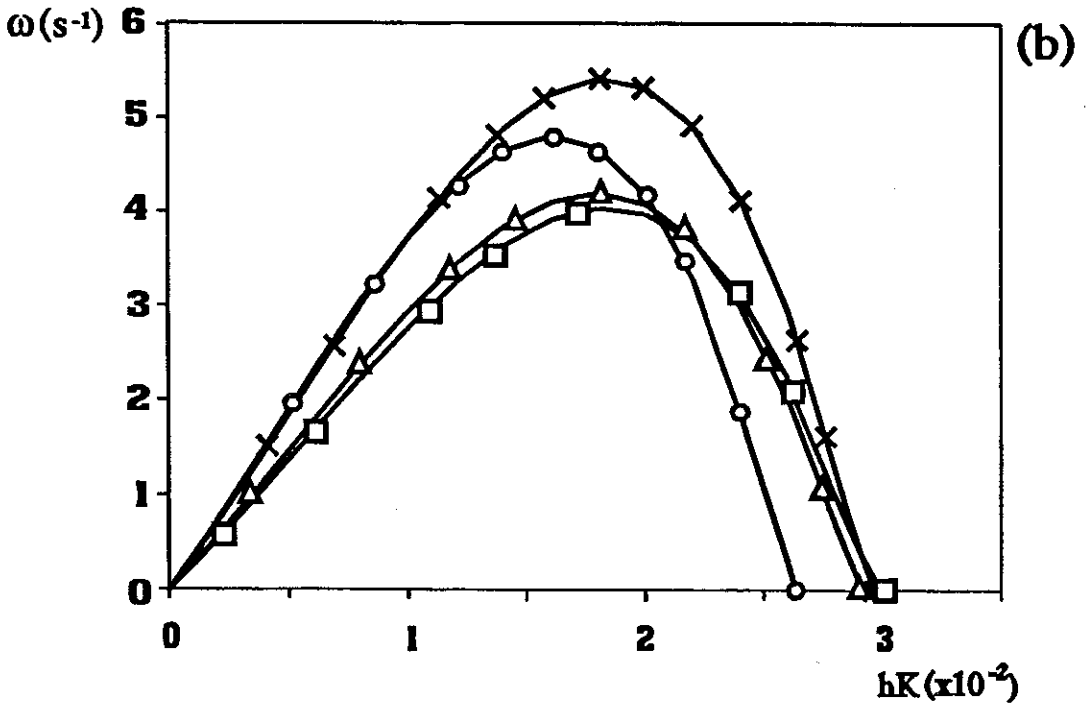
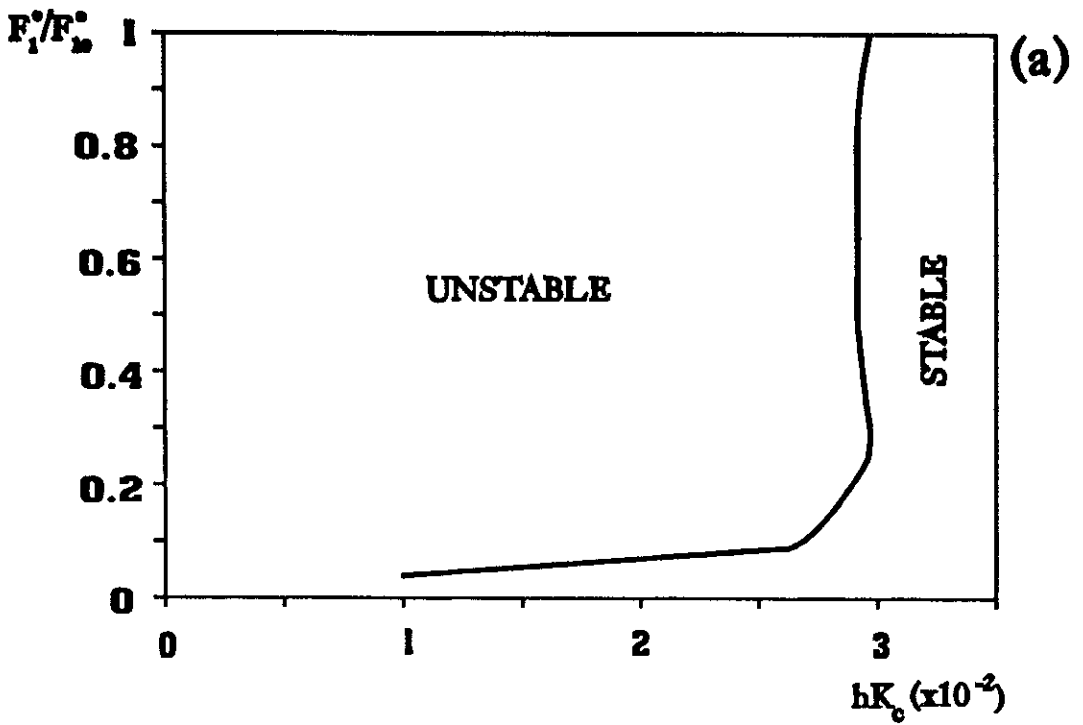


FIG.5.9: Estudo da influência da variação da força iônica externa (F_1) para a situação A. A densidade de carga Q_{s1} varia com F_1 (tabela 2.2) e Q_{s2} é dada na tabela 5.1. (a) Curva de estabilidade crítica $\omega=0; F_1^0/F_1^0$ (F_1^0 é o valor de referência) versus hK_0 . (b) Taxa de crescimento ω versus hK para: $F_1^0/F_1^0=1,0(\square)$, $0,8(\Delta)$, $0,25(x)$ e $0,3(\circ)$.

Nas figuras seguintes, pode ser analisado o comportamento das curvas quando se tem os efeitos integrados das variações na força iônica, na carga superficial e no potencial transmembrana. Como já mencionamos, aqui consideramos a situação B, definida no capítulo II.

Na *fig. 5.10(a)* é mostrada a curva de estabilidade para as mesmas condições usadas da *fig. 5.8(a)*; porém, $\Delta\phi_0^\circ$ e de Q_{s1}° variam com a mudança da força iônica. Os valores de referência destes parâmetros são mostrados na *tabela 5.1*. Por meio da eq. 2.59, calculamos a $\Delta\phi_0^\circ$ correspondente a cada F_1° . Podemos ver que quando se faz variar o potencial transmembrana juntamente com a força iônica e a carga superficial externas, a forma da curva de estabilidade muda consideravelmente, em relação a aquelas apresentadas nas *fig.s 5.8(a)* e *5.9 (a)*.

Verificamos na *5.10 (a)* um crescimento da área de estabilidade com a diminuição da força iônica. Este crescimento prossegue até F_1° atingir valores abaixo de 0,16 do valor de referência. A partir daí, a área correspondente aos modos instáveis tende a expandir-se. É importante, porém, observar que o valor de K_c para $F_1^\circ=0,1F_{10}^\circ$ é maior que para $F_1^\circ=0,2F_{10}^\circ$, mas, ainda, menor que para $F_1^\circ=0,5F_{10}^\circ$.

A *fig. 5.10(b)* mostra o comportamento de ω em função de K normalizado por h , para os mesmos valores de F_1° utilizados na *fig. 5.8(b)*. Podemos verificar na *fig. 5.10(b)* que tanto o valor de K_c quanto os de ω_M e K_M diminuem consideravelmente, quando se leva em conta as alterações de Q_{s1}° e $\Delta\phi_0^\circ$ juntamente com a diminuição de F_1° .

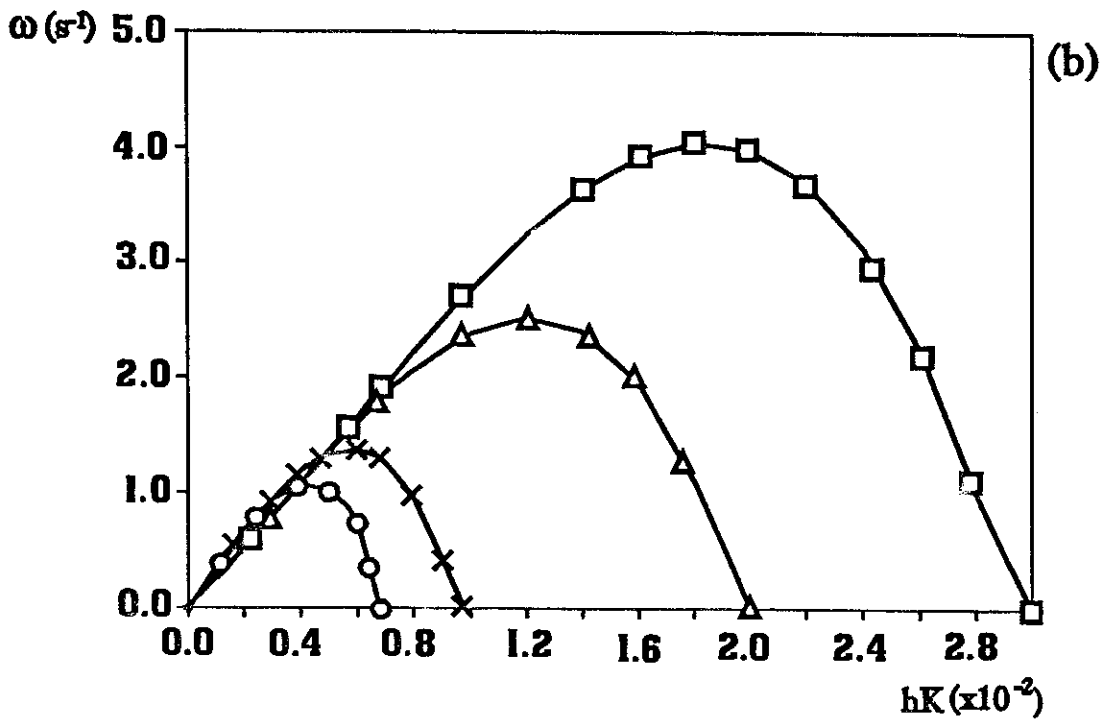
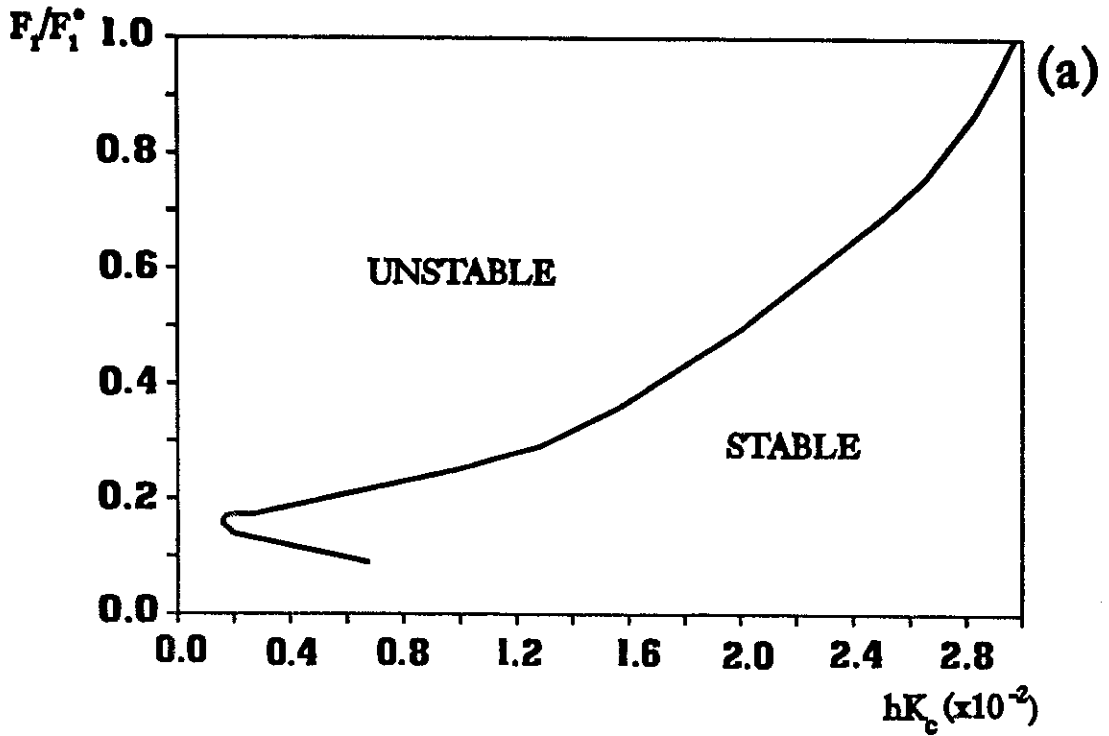


FIG.5.10: Estudo da influência da variação da força iônica externa (F_1) para a situação B. A densidade de carga Q_{s1} (tab. 2.2) e o $\Delta\phi_0$ (eq.2.59) variam com F_1 , e Q_{s2} é dada na tab.5.1 (a) Curva de estabilidade crítica $\omega=0$; F_1/F_{10} (F_{10} é o valor de referência) versus hKc . (b) Taxa de crescimento ω versus hK para: $F_1/F_{10}= 1,0(\square)$, $0,8(\triangle)$, $0,25(x)$ e $0,3(\circ)$.

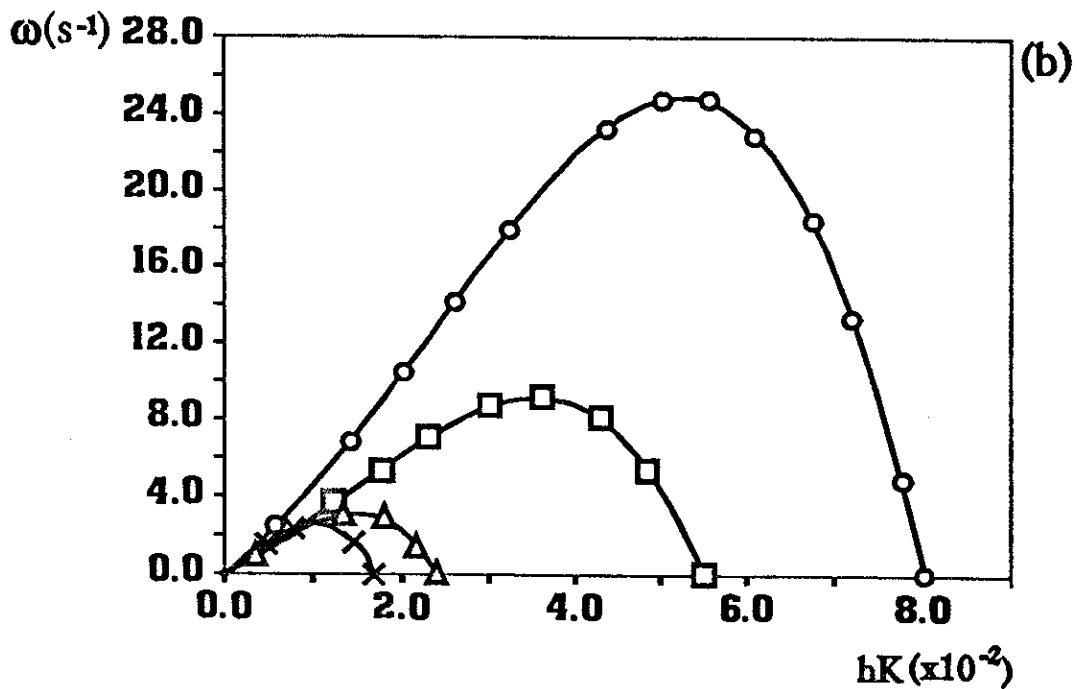
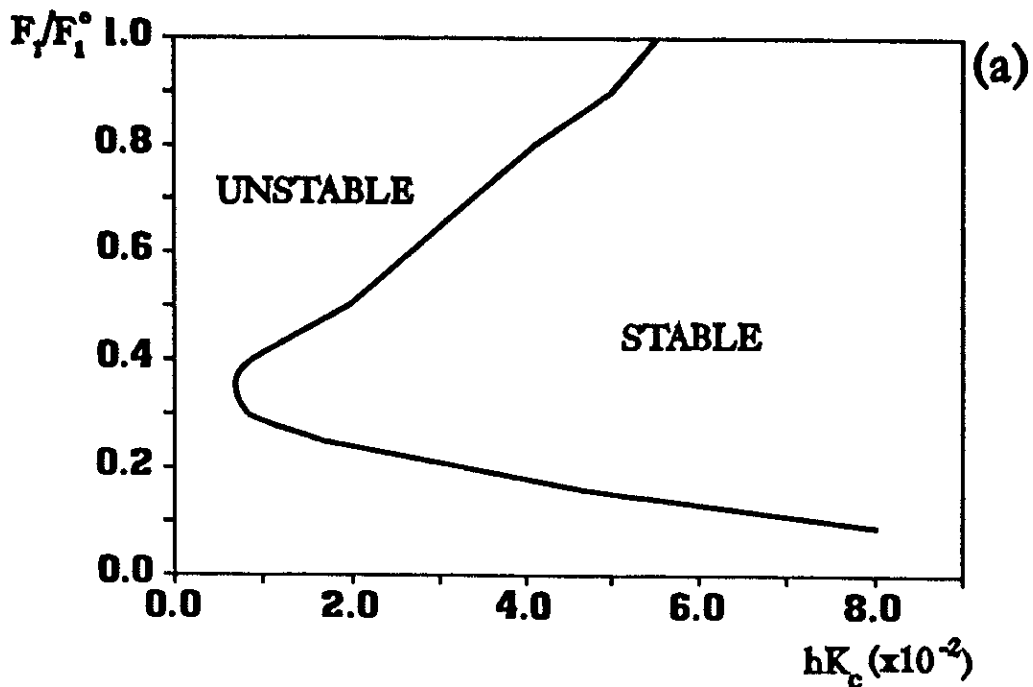


FIG. 5.11: Estudo da influência da variação da força iônica externa (F_i) para a situação B ($Qs_2=3,3Qs_1$). A densidade de carga Qs_1 (tab.2.2) e o $\Delta\phi_0^0$ (eq.2.59) variam com F_i . (a) Curva de estabilidade crítica $\omega=0$; F_i/F_i^0 (F_i^0 é o valor de referência) versus hK_c . (b) Taxa de crescimento ω versus hK para: $F_i/F_i^0= 1,0(\square)$, $0,8(\Delta)$, $0,25(x)$ e $0,3(\circ)$.

As *fig.s* 5.11 mostram como se comportam as curvas de estabilidade $\omega(K)$ para o caso em que $Q_{s2}^{\circ} = 3,3Q_{s10}^{\circ}$, ou seja, Q_{s2}° dada como aproximadamente a metade daquela utilizada nas *fig.s* 5.8-5.10. Observa-se, dessa forma, que a diminuição da força iônica provoca o aumento da área de estabilidade na *fig.* 5.11(a); ent tanto, este aumento cessa para valores de $F_1^{\circ}/F_{10}^{\circ}$ maiores, que na *fig.* 5.10(a).

Pode ser visto na *fig.* 5.12 que a diminuição da força iônica resulta em efeitos semelhantes no tempo característico para os dois casos estudados: $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s10}^{\circ}$, curva (\square) e $Q_{s2}^{\circ} = 3,3Q_{s10}^{\circ}$, curva (Δ). Em ambos, os valores de τ_M inicialmente crescem, atingindo a um valor máximo, a partir do qual começa a diminuir, quando a razão $F_1^{\circ}/F_{10}^{\circ}$ torna-se menor que 0,36. Notar que as duas curvas se aproximam para $F_1^{\circ}:F_{10}^{\circ} > 0,5$, isto é os valores de τ_M de um dos casos aproximam-se dos valores do outro, e quando $F_1^{\circ}:F_{10}^{\circ}$ é menor que 0,5, os valores de τ_M nos dois casos se afastam entre si.

A *fig.* 5.13 apresenta o número de ondas (n) em função da variação da força iônica, para os mesmos casos considerados na *fig.* 5.12. Verificamos nessa figura que n diminui progressivamente com a queda da relação $F_1^{\circ}:F_{10}^{\circ}$ e aumenta posteriormente, quando esta torna-se menor que 0,16, para o caso (\square), e menor que 0,36, para o caso (Δ).

Nestas figuras, observa-se que quando a relação $F_1^{\circ}:F_{10}^{\circ}$ é maior, a diminuição da força iônica externa produz um efeito menor sobre a formação de ondulações nas bordas das células; representando isto, maior estabilidade da membrana.

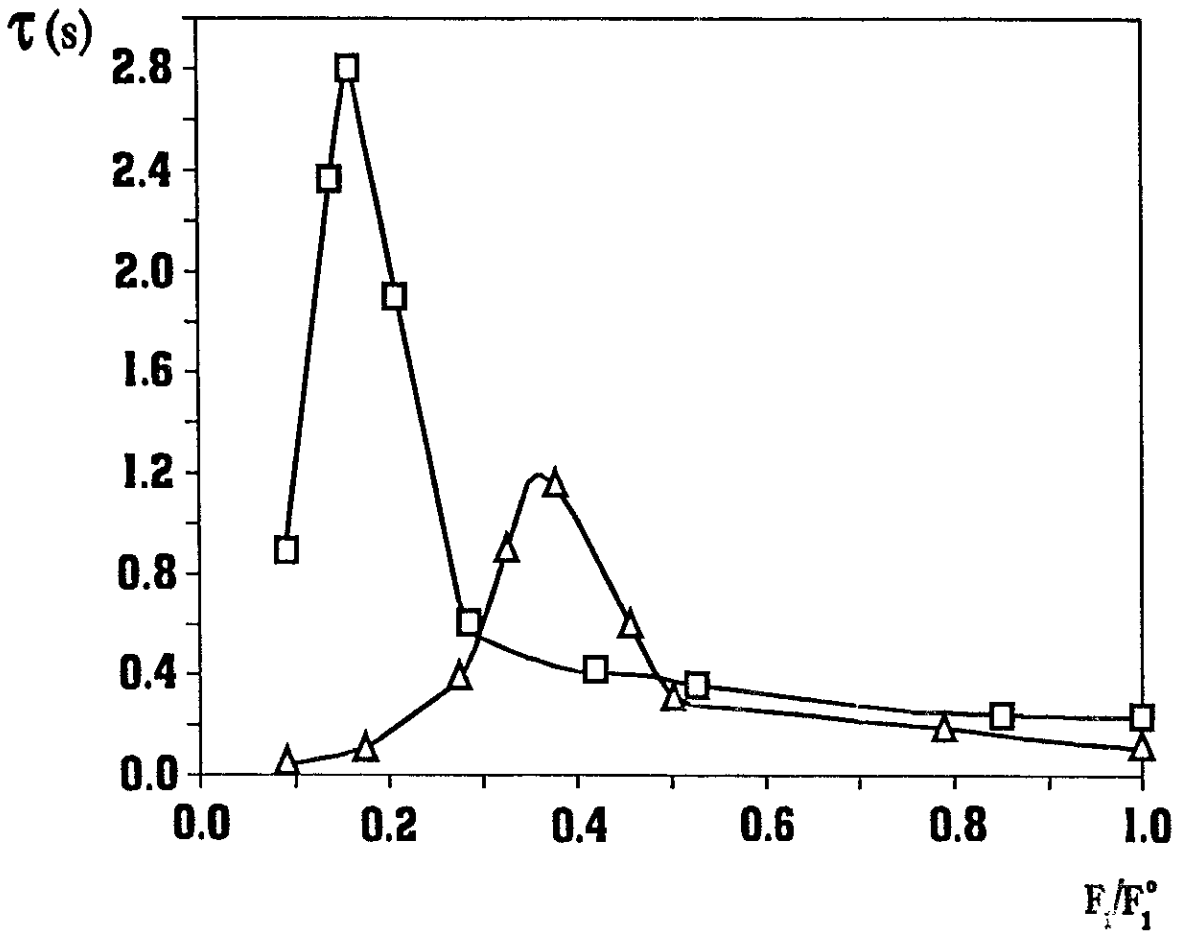


FIG.5.12: Variação do tempo característico em função da força iônica do meio externo, para os casos apresentados nas fig.s 5.10 e 5.11. F_1° e o valor de referência força iônica (tab. 5.1).
 □ $Q_{s2} = 6,4 Q_{s10}$ e $\sigma_m^\circ = 1,30 \text{ dyn/cm}$
 Δ $Q_{s2} = 3,3 Q_{s10}$ e $\sigma_m^\circ = 0,44 \text{ dyn/cm}$

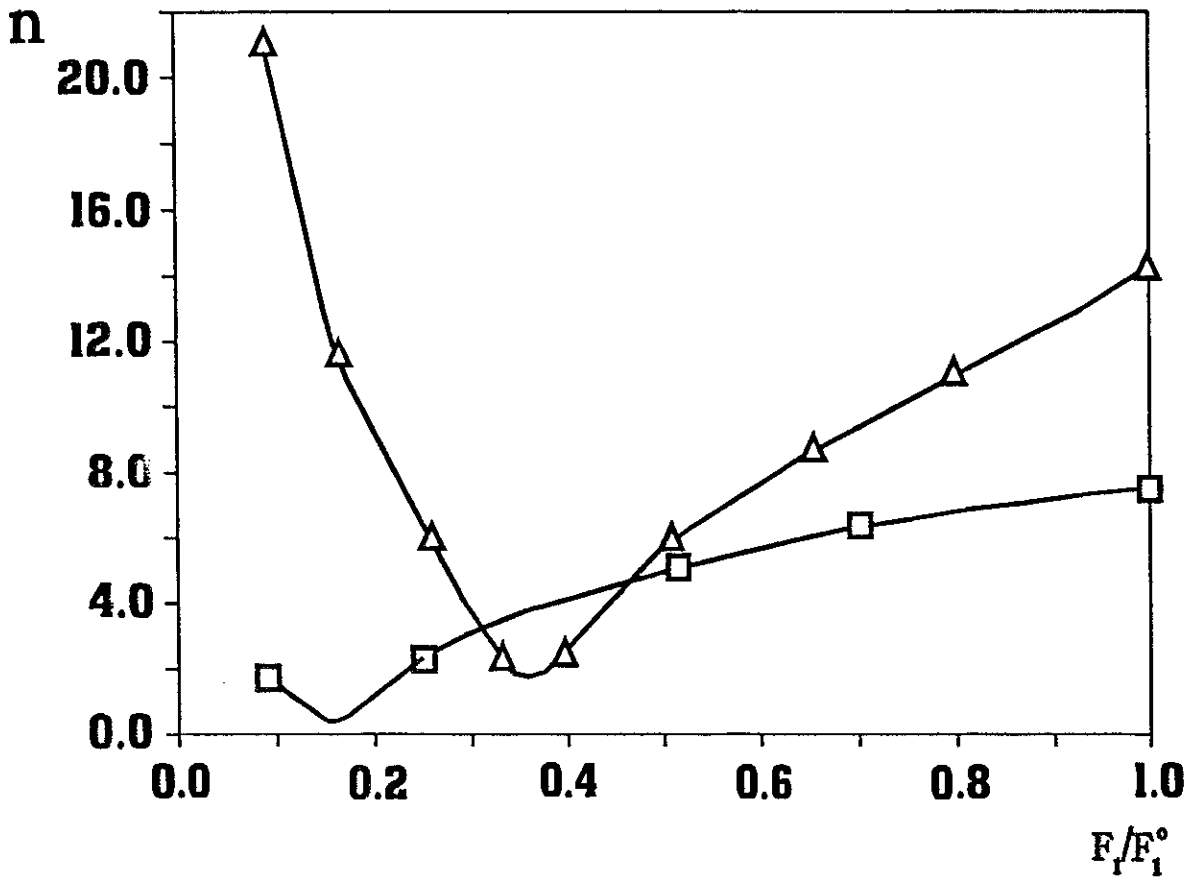


FIG.5.13: Variação do número de ondas por célula em função da força iônica do meio externo, para os casos apresentados nas fig.s 5.10 e 5.11. F_1^0 é o valor de referência da força iônica (tab.5.1). \square $Q_{s2}=6,40s10$ e $\sigma_m=1.30dyn/cm$
 Δ $Q_{s2}=3,30s10$ e $\sigma_m=0.44dyn/cm$

6. Discussão e Conclusões.

Dos dois comportamentos dinâmicos limites citados no capítulo IV, que podem ser aplicados na análise linear, fizemos uso apenas de um deles: o *regime lento*, pelos motivos já apresentados no início deste capítulo. Esta simplificação e mais algumas consideradas, descritas na seção 2, permitiram a redução da equação de dispersão complexa, obtida da matriz dada pela eq. 4.58, a uma equação de primeira ordem. Assim, pudemos calcular as raízes da mesma e estudar a estabilidade do nosso modelo de membrana, diante da variação de certos parâmetros, o que passaremos a discutir.

De acordo com os resultados que compõem a tabela 5.2, quando o valor da componente mecânica da tensão superficial (σ_m^0) aumenta, ficando constantes os parâmetros elétricos e, conseqüentemente, a componente elétrica da tensão, o valor do número de onda crítico, K_c , diminui. Como vimos, este parâmetro determina o ponto de transição entre os valores positivos e negativos da taxa de crescimento da perturbação (ω) no gráfico $\omega \times hK$.

Como em nossos cálculos os valores de ω positivos surgiram para os menores valores de K , podemos determinar que a diminuição de K_c corresponde ao aumento da estabilidade do sistema. De fato, nas curvas de estabilidade crítica obtidas, a diminuição de K_c relaciona-se à diminuição das áreas dos modos instáveis. Assim, podemos concluir, nos casos apresentados na tabela 5.2,

que o aumento da σ_m^0 torna a membrana mais estável, diminuindo a probabilidade de deformação da mesma.

Quando σ_m assume valores menores de 0,1dyn/cm, K_c tende para valores muito grandes, para todos os quatro casos estudados na *fig.5.1*. Também verificamos que a variação da densidade de carga elétrica na superfície interna (Q_{s2}^0) tem grande efeito na inclinação da curva $K_c \times \sigma_m$.

O valor dessa componente da tensão superficial em estudo não é conhecido com exatidão, existindo apenas algumas estimativas feitas com base no conhecimento de sistemas formados por lipídios estruturalmente parecidos com aqueles encontrados em membranas biológicas [43]. São obtidas na literatura, referências sobre a tensão superficial total, σ_t^0 , (eq. 4.2) que é uma grandeza que pode ser medida, embora também não se conheça o seu exato valor para a membrana biológica, tendo-se apenas a indicação que pode estar entre $1-10^{-3}$ dyn/cm, o que é uma intervalo consideravelmente grande.

Utilizando o valor de σ_t^0 , pode-se obter σ_m^0 , como indica a eq. 4.2, mediante o cálculo de σ_c^0 (componente elétrica da tensão superficial), o qual depende do conhecimento das cargas superficiais e do potencial transmembranar. Porém, os valores referentes às cargas superficiais de membranas biológicas não são ainda bem determinados, existindo dúvidas, principalmente, quanto a carga superficial interna.

Devido a tudo isto, foi excencial para o nosso trabalho a investigação de como σ_m^0 afeta K_c e ω_H , antes de analisarmos as influências das cargas superficiais e da força iônica externas

na estabilidade da membrana do eritrócito, que foi o objetivo central de nossa pesquisa. De posse de tal conhecimento, nos colocamos em condições de escolher o valor de σ_m^0 adequado para nossos cálculos, aproximando-nos melhor do caso real. Para isto, tomamos como base o fato de que o valor do comprimento de onda crítico, λ_c , ($\lambda_c = 2\pi/K_c$) não deve exceder ao valor do perímetro da hemácia, para que possam existir frequências positivas. Como já dissemos anteriormente, como o diâmetro desta célula é igual a $8\mu\text{m}$; os valores de K_c encontrados deveriam ser maiores que $3 \times 10^3/\text{cm}$.

Os resultados demonstraram que para cada valor de Q_{s2}^0 há um valor correspondente de σ_m^0 máximo-limite correspondente. Para valores de σ_m^0 abaixo deste, eram encontrados apenas valores de ω negativos, que relacionam-se com a região de modos estáveis. Para valores acima desse σ_m^0 -limite, o sistema tornava-se instável para qualquer K dentro dos intervalos estudados, pois somente valores positivos de ω eram encontrados para uma dada condição.

O aumento de σ_m^0 também produz a diminuição da taxa de crescimento máxima, ω_H . Isto quer dizer que para os valores menores de σ_m^0 , a oscilação do sistema cresce mais rapidamente. Dentre os três parâmetros apresentados na tabela 5.2, ω_H é aquele que sofre a maior influência da variação de σ_m^0 .

Ao contrário de σ_m^0 , a variação do potencial transmembranar (tabela 5.3), no intervalo de -9 a -18mV , mostrou exercer muito pouco efeito sobre o valor de K_c , pois a ordem de grandeza do mesmo foi mantida.

6.1. Densidade de Carga e Estabilidade.

Nossos resultados (fig.s 5.2 e 5.3) mostraram que, mantendo-se constante σ_m° e Q_{s1}° , o aumento da negatividade na superfície interna da membrana, que provoca um aumento do valor absoluto da diferença do potencial superficial, torna a membrana menos estável. Para valores de Q_{s2}° menos negativos, o ω_M e o K_c são menores e o tempo característico, τ_M , aumenta. Este aumento retrata, justamente, o fato do sistema precisar de um tempo maior para que a taxa de crescimento assuma seu valor máximo de instabilidade (ω_M); sendo o sistema, portanto, mais estável. O valor de σ_m° utilizado na obtenção desses resultados foi 0,17dyn/cm, tendo sido escolhido por ser aquele que se ajustava tanto para o maior valor de Q_{s2}° quanto para o menor, como mostra a tab.5.2. Porém, como mostrado nesta tabela, para cada par $Q_{s2}^{\circ} - Q_{s1}^{\circ}$ existe um determinado σ_m° adequado ao problema da membrana do eritrócito e, por esta razão, os valores do número de onda crítico mostrados na fig.5.2 são tão variados.

Para os estudos da influência das cargas da superfície externa e da força iônica da fase aquosa sobre a estabilidade da membrana, utilizamos os valores de σ_m° adequados a cada caso analisado, de acordo com os valores das densidades de cargas superficiais adotados. Isto nos permite comparar nossos resultados com os oriundos de pesquisas experimentais.

De acordo com Coackley e Deeley [19], a membrana do eritrócito tende a tornar-se mais estável com a diminuição da carga superficial externa. Em suas experiências com hemácias aquecidas, estes pesquisadores observaram que a quantidade de células

que não desenvolvia ondas em suas bordas, dada à elevação da temperatura, aumentava marcadamente, quando a carga superficial externa era diminuída por ação da neuraminidase. Além disso, nas células em que o aumento térmico no meio de dispersão provocava o aparecimento das ondulações, o número de ondas por células (n) tornava-se significativamente menor.

Em nossos resultados mostrados nas *fig.s* 5.4 e 5.5, pode ser observado que a diminuição da relação $Q_{s1}^{\circ}/Q_{s1o}^{\circ}$ (Q_{s1o}° é o valor de referência) provoca um aumento gradativo da área correspondente aos modos estáveis da curva de estabilidade, *fig.s* 5.4(a) e 5.5(a). Isto representa a tendência de estabilização da membrana, quando da diminuição do módulo da densidade de carga na superfície externa, diminuição esta que promove o aumento do módulo do potencial superficial nessa face. Estes resultados estão em concordância com os de outros autores [62] que mostraram a existência de uma relação entre a curvatura espontânea de membranas do tipo "sandwich carregado" e a quantidade de cargas superficiais dentro e fora da célula.

Como podemos verificar na *fig.5.6*, o τ_M cresce quando o valor módulo de Q_{s1}° diminui e dispara, crescendo infinitamente quando Q_{s1}° torna-se menor que $0,4Q_{s1o}^{\circ}$. Para o caso em que $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s1o}^{\circ}$, o τ_M varia de 0,3 até 4,2s, quando Q_{s1}° cai para 0,3 do valor de referência e, para $Q_{s2}^{\circ} = 3,3Q_{s1o}^{\circ}$, a variação de τ_M é de 0,1 a 2,8s, para o mesmo intervalo de queda de Q_{s1}° .

Usando o valor de K_M , podemos calcular o λ_M (comprimento de onda máximo) e de posse deste, chegamos ao número de ondas por célula (*fig.5.7*). Assim, verificamos que, quando o módulo de

Q_{s1}° cai para 1/10 do valor de referência, n sofre uma queda de 7 para 3,5; para o caso em que $Q_{s2}^{\circ} = 6,4Q_{s1}^{\circ}$. Esses valores estão na ordem de grandeza daqueles encontrados por Coackley e Deeley [19], que registraram uma queda no número de ondas/célula de 10,5 para 6,7, quando Q_{s1}° caía até 0,34 do valor de referência adotado por ele.

A comparação dos valores de n encontrados por nós com os valores experimentais encontrados na literatura, nos induz a pensar que a aproximação "regime lento" permite uma análise razoável do fenômeno aqui estudado, dentro do método linear.

A componente elétrica da tensão superficial (σ_e°) se deve exclusivamente às camadas difusas de Gouy-Chapman [78]. Como já dissemos na seção anterior, o seu cálculo depende do conhecimento das densidades superficiais de cargas. Por outro lado, de acordo com a eq. 4.51, σ_e° contribui negativamente para a tensão superficial total sendo, segundo Miller e Scriven [67, 68], instável a região interfacial na qual o valor de σ_t° é negativo. Então, é de se esperar que a diminuição do módulo de σ_e° contribua para a estabilização da superfície.

De fato, a diminuição do módulo de Q_{s1}° , que reduz o módulo de σ_e° , estabiliza o sistema, em oposição a qualquer instabilidade crescente na superfície da célula, diminuindo, portanto, o número de ondas superficiais por célula [30,44]. Isto representa a diminuição de K_H e, conseqüentemente, o aumento de λ_H , além do aumento de τ_H . Segundo Coackley [19], o crescimento de λ_H (que se relaciona-se com a diminuição do n) é consistente com o ponto de vista de que as camadas duplas difusas podem in-

fluenciar à deformação das interfaces.

6.2. Força Iônica e Estabilidade.

A análise das *fig.s 5.8*, que apresentam curvas referentes ao estudo da influência da força iônica sobre a estabilidade, sugere que o uso do método de análise hidrodinâmica linear não seja indicado neste tipo de problema que estamos estudando, pois mostra resultados que contradizem aqueles obtidos em experimentos com hemácias aquecidas [19,30].

Podemos ver na *fig. 5.8(a)*, onde foi levada em conta apenas a diminuição de F_1° (Q_{s1}° e $\Delta\phi^{\circ}$ foram mantidos constantes), que a área correspondente aos modos instáveis aumenta com a diminuição da relação $F_1^{\circ}/F_{10}^{\circ}$ (F_{10}° é o valor de referência). Somente quando a F_1° atinge a um valor menor que $0,25F_{10}^{\circ}$, é que a área de instabilidade passa a sofrer uma rápida diminuição.

Na *fig. 5.8(b)*, verifica-se que ω_M e K_M crescem durante este processo, o que representa uma tendência para a diminuição do tempo característico e aumento do número de ondas por célula. Esses resultados indicam que diante de uma redução gradual de F_1° , o sistema progrediria rapidamente para a desestabilização; o que contraria, como já mencionado, os resultados experimentais.

Entretanto, quando analisamos as *fig.s 5.9 e 5.10*, obtemos informações preciosas para a compreensão dessa discrepância entre os resultados das *fig.s 5.8* e os achados experimentais. Ao fazermos a queda de F_1° ser acompanhada pelo aumento da Q_{s1}° , verificamos que os valores de K_c (ver *fig. 5.9b*) são maiores

que aqueles encontrados na *fig. 5.8b*, onde mantivemos Q_{s1}° constante. Da mesma forma, encontramos diferenças significativas entre as figuras 5.9a e 5.8a. Não há crescimento da área dos modos instáveis no intervalo em que F_1° varia de F_{10}° a $0,25F_{10}^{\circ}$ na *fig.5.9(a)*, como acontece na *fig.5.8a*. Isto significa que, de acordo com a análise linear, a variação da densidade superficial de carga que acompanha uma alteração na força iônica, tem importância relevante sobre a estabilidade da membrana. Podemos mesmo afirmar, de acordo com tais resultados, que o efeito da queda da F_1° sobre a membrana é no sentido de diminuir a sua estabilidade enquanto que a variação da carga superficial que a acompanha age no sentido contrário.

Mais interessante, ainda, é o que obtivemos quando associamos às variações de F_1° e Q_{s1}° a mudança do potencial transmembranar, subsequente à variação da F_1° , os resultados tornam-se consistentes com os obtidos por *Coackley e Deeley* [19]. De fato, a área de instabilidade vista na *fig.5.10(a)* diminui quando o valor da força iônica cai de F_{10}° até $0,16F_{10}^{\circ}$; sendo que, quando F_1° atinge este último valor, observa-se que essa área começa a aumentar. Surge aí um efeito desestabilizante.

Hermann e Müller [52] mostraram, usando medidas de EPR em eritrócitos, que a força iônica tem grande influência sobre a estrutura da membrana e que, possivelmente, isto se deva às interações proteína-lipídio que se modificam. Concluem dizendo que as alterações membranares que surgem por variações dessa força não podem ser discutidas simplesmente como resultado de uma modificação da fluidividade.

Importante notar (*fig.s 5.11*) que quando a densidade de carga superficial interna, Q_{s2}° , é a metade do valor usado nas *fig.s 5.10*, o efeito desestabilizador citado acima aparece mais cedo, isto é aparece para um valor de $F_1^{\circ}/F_{10}^{\circ}$ menor que para o caso em que Q_{s2}° é maior. O tempo característico (*fig. 5.12*) cresce e o número de ondas por célula (*fig. 5.13*) diminui progressivamente com a diminuição da força iônica, em consequência dos seus efeitos sobre as cargas superficiais e sobre o potencial transmembranar.

É importante ressaltar a direta influência que tem o potencial transmembranar na determinação do potencial na superfície interna da membrana. Quando assumimos a situação de equilíbrio, na qual o potencial do meio intracelular varia em função da variação da F_1° , que é sem dúvida a situação mais realista, o ϕ_{s2}° sofre profundas alterações (*ver fig. 2.5*), que geram importantes mudanças no campo intramembranar. Neste caso, o perfil de potencial sofre alterações cada vez maiores, a medida que a F_1° diminui, como vimos no capítulo II, e, como mostrado aqui, isso determina mudanças radicais no efeito da F_1° sobre a estabilidade da membrana.

É evidente que só por processos matemáticos é que podemos separar esses fenômenos, pois na realidade eles são indissociáveis e ocorrem em "cascata": a variação da F_1° produz variações em Q_{s1}° e ϕ_{s1}° , que são acompanhadas de mudanças em $\Delta\phi_s^{\circ}$ e $\Delta\phi_o^{\circ}$. Os potenciais ϕ_{s1}° e ϕ_{s2}° variando vão causar alteração no E_f° . O resultado final é, que reduções de F_1 aumentam a resistência da membrana à deformação.

Coackley e Deeley [19] observaram, em seus experimentos que, quando a força iônica no meio extracelular diminuía, o número de ondas formadas por célula também diminuía. Verificaram que, quando a F_1 passava de 0,2 para 0,12, n caía de 10,5 para 8,7; caindo para 5,1 quando F_1 era 10 vezes menor que o valor inicial. Em nosso estudo, verificamos que, quando a força iônica passa do valor F_1^0 para $0,16F_1^0$, n cai de 7,0 para 0,5.

Então, de acordo com a nossa análise, se a força iônica do meio extracelular for diminuída para 0,16 do seu valor fisiológico, é esperado que o número de ondas por célula caia de aproximadamente 92% em relação ao número que se formaria para aquele valor. Essa expectativa da análise linear supera os resultados obtidos por Coackley e Deeley [19], pois, neste caso, quando a força iônica caía para 1/10 do valor inicial, o número de ondas por células cai para 54%.

Esses autores ressaltaram a importância da realização de um estudo que utilizasse de um tratamento para a análise do crescimento da instabilidade de interfaces carregadas, que incluisse um termo para a avaliação da influência do potencial transmembranar sobre a resistência da membrana ao dobramento, pois o processo usado por eles não permitiu isto. De fato, uma correlação entre a forma de eritrócitos e o potencial transmembranar já foi demonstrada por alguns autores [30], mas não de forma sistemática, como a aqui é apresentada.

Assim, todos esses resultados ressaltam o significativo envolvimento da estrutura geométrica e eletrostática das camadas lipídeo-protéicas e das propriedades físico-químicas das fases

aquosas adjacentes com a forma da membrana do eritrócito. Talvez, esse pensamento possa ser estendido em relação a qualquer membrana celular.

Segundo Gallez [42], as microvilosidades que aparecem na superfície de uma célula por deformação da mesma apresentam, normalmente, um diâmetro da ordem do λ_n da perturbação (0,1 a $1\mu\text{m}$). Para esta mesma autora, este fato sustenta a teoria que assume tais protusões como consequência da amplificação de flutuações normais à superfície da célula. Dessa forma, a análise hidrodinâmica linear torna-se um método matemático eficiente para analisar tais fenômenos.

Finalmente concluímos que, embora esse método não permita prever o tempo de ruptura da membrana, ele é eficiente na descrição da fase inicial do processo de deformação, que deve ser importante na determinação do número de ondas que se formarão. Podemos, portanto, avaliar com esse método, para uma certa temperatura, a influência de um dado parâmetro físico-químico sobre a estabilidade e para que valores do mesmo a membrana seria mais resistente à perturbações, com fizemos aqui.

Conclusões Gerais

CONCLUSOES GERAIS

Quando o valor da componente mecânica da tensão superficial (σ_m) aumenta, permanecendo constantes os parâmetros elétricos, o número de onda crítico (K_c) diminui; tornando o sistema mais estável. Este número define, no eixo das abscissas do gráfico $\omega \times K$, o ponto de transição entre os valores positivos e negativos da frequência, isto é, o K para $\omega(K)=0$. Por outro lado, para cada par de valores de densidades de carga interna-externa ($Q_{s2}^{\circ}, Q_{s1}^{\circ}$), há um valor de tensão superficial mecânica que representa um limite-máximo da mesma que admite valores de ω positivos. Valores de σ_m maiores que este limite determinam curvas $\omega \times K$ que apresentam apenas frequências negativas, não sendo, portanto, encontrados modos de vibração para os quais o sistema torna-se instável.

Observamos também que, para um dado valor de densidade de carga na superfície externa (Q_{s1}°), se a densidade da superfície interna (Q_{s2}°) cresce o valor da tensão superficial mecânica deve aumentar para que o número de onda crítico seja mantido num mesmo valor. Assim, para que o sistema permaneça em um dado estado de equilíbrio, é necessário que a componente mecânica da tensão superficial acompanhe o crescimento da carga superficial, contrabalançando, então, os efeitos diretos desta sobre a componente elétrica da tensão (σ_e).

Verificamos que para um sistema do tipo aqui estudado, com os parâmetros dimensionados para simular a membrana de um eri-

trócito, qualquer que seja a densidade de carga da superfície interna, uma tensão superficial mecânica com o valor menor que $0,1 \text{ dyn/cm}$ representaria um número de onda crítico infinitamente grande e, conseqüentemente, teríamos um sistema que não estabilizaria à temperatura ambiente.

Quando assumimos que para a membrana do eritrócito a densidade de carga é da ordem de $2 \times 10^4 \text{ esu/cm}^2$ [48] e considerando que as dimensões desta célula exigem um número de onda da ordem de $2 \times 10^4 / \text{cm}$, tem-se que, de acordo com os nossos resultados, a tensão superficial mecânica para esta célula deve estar entre 1 e 2.

Com todas essas verificações, pudemos, então, escolher o valor para a tensão superficial mecânica mais adequado para cada valor de densidade de carga superficial interna para compor numericamente nosso modelo. Quanto ao potencial transmembranar, fizemos um teste com o objetivo de verificar a sua influência sobre o número de onda crítico, embora seja um parâmetro cujo valor pode ser medido diretamente ou calculado sem muitas dificuldades. O resultado desse teste nos mostrou que, para um intervalo de -9 a -18 mV , o potencial transmembranar ($\Delta\phi_0^\circ$) tem pouca influência sobre o número de onda crítico, pois este permanece na mesma ordem de grandeza, para qualquer valor de $\Delta\phi_0^\circ$ dentro do intervalo testado.

O estudo da influência da variação da carga da superfície externa sobre a estabilidade nos mostrou que a membrana torna-se mais estável com a diminuição do valor absoluto dessa carga. O tempo característico aumenta e o número de ondas que devem

se formar na superfície da célula diminui. Por outro lado, o abaixamento da força iônica do meio extracelular, quando independente das mudanças em outros parâmetros que surgem em consequência do mesmo, diminui a estabilidade da membrana.

Quanto ao perfil de potencial elétrico através da membrana, a diminuição da força iônica provoca um considerável desvio do potencial na superfície externa da membrana (ϕ_0°), tornando-o mais negativo. Dessa forma, conclui-se que este aumento da negatividade tende a desestabilizar o sistema. Como podemos ver, o abaixamento da força iônica tem um efeito que é contrário ao da diminuição da quantidade de carga na superfície externa, a qual age estabilizando a membrana, como dito acima. Então, já que em situações reais a diminuição dessa força sempre é acompanhado pela diminuição do valor absoluto da carga superficial, conclui-se que esta age no sentido de diminuir o efeito daquela sobre o potencial da superfície do lado da membrana onde estão ocorrendo as mudanças e sobre a estabilidade do sistema.

Entretanto, o aumento da estabilidade da membrana que segue à diminuição da força iônica se deve principalmente, de acordo com os resultados da análise linear, às alterações no potencial transmembranar que acompanha a essa diminuição. E, de fato, verificamos no estudo do perfil de potencial que este é significativamente modificado quando se leva em consideração tal mudança na força iônica. O abaixamento desta provoca um aumento considerável do potencial da fase citoplasmática, o qual chega a assumir valores positivos. Isto determina um aumento importante, também, no potencial superficial da face da membrana

voltada para o lado citoplasmático e, sem dúvida, tudo isso contribui para o aumento da estabilidade da mesma.

Então, quando é considerado o conjunto de mudanças que acompanham a diminuição da força iônica, observa-se que número de onda crítico K_c , a frequência dominante ω_M e o número de ondas por célula diminuem, enquanto que o tempo característico aumenta. Em consequência disto, a membrana fica mais resistente à deformações.

Entretanto, verificamos que quando a força iônica atinge a valores abaixo de 16% do fisiológico, a estabilidade começa a diminuir. Parece que o efeito desestabilizante que observamos nos cálculos que excluem os efeitos consequentes da diminuição da força iônica assume dimensões que levam à sua predominância por sobre os efeitos estabilizantes conferidos pela diminuição da carga superficial e alteração do potencial transmembranar.

Para valores de densidade de carga superficial interna menores, esse efeito estabilizante devido às mudanças nas cargas superficiais e no potencial transmembranar é menos eficaz, surgindo o efeito desestabilizante da força iônica, mencionado acima, mais cedo; para uma diminuição da força de menor grau.

Em resumo, podemos dizer que o efeito estabilizante, que surge quando experimentalmente se diminui a força iônica do meio extracelular, não se deve a esta diminuição propriamente dita e sim, aos fenômenos de diminuição do valor absoluto da carga superficial externa e, principalmente, de modificação do potencial transmembranar, que são consequentes da variação da força. Na ausência desses dois eventos citados, a diminuição

da força tenderia a desestabilizar a membrana. É certo que as duas consequências da diminuição da força iônica citadas são acompanhadas por uma série de outras mudanças não consideradas aqui e os seus efeitos, em conjunto, agem aumentando a resistência da membrana a deformações.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Adams, K.H. (1972) - Mechanical equilibrium of biological membranes. *Biophys. J.*, 12:123-130.
- [2] Almeida, P.S.; Bond, J.D. e Ward, T.C. (1971) - The dipole and phase transitions in biological membranes. *Biophys. J.*, 11:995-1001.
- [3] Almers, W. e Stirling, C.E. (1984) - The distribution of transport proteins over animal cell membranes. *J. Memb. Biol.* 77:169-186.
- [4] Americano da Costa-Pinto, N.M. PhD.Dissertation (1989) - Dinamica e estabilidade de filmes de lipídios. Análise linear e análise não-linear. *Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, R.J., BR.*
- [5] Babakov, A.V.; Myagkov, I.V.; Sotnikove, P.S. e Terekhov, O.P. (1972) - Investigation of the drop of electric potential for phospholipid monolayers at the water-air boundary and the physicochemical properties of the phospholipid membranes. *Biofizika*, 17:364-368.
- [6] Banghan, A.D.; Pethica, B.A. e Seaman, G.V. (1968) - The charged groups at the interface of some blood cells. *Biochemistry*, 69:12-19.
- [7] Bar, R.S.; Deamer, D.W. e Cornwell, D.G. (1966) - Surface area of human erythrocyte lipids: reinvestigation of experiments on plasma membrane. *Science*, 153:1010-1012.
- [8] Bateman, J.B. e Zillmer, A. (1956) - The electrophoretic properties of red blood cells: the effect of changing pH and

- ionic strength. *Arch. of Biochem. and Biophys.*, 60:44-51.
- [9] Bisch, P.M. PhD.Dissertation(1980) - On the electrochemical hydrodynamics of fluid interfaces - stability and surface waves. *Université Libre de Bruxelles, Belgique.*
- [10] Bisch, P.M.; Wendel, H. e Gallez, D. (1983) - Linear hydrodynamicsof viscous thin films. I. general theory. *J. of Coll. and Interface Sci.*, 92(1):105-120.
- [11] Brandts, J.F.; Erickson, L.; Lysks, K.; Schwartz, A.T. e Taverna, R.D. (1973) - Calorimetric studies of the structural transitions of the human erythrocyte membrane. The involvement of spectrin in the A transition. *Biochemistry*, 16(15):3450-3459.
- [12] Bull, B.S. e Brailsford, J.D. (1973) - The biconcavity of the red cell:an analysis of several hypothesis.*Blood*,41(6) :833-844.
- [13] Casal, H.L. e Mantsch, H.H. (1984) - Polymorphic phases behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy. *Bioch. et Biophys. acta*, 779:381-401.
- [14] Chandraseckar, S. (1961) - Hydrodynamic and hydromagnetic stability. *Oxford Univ. Press. London, England.*
- [15] Chapman, D.; Kamat, V.B.; de Gier, J. e Penkett, S.A. (1968) - Nuclear magnetic resonance studies of erythrocyte membranes. *J. Mol. Biol.*, 31:101-114.
- [16] Chapman, D. e Urbina, J. (1974) - Biomembrane phase Studies of lipid-water system using differential scanning calorimetry. *The J. of Biol. Chem.*, 249:2512-2521.
- [17] Chernomordik, M.M.; Kozlov, G.B.; Melikyan, G.B.; Abidor, I.G.; Markin, V.S. e Chizmadzhed Yu. A. (1985) - The shape of

- molecules and monolayer membrane fusion. *Biochem. et Biophys. Acta*, 812:643-685.
- [18] Coackley, W.T.; Bater, A.J. e Deeley, J.O.T. (1978) - Vesicle production on heated and stressed erythrocytes. *Bioch. et Biophys. Acta*, 512:318-330.
- [19] Coackley, W.T. e Deeley, J.O.T. (1980) - Effects of ionic strength, serum protein and surface charge in heated erythrocytes. *Bioch. et Biophys. Acta*, 602:355-375.
- [20] Coackley, W.T. e Gallez, D. (1989) - Interfacial stability. *Biophys. of Cell Surface*. R. Glaser & D. Giugell Eds.; *Sferinger Series in Biophysics*.
- [21] Coackley, W.T.; Hewison, L.A. e Tilley, D. (1985) - Interfacial instability and the agglutination of erythrocytes by polylysine. *Eur. Biophys. J.*, 13:123-130.
- [22] Coleman, R.A. e Wade, J.B. (1989) - Composite replicas: Methodologies for direct evaluation of the relationship between intramembrane and extramembrane structures. *J. Electron. Microsc. Tech.*, 13(3):216-227.
- [23] Cortez-Maghelly, C. e Bisch, P.M. - The effect of ionic strength and outer surface charge on the membrane electric potential profile: a model for a erythrocyte membrane. *Em publicação*.
- [24] Coster, H.G.I. (1973) - The double fixed charge membrane solution - membrane ion partition effects and membrane potentials. *Biophys. J.*, 13:133-142.
- [25] Crum, L.A.; Coackley, W.T. e Deeley, J.O.T. (1978) - Instability development in heated human erythrocytes. *Bioch. et Biophys. Acta*, 554:76-89.

- [26] Deeley, J.O.T.; Crum, L.A. e Coackley, W.T. (1979) - The influence of temperature and incubation time on deformability of human erythrocytes. *Bioch. et Biophys. Acta*, 554:90-101.
- [27] Demel, R.A.; Van Deemen, L.L.M. e Pethica, B.A. (1967) - Monolayer interactions of phospholipids and cholesterol. *Bioch. et Biophys. Acta*, 135:11-19.
- [28] De Robetis, E.D.P.; Nowinsky, W.W. e Sáez, F.A. (1974) - *Biologia Celular*. 2^aed. Livraria Editora El Ateno do Brasil S.A., Rio de Janeiro, BR.
- [29] Dimitrov, D.S. e Jain, R.K. (1984) - Membrane stability. *Bioch. et Biophys. Acta*, 779:437-468.
- [30] Doulah, F.A.; Coackley, W.T. e Tilley, D. (1984) - Intrinsic electric fields and membrane bending. *J. Biol. Phys.*, 12: 44-51.
- [31] Elgsaeter, A.; Shotton, D.M. e Branton, E. (1984) - *Nature*, 307:378-380.
- [32] Engelman D.M. (1969) - Surface area per lipid molecule in the intact membrane of the human red cell. *Nature*, 223(20): 1279-1280.
- [33] Ergström, A. e Engfeldt, B. (1953) - Phospholipid-cholesterol complex in the structure of myelin. *Experientia*, 9:17-19.
- [34] Fairbanks, G.; Steck, T.L. e Wallach, D.F.H. (1971) - Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocytes membrane. *Biochemistry*, 10(13):2606.
- [35] Feig, S.A. e Bassilian, S. (1975) - Increased erythrocytes Ca^{2+} content in hereditary spherocytosis. *Pediat. Res.*, 9: 928-931.

- [36] Finean, J.B. (1953) - Phospholipid-cholesterol complex in the structure of myelin. *Experientia*, 9:17-18.
- [37] Finean, J.B.; Bramley, T.A. e Coleman, R. (1971) - Lipid layer in cell membranes. *Nature*, 229:114.
- [38] Finean, J.B. (1962) - The nature and stability of the plasma membrane. *Circulation*, 26:1151-1162.
- [39] Furchgott, R.; Ponder, E. (1941) - Electrophoretic studies on human red blood. *J. of Gen. Physiol.*, 24: 447-457.
- [40] Gallez, D. PhD.Dissertation (1976) - Mecanismes du transport ionique dans les membranes nerveuses avec des dipoles orientables en surface. *Universite Catholique de Louvain, Belgique.*
- [41] Gallez, D. (1983) - Repulsive stabilization in black lipid membranes. I. A hydrodynamic model. *Biophys. Chemistry*, 18:165-179.
- [42] Gallez, D. (1984) - Cell membrane after malignant transformation. Part I: Dynamic stability at low surface tension. *J. Theor. Biol.*, 111:323-340.
- [43] Gallez, D.; Bisch, P.M.; Wendel, H. (1983) - Linear hydrodynamics of viscous thin films. II. Application to lipid films. *J. of Coll. and Interf. Sci.*, 92(1):121-135.
- [44] Gallez, D. e Coackey, W.T. (1986) - Interfacial instability at cell membranes. *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 48:155-199.
- [45] Goter, E. e Grendel, F. (1925) - On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood. *J. of Exp. Med.*, 41(2): 439-443.
- [46] Goldman, D.E. (1943) - Potential, impedance, and

- reactification in membranes. *J. Gen. Physiol.* 27:37-60.
- [47] Gulik-Krzywicki, T.; Shechter, E., Luzzati, V. e Faure, M. (1969) - Interactions of proteins and lipids: structure and polymorphism of protein-lipid-water phases. *Nature*, 223(13):1116-1121.
- [48] Hall, J.E. (1981) - Voltage-dependent lipid flip-flop induced by alamethicin. *Biophys. J.*, 33:373-381.
- [49] Heard, D.H. e Seaman, G.V.F. (1960) - The influence of pH and ionic strength on the human erythrocyte membrane. *The J. of Gen. Physiol.*, 43(3):635-654.
- [50] Heinrich, R.; Gaestel, M. e Glaser, R. (1981) - The electric potential across the erythrocyte membrane: a mathematical model. *Acta Biol. Meg. Germ. (Band.)*, 40: 765:770.
- [51] Hendler, R.U. (1971) - Biochemical membrane ultrastructure. *Physiol. Rev.*, 51(1):66-97.
- [52] Herrmann, A. e Müller, P. (1986) - Ionic strength-dependent alterations of membrane structure of red blood cells. *Biosci. Rep.*, 6:1007-1015.
- [53] Hodgkin, A.L. e Katz, B. (1949) - The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol. (London)*, 108:37-77.
- [54] Katnik, C. e Waugh, R. (1990) - Electric fields induce reversible changes in the surface to volume ratio of micropipette-aspirated erythrocytes. *Biophys. J.*, 57:865-875.
- [55] Katnik, C. e Waugh, R. (1990) - Alterations of the apparent area expansivity modulus of red blood cell membrane by electric fields. *Biophys. J.*, 57:877-882.

- [56] Klee, M. (1973) - Intracellular biopotential during static extracellular stimulation. *Biophys. J.*, 13:822-831.
- [57] Korn, E.D. (1969) - Cell membrane: structure and synthesis. *Annu Rev. Biochem.*, 38:263-288.
- [58] Jackson, J.D. (1975) - Classical Electrodynamics. 2ed. *John Wiley & Sons, Inc.*
- [59] Jacobson, K. e Papahadjopoulos, D. - Phase transition and phase separations in phospholipid membranes induced by changes in temperature, pH and concentration of biovalent cations. *Biochemistry*, 14(1):152-161.
- [60] Jordan, P.C. (1983) - Electrostatic modeling of ion pores. II. Effects attributable to the membrane dipole potential. *Biophys. J.*, 41:189-195.
- [61] Larcan, A.; Steiff, J.F. e Vigneron, C. (1971) - A propos des techniques d'étude des propriétés mécaniques et rhéologiques de la membrane de l'hématie. *Path. Biol.*, 19: 5-6.
- [62] Lerche, D.; Kozlov, M.M e Markin, V.S. (1987) - Electrostatic free energy and spontaneous curvature of spherical charged layered membrane. *Biorheology*, 24(1): 23-34.
- [63] Lehninger, A.L. (1975) - *Biochemistry*, vol.1. 2ed. *Worth publishers, Inc.*
- [64] Lubin, B.; Kuypers, F. and Chui, D. (1989) - Lipid alterations and cellular properties of sickle red cells. *Ann. New York Acad. Sci.*, 565:86-95.
- [65] Lüshow, U.L.; Heckmann, K.D. e Pring, M. (1975) - Current voltage curves of biomolecular lipid membranes. *Bioch. et*

Biophys. Acta, 389:1-12.

- [66] Maddy, A.H. e Malcoln, B.R. (1965) - Protein conformation in the plasma membrane. *Science*, 150:1616-1618.
- [67] Manevich, E.M.; Labin, K.M. e Archakov, A.I. (1985) - Influence of cholestrol and prostaglandin E₁ ob the molecular organization of phospholipids in the erythrocyte membrane. *Bioch. et Biophys. Acta*, 815:455-460.
- [68] Margulis, D.M. (1974) - Permeability, spatial and boundary charges of bimolecular phospholipid membranes, II. Conductivity. *Biophysics*, 19:668-674.
- [69] Markin, V.S. (1970) - Electrical interactions of paralel non-myelinated nerve fibres. II. Collective conduction of impulses. *Biophysics*, 15:713-721.
- [70] Markin, V.S.; Pastushenko, V.F. e Chizmadzhev, Yu A. (1972) - Theoretical models of the excitability of artificial membranes. *Biophysics*, 17:848-855.
- [71] Miller, C.A. e Scriven, L.E. (1970) - Interfacial instability due to electrical forces double layers. I. General considerations. *J. of Coll. and Interf. Sci*, 33(3):360-370.
- [72] Miller, C.A. e Scriven, L.E. (1970) - Interfacial instability due to electrical forces double layers. II. Stability of interfaces with difuse layers. *J. of Coll. and Interf. Sci*, 33(3):371-383.
- [73] Müller, P.; Herrman, A. e Glaser, R. (1986) - Further evidence for a membrane potential-dependent shape transformation of the human erythrocyte membrane. *Biosci. Rep.*, 6(11):999-1006.

- of low-tension interfaces and propagation of longitudinal waves: role of the electrical double layers. *J. of Coll. and Interf. Sci.*, 88(2):353-371.
- [84] Rangarajan, S.K. e de Levie, R. (1979) - On the ionic displacement current in lipid bilayer membranes. *Biophys. J.*, 25:235-252.
- [85] Rakow, A.L. e Hochmuth, R.M. (1975) - Effect of heat treatment on the elasticity of human erythrocyte membrane. *Biophys. J.*, 15:1095-1101.
- [86] Rash, J.E. e Giddings, F.D. (1989) - Counting and measuring IMPs and pits: Why accurate counts are exceedingly rare. *J. Electron. Microsc. Tech.*, 13:204-215.
- [87] Raval, P.J. e Allan, D. (1984) - Phospholipid asymetry in the membranes of intact human erythrocytes and in spectrin-free microvesicles derived from them. *Bioch. et Biophys. Acta*, 772:192-196.
- [88] Robertson, J.D. (1967)- New observation on the ultrastructure of the membrane of frog peripheral nerve fibers. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, 3(6):1043-1047.
- [89] Robertson, J.D. (1963) - The occurrence of a subunit pattern in the unit membranes of clubendings in manthner cell synapses in goldfish brains. *The J. of Cell Biol.*, 19:201-220.
- [90] Sackmann, E. (1978) - Dynamics molecular organization in vesicles and membranes. *Ber. Bunsenges Phys. Chem.*, 82:891-909.
- [91] Sanfeld, A. (1968) - Introduction to the thermodynamics of charged and polarized layers. A Willey Intersci. Publication.

- [92] Scott Jr., H.L. (1985) - Monte Carlo studies of lipid/water interfaces. *Bioch. et Biophys. Acta*, 814:327-332.
- [93] Shiga, T.; Sekiya, M.; Maeda, N. e Okazaki, M. (1985) - Cell age-dependent changes in deformability and calcium accumulation of human erythrocytes. *Bioch. et Biophys. Acta*, 814:289-299.
- [94] Singer, S.J. e Nicolson, G.L. (1972) - The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175:720-731.
- [95] Singer, S.J. (1974) - The molecular organization of membranes. *Annu Rev. Biochem.*, 43:805-830.
- [96] Tatulian, S.A.; Tulupov, A.N. e Polishchuk, E.V. (1988) - Effect on ion adsorption on the electrokinetic properties of erythrocytes. *Gen. Physiol. Biophys.*, 7(6):613-632.
- [97] Träuble, H. e Overath, P. (1975) - The structure of *Escherichia coli* membranes studies by fluorescence measurements of lipid phase transition. *Bioch. et Biophys. Acta*, 307:491-512.
- [98] Träuble, H.; Teubner, M.; Woolley, P. e Eibl, H. (1976) - Electrostatic interactions at charged lipid membranes. I. Effects of pH and univalent cations on membrane structure. *Biophys. Chem.*, 4:319-342.
- [99] Trayanova, N.A. (1990) - Limitations of approximate solutions for computing the extracellular potential of single fiber and bundle equivalents. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 37(1):22-35.
- [100] Valeyev, U.S.; Tormuyev, Yu V. e Rakityanskü, D.F. (1970) - The electrical fields of the nerve. *Biophysics*, 15:

682-687.

- [101] Vandenheuvel, F.A. (1965) - Structural studies of biological membranes: the structural of myelin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 122:57-76.
- [102] Verkley, A.J.; de Kruyff, B.; Ververgert, P.H.J.Th., Tocanne, J.F. e Van Deenem, L.L.M. (1974) - The influence of pH, Ca^{2+} and protein on the thermotropic behaviour of the negatively charged phospholipid, phosphatidilglycerol. *Bioch. et Biophys. Acta*, 339:432-437.
- [103] Verkleij, A.J. (1984) - Lipidic intramembranous particles. *Bioch. et Biophys. Acta*, 779:43-63.
- [104] Verwey, E.J.W. e Overbeek, J.Th.G., (1948) - Theory of the stability of lyophobic colloids. *Elsevier Publishing Co., Inc. Amsterdam.*
- [105] Vold e Vold (1983) - The characterization of particles in lyophobic sols. Reading, Mass.: Addison-Wesley.
- [106] Wang, C.C. e Bruner, L.J. (1978) - Evidence for a discrete charge effect within lipid bilayer membrane. *Biophys. J.*, 24:749-764.
- [107] Wendel, H.; Bisch, P.M. e Gallez, D. (1982) - Hydrodynamic of dielectric fluid films. *Coll. e Polymer Sci.*, 260(4): 425-434.
- [108] Willianson, J.R.; Shanahan, M.O. e Hochmmit, R.M. (1975) - The influence of temperature on red cel deformability. *Blood*, 46(4):611-624.
- [109] Willmer, E.N. (1961) - Steroids and cell surfaces. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, 36:368-397.

"ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA E DAS CARGAS SUPERFICIAIS
NA ESTABILIDADE MECÂNICA DA MEMBRANA DO ERITROCITO"

CELIA CORTÊZ MAGHELLY

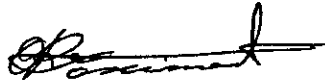
Tese de Doutorado apresentada no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, fazendo parte da banca examinadora os seguintes professores:



Paulo Mascarello Bisch - Presidente



Amando Siuiti Ito



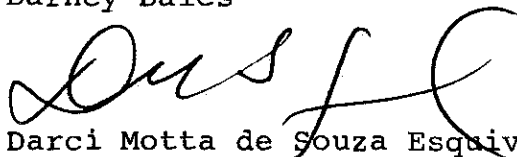
Otaciro Rangel Nascimento



Anibal Omar Caride



Barney Bales



Darci Motta de Souza Esquivel - Suplente

Rio de Janeiro, 23 de abril de 1992