

**INDUÇÃO DE ESTRUTURAÇÕES
ESFÉRICAS OU SIMILARES DURANTE A
CRISTALIZAÇÃO DA ÁGUA POR
PROCESSOS QUÍMICOS**

FABIANO DE CARVALHO

2004

FABIANO DE CARVALHO

**INDUÇÃO DE ESTRUTURAÇÕES ESFÉRICAS OU
SIMILARES DURANTE A CRISTALIZAÇÃO DA ÁGUA
POR PROCESSOS QUÍMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos,
Stricto Sensu, para a obtenção do título de
“Mestre”

Orientador

Prof. Dr. José Cal-Vidal

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004**

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Carvalho, Fabiano de

Indução de estruturas esféricas ou similares durante a
cristalização da água por processos químicos / Fabiano de Carvalho.--
Lavras : UFLA, 2004.

101 p. : il.

Orientador: José Cal-Vidal.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Criopreservação. 2. Dano celular. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-660.284298

FABIANO DE CARVALHO

**INDUÇÃO DE ESTRUTURAÇÕES ESFÉRICAS OU
SIMILARES DURANTE A CRISTALIZAÇÃO D'ÁGUA
POR PROCESSOS QUÍMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos,
Stricto Sensu, para a obtenção do título de
“Mestre”

APROVADA em 13 de Agosto de 2004

Profa. Dra. Fabiana Queiroz Ferrua

UFLA

Prof. Dr. Jaime Vilela Resende

UFLA

Prof. Dr. Eng José Cal-Vidal

**UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL**

DEDICADO

Com admiração e respeito, à memória daqueles que sempre sonharam com o meu crescimento e que lutaram árdua e incondicionalmente para me propiciar uma educação esmerada: meu pai, Antonio Fabiano de Carvalho e minha mãe, Regina Lúcia Soares de Carvalho, que não chegaram a saber que valeu a pena.

AGRADECIMENTOS

Não tenho palavras para agradecer à minha esposa, Patrícia Passos de Sousa Leite Carvalho, que nunca deixou de acreditar em mim e me deu o apoio e a compreensão que permitiram minha total devoção ao trabalho.

Aos meus filhos naturais Thiago, Bruna e Felipe Passos Carvalho, e ao adotivo Mário Luis Campos Costa, que souberam tolerar as inúmeras ausências, mesmo que, por vezes, sob significativos protestos.

Aos meus irmãos, Marcelo, Murilo e Alessandra Paula de Carvalho, pelo insuperável estímulo, tão importante naqueles momentos em que o destino de maneira inexorável e terrível tenta nos derrubar.

Às instituições: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro oferecido e Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo ensino qualificado.

Desejo também expressar meus melhores agradecimentos a outras pessoas: particularmente ao Prof. Dr. José da Cruz Machado e a Profa. Dra. Fabiana Queiroz Ferrua, pela colaboração técnica oferecida durante a realização do plano experimental; ao Prof. Dr. Jaime Vilela Resende, pelas oportunas sugestões e aos colegas mestrandos Valdirene, Wanderley, Glaciemar e Mariá, pelo acolhimento caloroso, tão confortante nos momentos turbulentos.

Minha gratidão mais profunda ao Prof. Dr. José Cal-Vidal pela crítica competente de um grande líder e pela nobreza de confiar em minha capacidade, mesmo antes de iniciar este trabalho. Sua excepcional maneira de orientar mostrou-me o caminho para as respostas; à Dra. Clécia da Silva Carneiro que, com entusiasmo e incansável paciência, ouviu minhas idéias. Sua prestimosa colaboração, tanto na discussão de tópicos teóricos quanto na coleta de dados experimentais, foi fundamentalmente valorosa para a elaboração desta tese.

Sem eles, a conclusão deste trabalho não teria sido possível. Eles definitivamente despertaram em mim a paixão pela pesquisa e o desejo de continuar, em busca de novas fronteiras.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Modificações e danos causados por cristais de gelo.....	3
2.1.1 O rompimento de membranas.....	3
2.1.2 A separação das células.....	3
2.1.3 A desidratação induzida por congelamento.....	4
2.2 Velocidade de congelamento.....	5
2.2.1 Congelamento lento.....	5
2.2.2 Congelamento rápido.....	5
2.2.3 Congelamento criogênico.....	5
2.2.4 Metodologias contemporâneas.....	6
2.2.5 O descongelamento.....	9
2.3 O estado cristalino.....	9
2.3.1 A estrutura.....	11
2.3.2 O princípio da sobrevivência.....	12
2.3.3 O estado vítreo.....	14
2.3.4 O crescimento.....	15
2.3.5 A velocidade de arranjo das moléculas.....	15
2.3.6 O hábito cristalino.....	17
2.4 A morfologia dos cristais de gelo.....	19
2.4.1 A simetria das formas.....	20
2.4.2 Estruturas polifórmicas no gelo.....	21

	Página
2.4.3 Monitoramento do número e tamanho de cristais de gelo.....	25
2.5 Os compostos anfífilos.....	28
2.5.1 O anfífilo.....	29
2.5.2 Atividade superficial e interfacial.....	32
2.5.3 O efeito hidrófobo e o processo de micelização.....	34
2.5.4 A concentração crítica micelar (CMC).....	37
2.5.5 Aspectos estruturais das micelas.....	37
2.5.6 Interações água/soluto.....	39
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1 O uso de tensoativos.....	41
3.2 O uso de moléculas simples com algum grau de simetria.....	43
3.3 A influência da concentração.....	43
3.4 Preparação e congelamento de soluções-modelo.....	44
3.5 Microscopia óptica.....	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 Estruturação dos cristais de gelo na água destilada.....	52
4.2 Os desvios da simetria hexagonal.....	53
4.3 Estruturas micelares com eixos radiais curvos.....	55
4.4 Estruturação do gelo na presença de tensoativos com altos pesos moleculares.....	56
4.4.1 A influência do dodecil sulfato sódico (SDS).....	56
4.4.2 A influência do Triton ® X 100.....	58
4.4.3 A influência do ácido quenodeoxicólico.....	61
4.4.4 A influência de Tween ® 80.....	65
4.5 Estruturação no gelo na presença de aminoácidos.....	67

	Página
4.5.1 A influência da valina.....	69
4.5.2 A influência da histidina.....	73
4.5.3 A influência da glicina.....	75
4.6 A influência do sulfato de amônio e alumínio.....	78
4.7 A influência da floroglucina.....	82
5 CONCLUSÕES.....	86
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	87
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
ANEXOS.....	94

RESUMO

CARVALHO, Fabiano de. Indução de estruturas esféricas ou similares durante a cristalização da água por processos químicos. Lavras, 2004. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)[™] — Universidade Federal de Lavras, Lavras.

A possibilidade de estruturar cristais de gelo é atrativa porque se pode chegar a estruturas capazes diminuir os danos por congelamento ao mínimo. A ocorrência de agulhas ou esqueletos danosos às células significa que foram desiguais os crescimentos das faces do cristal. O objetivo deste trabalho é induzir a formação de sementes cristalinas menores, arredondadas ou com alto grau de simetria, para aumentar a probabilidade de crescimentos geometricamente semelhantes à forma original. Foram usadas: 1) substâncias anfifílicas, para afetar a estruturação cristalina habitual da água e 2) substâncias com a possibilidade de ligação em ponte com a água nas diversas direções, para formar arranjos simétricos. Sob a influência do SDS (dodecil sulfato sódico), um tensoativo, os cristais de gelo cristalizaram em forma de agregados cristalinos esféricos. Cristais esferulíticos foram conseguidos sob a influência dos aminoácidos valina, histidina, glicina e do sal sulfato de alumínio e amônio. Cristais poliédricos com faces curvas foram conseguidas sob a influência dos tensoativos Triton ® X 100, Tween ® 80 e do sal biliar o ácido quenodeoxicólico. O melhor resultado foi conseguido sob a influência da floroglucina. Esse trifenol produziu cristais pequenos, com extremidades arredondadas e em toda as camadas da amostra (nas demais soluções os cristais esféricos apareceram somente nas camadas superiores).

[™]Comitê orientador: Prof. Dr. Eng José Cal—Vidal, UFLA (orientador) e Dra. Cléssia da Silva Carneiro.

ABSTRACT

CARVALHO, Fabiano de. Induction of spherical or similare structures during the water crystallization by chemical process. Dissertation (Master Program in Food Science) ”

The possibility of ice crystal structuring is attractive because it is possible to reach some structures of reduced dimensions capable of decrease the freezing damage to the minim. The occurrences of needles or skeletons harmful to the frozen tissues demonstrate that the crystal face grown was unequal. The objective of the research is to induce the induce formation of smaller crystal seeds, spherical or with a high symmetry level to increase the probability of original form. It was used: 1) anphiphilic substances, to affect the usual crystalline structure of the water; 2) substances with hydrogen bond possibility containing water in all several directions in order to arrange symmetrical structures. Under the influence of SDS (sodium dodecyl sulfata), a surface-active agent, the ice crystals composed of spherical crystalline aggregates. Spherulitic crystals were obtained under the influence of monoacids valine, histidine, glicine and salt sulfata aluminum ammonia. Polyhedric crystals with curve faces were obtained with the influence of the surface-active agent Triton ® X 100, Tween ® 80 and of the bile salt the quenodeoxicolic acid. The best result was obtained under the influence of phoroglucine. This triphenol was capable of producing small crystals with rounded extremities and in all stratum of the sample. In all the other solutions the spherical crystals appears in the superior stratum only.

”Major Professor: Prof. Dr. Eng José Cal—Vidal, UFLA, Dra. Cléssia da Silva Carneiro.

1 INTRODUÇÃO

Pratos congelados mudaram magicamente a vida diária de uma forma que poucas invenções conseguiram. Hoje, métodos de congelamento rápido são usados para conservar nossos alimentos.

Entre o numeroso elenco de processos de preservação, o congelamento é o que melhor mantém as características organolépticas e nutricionais similares às do produto fresco. É um excelente método de conservação porque as alterações são menores do que em qualquer outro método e único disponível na atualidade com o potencial de garantir uma conservação em longo prazo.

Mesmo assim, nem sempre é possível manter uma integridade celular e a textura do produto original quando congelado; é que a água congelada tem um comportamento peculiar: expande-se ao cristalizar e, ao fundir-se, tem a tendência de recristalizar, de aglutinar, formando longos e protudentes cristais de gelo.

Estes cristais, agulhas como são chamados, geram uma série de danos mecânicos, bioquímicos e osmóticos aos tecidos (Fennema, 1973). Ao final, o efeito é altamente prejudicial e compromete a qualidade dos produtos.

Sendo assim, muitos métodos modernos de preservação congelada estão baseados em tratamento com soluções concentradas de substâncias químicas que provocam desidratação osmótica. No entanto, deve-se considerar que é difícil estabelecer um nível universal de tolerância à desidratação — a água líquida tem muitas funções biológicas importantes. Portanto, o método de congelamento ideal seria aquele que evitasse a formação de grandes cristais de gelo, mas sem remoção de água.

Desde de 1991 (mais de uma década!), diversos pesquisadores do Programa de M. Sc. e D. Sc. em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, vêm tomando parte de importantes descobertas técnico-científicas no campo da criopreservação celular. Estudos recentes estão sendo voltados para a estruturação de cristais de gelo por meio de substâncias com o poder de modificar a disposição das moléculas d'água no estado cristalino. Mudança em morfologia de cristais é um fator de grande relevância porque caracteriza o tipo de interação cristal-célula (Carneiro, 2001).

Nesse campo de pesquisa, este trabalho fez investigações para encontrar substâncias que promovam arranjos moleculares na água congelada que resultem em sólidos menos protudentes que a estrutura cristalina estrita.

A ocorrência das agulhas em soluções aquosas crescendo como prismas alongados significa que foram desiguais as oportunidades para o crescimento do cristal. Os cristais menos danosos são, em princípio, aqueles com muitas faces equivalentes, resultantes de um crescimento no qual houve igualdade de oportunidades nas diversas direções. Esta é a idéia central deste trabalho: levar à formação de sementes cristalinas que cresçam sem desigualdades, que gerem armações mais simétricas, menos protudentes que a forma freqüente e, ainda:

— estabelecer a influência dessas substâncias na estruturação e morfologia de cristais de gelo, partindo de soluções modelos e

— monitorar as estruturações e morfologia dos cristais de gelo com o uso de microscopia ótica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Modificações e danos causados por grandes cristais de gelo

A água líquida é essencial no metabolismo celular, é fundamental nos mecanismos de transporte através da célula e manutenção dos solutos; é fundamental para garantir a estrutura terciária das proteínas e fornece um ambiente para as interações hidrofóbicas que favorece a estrutura das membranas (Fennema, 1993).

No entanto, quando a água é congelada no interior da microestrutura, há uma formação de grandes e protudentes cristais, que perfuram ou esmagam estruturas, comprometendo a integridade de células e tecidos (Figura 1).

A magnitude dessas injúrias, bem como variação na textura, está relacionada com o grau de rompimento dos tecidos e depende da localização e tamanho do cristal (Carneiro, 2001).

2.1.1 O rompimento de membranas

O rompimento das membranas ou paredes celulares provoca a perda da semipermeabilidade e da compartimentação das células e podem levar ao colapso da estrutura das membranas ou mesmo à morte celular (Carneiro, 2001).

2.1.2 A separação das células

O desenvolvimento de cristais de gelo extracelulares, segundo Fennema et al. (1973), pode causar uma certa separação entre as células do material congelado (“*shrinkage*”).

2.1.3 A desidratação induzida por congelamento

Segundo Steponkus & Webb (1992), citados por Santos (2001), a água se difunde do interior da célula congelada para o meio externo devido à diferença de pressão de vapor (maior dentro da célula que nos espaços intercelulares congelados) e é convertida em gelo na superfície das células ou entre o protoplasto e a parede celular. Esse fenômeno é chamado de desidratação induzida por congelamento (“*freeze-induced desiccation*”). Como resultado, há um aumento da concentração dos solutos orgânicos no interior célula. O pH e a força iônica resultante promove alterações nas membranas e prejuízo à sua capacidade de retenção da água e a célula perde turgor.

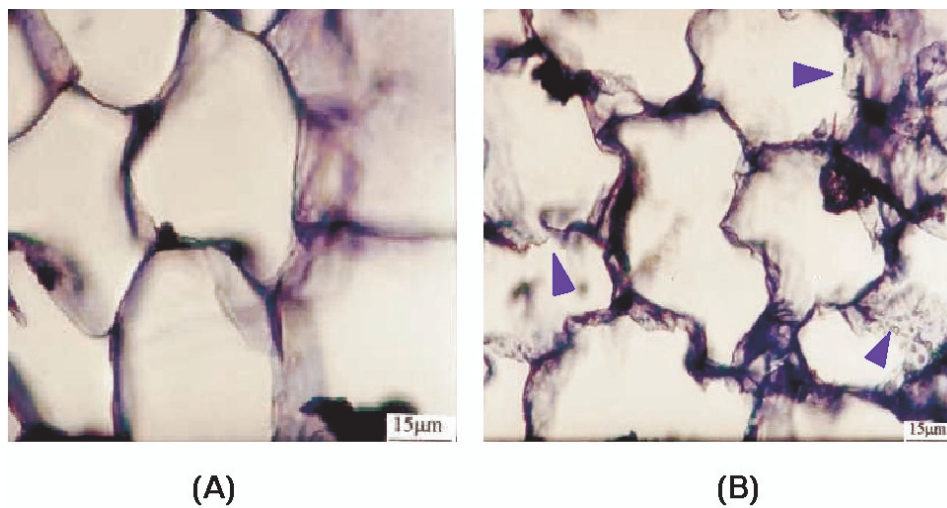


FIGURA 1 À esquerda, (A) células intactas e à direita, (B) células rompidas por cristais de gelo (Carneiro, 2001).

2.2 Velocidade de congelamento

Segundo Roça (2000), a velocidade de congelamento afeta as propriedades físicas e químicas dos produtos congelados. É um fator crítico para minimizar os prejuízos causados aos tecidos. Geralmente, é descrita como congelamento lento e congelamento rápido.

2.2.1 Congelamento lento

Durante o congelamento lento, a temperatura do produto permanece próxima ao ponto de congelamento inicial durante bastante tempo. A água extracelular congela mais rapidamente que a intracelular, porque tem uma menor concentração de solutos. Durante o congelamento lento, é maior o período de cristalização ocorrendo numerosos cristais de gelo extracelulares. A velocidade de congelamento está em torno de $0,05^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ (Roça, 2001).

2.2.2 Congelamento rápido

Durante o congelamento rápido, a temperatura do produto a ser congelado cai rapidamente abaixo do ponto de congelamento inicial. O congelamento rápido causa menos efeitos prejudiciais do que o congelamento lento. A velocidade de congelamento está em torno de $0,5^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ (Roça, 2001).

2.2.3 Congelamento criogênico

Para o congelamento criogênico podem ser utilizadas as imersões diretas, aspersão de líquido ou circulação de vapor criogênico. São utilizados o nitrogênio (em forma líquida ou gasosa), o dióxido de carbono e, ocasionalmente, o óxido nitroso líquido (Roça, 2001).

Segundo Santos (2001), o grande desafio para a crioengenharia é realizar um congelamento sem a formação de grandes cristais de gelo no interior e exterior

das células. No entanto, evitar a formação desses cristais não é uma tarefa fácil porque os tecidos usados na criopreservação apresentam altos teores de água em suas células. Extensiva formação de cristais de gelo intracelular irá ocorrer caso estes tecidos sejam congelados no estado hidratado. Dessa forma, a água precisa ser removida antes do congelamento, para evitar a injúria causada pelos cristais de gelo. Contudo, a desidratação que, a princípio, parece uma solução simples, não é um processo trivial porque água tem muitas funções biológicas fundamentais nas células de organismos vivos. Sendo assim, o sucesso de um protocolo de criopreservação depende da desidratação para um teor de umidade que seja baixo o suficiente para evitar a formação de gelo intracelular, mas não tão reduzido que cause injúria por desidratação (Santos, 2001).

2.2.4 Metodologias contemporâneas

As técnicas de criopreservação desenvolvidas mais recentemente são mais simples e estão baseadas na vitrificação ou formação do estado vítreo. Este é o processo por meio do qual a água sofre uma transição da fase líquida para um estado sólido amorfo e meta-estável (Fahy et al., 1984; Franks, 1982, citados por Santos, 2001). O sólido assim formado é, na verdade, uma solução supersaturada e de alta viscosidade, o que lhe confere as propriedades mecânicas de um sólido, embora não haja formação de uma estrutura cristalina. A transição para o estado vítreo não envolve mudanças químicas, mas apenas mudanças físicas na viscosidade do líquido.

Segundo Santos (2001), a vitrificação do citoplasma pode ser obtida por meio da desidratação dos tecidos para um teor de umidade em que não exista água livre para a cristalização antes de mergulhá-lo em nitrogênio líquido. Com isso, a solução celular torna-se muito concentrada e pode passar pela transição de vitrificação quando uma velocidade de congelamento apropriada é utilizada.

Desse modo, a formação de gelo durante a exposição a -196°C é evitada. A desidratação pode ser obtida por evaporação da água ou por tratamento com soluções concentradas de crioprotetores químicos (solução de vitrificação). Dimetilsulfóxido (DMSO), etileno glicol, metanol, glicerol e propileno glicol são os crioprotetores mais comumente utilizados. Entretanto, esses crioprotetores podem ser tóxicos ou podem causar estresse osmótico, levando à morte as células ou modificando sua resposta morfogênética em cultura (Sakai, 1995, citado por Santos, 2001).

Recentemente têm-se utilizados açúcares (sacarose, trealose e glicose) como substâncias crioprotetoras porque eles não apresentam citotoxicidade mesmo quando se acumulam em grande quantidade no citoplasma. Em comparação com os crioprotetores tradicionais, esses açúcares mostram alta eficiência na estabilização das membranas celulares durante o congelamento. Pode ser observada evidência do efeito protetor desses compostos em plantas de clima temperado. Essas plantas acumulam carboidratos solúveis em seus tecidos durante a aclimação ao frio. O período em que tais plantas são mais tolerantes ao congelamento corresponde a ponto de máximo acúmulo desses compostos (Imanishi et al., 1998; Sakai & Yoshida, 1968, citados por Santos, 2001). De modo semelhante grande quantidade de açúcares como sacarose, trealose e oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) acumula-se em estruturas que são tolerantes à intensa desidratação.

O modo de ação dos açúcares na aquisição da tolerância à desidratação e ao congelamento ainda não é totalmente conhecido e uma correlação direta de causa e efeito ainda não foi demonstrada, mas eles possivelmente envolvem múltiplos componentes. A princípio, se propôs que os açúcares agiam como agentes osmóticos externos, removendo o excesso de água intracelular por meio de um gradiente osmótico (Dumet et al., 1993, citados por Santos, 2001). Outras

evidências levaram à formulação de duas hipóteses diferentes sobre o modo de ação destes compostos. A primeira, sugere-se que eles sejam excelentes agentes vitrificadores e, por conseguinte, seu efeito protetor é atribuído à vitrificação das membranas celulares e das biomoléculas (Hirsh, 1987, citado por Santos, 2001). Outra hipótese, denominada hipótese da substituição da água (“*water replacement hypothesis*”), propõe que estes açúcares podem substituir a água removida das biomoléculas, dessa forma mantendo as estruturas hidrofílicas na sua orientação hidratada e evitando perda de funcionalidade, mesmo depois da água ter sido removida (Crowe et al., 1988, citados por Santos, 2001).

O processo de vitrificação tornou-se um dos principais métodos de crioproteção, tendo sido aplicado a uma ampla variedade de tecidos vegetais. Do ponto de vista prático, uma grande vantagem desse método é poder congelar rapidamente os tecidos vitrificados pelo mergulho direto em nitrogênio líquido, eliminando a necessidade de se usarem congeladores programáveis. Durante o rápido decréscimo da temperatura, em contraste com o congelamento lento, não há tempo suficiente para o crescimento de cristais de gelo no espaço intracelular, e, com isso, as células passam rapidamente pela zona de temperatura na qual o crescimento letal de cristais de gelo ocorreria (Luyet, 1937, citado por Santos, 2001). Além disso, os procedimentos baseados na vitrificação simplificam o procedimento de crioproteção e permite que explantes complexos, contendo diversos tipos de células, sobrevivam à exposição de nitrogênio líquido (Paulet et al., 1993, citados por Santos, 2001). O ponto crítico para obter sobrevivência usando protocolos de vitrificação é a desidratação e não o congelamento. Portanto, se a amostra for desidratada para o teor de umidade apropriado, obtém-se alta sobrevivência na maioria dos casos (Engelmann et al., 1997, citados por Santos, 2001).

O estado vítreo tem muitos outros efeitos benéficos para a célula desidratada: limitação da perda de água, limitação da cristalização de sais e proteínas no citoplasma, proteção contra mudanças no pH à medida que a água é removida e prevenção de colapso celular durante extensiva perda de água (Koster, 1991, citado por Santos, 2001). A vitrificação restringe a difusão de substratos e de produtos dentro da célula, levando a um estado de quiescência metabólica e resultando na prevenção de reações químicas dependentes do processo de difusão (Koster, 1991, citado por Santos, 2001). Devido a essas características do estado vítreo, a deterioração de sistemas biológicos é suprimida, assegurando a estabilidade durante o período de quiescência (Santos, 2001).

2.2.5 O descongelamento

O descongelamento é tão importante quanto o resfriamento (Withers & Williams, 1998, citados por Pompelli, 2003), podendo tornar falho todo o esforço do resfriamento, congelamento e armazenamento se não forem tomados os cuidados necessários (Mroginski et al., 1993, citados por Pompelli, 2003). O descongelamento rápido é necessário para evitar a recristalização de gelo, quando pequenos cristais crescem a tamanhos que danificam a célula (Pompelli, 2003).

2.3 O estado cristalino

A água deve ser imaginada como uma grande quantidade de moléculas de H₂O, todas em movimento, chocando-se umas com as outras.

O calor nada mais é do que um movimento das moléculas. Segundo Newton (1904, citado por Sears & Zemanski, 1959): “O calor consiste num minúsculo movimento de vibração das partículas dos corpos”. O incremento no movimento das moléculas não é, portanto, algo que acompanha o calor: é

a verdadeira natureza do calor. A quantidade de calor em uma substância é simplesmente a quantidade de energia de movimento molecular (Bunn, 1972).

O fluir, que no líquido e no gás deve-se a esse movimento molecular, nos sólidos se detém e as moléculas não mais se movimentam livremente, mas se dispõem segundo um arranjo definido, mas não absolutamente fixas e sem movimento. De fato, vibram de modo irregular, de diversas maneiras e num movimento perpétuo. Entretanto, a posição média se mantém fixa e, se o sólido for cristalino, como o gelo, as moléculas estão regularmente arranjadas (Figuras 2 e 3).

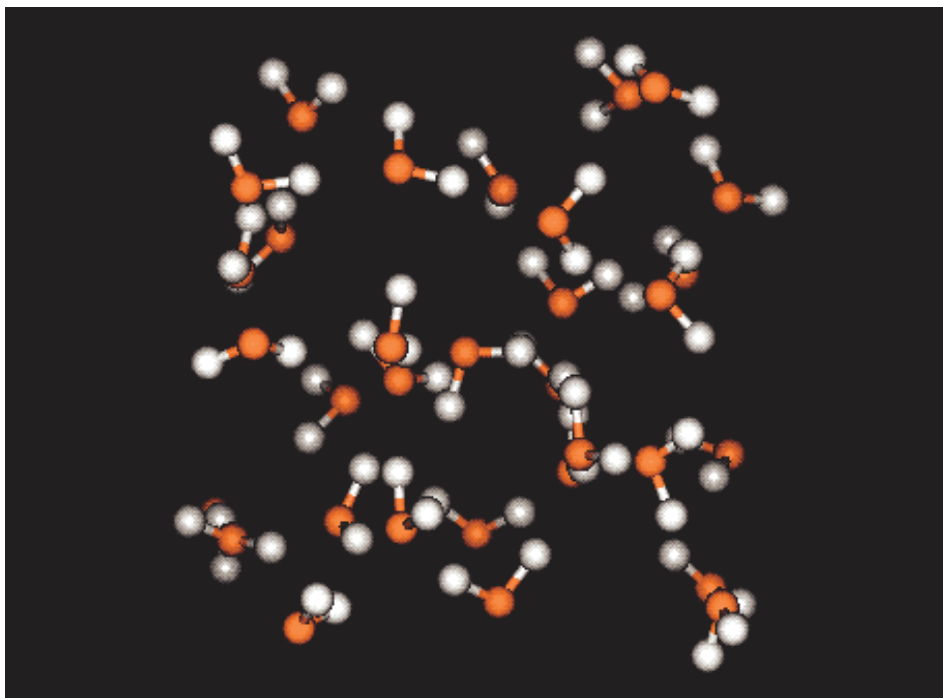


FIGURA 2 Estrutura da água líquida (adaptado do sistema de arquivos da UNICAMP).

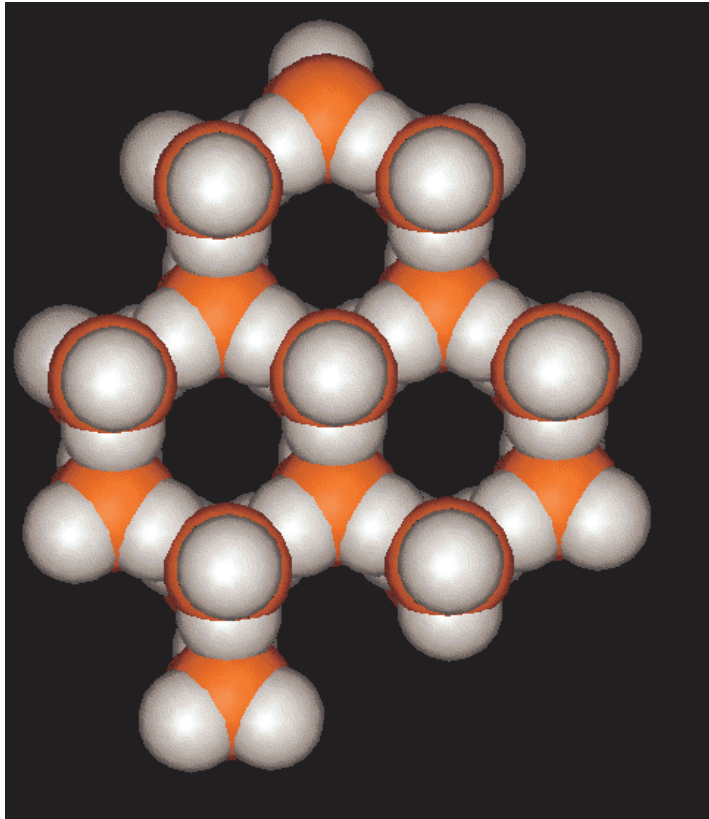


FIGURA 3 Estrutura da água sólida (adaptado do sistema de arquivos da UNICAMP).

2.3.1 A estrutura

O gelo é típico em seu comportamento: quase todas as substâncias são cristalinas a baixas temperaturas. Suas moléculas estão vibrando no cristal, mas as forças entre elas não permitem movimentos de migração ou dispersão. E se elas não possuem energia suficiente para movimentarem, as moléculas tendem a se dispor de acordo com suas forças múltiplas de atração e, assim, se colocam em posições confortáveis (Bunn, 1972).

Na água, os átomos de hidrogênio estão carregados positivamente e os de oxigênio negativamente. Assim, o arranjo mais estável é aquele no qual o hidrogênio de uma molécula está próximo ao oxigênio da molécula seguinte mais longe possível dos outros hidrogênios (átomos com cargas opostas se atraem enquanto átomos com cargas iguais se repelem). Agora, se cada molécula assume a mesma atitude em relação às demais, isso resulta na formação de um arranjo regular, porque a mesma configuração se repete inúmeras vezes (Bunn, 1972).

Em essência, esta é a razão pela qual os cristais se originam a baixas temperaturas: porque as moléculas se colocam nas posições mais estáveis. O termo “mais estável” significa “conter menos energia”, menor energia livre, porque nem toda energia nas moléculas está disponível para tomar parte nas modificações dos arranjos cristalinos (Bunn, 1972).

Quando a repetição conduz a um arranjo regular, aparece o estado “cristalino”. A palavra cristal provém do grego, significando gelo transparente.

2.3.2 O princípio da sobrevivência

Quando a água se resfria, diminutos cristais, os núcleos cristalinos ou cristais-mãe como são chamados, se formam. No entanto, não se formam necessariamente no momento em que se atinge a temperatura de solidificação; existe um certo atraso e, a não ser que o resfriamento seja muito lento, um fenômeno ocorre sempre: os primeiros cristais só aparecem quando a temperatura tiver atingido níveis bem inferiores à temperatura de solidificação, às vezes de alguns graus (diz-se que o líquido está super-resfriado). Existe, desse modo, uma certa dificuldade para iniciar o processo de nucleação. Essa demora na formação e o fato de os núcleos cristalinos se constituírem aqui e ali mostra que existe essa dificuldade na formação dos arranjos cristalinos ordenados (Bunn, 1972).

À medida que a solução se resfria, a quantidade de substância dissolvida é, na realidade, maior do que a água pode dissolver. A solução é dita supersaturada; tal como a substância resfriada abaixo do ponto de fusão é chamada de super-resfriada. O atraso indica novamente que existe certa dificuldade na formação de cristais estáveis (Bunn, 1972).

Se um núcleo cristalino está preste a se formar, é necessário que algumas moléculas se disponham da maneira ordenada e estável exigida pelo cristal. Mas no universo agitado das moléculas, não é fácil obter uma existência tranqüila e ordenada. Mesmo quando algumas moléculas parecem encontrar suas posições corretas, ainda possuem suficiente energia para se desarranjarem novamente e, mesmo que as moléculas não se prejudiquem mutuamente em seu arranjo pela própria energia, podem ser bombardeadas por outras moléculas da água envolvente. A dificuldade na formação dos núcleos cristalinos é uma consequência dessas flutuações locais de energia. Assim, mesmo que uma solução seja resfriada abaixo do seu ponto de congelamento (isso significa que, em média, a energia do movimento é de fato muito pequena para manter a substância como líquida) e embora alguns grupos de moléculas percam energia suficiente para se assentarem segundo formações cristalinas, há sempre a probabilidade de uma concentração de moléculas em movimento enviar maior quantidades de energia, rompendo-se aquele arranjo que parecia constituir um núcleo cristalino promissor.

Para sobreviver, o cristal-mãe deve atingir um certo tamanho mínimo; uma vez obtido esse tamanho, é provável (provável porque as leis da probabilidade são muitas vezes ludibriadas) que não se desmembre novamente e sua existência como cristal está assegurada. Para que ocorra a nucleação e o crescimento do cristal, este deverá superar o chamado tamanho crítico, que representa uma barreira de energia que deve ser superada pelo núcleo antes de se

tornar estável. A energia necessária pode resultar de flutuações momentâneas e locais da concentração ou da própria energia. As flutuações da energia podem ter natureza estática e cinética. A flutuação da concentração requer o transporte por difusão de moléculas suficientemente próximas entre si, em número necessário para formar um núcleo bastante grande para igualar ou exceder o tamanho crítico. É o chamado “*princípio da sobrevivência*” (Bunn, 1972).

2.3.3 O estado vítreo

À medida que a temperatura diminui, o movimento molecular se torna mais lento e, se a temperatura cai muito rapidamente, perde-se a oportunidade do arranjo correto, fixando-se as moléculas nas posições em que se encontram. Quando se resfria um líquido vitrescível, ele se torna cada vez mais viscoso (grosso e lento em seus movimentos), até que se torna tão viscoso que pode ser chamado de sólido. O sólido que se forma é uma espécie de líquido congelado, no qual as moléculas estão dispostas irregularmente, como no líquido, embora fixas em posição. Isto significa que, à medida que a temperatura desce abaixo do ponto de fusão, a probabilidade de nucleação aumenta até um máximo e novamente decresce. Ao atravessar o incólume intervalo de temperatura no qual a nucleação é mais provável, a substância se vitrifica, conservando-se como vidro durante muito tempo, embora possa ocorrer finalmente uma cristalização (desvitrificação), por um arranjo muito lento das moléculas (Bunn, 1972).

Quando um sólido é encontrado em forma não cristalina, deve haver uma determinada causa. As substâncias que não se cristalizam são aquelas cujas moléculas são passíveis de se mobilizarem em uma variedade de arranjos; geralmente, são moléculas grandes e complicadas e especialmente complicadas quando possuem um arranjo peculiar nos pontos de atração (Bunn, 1972).

2.3.4 O crescimento

O processo de cristalização é constituído de duas etapas: nucleação e desenvolvimento do cristal. Na primeira, como já vimos, ocorre uma condensação do material devido à colisão das partículas. Na segunda, verifica-se o aumento em tamanho do núcleo e a formação do cristal. A força motriz desse processo, segundo McCabe et al. (1993), é governada pela supersaturação da solução. A supersaturação pode ser desenvolvida: com a evaporação de uma parte do solvente, aumentando assim a concentração; a diminuição da temperatura da solução, que diminui a solubilidade dos solutos na solução ou a adição de um terceiro componente, usualmente um solvente, que também promove a diminuição da solubilidade no sistema (Bunn, 1972).

A formação de cristais pode ocorrer em duas circunstâncias diferentes: pelo surgimento em uma solução pura, na qual não haja a presença de partículas sólidas estranhas ou em presença de pós de partículas forasteiras, pequenos cristais de soluto ou cristais de outros materiais (Kammermeyer et al., 1963).

Após formarem alguns núcleos cristalinos, estes iniciam um processo de crescimento. Até que toda a substância se solidifique é mais fácil para moléculas se adicionarem a núcleos já constituídos do que formarem novos núcleos (Bunn, 1972).

O processo de crescimento e formação dos cristais está bem longe de ser simples. Muitos fatores podem influenciar na velocidade de crescimento, mas pouco se conhece sobre a exata influência dos diversos fatores (Bunn, 1972).

2.3.5 A velocidade de arranjo das moléculas

Geometricamente, um cristal é um sólido limitado por planos, sendo sua forma e tamanho consequência dos ângulos entre os planos (faces) e suas dimensões lineares. Se forem constantes estes ângulos, cada face de um cristal em

crescimento permanecerá sempre paralelo à sua posição inicial. É conhecido como princípio de deslocamento paralelo das faces. A velocidade com que se movimenta uma face em direção perpendicular à sua posição inicial é denominada velocidade de translação (Bunn, 1972).

De acordo com McCabe et al. (1993), em condições exteriores constantes, a velocidade relativa de translação das distintas faces de um cristal não varia durante o seu crescimento. Um cristal com este comportamento é denominado de invariante. Uma importante propriedade desses cristais é a de permanecer geometricamente semelhante à sua forma original quando cresce ou se dissolve.

Segundo Kammermeyer et al. (1963), as dimensões relativas das faces de um cristal variam entre seus limites, com as distintas faces devendo ter diferentes velocidades de translação. A lei de crescimento de cristais, compreendida no princípio da sobrevivência, baseia-se na diferença dessas velocidades e é enunciada da seguinte forma: *“Durante o crescimento de um cristal, somente sobrevivem as faces com menores velocidades de translação e, ao dissolver-se ocorre o contrário: somente sobrevivem as faces que tiverem maiores velocidades de translação”*. Assim, as faces menores têm velocidades de crescimento maiores (McCabe, 1966).

Em suma, três fatores influenciam a velocidade de arranjo das moléculas ou íons. São eles:

- 1) forma e tamanho das estruturas da superfície do cristal;
- 2) a quantidade de material disponível em solução e
- 3) a intensidade das forças que unem as moléculas ou íons.

2.3.6 O hábito cristalino

Os sólidos tendem a cristalizar em formas geométricas definidas que podem freqüentemente ser vista com auxílio de microscópio.

O princípio da sobrevivência combinado com o deslocamento paralelo das faces possibilita a previsão da configuração final de um cristal, quando se conhecem a forma inicial e as velocidades de translação das faces (Bunn, 1972).

A existência de cristais com diferentes formas geométricas implica em que as partículas que constituem o cristal estão arranjadas segundo um modelo tridimensional definido (Bunn, 1972). A geometria do modelo pode ser relativamente simples ou excessivamente complexa.

A menor unidade cristalina é o que se conhece como a célula unitária que, repetida outra e outra vez nas três dimensões, gera o retículo cristalino ou estrutura cristalina. Quando os átomos em um retículo cristalino são todos do mesmo tamanho, como é o caso com os metais, eles tendem a se agrupar tão proximamente quanto possível. Entretanto, cristais perfeitos, com todos os átomos alinhados segundo um preciso modelo geométrico é uma abstração: os cristais que encontramos na natureza ou preparamos em laboratório sempre contêm imperfeições (Figura 4). Esses defeitos, mesmo em número relativamente pequeno, podem afetar profundamente a estrutura cristalina habitual (padrão) conhecida como “hábito cristalino”, que pode ser a forma característica de um cristal, ou a combinação de formas em que um sólido cristaliza. Assim, o hábito do cristal inclui a configuração geral e as irregularidades do seu crescimento (Masterton & Slowinski, 1977).

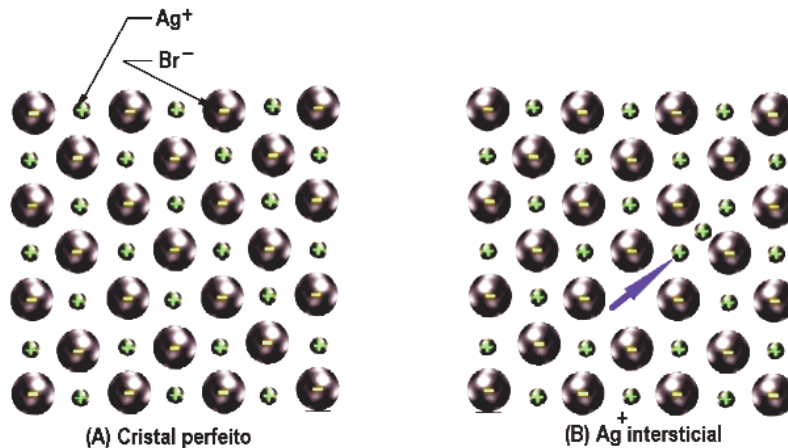


FIGURA 4 Desenho esquemático de um tipo de defeito comum em cristal iônico (AgBr). O cátion ocupa uma posição intersticial, deixando um vazio no ponto onde o cátion estaria (adaptado de Masterton & Slowinski, 1977).

Nos arranjos mais estáveis formados por um grande número de moléculas, as posições mútuas das moléculas vizinhas não são exatamente as mesmas que aquelas formadas por duas ou um pequeno número delas. Quando está em jogo um grande número de moléculas, elas podem assumir posições diversas. Algumas substâncias podem ter dois ou três arranjos com a mesma energia livre e assumir, assim, duas ou três formas cristalinas diferentes (Bunn, 1972).

Os cristais gelo de geralmente crescem como prismas alongados e adquirem essa forma pelas forças elétricas que favorecem o rápido crescimento seguindo em uma única direção. As moléculas da água possuem a forma de um **V**, com a ponta do **V** na direção mais longa do cristal e é sabido que existem atrações elétricas fortes entre a parte de cima de um **V** e a debaixo do seguinte, entre hidrogênio de uma molécula e o oxigênio da seguinte (pontes de hidrogênio).

Conseqüentemente, não é surpreendente que o crescimento seja maior na direção dessas atrações do que nas direções horizontais, em que as forças entre as moléculas são muito mais fracas; daí a forma de agulha.

Portanto, na estrutura cristalina, as forças elétricas não só desempenham um papel importante em manter o cristal unido mas também, em certos cristais, elas decidem o arranjo que se deve formar.

Todavia, não existe uma perfeição cristalina: uma substância fundida não resulta, via de regra, na produção de cristais bem formados. Em cristais com estruturas mais complexas, com moléculas com forma molecular complicada e diferenças de força em diversas direções, torna-se muito difícil prever, mesmo grosseiramente, a forma resultante (Bunn, 1972).

2.4 A morfologia dos cristais de gelo

Um sólido é sempre constituído por um só cristal ou por muitos monocristais adjacentes, estabelecidos por um aglomerado de monocristais, em contato ou isolados entre si, grandes ou pequenos (Figura 5), às vezes microscópicos.

Uma das características principais da forma cristalina é o esquema de linhas retas, as faces planas, as arestas retas e os vértices precisos. Essas características resultam do caráter retilíneo do arranjo atômico fundamental; todas as unidades estruturais são arranjadas em fileiras, sempre em linha reta e repetidas monotonamente sem variação em todas as direções do espaço (exceto por imperfeições acidentais) (Bunn, 1972).

Assim, não é possível um arranjo perfeitamente periódico fundamentado em um esquema curvilíneo. As curvas não são naturais nos cristais: o esquema retilíneo é uma característica essencial do tipo primitivo de repetição.

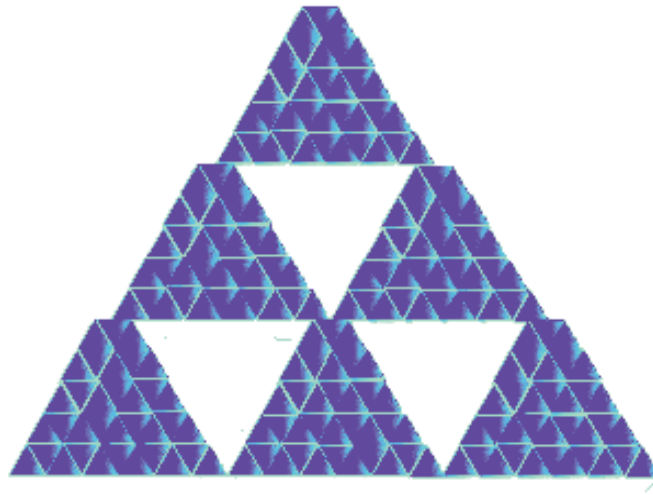


FIGURA 5 Tipo de estrutura formada por cristais da água congelada.

2.4.1 A simetria das formas

Na natureza dos cristais há uma preferência por certos tipos de simetria.

A lista completa dos tipos de simetria (baseada nos princípios da distribuição de átomos e moléculas) consiste em seis sistemas cujos nomes são baseados na forma e simetria da célula unitária: cúbico, tetragonal, trigonal mais hexagonal, ortorrômbico, monoclinico e triclinico (Bunn, 1972).

As diferentes classes de simetria não são todas igualmente comuns na natureza; algumas são bem raras, enquanto outras são comuns. Muitos cristais não possuem somente um tipo de simetria, mas vários elementos. De fato, podemos considerar as formas mais simétricas como criadas por várias combinações dos elementos de simetria básicos, por exemplo, um cristal cúbico possui centro de simetria, doze eixos binários. Possui ainda vários planos de simetria (Figura 6).

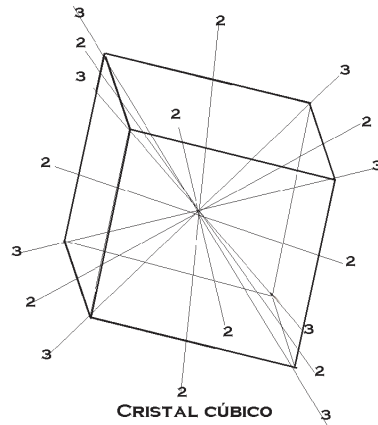


FIGURA 6 O cristal cúbico e seus eixos de simetria (adaptado de Bunn, 1972).

Todos os cristais muito simétricos são baseados em formas cúbicas de arranjo; se a estrutura for dividida em unidades idênticas da maneira mais simples possível, a forma da unidade de arranjo (célula unitária) será um cubo preciso (Bunn, 1972).

2.4.2 Estruturas polimórficas no gelo

Algumas das variações mais extremas e mais belas são exibidas pelos cristais de gelo. Não tanto os cristais formados por congelamento da água líquida, mas aqueles que crescem do vapor do ar que descem como flocos de neve. Vista sob uma lente, a neve consiste em coleção de crescimentos peniformes. Os tipos de ramificações dos flocos variam enormemente, mas todas partem de um centro sólido de onde parte ramificações (geralmente mantendo uma simetria hexagonal quase exata) (Figura 7). Cada um desses espécimes estruturados é um cristal único que abandonou a forma poliédrica sólida e desenvolveu braços (Bunn, 1972).

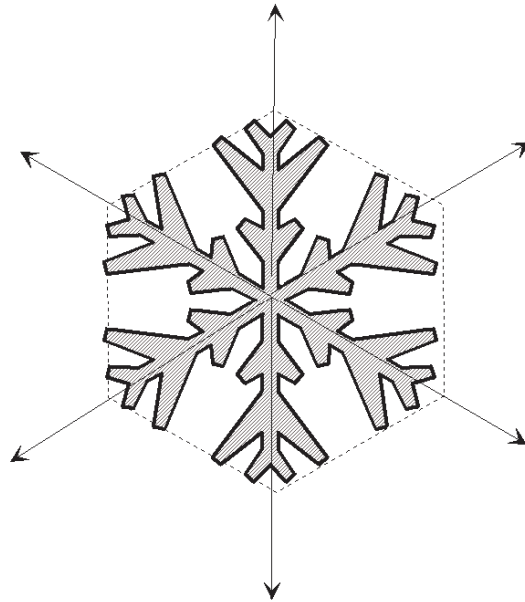


FIGURA 7 Esquema de um cristal de neve.

Segundo Bunn (1972), alguns trabalhos demonstraram que a alta supersaturação favorece o crescimento ramificado em forma de pena, também revelaram alguns fatos sobre o crescimento poliédrico em níveis baixos de supersaturação. Os poliedros cristalinos são placas ou prismas hexagonais (Figura 8), mas a forma depende da temperatura: a) do ponto de congelamento até -3°C , formam-se placas; b) de -3°C até -8°C , prismas hexagonais ou, às vezes, prismas ocos; mas c) de -8°C a -12°C , os crescimentos dendríticos se formam se a supersaturação for suficientemente grande, mas a -16°C aparecem placas novamente e, abaixo de -25°C , prismas outra vez (Bunn, 1972).

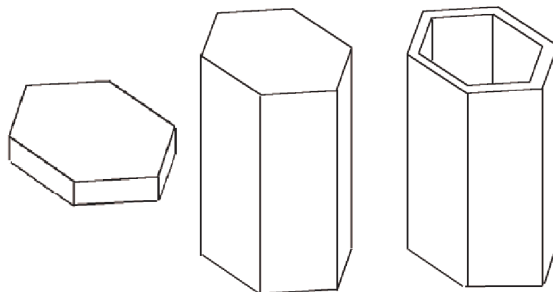


FIGURA 8 Formas de cristais de gelo, formados sob condições de baixa supersaturação (adaptado de Bunn, 1972).

São conhecidas nove estruturas polimórficas no gelo. As principais são:

- 1) o gelo I. Mais leve do que a água. É cristalino, funde a 0°C a pressão atmosférica;
- 2) o gelo II. Caracterizado por um lado centralizado ortorrômbico contendo oito moléculas (Figura 9);
- 3) o gelo III é um corpo centralizado ortorrômbico contendo 16 moléculas e tendo as faces $a:b:c = 1,73; 1; 1,22$ (Matz, 1965) (Figura 10);
- 4) o gelo IV. Conhecido somente por água pesada é metaestável;
- 5) o gelo VII tem uma densidade de aproximadamente $1,7\text{g/cm}^3$ e requer pressões de até 21.700 atm para ser estável.

As estruturas de II a VIII somente permanecem estáveis a pressões elevadas (acima de 10.000 atm) (Franks, 1975).

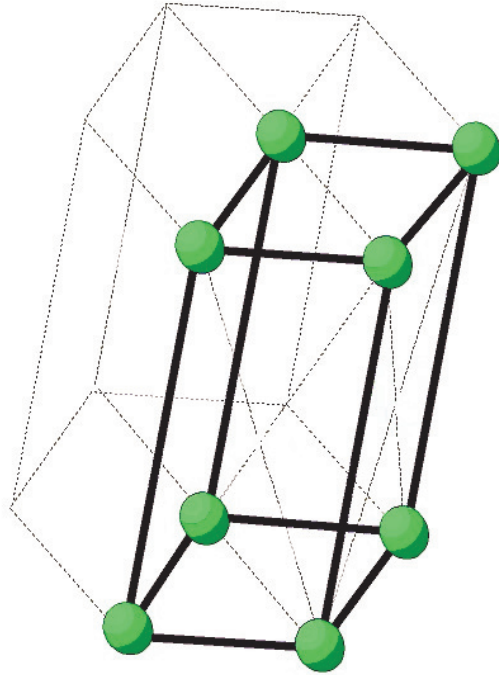


FIGURA 9 O sistema hexagonal. A célula unitária do sistema do cristal é delimitada pelos traços mais fortes. As outras duas partes do prisma hexagonais correspondem à rotação da célula unitária (adaptado de Bleicher & Sasaki, 2002).

Mudanças em temperatura e pressão transformam uma classe de gelo em outra.

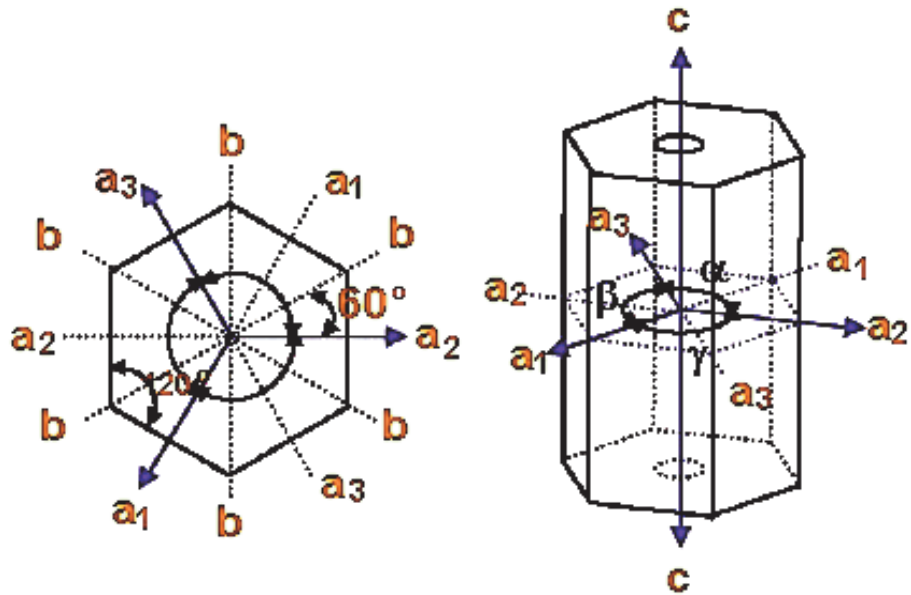


FIGURA 10 Eixos cristalográficos do sistema hexagonal (Zaritzky, 1997, citado por Carneiro, 2001).

2.4.3 Monitoramento do número e tamanho de cristais de gelo

A dimensão dos cristais de gelo ao final do congelamento depende do número de núcleos cristalinos formados inicialmente. Obviamente, quando há poucos núcleos, a tendência é formar grandes cristais porque os monocristais formados têm poucas opções para se aglomerarem. Quando a nucleação é rápida, o inverso ocorre: numerosos nucléolos dão origem a um elevado número de cristais de pequeno tamanho (Leniger & Beverloo, 1975; Reid, 1983; Hartel & Chung, 1993, citados por Carneiro, 2001).

Deste modo, é possível controlar tamanho dos cristais regulando a nucleação por meio da temperatura e velocidade de congelamento.

O processo de congelamento assistido pela utilização de pressão é baseado no comportamento excepcional da água: à pressão de 207 MPa e abaixo de -22°C , a água permanece líquida. Estas condições seguidas por rápida liberação da pressão dão lugar a uma nucleação quase instantânea, devido ao super-resfriamento uniforme e ao equilíbrio instantâneo da pressão nas fases sólida e líquida (Martino et al., 1998). O crescimento é então completado a pressão atmosférica. Este processo é realizado com o objetivo de obter cristais de gelo do tipo III, que se apresentam como cristais menores e com densidade levemente acima do valor para a água líquida (Sanz et al., 1997; Lévy et al., 1999; Chevalier et al., 2000, citados por Carneiro, 2001).

Miyawaki et al. (1992) observaram o efeito de materiais coexistentes com o gelo, tais como sacarose (modificadora da atividade d'água), cloreto de sódio (estruturante) e uréia (desestruturante). A adição destes materiais a um nível de 5% aumentou substancialmente o tamanho dos cristais de gelo. A adição de um tensoativo (Triton[®] X-100, 5%) em combinação com a sacarose, contudo, inibiu consideravelmente o aumento em tamanho dos cristais, provavelmente por causa da inibição da taxa de transferência de massa d'água para a interface gelo-líquido.

Em congelamentos rápidos e ultra-rápidos, cristais esféricos costumam ser produzidos e deles brotam finas agulhas de gelo que na sua forma externa constituem uma esfera. Aumentando, porém, a velocidade de congelamento, estas agulhas se fazem cada vez mais delgadas e o cristal acaba por tornar-se transparente (Bunn, 1972).

No congelamento de tecido biológico prevalecem os dendritos irregulares (Woinet et al., 1997, citados por Carneiro, 2001). A velocidade de congelamento geralmente utilizada na prática é demasiadamente alta para que se possam formar cristais hexagonais regulares (Gruda & Postolski, 1981).

Na presença de núcleos submicroscópicos de gelo, são formados discos planos e a um pequeno super-resfriamento a forma arredondada é preservada. Com um maior sub-resfriamento uma aparência hexagonal é observada. Um maior aumento do super-resfriamento provoca uma maior troca de calor formando-se vértices protudentes (Quervain, 1975). Intenso super-resfriamento produz finos cristais de gelo devido à nucleação secundária e resulta em uma morfologia dendrítica e irregular (Suzuki & Hagura, 1997, citados por Carneiro, 2001).

Ohsaka & Trinh (1998) encontraram a morfologia dos cristais de gelo mudando de discos circulares a discos perturbados e então a um crescimento dendrítico. Ao final, a forma global hexagonal é preservada. As mesmas mudanças em morfologia foram encontradas por Tirmizi & Gill (1987) (citados por Carneiro, 2001). Estes observaram que a morfologia dos cristais de gelo depende do grau de super-resfriamento e do tempo decorrido até o início do crescimento livre.

Proteínas podem funcionar como nucleantes de gelo para iniciar a formação de gelo extracelular. As AFPs (*Antifreeze Proteins*) modificam os cristais de gelo que se formam fora das células (Hon et al., 1995, citados por Carneiro, 2001). Baixas concentrações (nM) de AFP inibem o crescimento do gelo ao longo do eixo *a* de tal modo que as faces do prisma hexagonal do cristal se tornam evidentes. Em uma maior concentração (μM) de AFP, o cristal cresce predominantemente ao longo do eixo *c* para formar bipirâmides hexagonais e cristais em forma de agulhas. As AFPs se adsorvem nos cristais de gelo para modificar seu crescimento normal (Feeney & Yeh, 1993, citados por Carneiro, 2001).

Maruyama et al. (1997) concluíram que gases dissolvidos na água não são significantes na determinação da morfologia do gelo. As pressões

atmosféricas ou a vácuo, facetas prismática não são formadas durante o crescimento deste e as interfaces do gelo paralelas ao eixo *c* apresentam-se rugosas, em escala molecular. Eles encontraram cristais na forma de disco com seu eixo *c* vertical, crescendo sem nenhuma face prismática e sem instabilidades interfaciais até vários mm em diâmetro.

Açúcares, isolados ou em combinação, promoveram estruturações que variaram entre uma configuração do tipo hexagonal a arbórea. Vitaminas anfífilas favoreceram a formação do tipo micela e diferentes aminoácidos apresentaram formas hexagonais e alongadas, com uma possível influência de sua polaridade (Carneiro, 1997; Cal-Vidal & Carneiro, 2000; Carneiro & Cal-Vidal, 1998a,b; Carneiro & Cal-Vidal, 2000a,b,c; Carneiro, 2001).

2.5 Os compostos anfífilos

Nos últimos anos tem-se registrado um aumento impressionante do interesse em nanoestruturas funcionais, ou seja, estruturas de dimensões nanomacroscópicas capazes de desenvolver uma função específica. Este tipo de estruturas pode ter inúmeras aplicações em campos tão diversos, dentre as quais podemos destacar: a medicina, como, por exemplo, no uso de marcadores de fluorescência no estudo das membranas; remediação, como vetores para drogas insolúveis; na indústria petrolífera, na recuperação melhorada do petróleo; limpeza e esterilização, na formulação de detergentes; na indústria alimentícia, em bebidas aromatizadas e alimentos polifásicos ou em nanoeletrônica com o uso dos cristais líquidos (Salager, 1993)

Um dos métodos mais promissores para a formação de estruturas nanomacroscópicas é a agregação molecular, para a qual tem sido utilizada diversa abordagem, inclusive a utilização de ligações mais fracas, por exemplo, pontes de hidrogênio e “interações hidrofóbicas”.

A auto-organização em meio aquoso de substâncias anfífilas acontece numa vasta classe de compostos que engloba detergentes sintéticos, polímeros anfífilos, fosfolípidos e sais biliares, entre outros (Salager, 1993).

2.5.1 O anfífilo

O termo “anfipático” (do grego: *amphi* = “nos dois lados”, “de dois tipos”; *pathos* = “sensibilidade”) foi recentemente substituído pelo termo “anfifílico” (do grego: *philos* = “forte afinidade”, “atração”) para descrever os compostos que apresentam, na mesma molécula, partes que apresentam diferentes interações com a água (Figura 11) (Rocha, 2000).

A estrutura simples de uma molécula anfifílica é constituída de duas afinidades opostas. São elas:

- (a) uma parte polar “hidrófila” (*hidro* = “água” + *filica* = “amizade”), com significativa solubilidade em água, conhecida como “cabeça hidrófila” e
- (b) outra apolar, “lipofílica” (*lipo* = gordura + *filica* = amizade), que apresenta “afinidade com lípidos” ou “hidrofóbica” (*hidro* = água + *fóbico* = medo), que não apresenta solubilidade com a água, conhecida como “*cauda hidrofóbica*” (Figura 11) (Rocha, 2000).

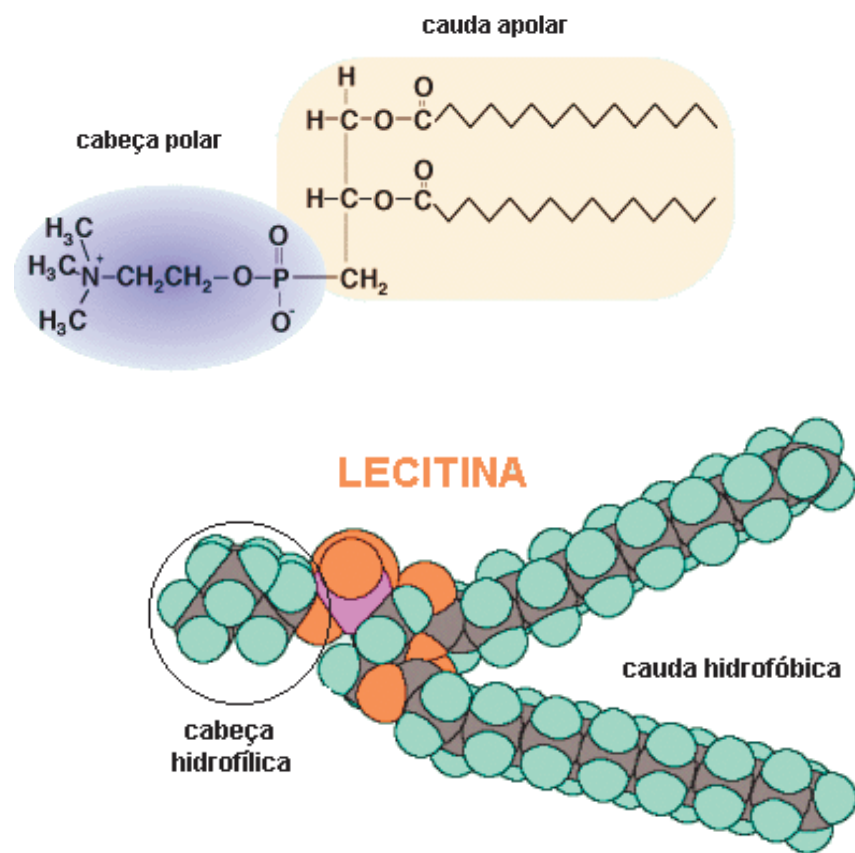

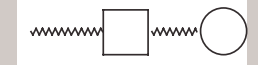



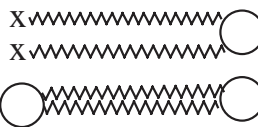


FIGURA 11 Estrutura de uma molécula anfifílica muito utilizada na indústria alimentícia, a lecitina (Banco de imagens Google, Web).

Um anfifilo típico possui a estrutura **R-X**, em que **R** é cadeias de hidrocarbonetos variando de 8-18 átomos (normalmente linear) e **X** é o grupo cabeça constituída por um grupo funcional de natureza sulfônica, carboxílica ou amoniacal (Salager, 1993) (Tabela 1).

TABELA 1 Diversas estruturas anfifílicas.

ESTRUTURA DO ANFIFILO	TIPO DO ANFIFILO	NATUREZA DA CADEIA
	Monocamada	Hidrocarbonada
	Mesógeno	Hidrocarbonada fluorcarbonada
	Monocadeia dipolar	Hidrocarbonada
	Mesógeno dipolar	Hidrocarbonada
	Tricadeia	Hidrocarbonada fluorcarbonada mista
	Bicadeia dipolar	Hidrocarbonada

(adaptado de Silva, 1997).

Dependendo de **X**, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros (Tabela 2).

TABELA 2 Classificação dos anfífilos.

AGENTES TENSOATIVOS ANIÔNICOS	AGENTES TENSOATIVOS CATIÔNICOS	AGENTES TENSOATIVOS NÃO IÔNICOS
Carboxilato COO^-Na^+	Amina primária $\text{—NH}_3^+\text{Cl}^-$	Éster —C-O-C—
Sulfonato $\text{—OSO}_2^-\text{Na}^+$	Amina secundária $\text{—NRH}_2^+\text{Cl}^-$	Hidroxila —OH
Éster de ácido fosfórico $\text{—OPO}_3^-\text{Na}^+$	Amina terciária $\text{—NR}_2\text{H}^+\text{Cl}^-$	Amida —SONH
	Amina quaternária $\text{—NR}_3^+\text{Cl}^-$	Compostos com dupla ligação —C=CH

(adaptado de Silva, 1997).

2.5.2 Atividade superficial e interfacial

Uma molécula, no centro de uma massa líquida em repouso, é solicitada por forças que se distribuem em todas as direções, permanecendo em equilíbrio. Todavia, as que se encontram na superfície são atraídas apenas por aquelas que estão por baixo. Desse modo, comprimem-se umas às outras e, atraídas para o interior, pressionam o restante da massa líquida (Figura 12).

Forma-se, assim, uma camada de maior densidade, que é um verdadeiro escudo para o resto do líquido. A película que se estende por toda a superfície tende a adotar uma forma que minimize sua área de superfície, numa tentativa de

manter as moléculas com maior número de vizinhos semelhantes e assume a forma esférica (a esfera é a forma com a menor razão superfície/volume).

Para se perturbar a superfície de um líquido é necessário realizar algum trabalho. A razão entre o trabalho realizado e a área de deslocamento na superfície do líquido é chamada de “tensão superficial”.

O termo “interface” indica o limite entre as fases imiscíveis e o termo “superfície” indica uma interface na qual uma fase é líquida e a outra é geralmente gasosa, comumente ar. A quantidade mínima de trabalho para criar a interface é chamada de energia interfacial livre, medida por unidade de área (Sears & Zemasky, 1959).

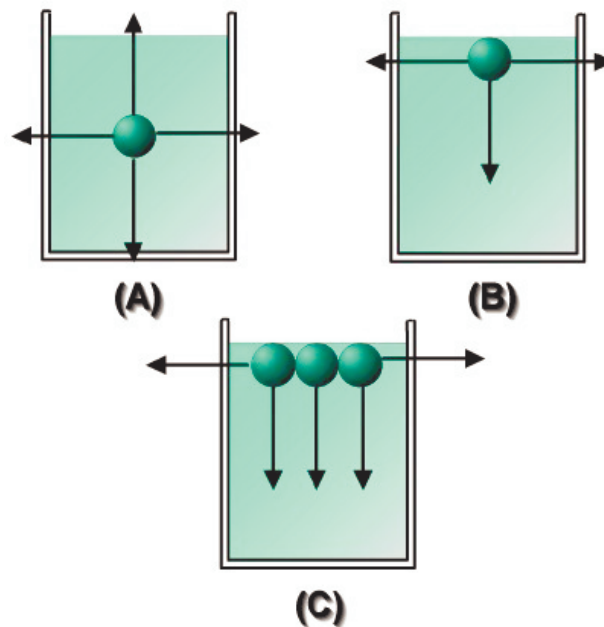


FIGURA 12 Forças de atração aplicada a uma molécula numa massa líquida. A) no centro; B) na superfície e C) formação de uma película na superfície líquida.

A propriedade principal dos anfífilos está no seu efeito sob a tensão superficial (nos sistemas ar-líquido, líquido-líquido ou líquido-sólido), baixando-as sensivelmente. É por esta razão, o poder de diminuir tensões superficiais, que as moléculas anfifílicas são também chamadas “surfactantes ou tensoativas” (do inglês “*surface-active agents*”). Estas possuem uma superfície ativa, devido à concentração de determinadas espécies em uma região interfásica: ar-água, óleo-água ou sólido-líquido (Barros, 2003).

2.5.3 O efeito hidrófobo e o processo de micelização

As moléculas anfifílicas apresentam freqüentemente um fenômeno de auto-associação por interação hidrofóbica. Suas moléculas de cadeia lipofílica suficientemente longa, tipicamente 10 ou mais grupos metileno, tendem a se arranjar de modo a minimizar a repulsão entre grupos hidrofóbicos e a água (Salager, 1993).

Quando se adicionam à água pequenas quantidades de um composto anfifílico solúvel, uma parte é dissolvida como monômeros e outra parte forma uma monocamada na interface água/ar. As moléculas da monocamada estão em equilíbrio com os monômeros no todo da solução e a cada concentração de monômero corresponde a uma tensão superficial característica (Figura 13).

Quando se satura a superfície, ocorre a formação dos agregados micelares (Rocha, 2000) (Figura 14).

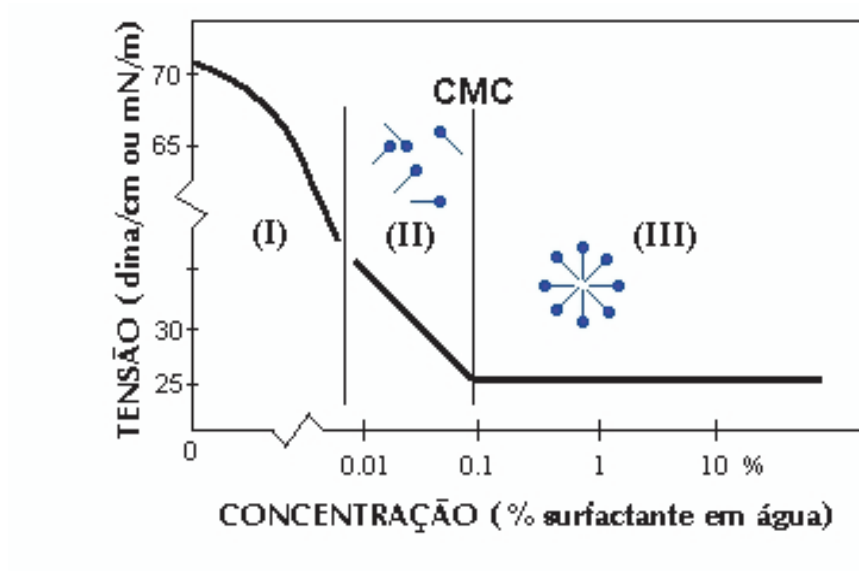


FIGURA 13 A variação da tensão superficial vs. concentração de surfactante (Salager, 1993).

Estudos precisos de condutividade indicam que podem ser formados complexos anfifílicos, sistemas organizados conhecidos por sistemas ou agregado micelar (do latim *micela* = “pequeno agregado”), que podem conter várias dezenas ou umas centenas de moléculas (Barros, 2003) (Figura 15).

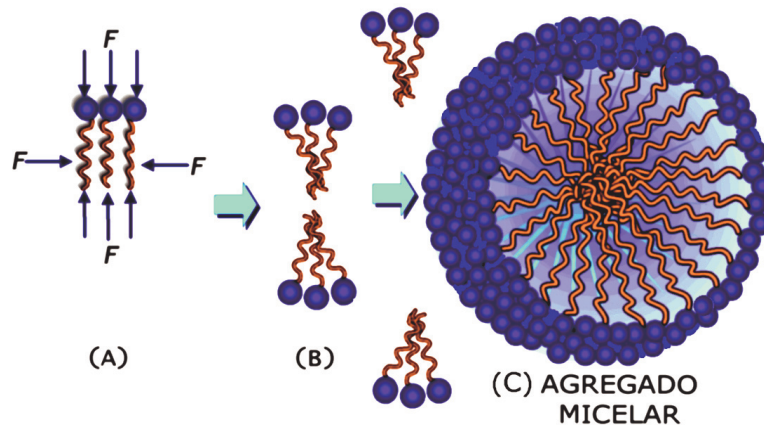


FIGURA 14 Processo de micelização: A) zona I: tendência de formar arranjos que minimizam a repulsão entre hidrófobos e a água; B) zona II: formação de agregados micelares; C) zona III: micela dispersa (não causam efeito sobre a tensão superficial da água).

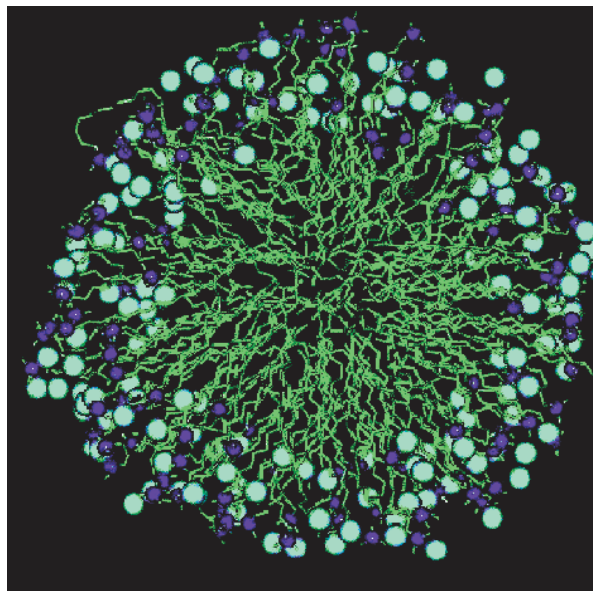


FIGURA 15 Agregado micelar (sistema de arquivos de imagens Google, Web).

2.5.4 A concentração crítica micelar (CMC)

A concentração na qual os agregados coloidais termodinamicamente estáveis são formados espontaneamente é um valor crítico conhecido por “concentração crítica micelar” (CMC) e ocorre a uma temperatura superior à temperatura crítica micelar. Esta é a menor temperatura na qual as micelas se formam (observada pela transparência instantânea adquirida por uma suspensão cristalina turva) (Rocha, 2000).

Para soluções em que a concentração de tensoativo já é a concentração crítica micelar (CMC), a temperatura na qual ocorre a transparência é designada de ponto de Krafft que, para a maioria dos tensoativos, é sinônimo da temperatura crítica micelar (isto significa que esta é, em geral, independente da concentração de tensoativos). Esta concentração, no entanto, depende da natureza do anfífilo. A temperatura crítica micelar é sensível às impurezas do tensoativo, o que explica a gama de valores que, por vezes, surge na literatura. Deve-se notar também que as temperaturas críticas micelares de tensoativos não iônicos, e dos sais biliares mais comuns, são inferiores a 0°C (Rocha, 2000).

2.5.5 Aspectos estruturais das micelas

A dissociação de um tensoativo em água provoca o surgimento de interações desfavoráveis entre a parte apolar e a água. A alta tensão interfacial água/hidrocarboneto e a estruturação da água ao redor da cadeia hidrofóbica (“hidratação hidrofóbica”) fazem com que a parte hidrofóbica dos monômeros se agrupem formando um núcleo micelar esférico. O núcleo micelar é semelhante a uma gotícula de hidrocarboneto líquido envolvido por uma camada que contém grupos iônicos e seus contra-íons não dissociados, que blindam a carga do agregado, diminuindo o potencial elétrico e a repulsão entre as cabeças dos monômeros. Em algumas micelas, de 20% a 50% dos contra-íons dos tensoativos

podem trocar de posição com os íons da solução (pois ambas se encontram em equilíbrio), formando uma dupla camada elétrica difusa, denominada camada de Gouy-Chapman, que confere à micela uma carga residual (Tanford, 1991) (Figura 16).

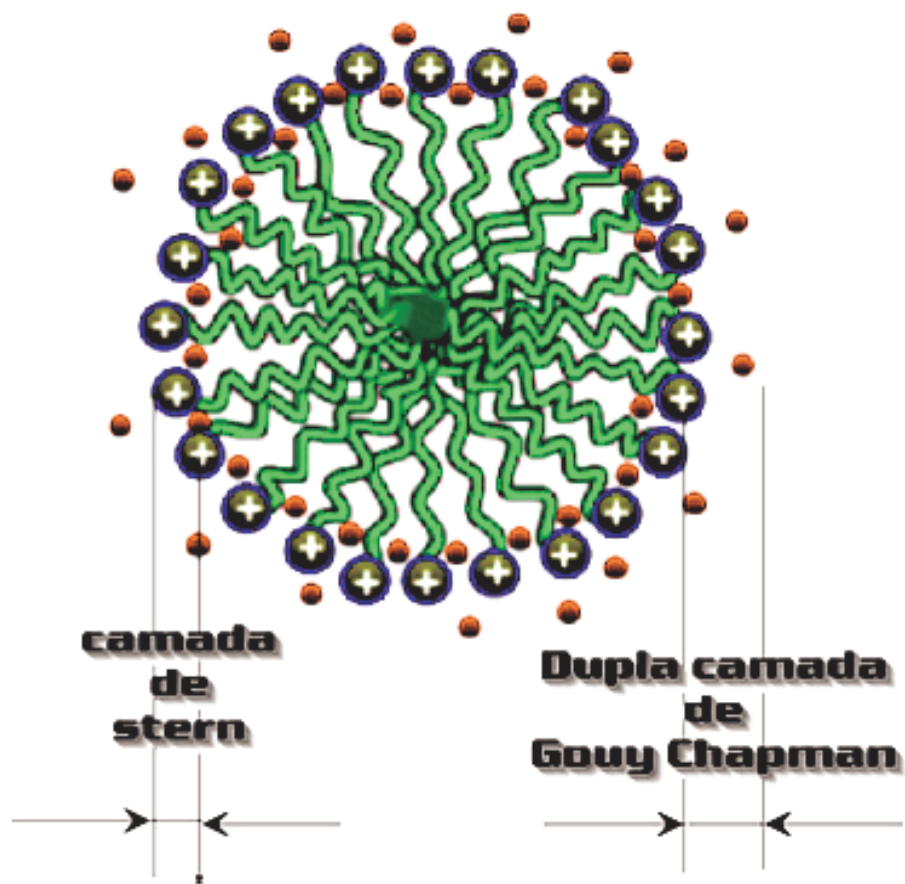


FIGURA 16 Um modelo de micela (Tanford, 1991).

2.5.6 Interações água/soluto

Como decorrência do fato de o átomo de oxigênio ser mais eletronegativo do que o átomo de hidrogênio e também da própria estrutura molecular angular da água (aproximadamente 105°), a molécula comporta-se como um forte dipolo elétrico. Portanto, a molécula de H_2O é fortemente polar, envolvendo um centro de carga negativo e um centro de carga positivo (Figura 17).

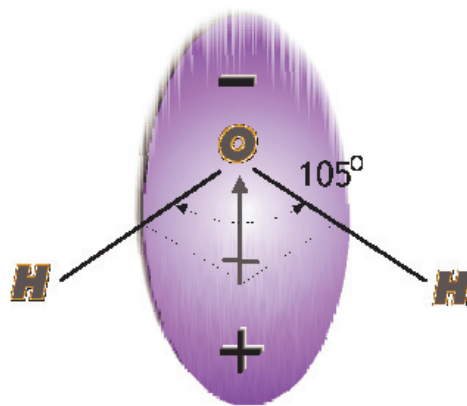


FIGURA 17 Modelo estrutural da água líquida.

A água como um dipolo elétrico, isto é, suas cargas positivas e negativas não coincidem, sofre a ação do campo elétrico formado em torno dos íons solvatados (condutores esféricos) e se orienta em torno dele (Sears & Zemanski, 1959) (Figura 18).

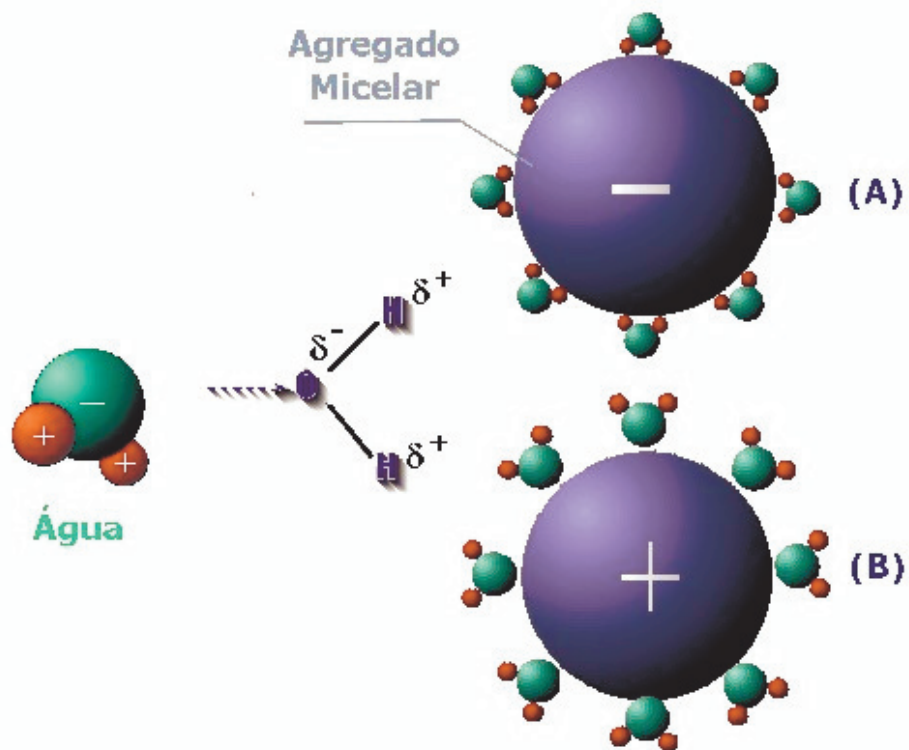


FIGURA 18 Interação da água com molécula aniônica (A) e catiônica (B) (adaptado de Carneiro, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 O uso de tensoativos

Foram usados tensoativos (Triton ® X 100, SDS – dodecil sulfato sódico, Tween ® 80 e o sal biliar ácido quenodeoxicólico), porque a água se estrutura ao redor da camada superficial (contendo grupos iônicos) dos agregados moleculares formados espontaneamente com dimensões coloidais nas soluções modelo (Figura 19). Esta estruturação das moléculas de água faz com que o número das ligações de hidrogênio por unidade de volume atinja um mínimo.

Por outro lado, mesmo que o resfriamento das soluções modelo destrua os agregados moleculares abaixo da temperatura de Krafft (temperatura mínima na qual a solubilidade das substâncias tensoativas é suficiente para mantê-las agregadas como estruturas organizadas), de modo semelhante, a água se organiza ao redor da cadeia hidrofóbica dos anfífilos em solução (monômeros ou aminoácidos ionizados), diminuindo também, porém em menor o número, as ligações de hidrogênio por unidade de volume (Figura 20). Também merece ser notado que a temperatura de Krafft dos tensoativos Triton ® X 10, Tween ® 80 e do ácido quenodeoxicólico são inferiores a 0°C.

Assim, o uso de materiais anfífilos (tensoativos e os aminoácidos histidina, valina e glicina) pode desfavorecer agregações de cristais de gelo próximos entre si, mantendo-os reduzidos em tamanho e quantidade.

O uso de anfífilos ainda é justificado pelo fato desses agentes serem adsorvidos nas interfaces o que, provavelmente, inibe a taxa de transferência de massa d'água para os germes cristalinos, impedindo-os de crescer e, em alguns casos, até mesmo paralisando seu crescimento. Por isso, pode-se inferir que o uso de anfífilos formará sementes cristalinas menores e mais compactas, que

induzirão o desenvolvimento de estruturas cristalinas também menores, menos protudentes e, portanto, mais esféricas.

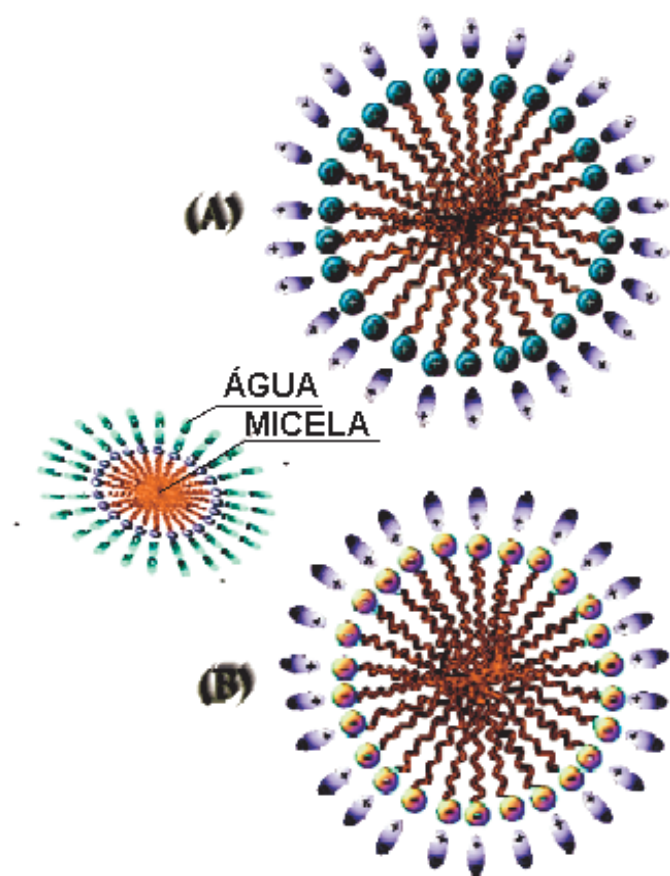


FIGURA 19 Interação da água com agregado molecular catiônico (A) e aniônico(B).

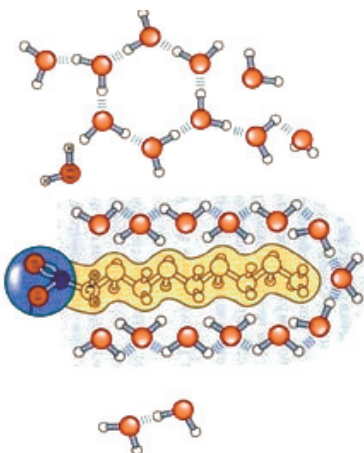


FIGURA 20 Hidratação hidrofóbica na cauda do tensoativo (Banco de dados da UnB).

3.2 O uso de moléculas simples com algum grau de simetria

Foram testadas, como estruturantes, moléculas com muitas possibilidades de reação com a água e em regiões geometricamente precisas e bem distribuídas no espaço. Isto aumenta as possibilidades de formar-se um arranjo atômico na forma esférica que resulte numa semente cristalina também esférica, com oportunidade de um crescimento simétrico.

3.3 A influência da concentração

Foram testadas diversas concentrações a fim de proporcionar alterações na estrutura da solução aquosa. Estas alterações, que ocorrem devido à ligação da água às superfícies das moléculas e íons dissolvidos (Figura 21), alteram a viscosidade e o coeficiente de difusão da água e ambas alteram a velocidade de crescimento do cristal – um fator que influencia na forma geral do cristal.

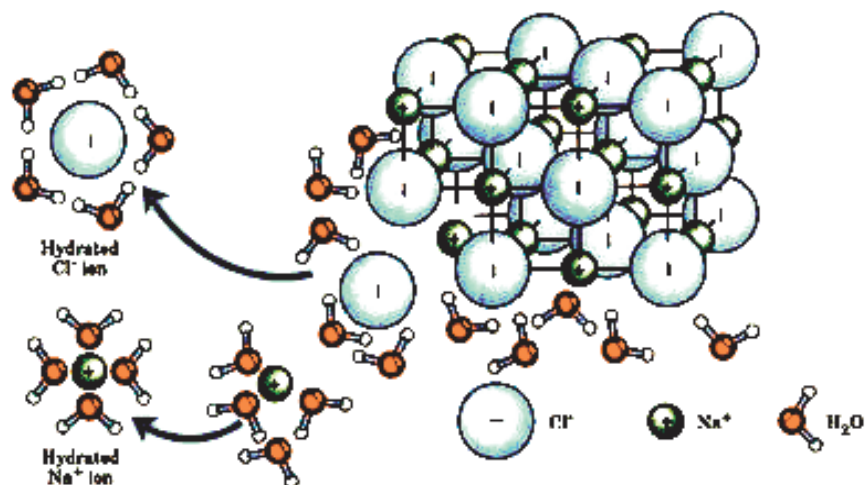


FIGURA 21 Estruturação da água ao redor dos íons e moléculas dissolvidas (Banco de dados da UnB).

Nos experimentos envolvendo tensoativos, é importante salientar que todas as concentrações testadas estavam acima da concentração crítica micelar (CMC), para formar, dinamicamente e espontaneamente, agregados moleculares na zona de temperatura acima da temperatura crítica micelar.

3.4 Preparação e congelamento de soluções modelo

O resultado completo com todas as substâncias pesquisadas em soluções aquosas, suas concentrações e os tipos de estruturas cristalinas resultantes (Figura 1A, página 95) encontra-se na Tabela 1A no anexo A. Entretanto, uma parte (Tabela 3), com as substâncias cujo resultado final alcançou o objetivo pretendido de modificar a estrutura cristalina habitual da água e induzir à formação de estruturas arredondadas será, também, aqui arregimentada por uma questão prática.

TABELA 3 Tabela com substâncias empregadas nas soluções-modelo.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES
Valina (Merck)	1,0%; 1,5%; 2,0%; 3,0% e 5%
Histidina (Merck)	0,15% e 0,20%
Glicina (Synth)	7%; 10%; 15% e 30%
Floroglucina (Merck)	0,15%; 0,20%; 0,50%; 1,0%; 1,5% e 3,0%
Sulfato de Alumínio e Amônio (Quimibrás)	0,15%; 0,25%; 0,50%; 1,0%; 2,0% e 3,0%
SDS (dodecil sulfato sódico) (Merck)	0,5%; 1,0% e 2,0%
Sal Biliar (ácido quenodeoxicólico) (Merck)	0,25%; 1,0%; 1,5% e 5,0%
Triton [®] X-100 (Merck)	0,25%; 0,5%; 1,0% e 5,0%
Tween [®] 80 (Merck)	1,0% e 2,0%

As Figuras a seguir, 22 a 30, ilustram a natureza químico-estrutural das substâncias que induziram estruturas arredondadas

Valina: $C_5H_{11}NO_2$; $M= 117,15$ g/mol

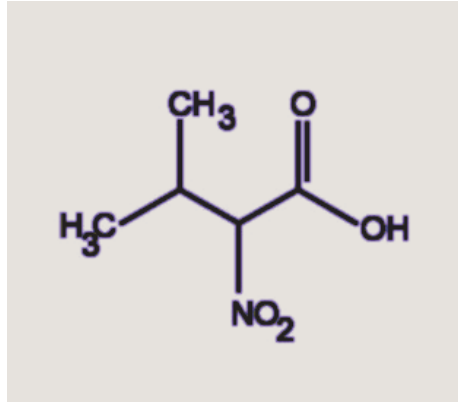


FIGURA 22 Fórmula estrutural da valina

L-histidina: $C_6H_9N_3O_2$; $M= 155,16$ g/mol

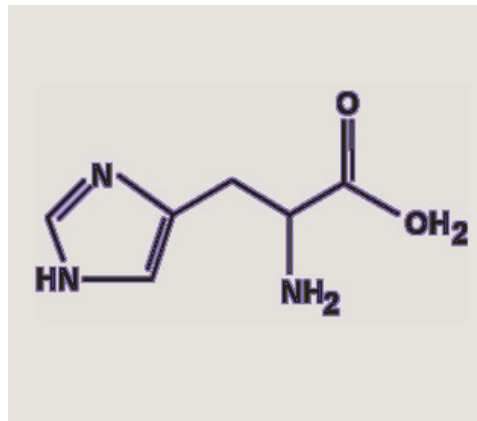


FIGURA 23 Fórmula estrutural da L-histidina.

Glicina: $C_2H_5NO_2$; $M= 75,07 \text{ g/mol}$

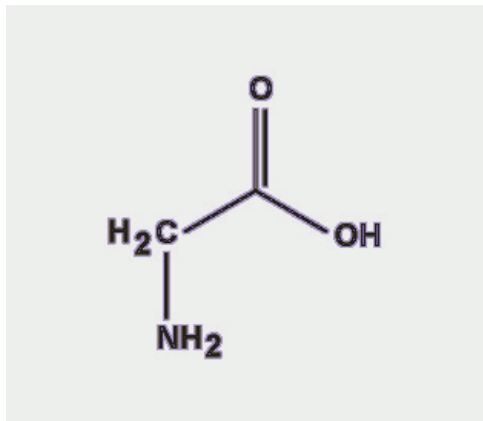


FIGURA 24 Fórmula estrutural da glicina.

Floroglucina: $C_6H_6O_3$; $M= 126,11 \text{ g/mol}$

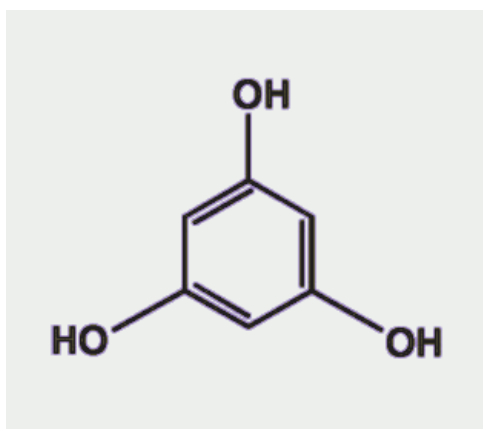


FIGURA 25 Fórmula estrutural da floroglucina.

SDS (Dodecilsulfato de sódio): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$
M= 288,38 g/mol

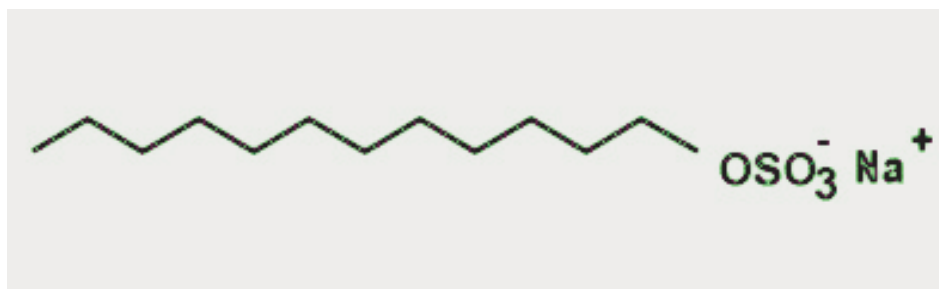


FIGURA 26 Fórmula estrutural do SDS.

Triton[®] X 100 (Polietilenoglicol octilfenil): $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{O}_{11}$
M=486,34 g/mol

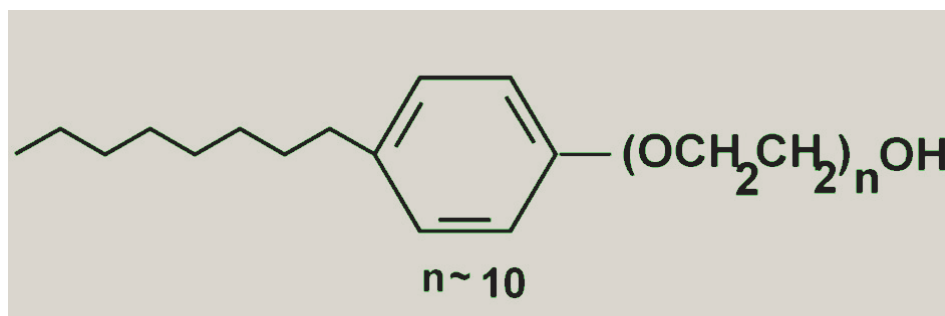


FIGURA 27 Fórmula estrutural do Triton[®] X 100.

Sal biliar (ácido quenodeoxicólico): $C_{25}H_{41}O_4$
 $M=405,41$ g/mol

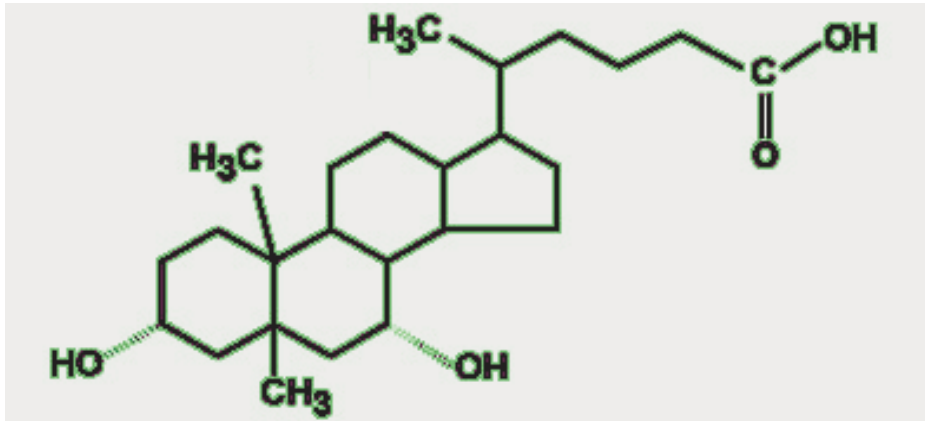


FIGURA 28 Fórmula estrutural do ácido quenodeoxicólico.

Tween ® 80: $C_{64}H_{114}O_{26}$; $M=1310$ g/mol

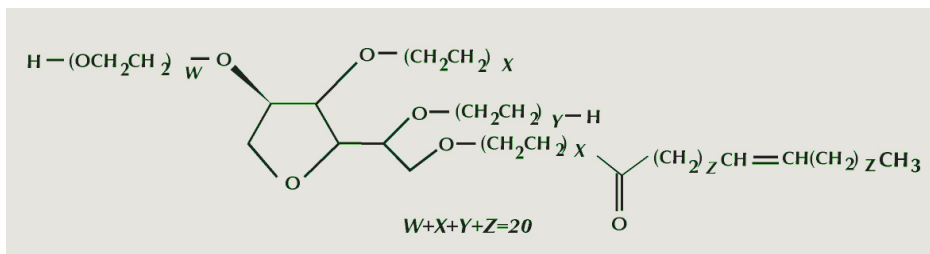


FIGURA 29 Fórmula estrutural do Tween ® 80.

Sulfato de alumínio e amônia, M=237,13g/mol

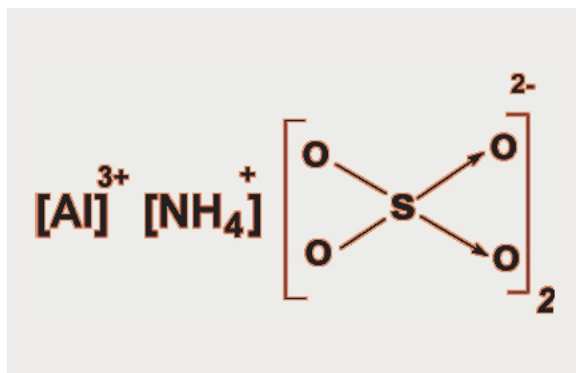


FIGURA 30 Fórmula estrutural do sulfato de alumínio e amônia.

Todas as soluções modelo foram preparadas diluindo-se diversas substâncias em água destilada em diferentes concentrações (especificadas na Tabela 1A no Anexo A). Após serem homogeneizadas, foram distribuídos 3,5 mL dessas soluções em placas de Petri (250 mm Ø por 150 mm *h*) devidamente etiquetadas e, em seguida, tampadas. Alguns minutos após o seu preparo, as amostras foram levadas ao congelador (Metal Frio, São Paulo, Brasil), onde foram deixadas por mais de 2 horas sendo congeladas (em ar estático), atingindo uma temperatura aproximada de $-20^{\circ}C$.

3.5 Microscopia óptica

Depois de congeladas, as amostras foram destampadas e, à temperatura ambiente, levadas para o microscópio óptico de contraste de fase (Nikon optiphot phase contrast 1.25, Japão), munido de um sistema de câmera automático (Nikon

FX-35A) e filtro polarizador (Olympus U-Pot, Japão). As imagens das estruturas das cristalinas (ampliadas 400 vezes) foram observadas (Figura 31). Todavia, aproximadamente 30 segundos após terem sido removidas do congelador, as amostras iniciavam o processo de fusão devido à temperatura do ambiente. Sendo assim, nem todas amostras reuniram condições que permitissem um registro fotográfico verdadeiro, mas as que reuniram foram fotomicrografadas.



FIGURA 31 Fluxograma do congelamento e microscopia óptica (seguinte ao preparo das soluções)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estruturação dos cristais de gelo na água destilada

Os cristais micrografados na água destilada (-20°C) congelada apresentam uma estruturação hexagonal. Não apresentam, entretanto, a forma sempre regular com ângulos congruentes. Por vezes, apresentam algumas distorções comuns em todos os cristais. No entanto, são mantidos, na maioria, os vértices com ângulos de 120° (Figura 32).

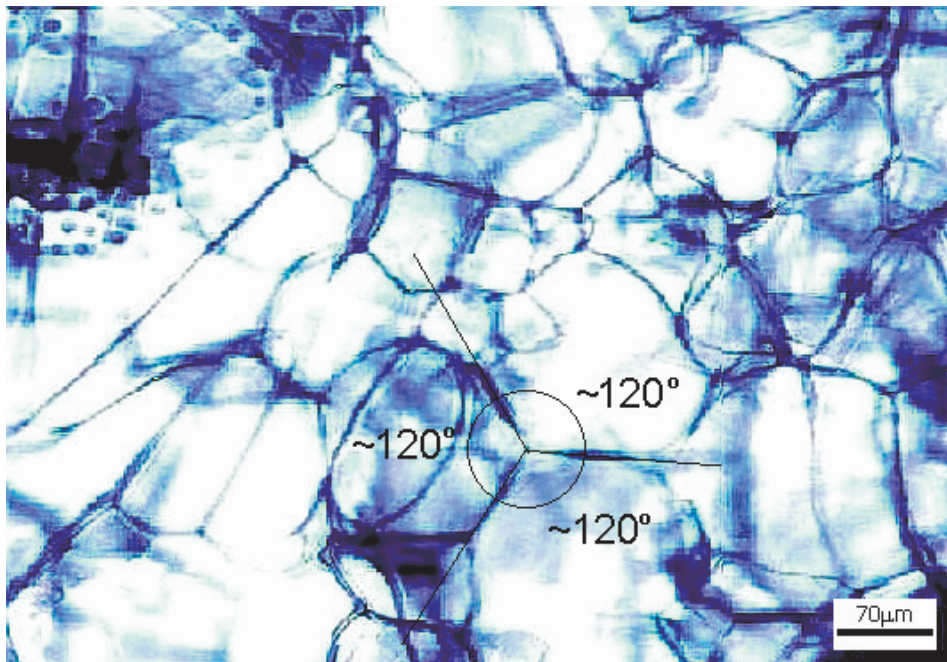


FIGURA 32 Estruturação dos cristais de gelo na água destilada

4.2 Os desvios da simetria hexagonal

Sob a influência de algumas substâncias, os cristais de gelo não cristalizam na forma hexagonal prismática, mas em forma de feixes radiais (Figura 1A do anexo).

Sob a influência do dodecil sulfato sódico (SDS), em determinadas concentrações, nota-se que a estrutura resultante pode ter sua origem em núcleos diferentes, que cresceram simultaneamente, todos em forma de agulha. Mas alguns crescimentos radiados estão completamente preenchidos de modo a originar uma forma esférica (ou micelar, como é chamada).

Algumas soluções modelo, contendo a floroglucina, sulfato de alumínio e amônio, histidina, valina ou glicina mostram que a inteira estrutura micelar se originou de um núcleo individual, que se espalhou pelas extremidades formando feixes. Nota-se também que os crescimentos subsequentes conduziram a uma armação esférica.

Existem duas possíveis razões para os desvios da simetria hexagonal e a formação das estruturas micelares na camada superficial.

A primeira é que o calor de cristalização é absorvido mais rápido e intensamente pelo ar. Assim, é natural que a nucleação se inicie na superfície, onde o congelamento é relativamente rápido.

A segunda é que as sementes cristalinas devem possuir extremidades alternando-se com faces planas (ou composta por muitas extremidades aguçadas). As extremidades são alimentadas mais abundantemente que as faces planas, onde a difusão de material não é convergente (Figura 33). A diferença natural entre as velocidades de crescimento nas extremidades e nas faces é exagerada pelo processo de difusão, que é evidentemente mais convergente em torno das extremidades; daí a formação de agulhas, que crescem alongadas, às vezes ramificadas.



FIGURA 33 Um exemplo de difusão convergente de material em torno das extremidades e a difusão não convergente nas faces.

O crescimento dos cristais de gelo que se segue em profundidade é mais lento, porque depende da diferença do gradiente de temperatura entre o interior e a superfície da solução. O calor de cristalização tem que ser transferido através das camadas sólidas de gelo até a superfície e, finalmente, ser removido pelo ar.

Um maior tempo para uma melhor disposição estrutural seria a justificativa para a observação de que, nas camadas inferiores, os cristais são mais bem formados que na superfície.

Nas camadas superiores, onde é maior a velocidade de arranjo das moléculas, a possibilidade de ocorrer desvios do ideal cristalino é apreciavelmente (às vezes, consideravelmente) maior que no seio da solução e está mais sujeito às leis do acaso.

Nas camadas inferiores, onde as concentrações são menores, é muito provável que um cristal inicie seu crescimento longe de outro já formado, podendo, assim, crescer livremente seguindo a simetria hexagonal. Quando ocorre o contrário, parte do novo cristal (fronteiriço ao antigo) cresce mais lentamente

que do que o resto, decrescendo ainda mais, à medida que se aproxima do cristal formado primeiramente, porque a solução que o circula se tornou mais pobre.

4.3 Estruturas micelares com eixos radiais curvos

A região à volta do cristal é menos densa porque o material dissolvido na solução precipitou-se depositando sobre a estrutura cristalina micelar. Mas, por vezes, a densidade no centro micelar é tão alta que pode fazê-lo ir ao fundo, curvando o espaço circundante. Alguns monocristais adjacentes seriam atraídos pela superfície curva, aumentando ainda mais, por peso, a depressão. Esse processo somente seria interrompido quando barrado por outras estruturas cristalinas (iguais ou não) (Figura 34).

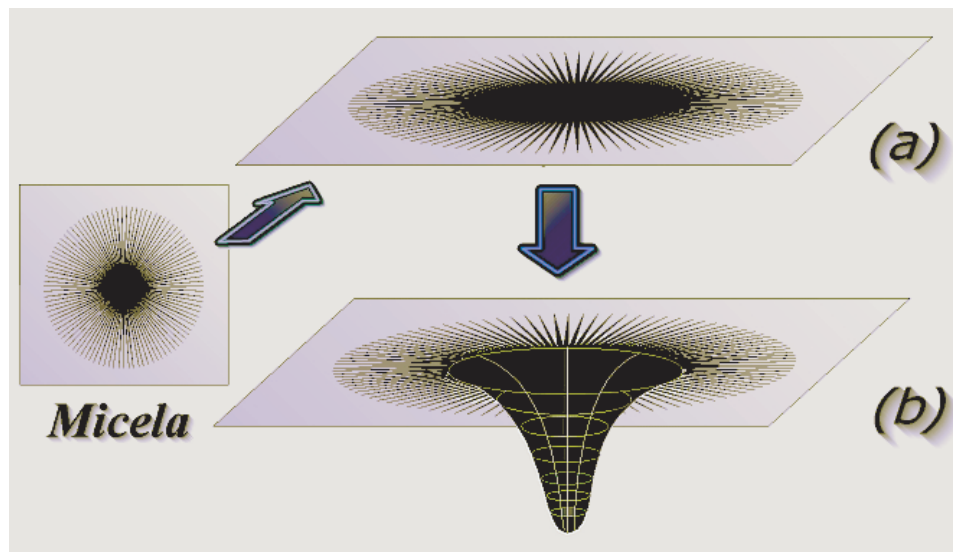


FIGURA 34 Ilustração mostrando que centros micelares muito densos (a) podem deformar a região circundante, curvando o espaço e formar uma estrutura micelar deformada (b) em forma de funil.

4.4 Estruturação do gelo na presença de tensoativos com altos pesos moleculares

4.4.1 A influência do dodecil sulfato sódico (SDS)

O dodecil sulfato sódico (SDS) é um tensoativo aniônico, de natureza anfifílica, com boa solubilidade em água/20° (100g/L). Seus monômeros formam-se espontaneamente, após o preparo das soluções modelo, estruturas micélicas de grandes proporções e peso molecular médio entre 2.000 e 6.000 (g/mol), por agregado (Barros, 2003). Ainda assim, nas temperaturas abaixo de 0°C, não permanecem como agregados micelares em solução.

Sob a influência do SDS a 2%, formam-se estruturas micelares que se afunilam (Figura 34). No entanto, não crescem como um geminado. O conjunto estrutural que constitui o cristal micelar arredondado não é um cristal único, mas formado por muitas agulhas, finas e lábeis, e induzidas pelas moléculas do dodecil sulfato sódico, cresceram individualmente de seus nucléolos.

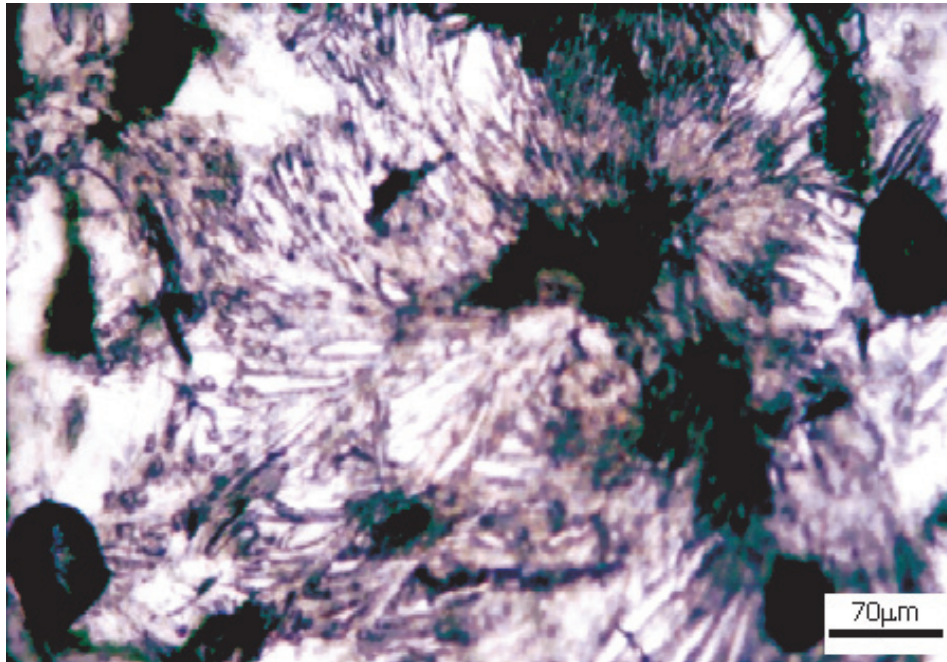


FIGURA 35 Estruturação dos cristais de gelo em solução aquosa contendo SDS a 2%.

Sob a influência do SDS a 1% não se observa a formação de estruturas micelares, mas se percebe uma tendência à sua formação (Figura 36). Várias agulhas apresentam crescimentos radiados, numa nítida tendência ao crescimento esférico.

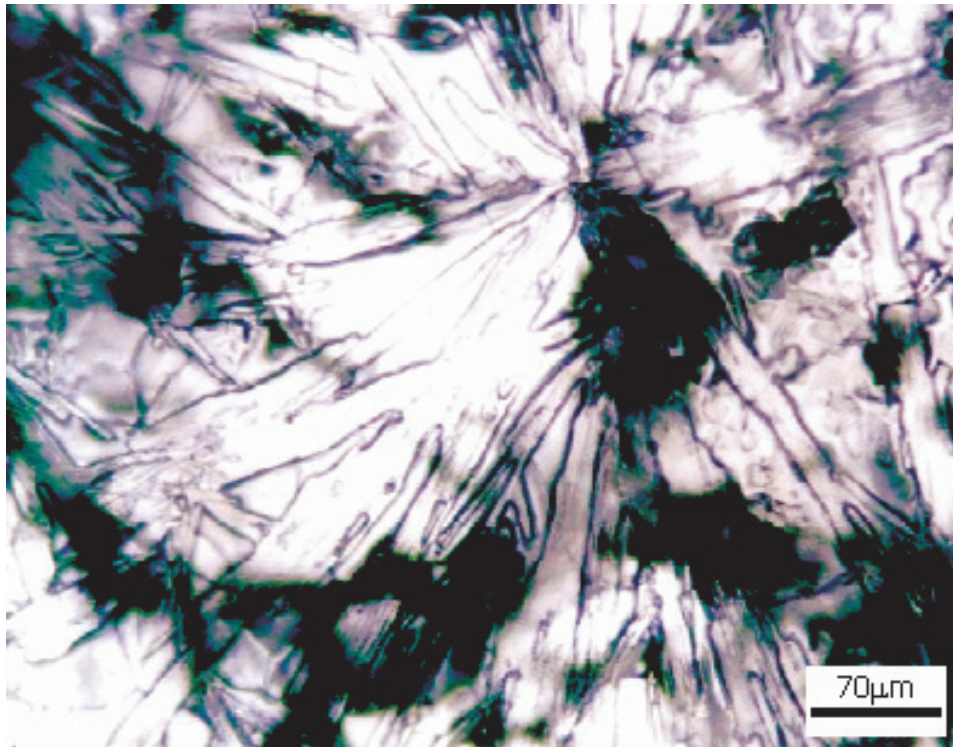


FIGURA 36 Estruturação dos cristais de gelo em solução aquosa contendo SDS a 1%.

4.4.2 A influência do Triton ® X 100

O Triton X 100 é um composto anfifílico solúvel em água, isto é, um agente tensoativo não iônico. Possui uma porção hidrofílica constituída por uma cadeia de polioxietileno com um número médio de 10 unidades de óxido de etileno e com a porção hidrofóbica formada pelo grupo p-t-octilfenil.

Nas moléculas do Triton ® X 100, os átomos de oxigênio da porção hidrofílica (poliéter) tornam-nas solúveis em água pela possibilidade de formação de ligações de hidrogênio.

Os tensoativos não iônicos, como o Triton® X 100, em solução aquosa associam-se na forma de micela (numa média de 140 moléculas anfifílicas por micela, segundo Helenius & Simons, 1975). Entretanto, não se cristalizam como um agregado micelar em temperaturas abaixo de 0°C.

Mesmo com possibilidade de fazer ligações de hidrogênio é pouco provável que as moléculas do Triton® X 100 tenham se estruturado na grade cristalina do gelo. Se isso acontecesse, haveria grandes desvios da simetria hexagonal, porque a molécula do Triton® X 100 é muito maior que a da água. Além disso, possuem uma estrutura rígida na “cauda” (diferentemente dos tensoativos iônicos, com uma “cauda” flexível, segundo Rocha, 2000). As distorções implicariam em grandes faces que cresceriam bem menos que as demais, por possuírem menores velocidades de translação e assim, pelo princípio da sobrevivência, teriam poucas chances de continuar a crescer.

Contudo, não foi isso o que se observou, ao contrário: na maioria, dos cristais, a simetria hexagonal foi mantida e nenhum abandonou a forma poliédrica e desenvolveu braços. De fato, houve alguns desvios induzidos pelo Triton® X 100 e, muito possivelmente, porque seus monômeros alteraram a estruturação da água em alguns sítios da solução. Porém, foram em número reduzidos e raramente expressivos.

Diferentemente dos cristais formadas na água destilada congelada, é interessante observar que os cristais formados sob a influência do Triton® X 100 em solução a 0,25% possuem, na sua maioria, as arestas arredondadas e suas faces superiores curvas. Isso pode advir do fato do Triton® X 100 impedir a difusão de material para os núcleos cristalinos e diminuí-los em tamanho (Figura 37). Precisamente, é o que se confere quando se concentra a solução para 5% (Figura 38).

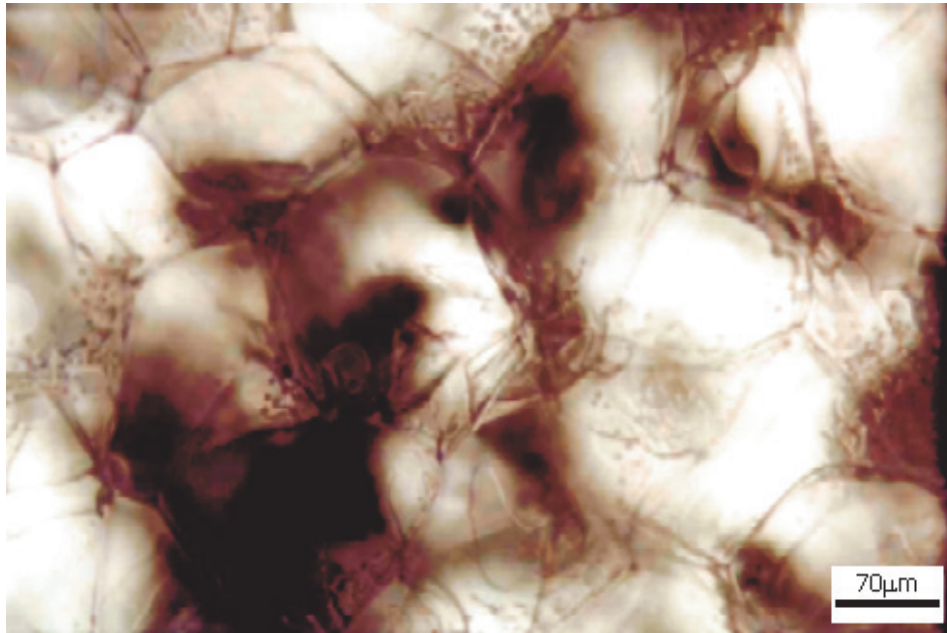


FIGURA 37 Estruturação dos cristais de gelo em solução aquosa contendo o tensoativo Triton X[®] 100 a 0,25%.

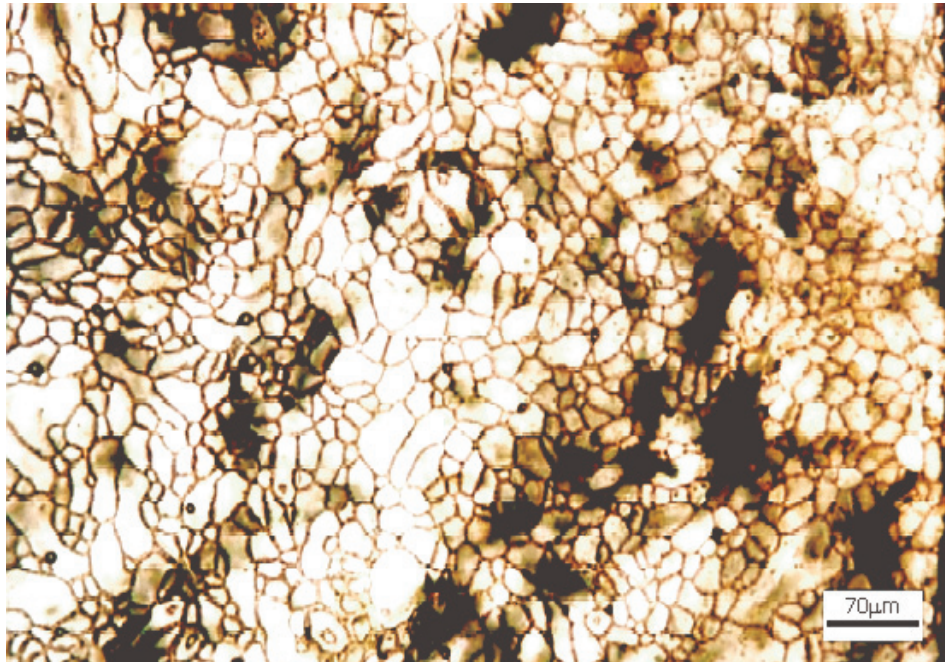


FIGURA 38 Estruturação dos cristais de gelo em solução aquosa contendo o tensoativo Triton X[®] 100 a 5%.

4.4.3 A influência do ácido quenodeoxicólico

O ácido quenodeoxicólico, um sal biliar, possui uma molécula anfifílica constituída por sistema de anéis fundidos. Ele contém três anéis com seis e um com cinco átomos de carbono. Este sistema de anéis confere a essa porção do ácido quenodeoxicólico uma alta afinidade com a água. Sendo um tensoativo e aniônico, possui uma tendência a formar micela, contudo é possível que essa tendência, em formar sistemas moleculares organizados, seja inferiorizada pelo fato de sua cadeia carbônica hidrofóbica ser curta.

As Figuras 39 e 40 mostram que, à concentração 1% de diluição, podemos observar o tipo de empilhamento dos cristais de gelo em zig-zag.

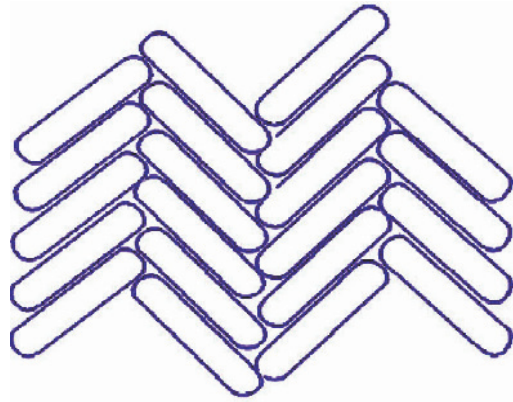


FIGURA 39 Esquema de empilhamento sofrido pelos cristais de gelo sob a influência do ácido quenodeoxicólico a 1%.

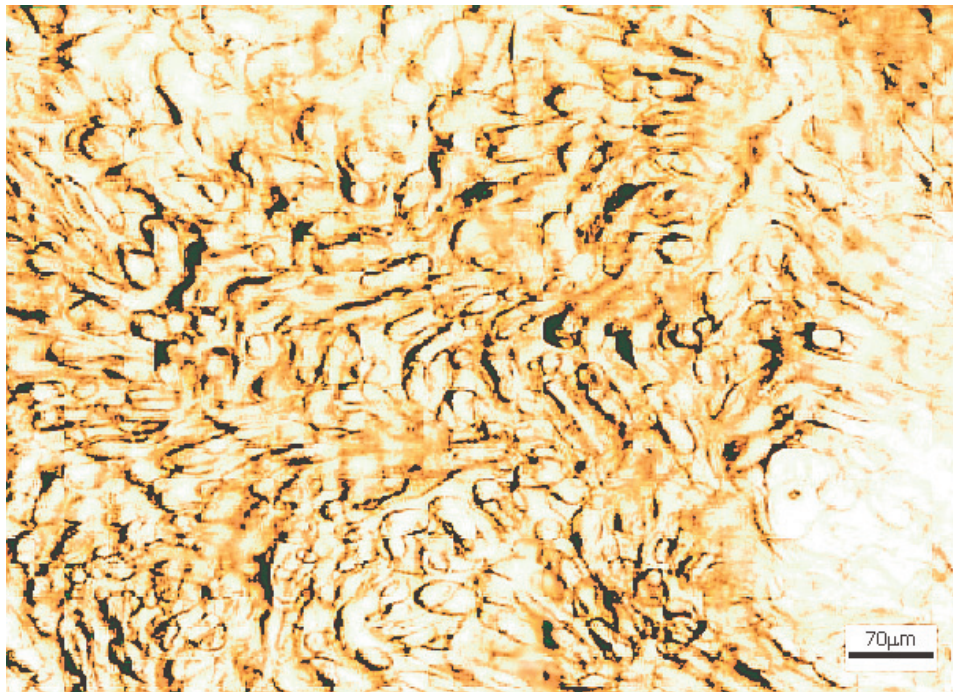


FIGURA 40 Estruturação sob a influência do ácido quenodeoxicólico a 1%.

As superfícies dos cristais deste tipo não são compactas, mas possuem depressões. Nessas depressões, novas moléculas podem se depositar, formando novas depressões e, dessa forma, o crescimento continua (Figura 40).

O crescimento é mais rápido nas faces superiores e inferiores do que nas laterais, porque nelas não existem vazios com forças suficientes para conservar as moléculas.

Na maioria dos cristais complexos, especialmente aqueles constituídos de um sistema molecular irregular, nenhuma das faces será compactas no sentido de possuir uma superfície sem vazios. Da adição de moléculas que só preenchem vazios resultam apenas novas saliências e, assim, nenhuma superfície a qualquer momento formada será realmente compacta.

De fato, observando-se fórmula estrutural do ácido quenodeoxicólico (Figura 28), percebe-se uma complexidade estrutural. Possivelmente na sua interação com a água, os sistemas cristalinos resultantes serão igualmente complexos. Isso explicaria a formação de superfícies não compactas no congelamento das soluções-modelo a 1%.

A complexa variedade de formas cristalinas observadas em soluções fortes deve-se, em parte, à possibilidade dos monocristais de gelo de se imobilizarem numa variedade de arranjos cristalinos. Isso revela que existe uma dificuldade de cristalização quando se concentram as soluções com tensoativos. Foi o que ocorreu com o sal biliar, ácido quenodeoxicólico (Figuras 41 e 42).

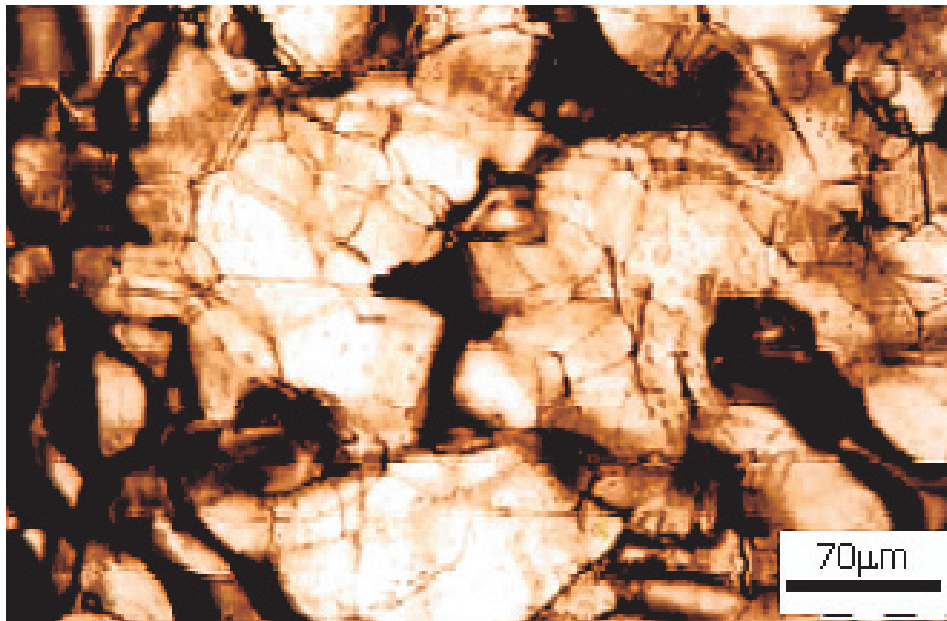


FIGURA 41 Estruturação sob a influência do ácido quenodeoxicólico a 1,5%.

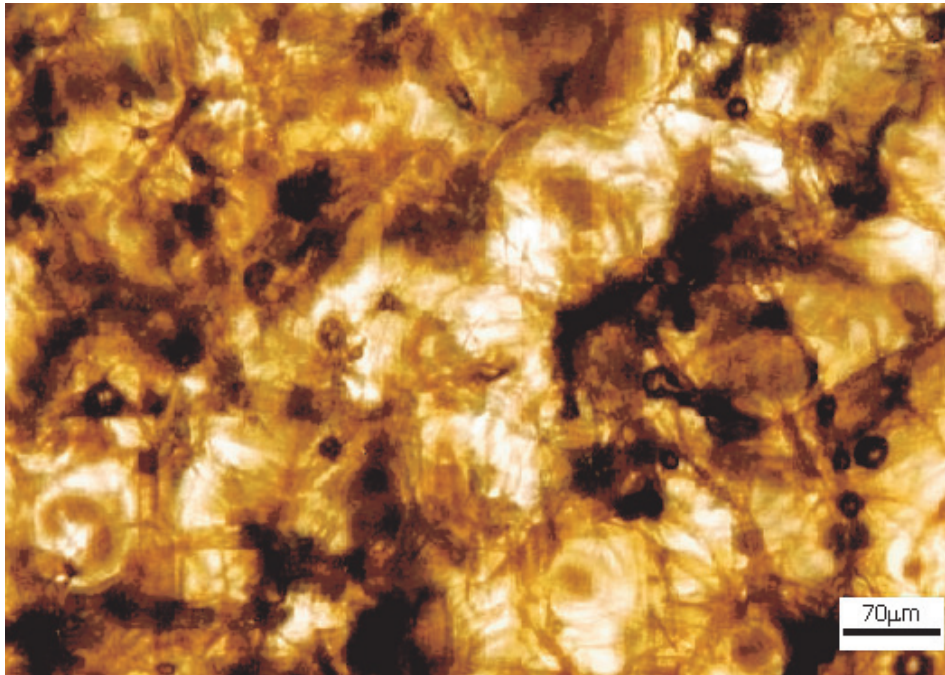


FIGURA 42 Estruturação sob a influência do ácido quenodeoxicólico a 5%.

4.4.4 A influência de Tween ® 80

Para formar os cristais, as moléculas têm que se arranjar ordenadamente, seguindo o esquema retilíneo. No entanto, o líquido formado com concentrações de anfifílicos muito acima da CMC é mais viscoso e prejudica a forma cristalina da água. Certamente, os cristais de gelo crescem com dificuldade e se desviam do arranjo hexagonal habitual.

No caso do Tween ® 80 isto deve acontecer porque esta substância possui uma molécula extremamente longa em cadeia e no líquido deve estar emaranhada. Para formar os cristais, as moléculas de água têm que se

endireitarem de alguma maneira e se arranjar ordenadamente seguindo um esquema cristalino.

O Tween ® 80, a 1% e a 2%, dificulta a ordenação correta da água que não consegue seguir a simetria hexagonal completamente. Isso pode ser observada na Figura 43, na qual água se ordena formando regiões cristalinas, mostrando muitos desvios da simetria hexagonal.

Um aumento na concentração para 2% (Figura 44) é acompanhado por um aumento em número das distorções da simetria hexagonal. Os cristais assumem uma forma poliédrica irregular, porém, bem menos protudente e com muitas arestas arredondadas.

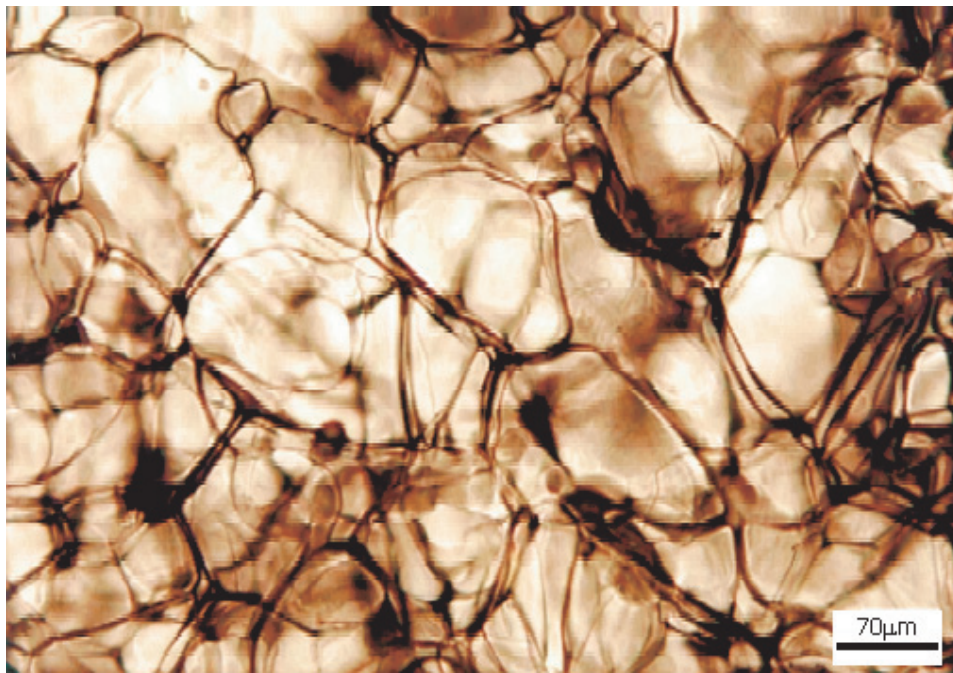


FIGURA 43 Estruturação sob a influência do Tween ® 80 a 1%.

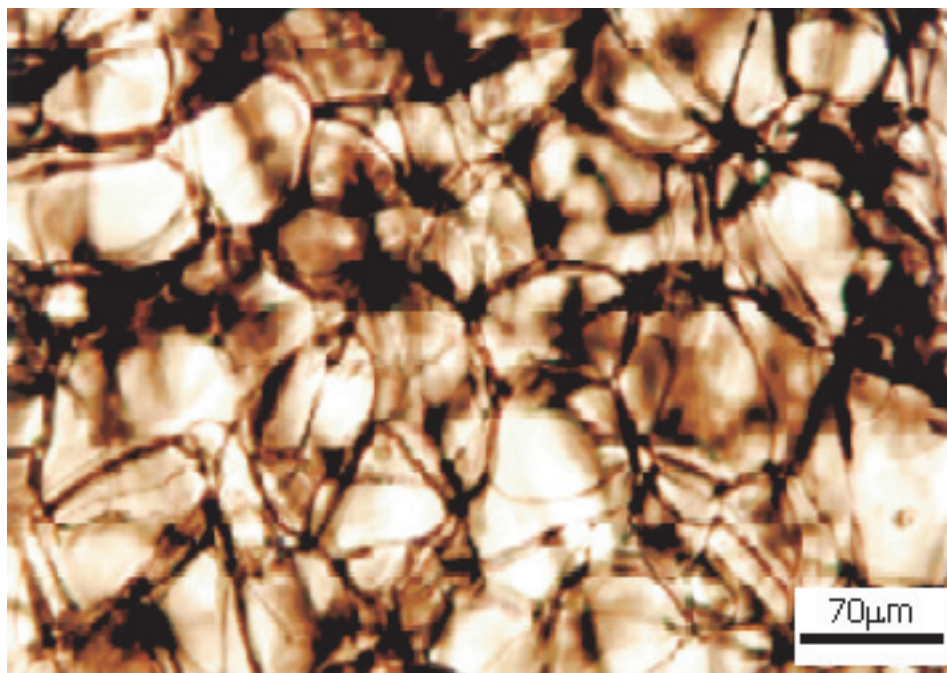


FIGURA 44 Estruturação sob a influência do Tween ® 80 a 2%.

4.5 Estruturação no gelo na presença de aminoácidos

A molécula de um aminoácido tem caráter neutro, mas, na água, sofre ionização; disso resulta um “sal interno” ou “*zwitterion*”, com comportamento anfifílico.

Existem dois tipos de interação da água com o sal interno: as ligações em ponte com o radical eletropositivo NH_3^+ , a agregação da água ao redor do radical eletronegativo OH^- e a hidratação hidrofóbica ao redor dos grupos hidrofóbicos. Esses grupos afetam a solubilidade dos aminoácidos na água: na valina diminui, na histidina aumenta e na glicina há uma pequena influência na sua solubilidade e a redução é medíocre (Figura 45).

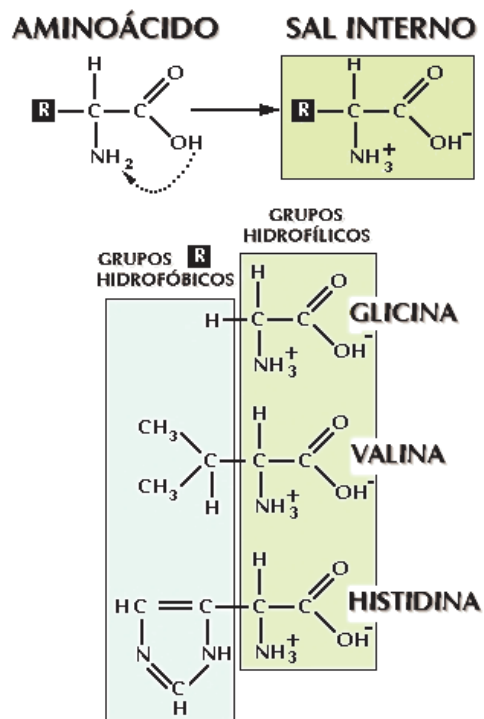


FIGURA 45 Fórmula estrutural do sal interno da glicina, valina e histidina e seus respectivos grupos hidrofóbicos.

É possível que o comportamento anfifílico desses compostos lhes confirmem a disposição de se adsorverem sobre superfícies sólidas, ou cristais de gelo, dificultando sua cristalização.

A água se arranja de alguma maneira sob a influência dos aminoácidos, mas ocorrem distorções. Os desvios da simetria hexagonal devem ocorrer no sentido de satisfazer as atrações locais dos campos elétricos nos grupos hidrofílicos. Isso deve ser feito com a água circundando os radicais positivos e negativos, de modo a gerar os crescimentos filamentosos que formaram as estruturas micelares.

4.5.1 A influência da valina

As Figuras 46 a 49 mostram o comportamento da valina na estruturação dos cristais de gelo.

Os cristais estruturados pela valina apresentam uma forma poliédrica bem definida a 1% nas camadas inferiores (Figura 46).



FIGURA 46 Estruturação sob a influência da valina a 1%.

As velocidades de crescimento das faces dependem de detalhes no arranjo das moléculas e das forças de atração entre as faces e as moléculas líquidas que se aproximam.

Comos os demais aminoácidos, a molécula da valina mostra um lado mais atrativo que os outros e isso pode revelar o por que o sistema cristalino, formado pela água e a valina, favorece o crescimento em algumas faces do cristal (Figura 47 e 48).

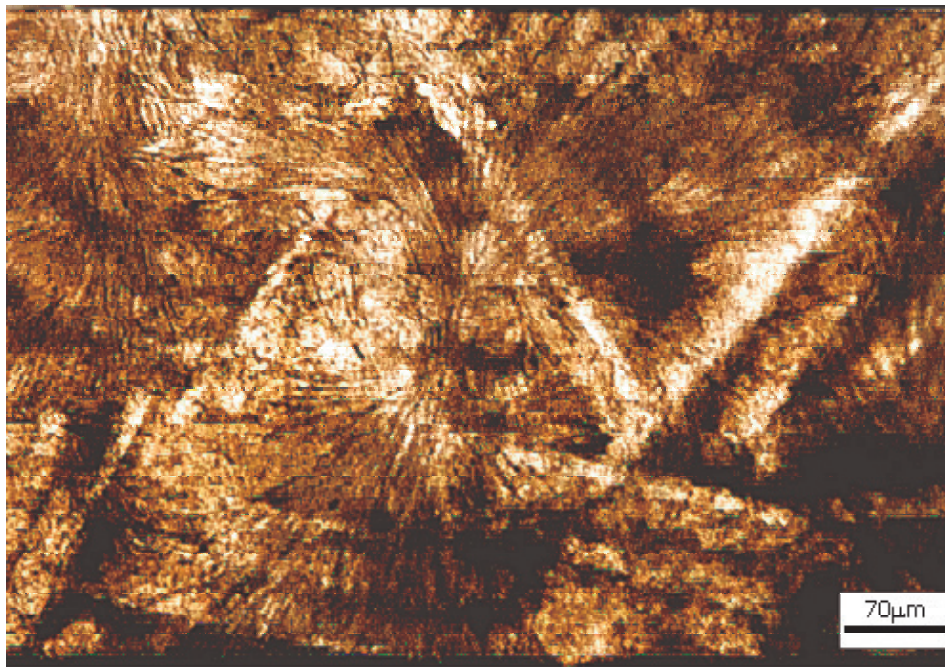


FIGURA 47 Estruturação sob a influência da valina a 1,5%.

Os cristais se alongam ainda mais em torno de um eixo, nas camadas inferiores, à medida que se aumenta a concentração do soluto na solução (Figura 48).



FIGURA 48 Estruturação sob a influência da valina a 3%

Nas condições da superfície, sob a influência da valina, o cristal não cresce de uma única semente cristalina, mas é orientado a crescer concentricamente em todas as direções, constituindo um agregado radial esférico (Figura 49).

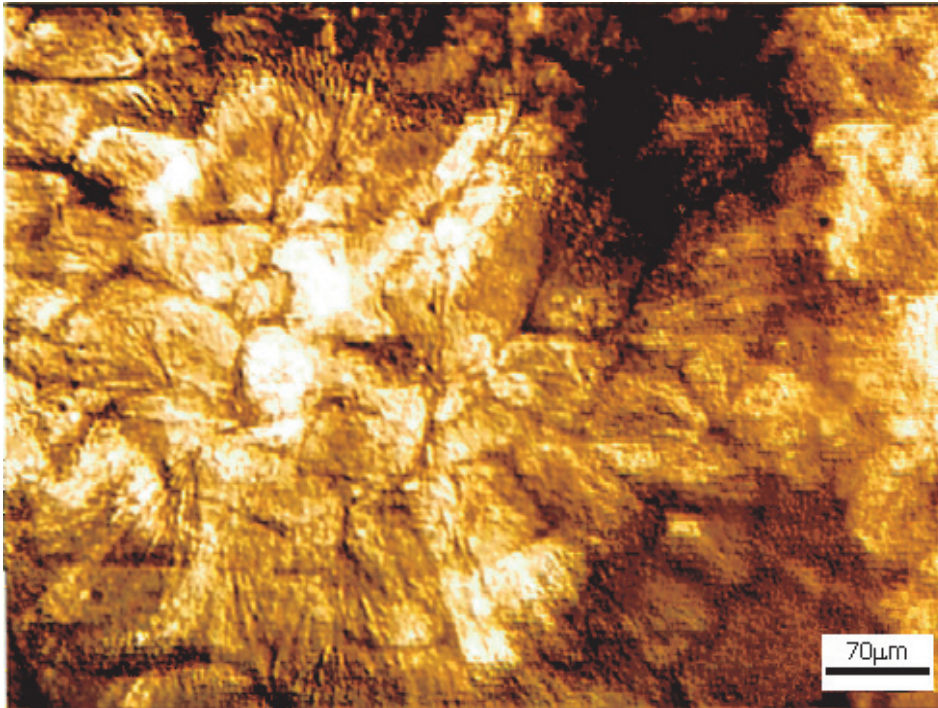


FIGURA 49 Estruturação sob a influência da valina a 5%.

A microfotografia da Figura 49 é extremamente significativa porque mostra o centro da arquitetura micelar. Nela é possível ver que alguns cristais hexagonais apresentam superfícies irregulares, com muitas e pequenas protuberâncias, cujo contorno mostra ressaltos de onde partem finas agulhas.

É muito provável que esses ressaltos tenham sido provocados pela valina que, por ser um anfifilo, se adsorveu às superfícies sólidas dos pequenos e arredondadas sistema cristalino (contituidos por um reduzido conjunto de cristais de gelo poliédricos).

Os ressaltos, resultantes da fixação da valina e da hidratação hidrofóbica em torno do grupo apolar desse anfifilo, produziram extremidades; nelas a difusão convergente de massa d'água gerou o feixe de agulhas que, por fim, deu forma a disposição micelar esférica.

Esse deve ser o processo pelo qual se formam todas as estruturas micélicas em soluções aquosas com moléculas anfifílicas.

4.5.2 A influência da histidina

Nas Figuras 50 e 51 vêem-se cristais de gelo formados sob a influência da histidina.

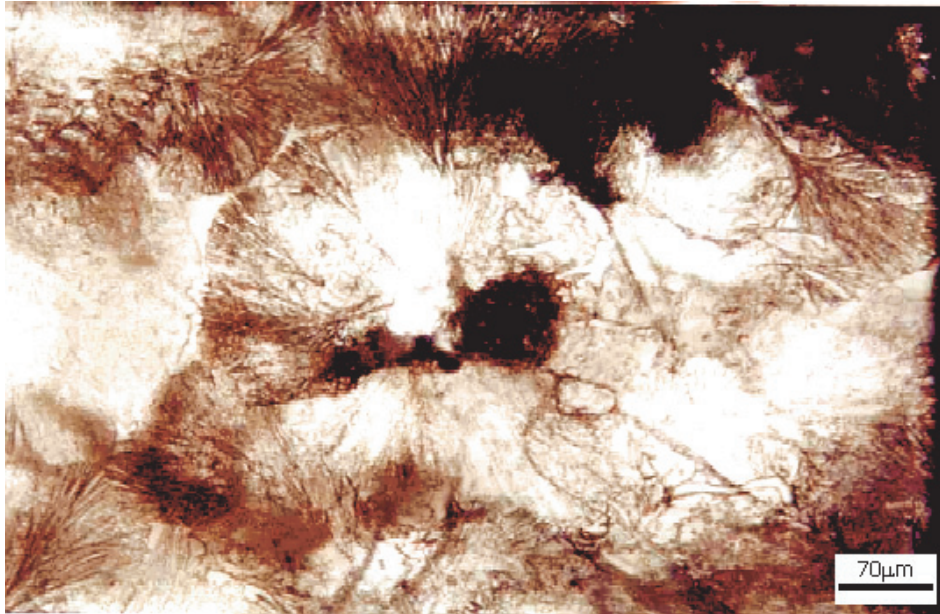


FIGURA 50 Estruturação sob a influência da histidina a 0,15%.

Na figura acima ocorreu algo semelhante ao apresentada sob a influência da valina, porém bem mais evidenciado. Os filamentos são finíssimos e extremamente lábeis e crescem radialmente, configurando uma forma final micelar.

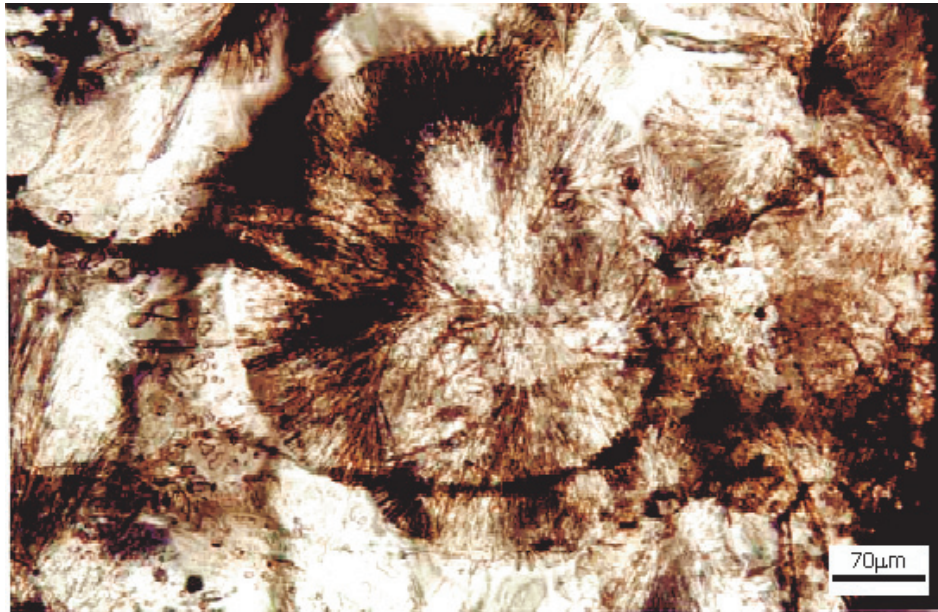


FIGURA 51 Estruturação sob a influência da histidina a 0,15%.

O congelamento rápido da superfície, às vezes, produz distorções. As ramificações visualizadas no interior das estruturas micelares devem ser o resultado dessas distorções.

4.5.3 A influência da glicina

Algumas substâncias em graus moderados de concentração formam cristais poliédricos com a forma limitada por faces planas, sob outras condições, crescem com formas ramificadas, desviando-se da simetria hexagonal. Uma concentração intensa pode conduzir a um crescimento ramificado.

Estudos recentes (Carneiro, 2001) mostraram que a glicina, a concentrações moderadas (0,25%; 0,5%; 0,75% e 1%), produz formas poliédricas planas ou hexagonais prismáticas no interior de soluções aquosas.

Neste trabalho, soluções fortes foram congeladas na tentativa de obter desvios da simetria hexagonal. O resultado é mostrado nas Figuras 52 e 53.

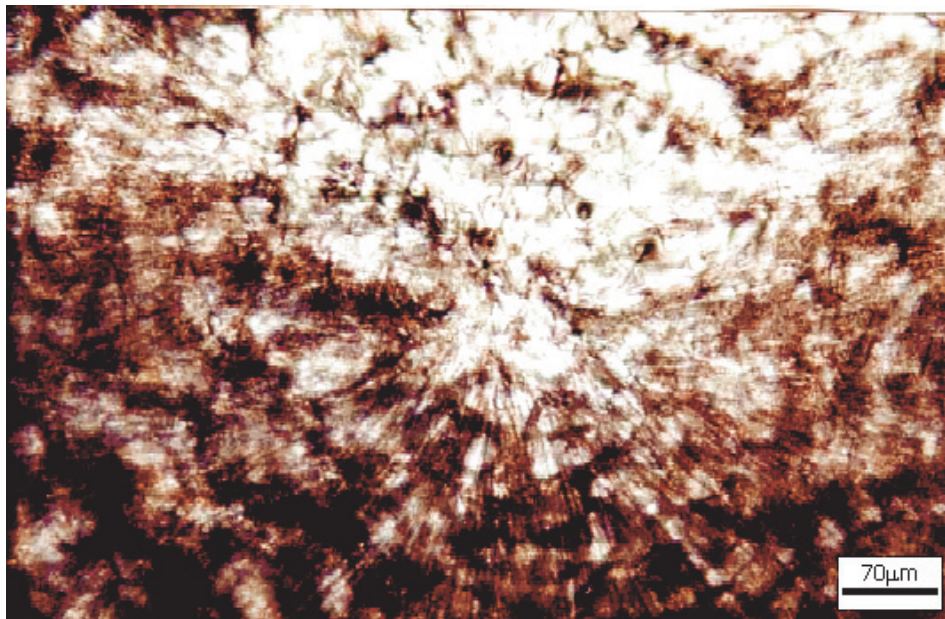


FIGURA 52 Estruturação sob a influência da glicina a 10%.

As concentrações produziram estruturas concêntricas na cristalização da água.

A velocidade de crescimento nas laterais das camadas é muito menor que na direção perpendicular e, assim, os cristais se tornam bastantes longos.

Por serem constituídas por cristais extremamente finos, podem ocorrer discordâncias em virtude de serem extremamente frágeis e tendem a se curvar e se distorcer sob influência do seu próprio peso. A Figura 53 mostra claramente a tendência das agulhas se curvarem sob a influência do peso da estrutura. Aliás, é evidente uma maior densidade na região central, porque sua cor escurecida indica que a luz do microscópio foi refletida nas superfícies dos muitos monocristais atraídos pela depressão formada (ilustração da página 55, Figura 34).

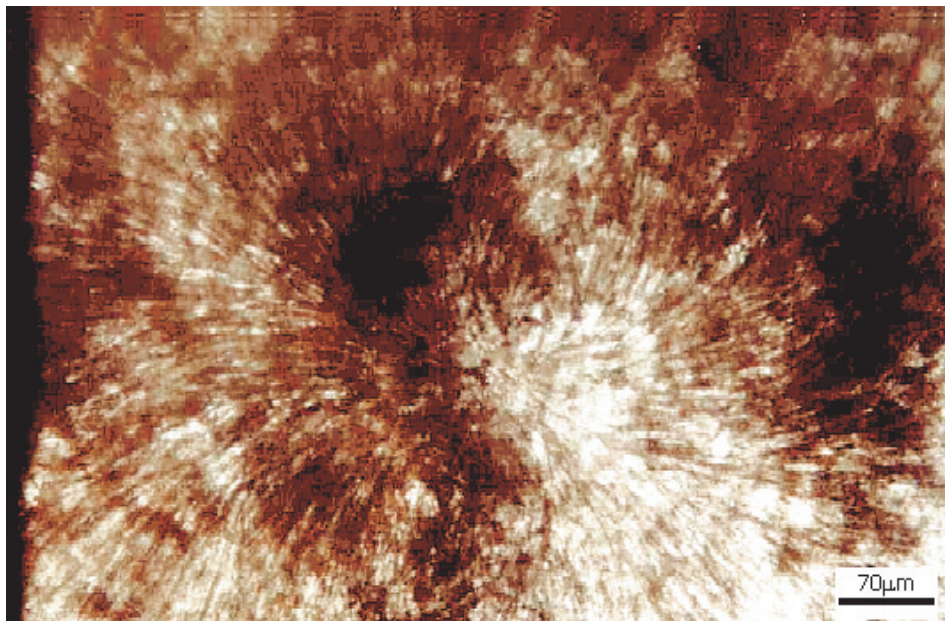


FIGURA 53 Estruturação sob a influência da glicina a 15%.

4.6 A influência do sulfato de amônio e alumínio

O sulfato de amônio e alumínio é um sal. Em química, significa que é uma substância composta de átomos metálicos carregados positivamente e partículas carregadas negativamente. Não existem ligações específicas e aparentemente não há forças direcionais entre os íons, mas somente atrações gerais. Mesmo assim, é possível que o Al^{3+} seja cercado por cinco moléculas de amônia, isto é $\text{Al}(\text{NH}_3)_5^{2+}$, formando um íon complexo (Figura 54).

O arranjo da água com o sal, segundo um esquema cristalino, depende da possibilidade de formar ligações em ponte. O íon complexo que possui quinze possibilidades de ligação em ponte nas mais diversas direções, abre a possibilidade de formar as estruturas micélicas esféricas.

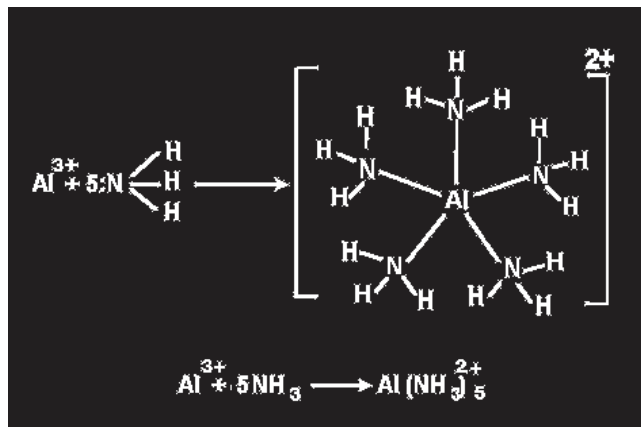


FIGURA 54 Íon complexo proposto para explicar a formação de micelas.

As estruturas no seio da solução (Figuras 55 e 56) são agulhas e estão orientadas em diversas direções.

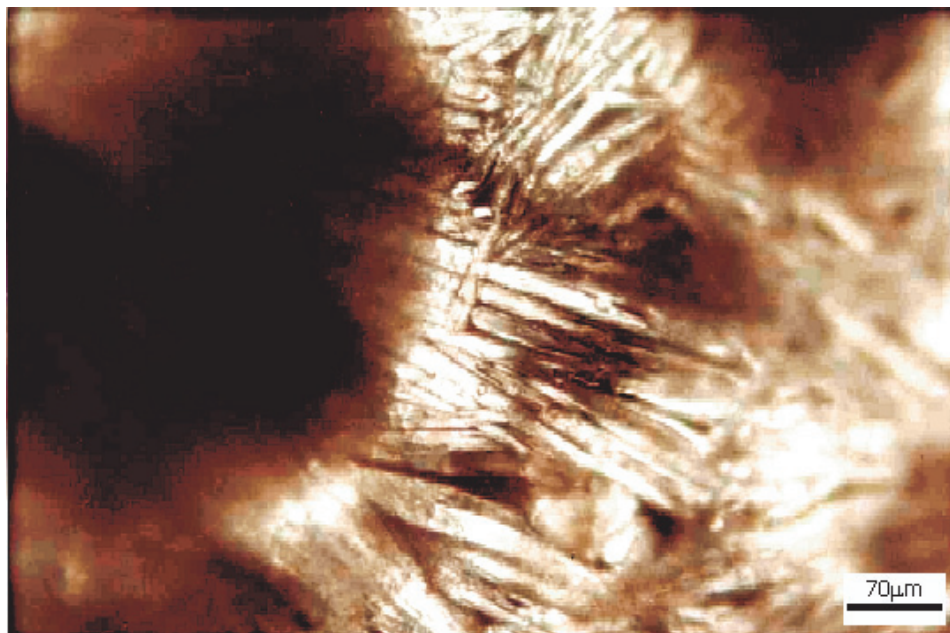


FIGURA 55 Estruturação sob a influência do sulfato de alumínio e amônio a 0,25%.

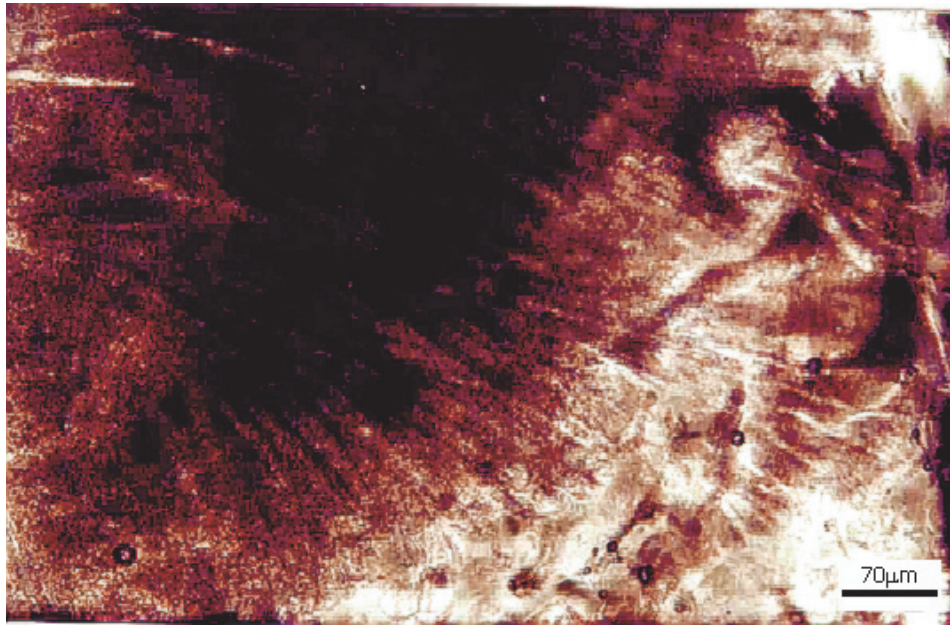


FIGURA 56 Estruturação sob a influência do sulfato de alumínio e amônio a 0,30%.

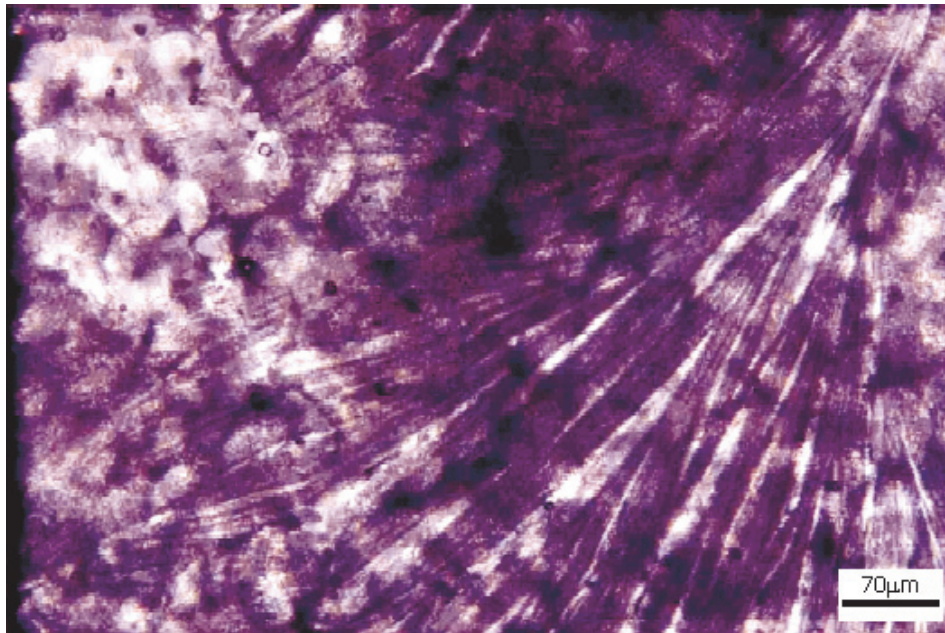


FIGURA 57 Estruturação sob a influência do sulfato de alumínio e amônio a 3%

Nas figuras pode-se notar que os cristais nas soluções com concentrações mais baixas são finíssimos na superfície (0,25% e 0,30%, Figuras 55 e 56, respectivamente) e com um aumento da concentração de soluto tornam-se mais espessos (3%). O mesmo pode-se evidenciar nas camadas inferiores (Figura 57).

É importante observar que cada filamento superficial parece ser formado de muitos cristais crescidos de um indivíduo único. A Figura 57 mostra que alguns filamentos mais delgados tendem a se curvar e se distorcer sob influência do seu próprio peso. Por fim, o feixe radial, constituído pelo conjunto desses filamentos, toma a forma micelar esférica.

4.7 A influência da floroglucina

O exemplo de forma micelar mais interessante foi conseguido pela influência da floroglucina. A presença desse trifenol (também chamado de fluoroglucinol), muito usado na fabricação de medicamentos, produziu interessantes estruturas na água congelada.

As moléculas individuais da floroglucina possuem simetria hexagonal com um anel no interior de seis átomos de carbonos e seus núcleos coplanares, aos quais estão unidos grupos hidroxílicos polares e hidrofílicos em posições alternantes.

É interessante notar que o caráter ácido fraco desse trifenol deve-se ao fato de o par de elétrons da hidroxila ser “puxado” pelo anel. Os pontos de atração na floroglucina podem ser explicados justamente porque ela é polar, embora menos que a água. Essa polaridade permite que forme ligações em ponte (pontes de hidrogênio) com as moléculas de água.

A alta simetria molecular na floroglucina preencheu os requisitos para um bom arranjo na construção cristalina. O retículo cristalino regular e, possivelmente arredondado, do centro cristalino deu oportunidades iguais para o crescimento em diferentes orientações.

Esse arranjo, constituído pela a água e a floroglucina, formou um núcleo cristalino que pode ser, muito provavelmente, um sólido limitado por planos de faces estreladas, isso porque a difusão mássica da água não foi convergente nas faces (a não ser no vértice) e, assim, os crescimentos que se lançaram do núcleo, nos diferentes lados, não formaram agulhas (Figura 58).

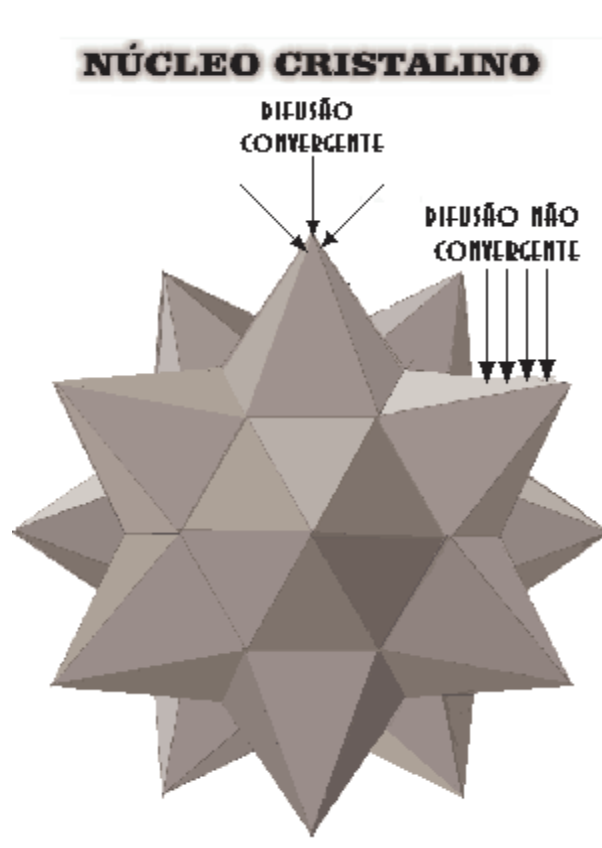


FIGURA 58 Representação do núcleo formado sob a influência da floroglucina para ilustrar a difusão de massa d'água para suas faces.

Seus resultados foram marcantes e consistentes, conforme demonstrado nas Figuras 59 a 61.

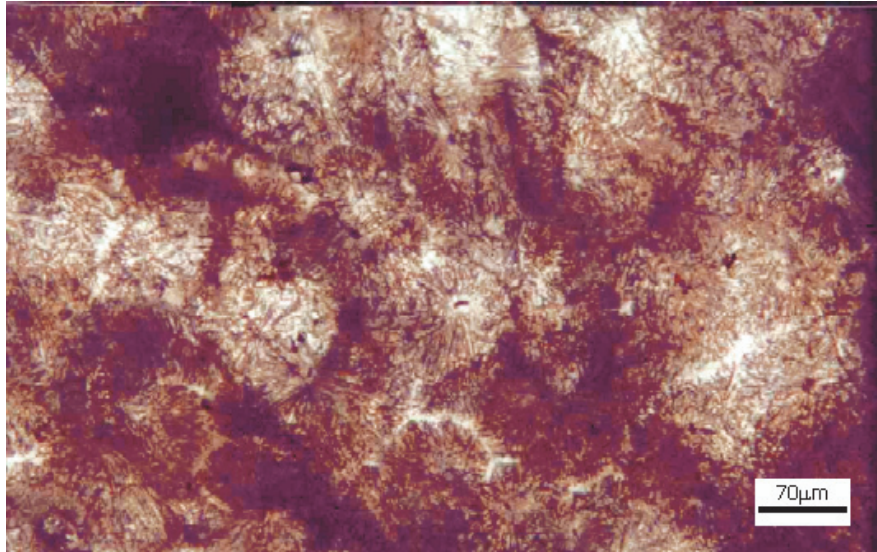


FIGURA 59 Estruturação sob a influência da floroglucina a 0,25%

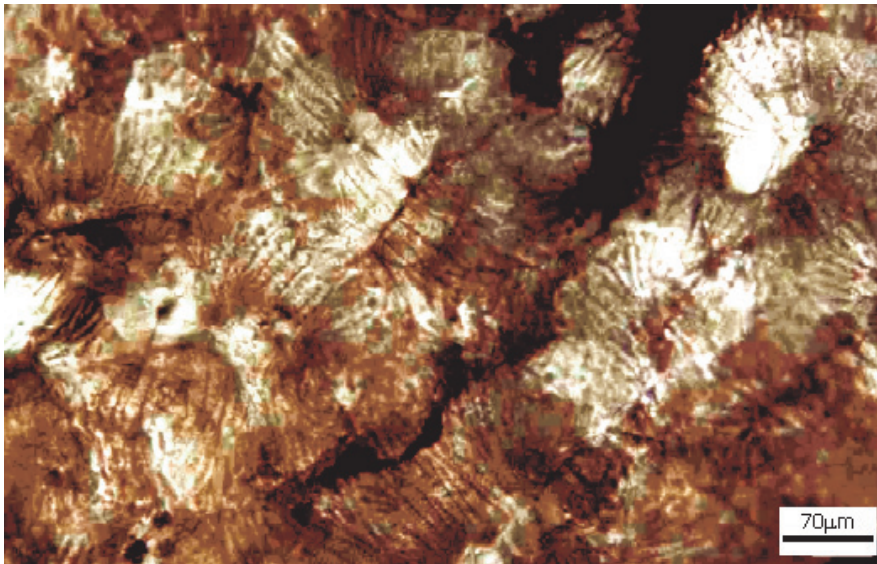


FIGURA 60 Estruturação sob a influência da floroglucina a 0,5%.

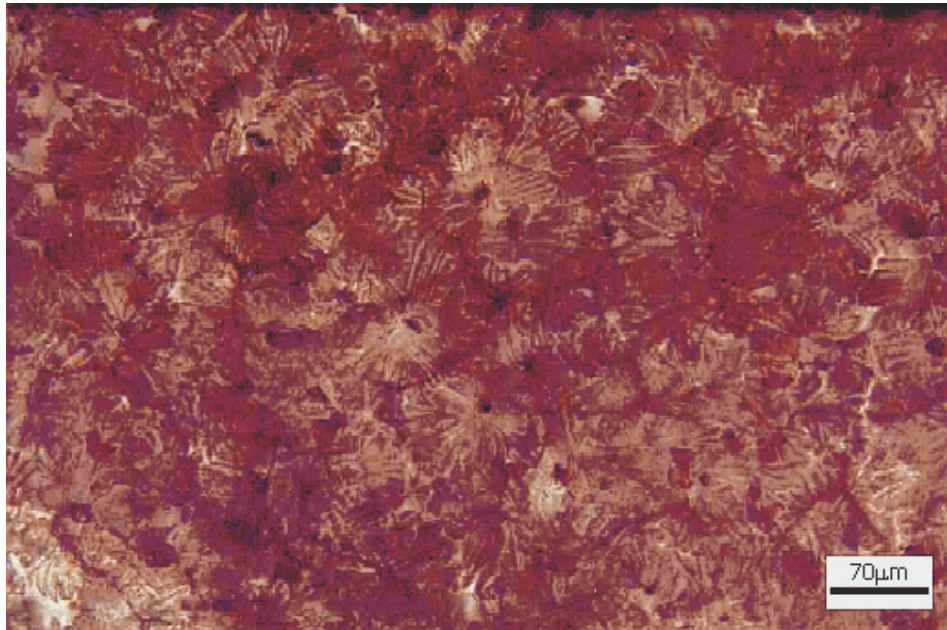


FIGURA 61 Estruturação sob a influência da floroglucina a 0,5%

Dentre as tentativas de induzir estruturações esféricas talvez seja a floroglucina a substância modificadora da forma estrita do gelo que promoveu a estruturação mais interessante; isso porque produziu pequenos e arredondados cristais e, o mais importante, todos se desenvolveram não só na superfície congelada, mas em todas profundezas da solução.

5 CONCLUSÕES

Adsorvendo-se nas superfícies sólidas, reduzindo-as em tamanho e em número, ou formando barreiras à transferência de massa para nucléolos promissores, os tensoativos Triton[®] X 100, Tween[®] 80 e o ácido quenodeoxicólico, dificultaram a cristalização da solução aquosa e induziram desvios na simetria hexagonal do gelo produzindo cristais com faces arredondadas e, por vezes, poliedros irregulares.

Sob as condições adversas da superfície, modificando a estrutura da solução, alguns compostos induziram a formação de cristais na forma de numerosos filamentos, que do centro se desmembraram como um feixe radial, mas que, no final, desfecham numa forma esférica (micelar).

Cada estrutura radial pode ter crescido de uma única semente cristalina disforme (valina, histidina, glicina, floroglucina e sulfato de alumínio e amônio) na qual a difusão convergente nas extremidades dos cristais gerou filamentos; ou por várias sementes cristalinas (dodecil sulfato sódico – SDS), em que cada cristal cresceu individualmente de seus nucléolos produzindo um agregado cristalino.

O melhor resultado promoveu estruturações pequenas, com cristais arredondados e não só na superfície congelada, mas também nas camadas inferiores. Foi conseguido sob a influência da floroglucina. É possível que possamos usar esse trifenol como crioprotetor no pré-tratamento de tecidos congelados.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os estudos realizados nos últimos anos resultaram em grande avanço e têm simplificado grandemente o processo de criopreservação. Mas, apesar de extensivas pesquisas, os esforços não foram suficientes para encontrar um método definitivo, capaz de manter os cristais de gelo ao mínimo.

É preciso saber que moléculas serão despejadas nas células e tecidos para torná-los viáveis por mais tempo. Precisamos de um protocolo de criopreservação universal para, por exemplo, criar um banco de órgãos humano que elimine a corrida contra o relógio.

É necessário, assim:

1. estudar com aprofundamento todas as estruturas dos cristais de gelo aqui induzidas e suas possíveis implicações no dano celular;
2. também é necessário testar outras substâncias tensoativas para verificar sua capacidade de reduzir o potencial de perfuração nas estruturas celulares e para impedir a segregação das células por crescimentos desordenados dos cristais de gelo;
3. é indispensável criar novas técnicas de microscopia que permitam estudar, com maior precisão, o processo de crescimento cristalino da água;
4. é indispensável descrever com clareza os fatores que possam influenciar no processo e
5. finalmente, quantificá-los para podermos compreender suas formas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, V. P. Efeito dos Íons da Série de Hofmeister em Sistemas Micelares. 2003. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

BLEICHER, L.; SASAKI, J. M. Introdução à difração de raios-X em cristais. **Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2003.**

BUNN, C. W. Cristais: seu papel na natureza e na ciência. **3. ed. Tradução de William Gerson Rolim de Camargo. São Paulo: Ed. Nacional, 1972. 293 p.**
Título original: Crystals: Their role in nature and in science.

CAL-VIDAL, J.; CARNEIRO, C. S. New technological approaches in cryo-preservation of frozen fruits. **In: INTERNATIONAL MEETING ON CHEMICAL ENGINEERING, ENVIRONMENTAL PROTECTION AND BIOTECHNOLOGY, 26., 2000, Frankfurt. Proceeding... Frankfurt: Main, 2000. p. 247-249.**

CARNEIRO, C. S. Estruturações de cristais de gelo e sua influência no dano celular. **2001. 166 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.**

CARNEIRO, C. S. Estruturação e morfologia de cristais de gelo sob a influência de concentrações e combinações de substâncias diversas. **1997. 135p.**
Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Ice crystal structuring as affected by amphiphilic substances. SCANNING, The Journal of Scanning Microscopies, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 244-246, Mar. 1998a.

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Structuring capacity of ice crystals under the influence of sugars with diverse chemical nature. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PROPERTIES OF WATER, 7., 1998, Helsinki, Proceedings.... Finlandia: University Press, 1998b. p.1-4.

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Estruturação de cristais de gelo em soluções aquosas contendo solutos diversos. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, Brasília, v. 35, n. 2, p. 423-432, fev. 2000a.

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Azúcares en solución acuosa y su influencia en la estructuración de cristales de hielo. Revista Enfasis Alimentación, Buenos Aires, v. 1, n. 6, p.3 4-37, 2000b.

CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Ice Crystal Structuring as Affected By Aminoacid Type Substances. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ENGINEERING AND FOOD, 8., 2000, Puebla. Proceedings... México: Technominics Press, 2000c. v. 1, p. 747-751.

CARNEIRO, C.S.; CAL-VIDAL, J. Cell damage in frozen fruits as related to ice crystal structuring. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERIA DE ALIMENTOS, 3., 2001, Valência. Proceedings... Valência: [s. n.], 2001.

FENNEMA, O. R. Química de los alimentos. 2. ed. Tradução de Pedro Roncales Rabinal et al. Zaragoza: Acribia, 1993. Título original: Food Chemistry.

FRANKS, F. Water, ice and solutions of simple molecules. In: **DUCKWORTH, R.** (Ed.). Water Relations in Foods. New York: Academic Press, 1975. p. 3-22.

GRUDA, Z.; POSTOLSKI, J. Tecnología de la congelacion de los alimentos. Zaragoza: Acribia. 1981. 631 p.

HARTEL, R. W. Controlling sugar crystallization in food products. Food Technology, Chicago, v. 47, n. 11, p. 99-107, Nov. 1993.

HELENIUS, A. E.; SIMONS, K., Solubilization of membranes by detergents. Biochimica Biophysica Acta, Paris, v. 415, n. 1, p. 29-79, 1975.

KAMMERMEYER, K.; HICKMAN, K. C. D.; MAYOR, C. J.; MONET, G. P.; OSBURN, J. O.; POWERS, J. E.; RIGGLE, J. W.; RUTZ, L. O. Other diffusional operations. In: **PERRY, J. H.; PERRY, R. H.; CHILTON, C. H.; KIRKPATRICK, S. D.** Chemical. [S. l.: s. n.], 1963.

MARTINO, M. N.; OTERO, L.; SANZ, P. D.; ZARITZKY, N. E. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. Meat Science, London, v. 50, n. 3, p. 303-313, Nov. 1998.

MARUYAMA, M.; KISHIMOTO, Y.; SAWADA, T. Optical study of roughening transition on ice I_h (0110) planes under pressure. Journal Crystal Growth, Amsterdam, v. 172, n. 3-4, p. 521-527, Mar. 1997.

MASTERTON, W. L.; SLOWISKI, J. E. Química geral superior. Rio de Janeiro: Interamericana, 1977. p.216-222.

MATZ, S. A. Water in Foods. Westport: The Avi Publ., 1965. 275 p.

McCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. Crystallization. In: _____ . Unit operations of chemical engineering. 5. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1993. p. 883-903.

McCABE, W.L. Cristalizacion. In: PERRY, J. H. (Coord.). Manual del ingeniero quimico. 3. ed. Tradução der Santiago Alonso. Mexico: Union Tipografica Editorial Hispano Americana, 1966. Tomo II, p. 1639-1674. Título original: Chemical Engineers' Handbook.

MIYAWAKI, O.; ABE, T.; YANO, T. Freezing and ice structure formed in protein gels. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, Tokyo, v. 56, n. 6, p. 953-957, Nov./Dec. 1992.

OHSAKA, K.; TRINH, E. H. Apparatus for measuring the growth velocity of dendritic ice in undercooled water. Journal Crystal Growth, Amsterdam, v. 194, n. 1, p. 138-142, Nov. 1998.

POMPELLI, F. M. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Florianópolis: UFSC, 2003.**

QUERVAIN, M. R. Crystallization of water, a review. In: **GOLDBLITH, S. A.; REY, L.; ROTHMAYR, W. W. (Eds.)**. Freeze Drying and Advanced Food Technology. **New York: Academic Press, 1975. p. 3-16.**

ROCHA, J. M. S. Aplicações de agentes tensoactivos em biotecnologia **Lisboa: Boletim de Biotecnologia, 2000. p. 6-11**

ROÇA, R. O.; BONASSI, I. A. Congelamento. **Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, 2001. 202 p.**

SALAGER, J. L.; FERNÁNDEZ, A. Surfactantes Generalidades y Materias primas. **Cuaderno FIRP N° 301PP. Mérida: UNIVERSIDAD de Los ANDES, 2004.**

SALAGER, J. L. Surfactantes en Solución Acuosa. **Cuaderno FIRP N° 201A Mérida: UNIVERSIDAD de Los ANDES, 1993.**

SANTOS, I. R. I. Criopreservação de germosperma vegetal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasília, v. 4, n. 20, p. 60-65, maio/jun. 2001.**

SILVA, M. L. A. Síntese e caracterização de complexos de Cu^{+2} e VO^{2+} e Sn^{+4} com moléculas anfifílicas derivadas de α -aminoácidos propriedades físico-químicas e teste biológico de tensoativos. **1997. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.**

SEARS, F. W.; ZEMANSKY, M. W. Física. 2.ed. Tradução de Carlos Campos de Oliveira. Rio de Janeiro: Ed. Ao Livro Técnico LTDA, 1959. p. 313-414. Título original: University Physics. USA: Massachusetts, 1954.

TANFORD, C. The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membrans, 2. ed. Florida: Krieger, 1991.

ANEXOS

ANEXO A

	Página
FIGURA 1A Estruturas cristalinas mais comuns dos cristais de gelo....	95
TABELA 1A Tabela com substâncias empregadas nas soluções modelo e o tipo de influência na estruturação dos cristais de gelo.....	96

ESTRUTURAS CRISTALINAS NO GELO

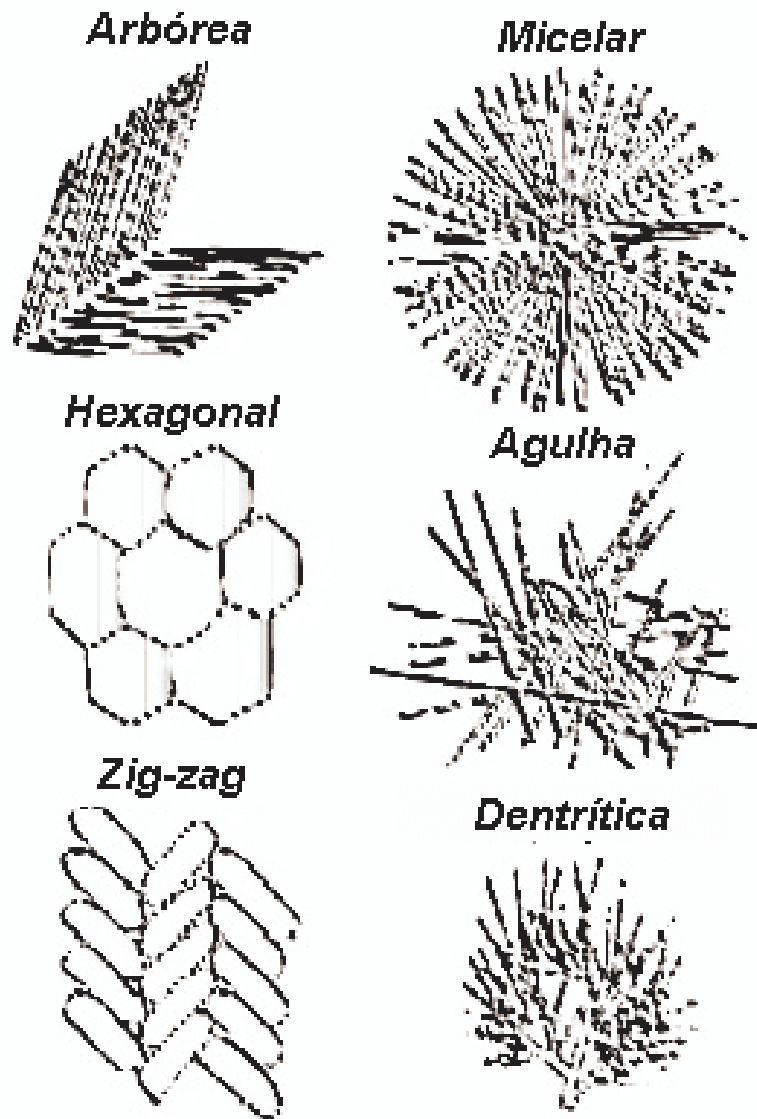


FIGURA 1A Estruturas cristalinas mais comuns dos cristais de gelo.

TABELA 1A Tabela com substâncias empregadas nas soluções-modelo e o tipo de influência na estruturação dos cristais de gelo.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
Valina (Merck)	1,0%	Hexagonal nas camadas inferiores e micelar na superfície
	1,5%	Em forma de zigue-zague nas camadas inferiores e micelar na superfície
	2,0%	Hexagonal nas camadas inferiores e micelar na superfície
	3,0%	Cristais alongados nas camadas inferiores e micelar na superfície
	5%	Cristais hexagonais com variados tamanhos nas camadas inferiores e micelar na superfície
Glicina (Synth)	7%	Arbórea
	10%	Micelar na superfície
	15%	Micelar na superfície
	30%	Amorfa

TABELA 1A Continuação.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
Histidina (Merck)	0,15%	Micelar na superfície
	0,20%	Micelar na superfície
Acetona (Sigma)	0,5%	Hexagonal
	1%	Hexagonal
	3%	Hexagonal
Floroglucina (Merck)	0,15%	Hexagonal na superfície
	0,20%	Hexagonal na superfície
	0,50%	Em forma de zigue-zague nas camadas inferiores e micelar na superfície
	1,0%	Micelar na superfície
	1,5%	Micelar na superfície
	3,0%	Amorfa
Naftaleno (Merck)	3%	Cristais hexagonais com tamanho variados
	10%	Hexagonal estrita
Laril Éter Sulfato de Sódio (Merck)	0,5^%	Hexagonal
	0,75%	Hexagonal

TABELA 1A Continuação.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
Sulfato de Alumínio e Amônio (Quimibrás)	0,15%	Pequenos cristais hexagonais
	0,25%	Hexagonal
	0,50%	Cristais alongados nas camadas inferiores e na superfície cristais delgados na forma micelar
	1,0%	Finos e lábeis agulhas formando uma micela completa
	2,0%	Cristais alongados nas camadas inferiores e na superfície cristais delgados na forma micelar
	3,0%	Cristais alongados nas camadas inferiores e na superfície cristais delgados na forma micelar

TABELA 1A Continuação.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
Sulfato de Alumínio (Quimibrás)	1,0%	hexagonal
	2,0%	Hexagonal
	3,0%	Hexagonal
	0,50%	Hexagonal
	1,0%	Hexagonal
	2,0%	Hexagonal
	3,0%	Hexagonal
Sulfato de Amônio (Quimibrás)	1,0%	hexagonal
	2,0%	Hexagonal
	3,0%	Hexagonal
	0,50%	Hexagonal
	1,0%	Hexagonal
	2,0%	Hexagonal
Vitamina B ₁ (Sigma)	1,5%	Hexagonal
Cloxacillin	7%	Amorfa
Cloreto de magnésio (Merck)	1%	Hexagonal
	3%	Hexagonal
Ntirofeniladrazina (Merck)	0,015%	Hexagonal
	0,15%	Hexagonal
	3%	Hexagonal

TABELA 1A Continuação.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
SDS (Merck)	0,5%	Delgadas agulhas crescendo em diversas direções
	1,0%	Delgadas agulhas com crescimento quase radiado
	2,0%	Delgadas agulhas com crescimento na forma micelar
Sais biliares (Merck)	0,25%	Hexagonal
	1,0%	Em forma de zigue-zague
	1,5%	Hexagonal
	5,0%	Amorfa
Triton [®] X-100 (Merck)	0,25%	Hexagonal
	0,5%	Cristais hexagonais com tamanhos variados
	1,0%	Hexagonal com faces côncavas
	5,0%	Hexagonal com faces côncavas
Tween [®] 80 (Merck)	1,0%	Cristais hexagonais com tamanhos variados
	2,0%	Cristais amorfos com tamanhos variados

TABELA 1A Continuação.

SUBSTÂNCIAS	CONCENTRAÇÕES	ESTRUTURAÇÃO
Auramina (Ridel-deHaën)	0,25%	Hexagonal
	0,50%	Hexagonal
	1,0%	Hexagonal
	2,0%	Hexagonal
	3,0%	Hexagonal
Verde de Bromocresol (Inlab)	0,5%	Amorfa
	1,0%	Amorfa
Vermelho de Fenol (Inlab)	0,25%	Hexagonal
	1,0%	Hexagonal
Azul de toluidina (Inlab)	0,15%	Hexagonal
	0,25%	Hexagonal
	0,50%	Hexagonal