



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

VINÍCIUS MARTINS DE OLIVEIRA

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL
DA INTERAÇÃO ENTRE POLIELETRÓLITOS
FRACOS E MACROÍONS ESFÉRICOS**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SÃO PAULO

2013

VINÍCIUS MARTINS DE OLIVEIRA

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA
INTERAÇÃO ENTRE POLIELETRÓLITOS FRACOS E
MACROÍONS ESFÉRICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho

São José do Rio Preto, 23 de Abril de 2013

Oliveira, Vinícius Martins de.

Estudo por simulação computacional da interação entre polieletrólitos fracos e macroíons esféricos / Vinícius Martins de Oliveira. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2013.

50 f. 11: il. ; 30 cm.

Orientador: Sidney Jurado de Carvalho

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Físico-estatística. 2. Biofísica. 3. Monte Carlo. 4. Polieletrólitos. I. Carvalho, Sidney Jurado de. III. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU - 577

VINÍCIUS MARTINS DE OLIVEIRA

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA
INTERAÇÃO ENTRE POLIELETRÓLITOS FRACOS E
MACROÍONS ESFÉRICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto, SP
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Diehl
Professor Associado 4
UFPel – Pelotas, RS

Prof. Dr. Elso Drigo Filho
Professor Titular
UNESP – São José do Rio Preto, SP

São José do Rio Preto, 23 de Abril de 2013

Dedico este trabalho à toda minha família

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde, força e perseverança.

A minha mãe por sempre ter me apoiado e ao meu pai (*in memoriam*), por ser um exemplo de caráter que eu procuro sempre seguir. As minhas irmãs Joice e Maria e ao Dudu.

Ao professor Sidney pela paciência, disponibilidade e dedicação. Certamente não haveria concluído este trabalho sem sua ajuda. Ao professor João por ser um exemplo de amor à pesquisa e à ciência e por fornecer os recursos computacionais. A todos os professores do Departamento de Física, em especial ao professor Jorge Chahine, o qual foi responsável pela disciplina Métodos Computacionais II em que fui monitor. Ao professor Augusto Agostinho Neto (*in memoriam*) e ao professor Marcelo Fossey, que muito contribuíram para minha formação acadêmica.

Agradeço a minha namorada Manuela pelo carinho, compreensão e apoio dedicados nesses últimos dois anos. Aos meus amigos Carlinhos, Daniel, Davi, Guilherme, Jesus, PV e Tibúrcio. E ao meu time de basquete. Obrigado por tornar esse curso muito mais divertido.

Ao apoio financeiro do CNPq e ao suporte computacional fornecido pelo GRIDUnesp.

“Mas se fizer o contrário? Ah, se fizer o contrário, dá o oposto!”

Daniel Lucas Zago Caetano (2012)

Resumo

A interação entre polieletrólitos e macroíons de carga oposta é uma área de pesquisa ativa em campos como química, física, biologia, medicina e nanotecnologia. Desse modo, é fundamental conhecer os fatores que determinam a estabilidade de complexos formados por essas macromoléculas. Um aspecto interessante neste sistema é a mudança abrupta de certas propriedades da solução sensíveis à formação do complexo, como a turbidez, quando há variação na concentração de sal ou no pH da solução. Este comportamento é característico de uma transição de fase e pode ter uma grande importância na regulação do metabolismo celular. O conhecimento dos aspectos termodinâmicos deste comportamento ainda não está muito claro. Neste trabalho nós investigamos o efeito da concentração de sal, carga da macromolécula e pH na transição entre o estado adsorvido e livre de polieletrólitos fracos, sujeitos a regulação de carga, e macroíons esféricos de carga oposta. Para tanto, nós usamos simulações de Monte Carlo associadas ao algoritmo de Metropolis e o método de análise de múltiplos histogramas. Usando médias da energia livre e do raio de giro nós identificamos transições de fase do tipo de primeira ordem entre os dois estados (complexado e livre). Também analisamos diagramas de estado em função da força iônica e do pH para diferentes valores de carga do macroíon e a conformação da cadeia adsorvida foi caracterizada pela média do raio de giro e pelo perfil da distribuição dos monômeros.

Palavras-chave: Polieletrólitos fracos, macroíons esféricos, simulações de Monte Carlo.

Abstract

The knowledge of factors that determine the stability of biomolecular complexes is utmost importance for understanding various biological processes and for many technological applications. An important class of complex are the ones formed by macroions and oppositely charged polyelectrolytes. An interesting aspect here is the abrupt change of certain properties of the solution sensitive to complex formation, as the turbidity, when varying the salt concentration and pH. This behavior characteristic of phase transition may have great importance in the regulation of cellular metabolism. The understanding of the thermodynamic aspects of this phase-transition-like behaviour is still not very clear. In this work we investigate the effect of salt concentration, charge of the macromolecule and pH on the adsorption-desorption transition of these polyelectrolytes onto oppositely charged spherical macroions by means of Metropolis Monte Carlo simulations and the weighted histogram analysis method. Using the mean binding energy and the radius of gyration as order parameters we identify a first-order-like transitions between adsorbed and desorbed states. The states diagrams as a function of ionic strength and pH of are provided for different values of macroion charge, and the conformation of the adsorbed chain is characterized by means of radius of gyration and monomer distribution profile.

Key-words: Weak polyelectrolytes, spherical macroions, Monte Carlo simulations.

Lista de Figuras

2.1	Representação esquemática do modelo da célula em geometria esférica.	19
3.1	Fluxograma do código computacional desenvolvido para este trabalho. .	29
4.1	Gráfico A: Média do grau de ionização dos monômeros em função do pH. Gráfico B: número de coordenação $n(r)$ em função da distância ao eixo do macroíon.	30
4.2	O gráfico A mostra a média da energia de ligação em função de κ . O gráfico B apresenta a trajetória da energia de ligação E_B em pH 5 e $C_s = 170$ mM.	32
4.3	Gráfico A: Raio de giro quadrático médio em função de κ . As figuras de B mostram imagens ilustrativas de configurações próximas a energia média total do sistema.	33
4.4	Gráfico A: Energia livre ($k_B T$) em função do raio de giro. Gráfico B: Diagrama de estado.	35
4.5	Valor de κ^* em função do módulo da carga do macroíon.	36
4.6	Gráficos dos raios de giro quadráticos médios em função de κ . No gráfico A a carga do macroíon é $Z_M = -10$ e o B é $Z_M = -25$	37
4.7	Valor de κ_c em função do produto do módulo da valência do macroíon e do grau de ionização do polímero.	38
B.1	Distribuição de probabilidade do raio de giro em função do raio de giro.	49
B.2	Variação da energia livre em função do raio de giro.	49

Lista de Tabelas

3.1	Dados solicitados pelo programa no início de sua execução	25
4.1	Valores do expoente a para diferentes pHs.	38

Lista de Símbolos

σ	Densidade de carga do macroíon.
ξ	Densidade de carga do polímero.
T	Temperatura do sistema.
ϵ_S	Constante dielétrica do solvente.
R_c	Raio da célula.
$U_{conf}(r)$	Potencial confinante.
R_M	Raio da macromolécula.
Q_M	Carga da macromolécula.
Z_M	Valência da macromolécula.
e	Carga elementar.
Q_p	Carga de um monômero
R_p	Raio de um monômero
k_B	Constante de Boltzmann.
ϵ_0	Constante de permissividade elétrica do vácuo.
r_{ij}	Distância entre os monômeros i e j .
U_{mon}^{lig}	Energia elástica da ligação monômero-monômero
U_{macro}^{el}	Energia potencial de interação entre o i -ésimo monômero e a macroíon.
U_{mon}^{el}	Energia potencial de interação entre dois monômeros.
r_i	Posição do monômero i .
k	Constante elástica da ligação monômero-monômero.
n_o	Densidade numérica do íon da espécie i .
r_o	Distância inicial entre dois monômeros consecutivos.
N	Número total de monômeros do sistema.
α	Grau de ionização dos monômeros.
U^{Total}	Energia potencial total de uma determinada configuração do sistema.
κ^{-1}	Comprimento de Debye.
κ_c	Valor de κ crítico.
κ^*	Valor de κ onde começa a transição de fase.

N	Número de passos de Monte Carlo.
C_S	Concentração de sal.
ΔE	Variação da energia.
δ	Largura das “fatias”.
ρ	Densidade numérica de monômeros.
V	Volume total do célula.
$P(r)$	Probabilidade de um monômero qualquer estar localizado a uma distância r em relação ao eixo do macroíon.
n^k	Número de monômeros localizados no interior da k -ésima fatia.
E_B	Energia de ligação.
P_i	Probabilidade da configuração i .
N_c	Número de cadeias.

Sumário

Introdução	14
1 Objetivos	17
2 Metodologia	18
2.1 Modelo do sistema	18
2.1.1 Modelo da célula	18
2.1.2 O Polieletrólito	19
2.1.3 O Macroíon	20
2.1.4 A Solução eletrolítica	21
Teoria de Debye-Hückel	21
3 Ferramentas Computacionais	23
3.1 O Método de Monte Carlo	23
3.2 O código	24
3.2.1 Propriedades médias	26
4 Resultados	30
4.1 Efeito da força iônica e do pH	30
4.2 Efeito da carga do macroíon	35
5 Conclusões	39
Referências Bibliográficas	41

A	Variação da energia no processo de titulação	46
B	Cálculo da variação da energia livre pelo programa WHAM	48

Introdução

O conhecimento dos fatores que determinam a estabilidade do processo de adsorção de polieletrólitos e macroíons é de fundamental importância para o entendimento de muitas aplicações biotecnológicas. A elaboração de formas de terapia gênica utilizando vetores não-virais produzidos a partir da interação entre polímeros catiônicos e moléculas de DNA [1, 2] e a formação de multicamadas poliméricas para a produção de nanocápsulas usadas na entrega racional de fármacos (*drug delivery*) [3–5] são alguns exemplos. Ainda em relação às aplicações tecnológicas, podemos citar o controle da estabilidade de suspensões coloidais no tratamento de água [6, 7] e a produção de nanodispositivos formados por multicamadas poliméricas de carga alternada (*layer-by-layer*) [8, 9]. Estudos indicam que a interação eletrostática é dominante nesses sistemas, pois mostram que a energia de ligação é fortemente dependente da concentração de sal e do pH da solução [10, 11].

Um aspecto interessante desses sistemas é que a dessorção ocorre de forma abrupta quando a concentração de sal ou o pH atingem certos valores críticos. Isso é apresentado em resultados obtidos empiricamente por Dublin e colaboradores [12–18], onde foi observado que com uma certa variação da força iônica ou do pH (equivalentemente da carga do macroíon) ocorre uma mudança abrupta em certas propriedades da solução sensíveis a adsorção, como a turbidez. Tal comportamento confirma a existência de um comportamento semelhante à uma transição de fase, a qual foi prevista por Wiegand [19] no final da década de 70 em seu trabalho teórico analítico. Em termos quantitativos, as condições que levam o polímero à transição seguem a relação de escala abaixo:

$$\sigma\xi \sim \kappa_c^a \quad (1)$$

onde σ é a densidade superficial de carga do macroíon, ξ a densidade de carga do polímero e κ_c é o comprimento de Debye crítico. A constante a possui valores entre 1,0 e 1,4 para a interação de polieletrólitos com micelas [12–15], proteínas [16, 18] e dendrímeros [17]. De acordo com Wiegand, o comportamento semelhante à transição

de fase pode ter grande importância na regulação do metabolismo celular, uma vez que pequenas mudanças na composição química da célula podem acarretar alterações significativas no comportamento de diversas biomoléculas [20].

Muitos trabalhos teóricos computacionais foram desenvolvidos abordando a interação entre polímeros carregados e macroíons [21]. No entanto, esses trabalhos não apresentaram resultados com total concordância com os resultados experimentais em relação à lei de escala (expressão 1) [22–24]. Essa discordância, segundo Laguerre e colaboradores [24], estaria relacionada com a determinação de um critério para a caracterização dos estados adsorvido/dessorvido que fosse coerente com as metodologias experimentais usadas no estudo desse problema. Apenas recentemente essa discordância entre os resultados computacionais e experimentais foi solucionada. Isso porque o valor da constante a da relação de escala 1 foi recuperada no trabalho da referência [25], analisando a energia livre em função de um parâmetro de ordem (raio de giro). No trabalho em questão, o autor utilizou a combinação da simulação de Monte Carlo com o Método dos Múltiplos Histogramas WHAM [26] para estudar a transição entre polímeros com carga fixa e macroíons esféricos. Desse modo, foi possível calcular o perfil da energia livre do sistema e identificar transições descontínuas entre os estados dessorvido e adsorvido.

Assim como no trabalho de de Carvalho, a maioria dos estudos que abordam a interação polímero-macroíon simulam a carga dos monômeros do polieletrólito como pontual e constante. [27–30]. No entanto, o grau de ionização dos grupos químicos que constituem o polieletrólito pode depender fortemente do pH da solução e de outros corpos carregados [21, 31, 32] devido a ação do potencial eletrostático nos sítios de protonação. Esse efeito é conhecido como regulação de carga. Simulações computacionais realizadas por Laguerre e colaboradores [21, 28] mostraram que esse efeito promove uma variação significativa no grau de ionização dos monômeros e, consequentemente, na densidade de carga do polímero, quando estes estão adsorvidos em macroíons. Essa variação na densidade de carga do polímero afeta diretamente a interação entre o polieletrólito e o macroíon. Esse efeito vem se mostrando importante na interação entre proteínas [32, 33], no transporte de proteínas através de poros em membranas [34] e na interação entre polieletrólitos e proteínas [35, 36]. Também sabemos que esse tipo de polieletrólito pode formar nanocápsulas e por responderem à mudança de pH podem ser usados no tratamento de câncer [37], pois tanto regiões com tecido inflamado quanto regiões com tecido cancerígeno são ambientes suavemente mais ácidos que tecidos sadios [38].

Tendo em vista a importância do efeito de regulação de carga, neste trabalho focamos no estudo da interação entre polieletrólitos fracos e macroíons opostamente

carregados, pois neste caso sabemos que a densidade de carga do polímero ξ pode depender do valor κ e da carga do macroíon. Desse modo, o valor da constante a da relação 1 pode sofrer alterações ficando fora do intervalo esperado, entre 1,0 e 1,4. Sendo assim, pretendemos dar continuidade ao trabalho da referência [25] realizando um estudo sobre o efeito da força iônica e do pH da solução na interação entre macroíons esféricos e polieletrólitos fracos, com ênfase na transição entre o estado desorvido e adsorvido. Buscamos também a obtenção de uma relação de escala que possa estar de acordo com os resultados experimentais já citados e, por fim, verificar através de mudanças na carga do macroíon o quanto a regulação de carga pode influenciar na interação entre essas macromoléculas e até mesmo na relação de escala dada pela equação 1.

Capítulo 1

Objetivos

O principal objetivo deste trabalho é estudar a interação de polieletrólitos fracos com macroíons de carga oposta e a transição de fase entre os estados livre e adsorvido. Para tanto, podemos dividir os objetivos deste trabalho nas seguintes etapas:

1. Criar um código computacional com ferramentas aplicáveis ao estudo da interação dessas macromoléculas, com um custo computacional aceitável.
2. Verificar o efeito do pH, da força iônica e da carga do macroión na estabilidade da adsorção do polímero e a influência da regulação de carga sobre o sistema.
3. Aplicar o método dos Múltiplos Histogramas para calcular a energia livre do sistema como função do raio de giro do polímero, com o intuito de estudar a transição entre o estado livre e adsorvido.
4. Verificar a concordância com a relação de escala (equação 1) para diferentes pHs e compará-los com os valores obtidos na literatura.

Capítulo 2

Metodologia

2.1 Modelo do sistema

Não é trivial tratar teoricamente cadeias de polieletrólitos em solução iônica, pois é necessário calcular a interação de cada componente do sistema com todos os outros. Existem limitações matemáticas e também um alto custo computacional para tratar este problema de muitos corpos. Desse modo, foi utilizado um modelo simplificado para estudar esse sistema, mas que ainda é capaz de obter as principais características físicas dele, em um tempo computacional aceitável. Nessa simplificação o comportamento individual de alguns componentes do sistema é substituído pelo seu comportamento médio. A estrutura microscópica do solvente (água) foi desprezada e seu comportamento molecular explícito foi substituído por um meio contínuo de constante dielétrica $\epsilon_s = 78,7$ em temperatura $T = 298\text{K}$. Essa aproximação é conhecida como aproximação de McMillan-Mayer [39].

2.1.1 Modelo da célula

Esse modelo é usado quando consideramos soluções altamente diluídas [40–42], nos quais cada componente macromolecular do sistema se comporta de forma independente. É possível então considerar um sistema composto apenas por um macroíon, um polieletrólito e íons de sal. Todo esse sistema é confinado numa célula esférica eletricamente neutra, onde em seu centro fixamos o macroíon. O raio da célula R_c é escolhido de forma a minimizar os efeitos do confinamento nas configurações do polímero (cerca de $1600 \text{ \AA}$, concentração do macroíon igual a $1,0 \text{ mM}$). Cada partícula móvel está sujeita ao potencial de confinamento abaixo:

$$U^{conf}(r_i) = \begin{cases} \infty & , \quad r_i < R_c \\ 0 & , \quad r_i > R_c \end{cases} ,$$

onde r_i é a distância entre uma dada partícula i e o centro da célula. A figura abaixo ilustra o modelo:

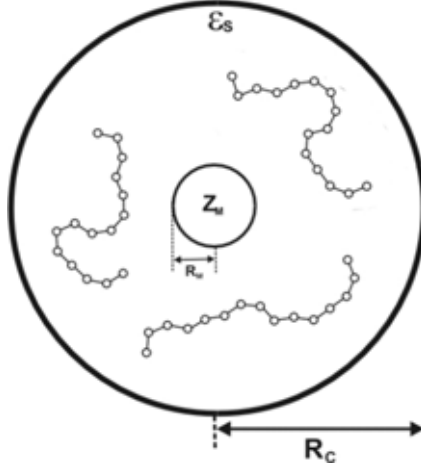


Figura 2.1: Representação esquemática do modelo da célula em geometria esférica.

2.1.2 O Polieletrólito

O polieletrólito é modelado por uma cadeia flexível de $N = 100$ esferas rígidas com raio $R_p = 2 \text{ \AA}$ e carga central Q_p , conectadas por ligações harmônicas, sujeitas ao potencial abaixo:

$$U_{mon}^{lig}(r_i, r_{i+1}) = \frac{1}{2}kr^2, \quad (2.1)$$

onde r é a distância entre dois monômeros consecutivos. Esse modelo simplificado é utilizado para podermos obter resultados mais gerais possíveis. O valor da constante de força k da equação acima é calculado pelo balanço entre a força harmônica atrativa e a força eletrostática repulsiva, na ausência de qualquer perturbação externa. Considerando que r_0 , valor da distância inicial entre dois monômeros consecutivos, é um valor de entrada da simulação, temos:

$$kr_o = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_o\epsilon_s r_o^2}, \quad (2.2)$$

onde ϵ_o é a permissividade do vácuo, cujo o valor é $8,85 \times 10^{-12} \text{C}^2\text{N}^{-1}\text{m}^{-2}$, ϵ_s a cons-

tante dielétrica do solvente e e é a carga elementar ($1,6 \times 10^{-19}\text{C}$). O valor de entrada de r_0 foi igual a $5 \text{ \AA}$ nas simulações, resultando em uma distância média monômero-monômero aproximadamente igual a $7 \text{ \AA}$. Outra simplificação feita foi considerar que a componente eletrostática do comprimento de persistência é a única responsável pela flexibilidade da cadeia, pois a rigidez estrutural da cadeia foi totalmente desprezada.

Consideramos que os monômeros constituem grupos ionizáveis básicos de $\text{pK} = 7$. Por serem básicos eles podem ter dois valores de carga: $+1e$, quando protonados, e nulo, quando desprotonados. No caso ideal (ausência de interações eletrostáticas) a fração de monômeros carregados ou grau de ionização α é dependente apenas do pH da solução:

$$\alpha = \frac{[H^+]}{K + [H^+]}, \quad (2.3)$$

onde $[H^+]$ é a concentração íons H^+ e $-\log[H^+]$ é igual ao pH da solução, e o valor $-\log(K)$ é igual ao pK dos monômeros. No entanto, o caso estudado não é o ideal, pois um dado monômero pode sofrer, em seu campo de protonação, a influência do potencial eletrostático produzido por outros monômeros carregados e pelo macroíon. Sendo assim, o grau de ionização de um determinado monômero passa a depender não só do pH da solução, mas também dos outros corpos carregados que compõe o sistema. Portanto, um determinado monômero carregado tende a desprotonar quando está na presença de uma interação eletrostática repulsiva, outro monômero carregado por exemplo. Por outro lado, quando em contato com o macroíon, esse mesmo monômero tende a ficar carregado, pois a interação eles é atrativa.

Para calcularmos a densidade linear de carga do polímero utilizamos a seguinte expressão:

$$\xi = \frac{N\alpha}{(N-1)L}, \quad (2.4)$$

onde α é o grau de ionização dos monômeros, N é o número de monômeros e L é a distância média entre dois monômeros consecutivos.

2.1.3 O Macroíon

O macroíon é tratado como uma esfera rígida de raio igual a $R_M = 20 \text{ \AA}$ e carga central $Q_M = Z_M e$, onde Z_M é sua valência. Essa simplificação, assim como para o polímero, é feita para introduzir alguma generalidade aos resultados e reduzir o

custo computacional. A densidade de carga superficial do macroíon pode ser calculada pela expressão:

$$\sigma = \frac{Q_M}{4\pi R_M^2}. \quad (2.5)$$

Neste trabalho variamos σ entre 0,003 e 0,127 C/m². Outra aproximação usada é que consideramos a constante dielétrica no interior do macroíon, ϵ_M , igual a constante dielétrica do solvente ϵ_s , desprezando assim o efeito de cargas de polarização próximo a superfície do macroíon. Esse tipo de consideração é bastante usado em trabalhos com simulação molecular [35, 43], e tem se mostrado eficiente no tratamento de soluções eletrolíticas.

2.1.4 A Solução eletrolítica

Basicamente existem dois meios mais comuns de tratar a solução eletrolítica em simulações computacionais: a primeira delas trata os íons e contraíons de maneira explícita, como pequenas esferas rígidas com uma carga central. Este modelo é denominado como modelo primitivo [44]. Esse modelo pode exigir um alto custo computacional devido ao grande número de partículas em altas concentrações de sal, levando muito tempo para se obter a convergência das grandezas físicas médias de interesse. Portanto optamos em usar um segundo método, o qual considera os íons implicitamente por meio de um potencial eletrostático efetivo dado pela Teoria de Debye-Hückel [41].

Teoria de Debye-Hückel

Esta teoria considera os íons da solução de forma implícita, tratando-os pelo seu comportamento médio. Com isso, a interação entre dois corpos carregados é atenuada pela distribuição dos íons de sal e dos contraíons. O potencial eletrostático obtido através dessa teoria é também conhecido como potencial de Coulomb blindado. Dessa forma, a interação entre dois monômeros i e j é dada por:

$$U_{mon}^{el}(r_{ij}) = \begin{cases} \infty & , \quad r_{ij} < (R_p(i) + R_p(j)) \\ \frac{Q_p(i)Q_p(j)}{4\pi\epsilon_o\epsilon_s k_B T} \frac{\exp(-\kappa r_{ij})}{r_{ij}} & , \quad \text{caso contrário} \end{cases} \quad (2.6)$$

onde r_{ij} é a distância entre o centro dos monômeros i e j e κ^{-1} é o comprimento de

Debye. Nessa expressão usamos também o potencial de esfera rígida, o qual leva em conta o fato de que duas partículas não podem se sobrepor. O valor do comprimento de Debye é definido em função da densidade numérica dos cátions, ânions e contraíons neutralizantes no “bulk” da solução, respectivamente, n_{01} , n_{02} e n_{03} :

$$\kappa = \left[\frac{e^2}{\epsilon_o \epsilon_s k_B T} \sum_{i=1}^3 n_{oi} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.7)$$

A interação monômero-macroíon em função da distância r_i entre o centro de um monômero qualquer e o centro do macroíon é dada por:

$$U_{macro}^{el}(r_i) = \begin{cases} \infty & , \quad r_i < (R_p(i) + R_M) \\ \frac{Q_p(i)Q_M}{4\pi\epsilon_o\epsilon_s k_B T} \frac{\exp[-\kappa(r_i - R_M)]}{r_i(1 + \kappa R_M)} & , \quad \text{caso contrário} \end{cases} \quad (2.8)$$

Nesta expressão, assim como para a interação monômero-monômero, usamos o potencial de esfera rígida. Por fim, para o cálculo da energia total do sistema em uma determinada configuração, somamos as componentes da energia apresentadas nessa seção:

$$U^{Total} = \sum_{i=1}^N U^{conf}(r_i) + \sum_{i=1}^{N-1} U_{mon}^{lig}(r_{i,i+1}) + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N U_{mon}^{el}(r_{ij}) + \sum_{i=1}^N U_{macro}^{el}(r_{im}) \quad (2.9)$$

O primeiro termo da equação mantém o polieletrólito dentro da célula, o segundo mantém seus monômeros conectados. Os dois últimos são referentes à interação eletrostática entre os monômeros e entre os monômeros e o macroíon, respectivamente.

Capítulo 3

Ferramentas Computacionais

Como descrito no capítulo anterior, nosso problema trata de um sistema de muitos corpos e possui uma expressão complexa para a energia total do sistema (equação 2.9). Os dois métodos computacionais mais conhecidos para abordar problemas biomoleculares como esse são a Dinâmica Molecular (MD) [46, 47] e o Método de Monte Carlo (MC). O primeiro resolve numericamente as equações da mecânica clássica de cada um dos componentes do sistema, com isso obtém-se as propriedades dinâmicas e as médias das grandezas em um determinado intervalo de tempo. O segundo método foi o escolhido para lidarmos com o sistema e será explicado na próxima seção.

3.1 O Método de Monte Carlo

Como mencionado anteriormente, usamos o Método de Monte Carlo para resolver o sistema descrito na seção 2.1, utilizando o algoritmo de Metrópolis no ensemble canônico [35, 46, 48]. O método MC-Metropolis é baseado na geração de configurações aleatórias que são utilizadas para o cálculo de propriedades termodinâmicas e estruturais médias, de acordo com os fundamentos da mecânica estatística. Sua eficiência está diretamente ligada ao fato de não levar em conta a probabilidade das configurações em si, mas sim a razão entre elas, pois a razão entre as probabilidades de duas dadas configurações pode ser determinada independentemente das outras. Os passos do algoritmo são expostos abaixo:

1. Geramos uma configuração inicial aleatória, com valores aleatórios para todos os graus de liberdade do sistema (posição de todos os monômeros do polieletrólito). Deve-se atribuir o índice i a essa configuração, que é aceita para a amostra;
2. Geramos uma configuração-tentativa com índice j , que é o resultado de mo-

dificações aleatórias nas coordenadas da configuração i ou na carga de algum monômero;

3. Calculamos a variação da energia entre as configurações de i e j , como $\Delta E = E_j - E_i$;
4. Caso $\Delta E \leq 0$, a configuração-tentativa é aceita;
5. Se $\Delta E > 0$, então geramos um número aleatório A , compreendido no intervalo $[0,1]$ e calculamos o valor de w , que é dado pela razão entre as probabilidades de acordo com:

$$w = \frac{P_j}{P_i} = \frac{Ae^{\frac{-E_j}{k_B T}}}{Ae^{\frac{-E_i}{k_B T}}} = e^{\frac{-(E_j - E_i)}{k_B T}} = e^{\frac{-\Delta E}{k_B T}} \quad (3.1)$$

onde, como já mencionado, k_B é a constante de Boltzmann e T a temperatura.

6. Se $w \geq A$, a configuração-tentativa é aceita e passa a ser a configuração i . Se não for o caso, o índice i permanece designando a configuração inicial;
7. Repetimos os passos de 1 a 6 por N_p passos de Monte Carlo.

3.2 O código

O código computacional foi desenvolvido em linguagem Fortran, por ser uma linguagem amplamente usada no meio científico. Nesse código inserimos todo o sistema descrito no modelo da célula e implementamos o Método de Monte Carlo junto ao algoritmo de Metropolis.

No programa, inicialmente, são solicitados os parâmetros do modelo, assim como as informações relacionadas com a execução da simulação. Esses dados são apresentados na tabela 3.1. As configurações do sistema são geradas através de quatro movimentos escolhidos de forma aleatória.

Em seguida, as posições iniciais dos monômeros do polieletrólito podem ser determinadas de duas formas. Se na execução do programa for indicado que ele não deve ler a última configuração da simulação anterior, as posições são definidas aleatoriamente. Caso contrário as posições são definidas pela última simulação realizada. Após isso, realizamos a fase de equilibração, na qual em geral usamos cerca de 10^6 passos de Monte Carlo para fazer com que o sistema atinja o equilíbrio. Apenas quando o sistema atinge esse ponto é que podemos calcular as grandezas físicas médias de interesse.

Parâmetros de entrada relacionados com o modelo	Parâmetros de entrada relacionados com a execução da simulação
Concentração da macromolécula (C_M) Carga da macromolécula (Q_M) Raio da macromolécula (R_M) Concentração de sal (C_s) Número de cadeias (N_c) Distância inicial entre os monômeros (r_0) Número de monômeros (N_m) Carga dos monômeros (Q_p) Raio dos monômeros (R_m) pK dos monômeros (pK_m) pH da solução Temperatura (T)	Número de passos de MC (N_p) Semente do gerador de números aleatórios Deslocamento máximo dos monômeros Deslocamento máximo da cadeia Ângulo máximo do movimento de Pivot Número de passos para decorrelacionar Probabilidade de executar movimento de Pivot Ler configuração da última simulação Executar produção

Tabela 3.1: Dados solicitados pelo programa no início de sua execução

Na fase seguinte, tendo o sistema adquirido uma determinada configuração, após um número suficiente de movimentos ele obtém outra configuração estatisticamente independente. A cada passo, o programa realiza esses movimentos, calcula várias grandezas físicas e as acumula (fase de produção), para que ao final da simulação possam ser obtidos os valores médios. Nessa fase usamos 10^7 passos de Monte Carlo.

Como dito anteriormente, em cada passo da simulação podemos fazer quatro tipos de movimentos para mudar as configurações do sistema, esses movimentos estão descritos abaixo:

1. **Translação da cadeia:** Este movimento desloca toda a cadeia, acrescentando um valor aleatório a todas as posições x , y e z dos monômeros. Esse deslocamento não pode exceder o valor de entrada do programa. A aceitação desse movimento é muito dependente do valor do pH e da concentração de sal. Os deslocamentos foram gerados de forma a obter uma aceitação em torno de 50% na maioria dos casos. No entanto, para baixas concentrações de sal e pH a aceitação não passa de 10%.



2. **Movimento de Pivot:** Se esse movimento [49] for selecionado são escolhidos aleatoriamente um monômero e um eixo de rotação ($\vec{i}$, $\vec{j}$ e $\vec{k}$). Os monômeros serão rotacionados a partir desse monômero escolhido e sobre esse eixo de rotação, usando uma matriz de rotação. O ângulo máximo de rotação para pHs baixos e



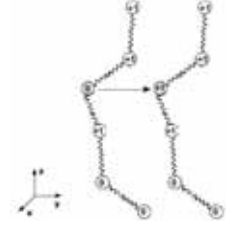
baixas concentrações de sal é cerca de 30° para obter aceitação média de 20%. Para a situação contrária, mesmo com um deslocamento máximo de 360°, a aceitação fica em torno de 70%.

3. Translação do monômero: Segue o mesmo raciocínio da translação da cadeia, mas nesse caso movimenta-se apenas um monômero, o qual é escolhido aleatoriamente. Usamos deslocamentos máximos menores que os da cadeia, na tentativa de obter aceitações em torno de 30%. Ao contrário dos outros casos, não houve dificuldades para obter aceitações próximas a essa, mesmo em situações de baixa concentração de sal e pH.



4. Titulação do monômero: Quando essa opção é selecionada, escolhemos aleatoriamente um monômero e mudamos sua carga de +1e para 0 ou de 0 para +1e. Testamos se essa mudança é aceita conforme a seguinte variação energética [50]:

$$\Delta U = \Delta U^{el} \pm k_B T \ln 10 (pH - pK_a), \quad (3.2)$$



onde o sinal positivo é usado quando o monômero protona e negativo quando ele desprotona. O termo ΔU^{el} é a componente eletrostática da energia.

Em cada passo de MC o programa realiza uma ou no máximo duas dessas quatro ações, elas são escolhidas de forma aleatória. Entretanto, elas não possuem a mesma chance de ocorrer, a translação dos monômeros ocorre em torno de 80% dos casos. Nos 20% restantes dividimos metade para a titulação dos monômeros e o resto para a translação da cadeia e o movimento de Pivot que ocorrem no mesmo passo de MC. A figura 3.1 apresenta um fluxograma que resume o algoritmo do programa.

3.2.1 Propriedades médias

Para tratar o sistema pelo método escolhido, recorreremos à Mecânica Estatística, a qual nos permite calcular a distribuição de monômeros e as propriedades termodinâmicas de interesse. Uma das grandezas mais importantes calculadas é o raio de giro R_g , essa propriedade conformacional pode ser medida experimentalmente e dá uma estimativa do tamanho do polímero. Em nossa simulação essa grandeza é calculada pela distância de cada monômero ao centro de massa do polímero:

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \langle (r_{cm} - r_i)^2 \rangle \quad (3.3)$$

onde r_i é a posição do i -ésimo monômero e r_{cm} é a posição do centro de massa do polímero, a qual é dada por:

$$r_{cm} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N r_i \quad (3.4)$$

Ao fim de cada simulação nós obtemos o valor do raio de giro médio do polieletrólito. Usando esse valor como parâmetro de ordem nós calculamos outra grandeza de grande importância neste trabalho, a energia livre.

A energia livre

Não é trivial calcular a energia livre do sistema estudado por meio da simulação computacional. Isso porque não podemos obter a entropia desse sistema apenas pela média de alguma propriedade. O método do Múltiplo Histograma [26] tem se mostrado eficiente para sistemas com as mesmas características definidas neste trabalho e é um meio de se contornar a dificuldade citada acima. Com esse método nós maximizamos as informações extraídas na simulação.

Resumidamente, esse método consiste em determinar a densidade de estados ω em uma dada temperatura T , com a soma ponderada de densidades de estado estimadas ω_i , obtidas por meio de diversas simulações com temperaturas T_i diferentes, sendo T_i geralmente maior que T . Com isso, obtemos amostragens conformacionais da macromolécula em regiões de alta energia. Os pesos, usados para o cálculo da soma ponderada, são obtidos pela minimização dos erros estatísticos $\delta^2\omega$, por meio da sobreposição das distribuições de probabilidade Ω de cada simulação executada em uma temperatura T_i .

Esta metodologia será empregada através da utilização do programa WHAM desenvolvido por A. Grossfield [51], e como dito anteriormente teremos o raio de giro do polímero como parâmetro de ordem. Variamos a temperatura T_i nas simulações com valores entre 298,15 e 20298,15. Os valores intermediários de temperatura foram escolhidos para que as distribuições de probabilidades Ω se sobreponham em 40%, no mínimo. No apêndice B, ao fim deste trabalho, fizemos uma explicação mais detalhada da utilização do programa WHAM e do motivo das temperaturas utilizadas na simulação.

Número médio de monômeros

Para calcular computacionalmente este número nós dividimos a célula em “fatias” concêntricas ao eixo do macroíon, com largura $\delta = 1 \text{ \AA}$. Para cada configuração o número n^k de monômeros localizados na k -ésima fatia é calculado e acumulado. No fim da simulação fazemos a média para obter o número médio de monômeros em função da distância do macroíon

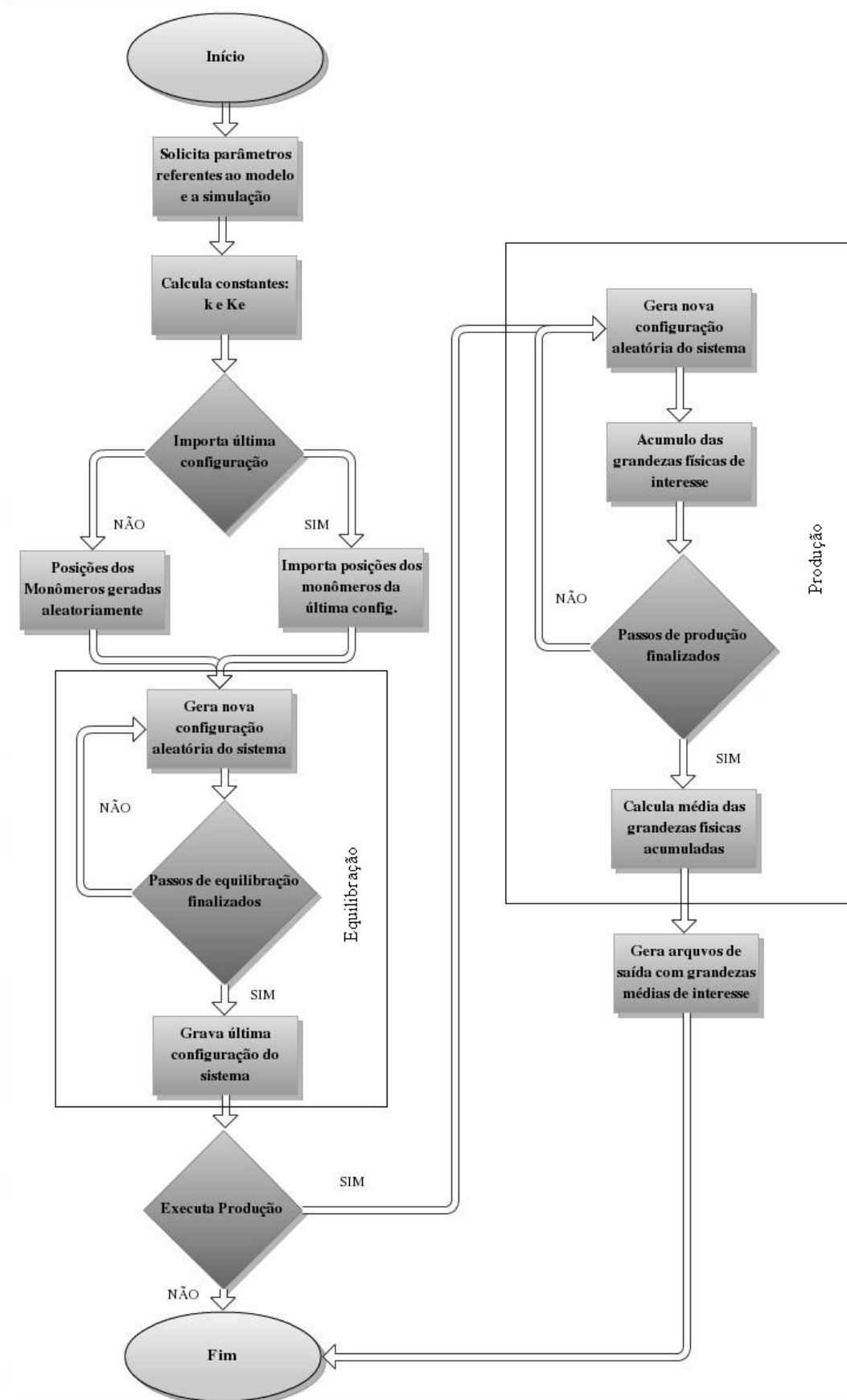


Figura 3.1: Fluxograma do código computacional desenvolvido para este trabalho.

Capítulo 4

Resultados

4.1 Efeito da força iônica e do pH

Iniciaremos a apresentação dos resultados considerando a valência do macroíon igual a $Z_M = -20$. Nos primeiros gráficos (figura 4.1A e 4.1B) temos o grau de ionização dos monômeros em função do pH (gráfico A) e o número de coordenação dos monômeros (média numérica de monômeros) em função da distância ao centro do macroíon (gráfico B). Esses gráficos tem por objetivo mostrar o efeito da presença do macroíon.

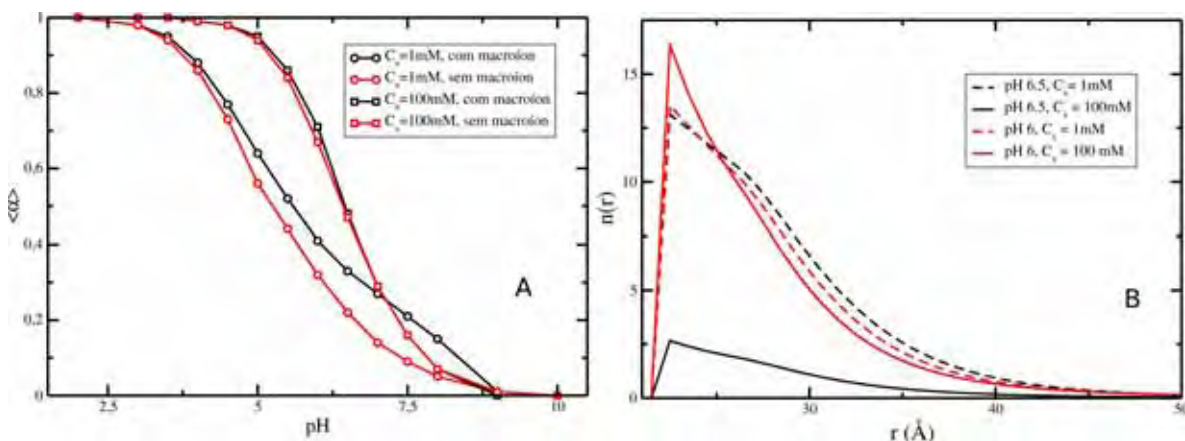


Figura 4.1: Gráfico A: Média do grau de ionização dos monômeros em função do pH. As curvas pretas com macroíon ($Z_M = -20$) e as vermelhas sem macroíon, em concentração de sal $C_s = 100 \text{ mM}$ (quadrados) e $C_s = 1 \text{ mM}$ (círculos). Gráfico B: número de coordenação $n(r)$ em função da distância ao eixo do macroíon, o pH é 6 (vermelho) e 6,5 (preto). As curvas tracejadas em $C_s = 1 \text{ mM}$ e as curvas cheias em $C_s = 100 \text{ mM}$.

Podemos notar que, para pHs baixos, todos os monômeros permanecem car-

regados, com grau de ionização $\alpha = 1$, em ambas concentrações de sal (1 mM (círculos) e 100 mM (quadrados)). Isso ocorre pois são monômeros básicos, os quais em pHs baixos tendem a ficar protonados. Conforme aumentamos o valor do pH, o polímero que está em solução de baixa força iônica começa a desprotonar primeiro. Tal comportamento se deve à baixa blindagem eletrostática entre os monômeros, ocasionando uma interação repulsiva maior. Essa repulsão faz com que seja favorável a desprotonação dos monômeros, uma vez que a energia na equação 3.2 se torna mais positiva.

Considerando agora apenas as soluções com maior força iônica (100 mM), podemos notar que a presença do macroíon não afeta significativamente o grau de ionização dos monômeros. Essa baixa influência se deve ao fato que a blindagem eletrostática da interação entre o polímero e o macroíon em 100 mM ser alta a ponto de, em pHs maiores que 6, tornar o polieletrólito livre em solução. Observando a figura 4.1B, no qual as curvas mostram o número médio de monômeros a uma distância r do macroíon, na concentração de sal 100 mM, vemos uma grande diminuição dos monômeros próximos ao macroíon, quando variamos o pH de 6 (vermelha) para 6,5 (preta), indicando que o polímero tende a ficar livre em solução. Portanto, a partir de pH 6,5 a cadeia se comporta praticamente como se estivesse isolada (na ausência do macroíon). Esse comportamento não ocorre em 1 mM de sal, como observamos nas curvas tracejadas. Ao variar o pH de 6 para 6,5 a diminuição dos monômeros próximos ao macroíon é mínima, ou seja, ele continua adsorvido. Sendo assim, o grau de ionização nessa força iônica é fortemente influenciada pela presença do macroíon, mesmo em pHs maiores, o que é claramente notado na figura 4.1A. Nesse gráfico, ao se observar o grau de ionização do polímero na presença do macroíon em concentração salina de 1 mM vemos que ele está sensivelmente maior que no caso da cadeia isolada em mesma força iônica (curva vermelha).

Na figura 4.2A nós apresentamos a energia média de ligação polímero-macroíon em função de κ . Não são apresentados os resultados para pH = 2, 3 e 4 por serem praticamente iguais aos resultados com pH = 1, onde os monômeros possuem grau de ionização $\alpha = 1$, com variações mínimas. Os resultados para pHs acima de 7 (pK dos monômeros) também não são mostrados, pois nestes casos o polímero possui carga praticamente nula.

Observando o comportamento geral das curvas da figura 4.2A, notamos que o aumento da concentração de sal faz com que a energia de ligação se torne menos negativa. Isso ocorre devido ao aumento da blindagem eletrostática entre o polímero e o macroíon. Sabemos que quanto mais negativa for a energia de ligação mais estável é a adsorção, portanto o aumento da concentração salina tende a promover a dessorção do polímero. Em relação às características das energias de ligação é possível observar dois

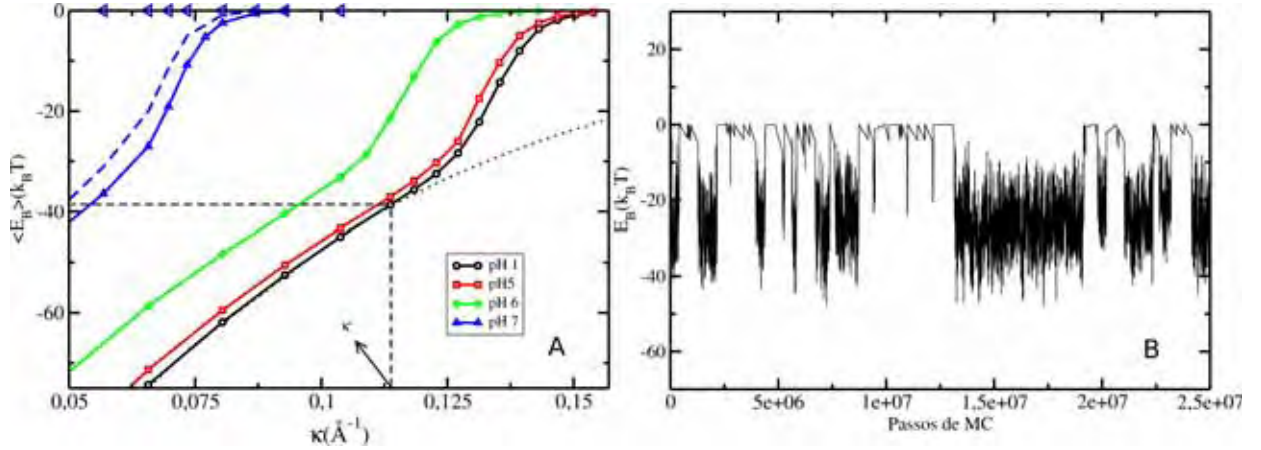


Figura 4.2: O gráfico A mostra a média da energia de ligação em função de κ . A Carga do macroión é $Z_M = -20$ e o pH é 1 (preto), 5 (vermelho), 6 (verde) e 7 (azul). Na linha tracejada azul apresentamos os resultados onde a carga do monômero foi mantida constante e igual a 0,5e e os pontos triangulares mostram os resultados com as cargas dos monômeros fixas obtidas na simulação com o polímero isolado. O gráfico B apresenta a trajetória da energia de ligação E_B em pH 5 e $C_s = 170$ mM.

comportamentos distintos. No primeiro (para κ pequeno) podemos associar a curva com uma expressão inspirada na equação de Debye-Hückel, a qual pode ser escrita como: $y = A \exp(-Bx)$ (linha preta pontilhada). Onde A é uma constante referente ao número médio de monômeros adsorvidos e B à distância média entre eles e o macroión. No entanto, essa expressão não representa um ajuste para as curvas de energia com pHs maiores, onde ocorre uma maior flutuação da carga do polímero. O valor de κ onde a energia de ligação entra em seu segundo comportamento é chamado κ^* [25]. A partir desse ponto há uma diminuição abrupta no módulo da energia de ligação média, a qual provoca um desvio na trajetória esperada desta energia, essa diminuição se deve ao rápido crescimento da população de configurações com $E_B = 0$ (polímero livre). A partir de κ^* , observamos que o polímero entra num estágio de coexistência entre o estado livre e o adsorvido e com isso a energia total começa a variar em torno de duas médias. Observando o gráfico B da figura 4.2 vemos que essa oscilação se deve ao fato que a energia de ligação se mantém próxima a zero, quando o polímero está livre, e diferente de zero, quando ele está adsorvido. Outro fato que verificamos é que conforme aumentamos o valor do pH da solução o polieletrólito fica menos carregado e com isso uma força iônica menor já é suficiente para tornar o polímero, antes adsorvido, livre em solução.

Apesar da energia de ligação possuir um comportamento semelhante para todas as curvas, os pontos triangulares esquerdos permanecem próximos a energia zero, independente da força iônica. Neste caso, em especial, fizemos simulações em pH = 7 com o polieletrólito isolado e calculamos a carga média por monômero em cada

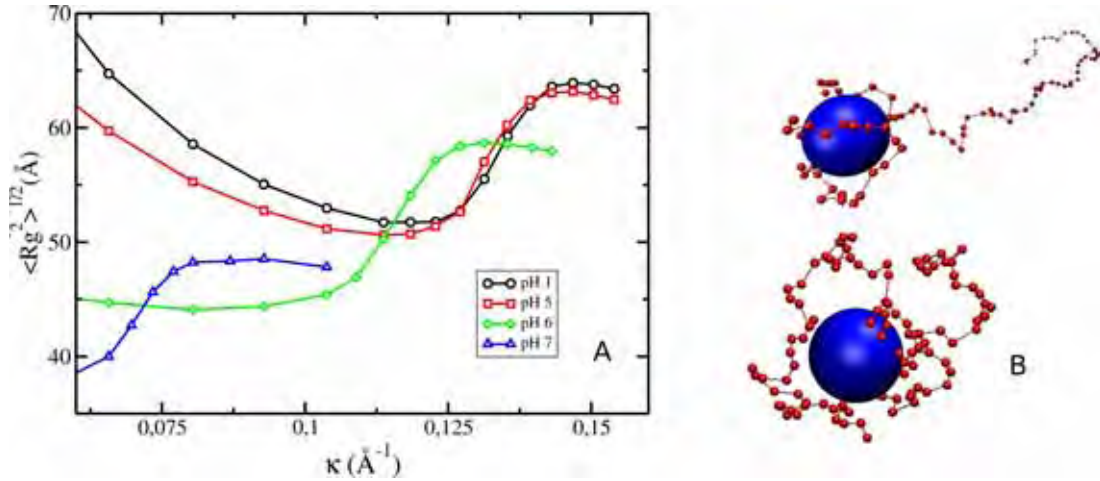


Figura 4.3: Gráfico A: Raio de giro quadrático médio em função de κ . A carga do macroíon é $Z_M = -20$, as curvas preta, vermelha, verde e azul são respectivamente as soluções com pH 1, 5, 6 e 7. As figuras de B mostram ilustrações de configurações próximas a energia média total do sistema. Ambas em concentração de sal 1 mM, a figura de cima com pH 1 e a de baixo com pH 7.

concentração de sal. O grau de ionização variou entre 0,2 e 0,3. Em seguida, fixamos esses valores nos monômeros e simulamos o polímero interagindo com o macroíon. Neste caso, a energia de ligação manteve-se próxima a zero, ou seja, a interação entre as macromoléculas não foi forte o bastante para superar a entropia da cadeia livre em solução e promover a adsorção. Esse fato mostra que a adsorção, pelo menos em pH 7, só ocorre devido à regulação de carga causada pelo macroíon no polieletrólito.

Ainda analisando a influência da regulação de carga nesse sistema e sabendo que um monômero isolado em pH 7 tem uma probabilidade de 0,5 de estar protonado, simulamos um polímero com monômeros de carga fixa igual 0,5e interagindo com o macroíon. O resultado é apresentado pela curva tracejada azul. Apesar de a energia de ligação indicar que houve a adsorção, ela é menos estável que a do caso com pH 7 com monômeros sujeitos a regulação de carga. Esses resultados ilustram a competição existente entre a interação repulsiva monômero-monômero, a qual tende a promover a desprotonação, e a interação atrativa monômeros-macroíon, a qual tende a manter a carga dos monômeros positiva. Neste caso, em $Z_M = -20$, vemos que a interação atrativa vence a competição. Portanto, a regulação de carga promovida pelo macroíon no polieletrólito faz com que a adsorção seja mais estável entre o polímero dissociável e o macroíon do que quando o polímero tem monômeros com carga fixa.

A figura 4.3A se refere ao raio de giro quadrático médio do polímero em função de κ . Podemos observar que, para uma concentração de sal baixa, o raio de giro é muito alto se comparado com o raio do macroíon, apesar de o polímero estar

adsorvido. Isso ocorre para todos os pHs, exceto em pH 7. Esse valor grande do raio de giro se deve à rigidez da cadeia, a qual é causada pela grande repulsão entre os monômeros promovida pela baixa blindagem eletrostática entre eles. Essa rigidez faz com que apenas uma extremidade do polímero toque o macroíon e o resto da cadeia forma uma cauda (figura 4.3B de cima). Conforme aumentamos a força iônica, a blindagem eletrostática aumenta e promove a diminuição do raio de giro até o ponto em que κ fique aproximadamente igual ao valor de κ^* . A partir desse ponto, o polímero passa a ficar parte da simulação adsorvido no macroíon, com um raio de giro pequeno, determinado pelas dimensões do macroíon e parte da simulação livre, com um raio de giro um pouco maior. Com o aumento da população de configurações onde o polímero está livre, na média, o raio de giro aumenta até o ponto onde a blindagem entre o macroíon e o polieletrólito se torna tão grande que ele não adsorve mais. A partir daí o raio de giro diminui novamente, pois, mesmo com o polímero livre, o aumento da força iônica continua blindando a repulsão entre os monômeros.

A variação do pH produz o mesmo efeito do apresentado no gráfico de energia de ligação, no qual para pHs maiores, onde o polieletrólito está menos carregado, uma força iônica menor já é suficiente para tornar o polímero livre. A figura 4.3B representa configurações do sistema com energias próximas a média. Ambas possuem concentração de sal igual a 1 mM, a de cima, com pH 1 e os monômeros mais carregados, torna a cadeia mais esticada devido a repulsão entre eles. Podemos notar também a formação de uma longa cauda, neste caso. Na figura de baixo, onde a solução possui pH 7, o polímero fica com uma configuração mais globular, pois está menos carregada e, com isso, tem uma menor repulsão entre os monômeros.

Os resultados apresentados até aqui indicam a existência de uma região de coexistência de estados, onde o polímero se encontra parte da simulação livre e parte adsorvido. Para caracterizar um comportamento semelhante à transição de fase entre esses estados, nós calculamos a energia livre do sistema. Verificamos que, em concentrações de sal onde esperávamos a coexistência de fases, existem dois mínimos para a energia livre. Usando o raio de giro como parâmetro de ordem, vimos que o primeiro mínimo se refere ao polieletrólito adsorvido, o qual possui um raio de giro menor, como vimos na figura 4.3A. O segundo é quando o polímero está livre, com maior grau de liberdade e possui um raio de giro maior.

Na figura 4.4A apresentamos os resultados com $Z_M = -25$, nele mostramos a energia livre em função do raio de giro para três diferentes concentrações de sal e em pH 7. Quando $C_s = 80$ mM (curva preta) o polímero apresenta uma maior probabilidade de possuir mais configurações adsorvidas na simulação e isso faz com que seu primeiro mínimo seja mais profundo do que seu segundo mínimo. Quando aumenta-

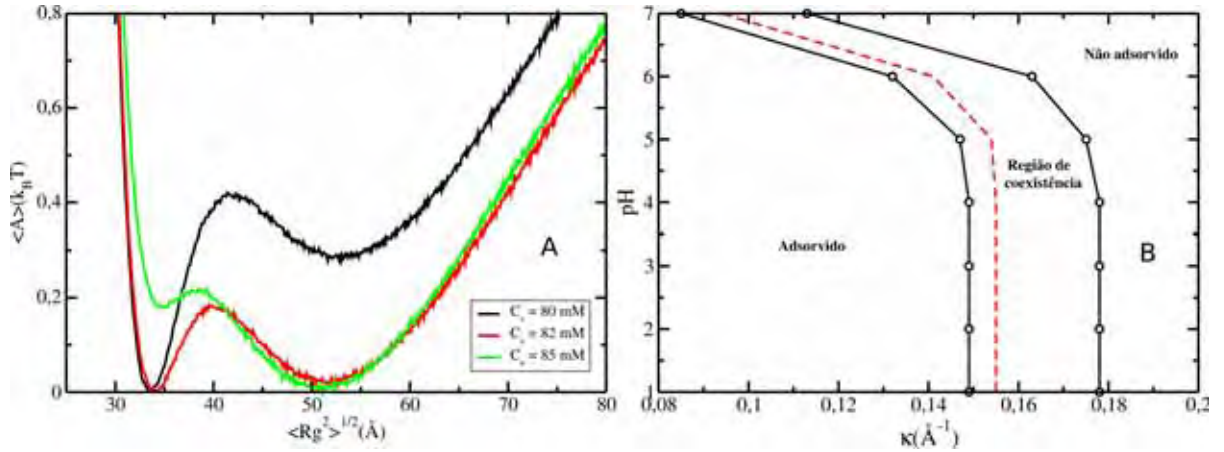


Figura 4.4: Gráfico A: Energia livre ($k_B T$) em função do raio de giro. A carga do macroíon é $Z_M = -25$ em pH 7, a concentração de sal é 80 mM (preto), 85 mM (verde) e a força iônica crítica 82 mM (vermelho). Gráfico B: Diagrama de estado, as curvas pretas mostram o pH em função dos valores de κ que definem a região de coexistência de fases. Acima desses valores de κ o polieletrólito tende a ficar livre e abaixo a ficar complexado. A linha tracejada vermelha apresenta o pH em função dos valores de κ crítico. Esse gráfico também tem o macroíon com carga $Z_M = -25$.

mos a concentração para 85 mM (curva verde) notamos a situação contrária, o segundo mínimo é mais profundo que o primeiro, o que significa uma maior probabilidade de que haja mais configurações livres do que adsorvidas. Por fim, numa concentração intermediária (82 mM, curva vermelha), os dois mínimos assumem a mesma profundidade, essa concentração de sal é conhecida como concentração crítica (κ_c), onde acima desse valor de κ a tendência do polímero é ficar livre e abaixo é ficar adsorvido.

Na figura 4.4B apresentamos um diagrama de estados do pH em função de κ , no qual as curvas pretas que delimitam a área de coexistência de fases. Para os pHs de 1 até 5 essa área permanece praticamente constante. Conforme aumentamos o pH, as curvas se deslocam para esquerda, o que era esperado já que a interação entre o polieletrólito e o macroíon diminui com a diminuição da carga do polímero. Sendo assim, um κ menor já faz com que o sistema atinja a região de coexistência. A curva tracejada vermelha mostra os valores de κ crítico obtidos através de gráficos de energia livre iguais ao apresentado nessa figura, para cada pH.

4.2 Efeito da carga do macroíon

Nessa segunda etapa dos resultados, apresentamos primeiramente o gráfico que mostra a variação do valor de κ^* com a carga do macroíon. Lembramos que κ^* é, aproximadamente, o valor de κ onde ocorre a mudança no comportamento da curva da

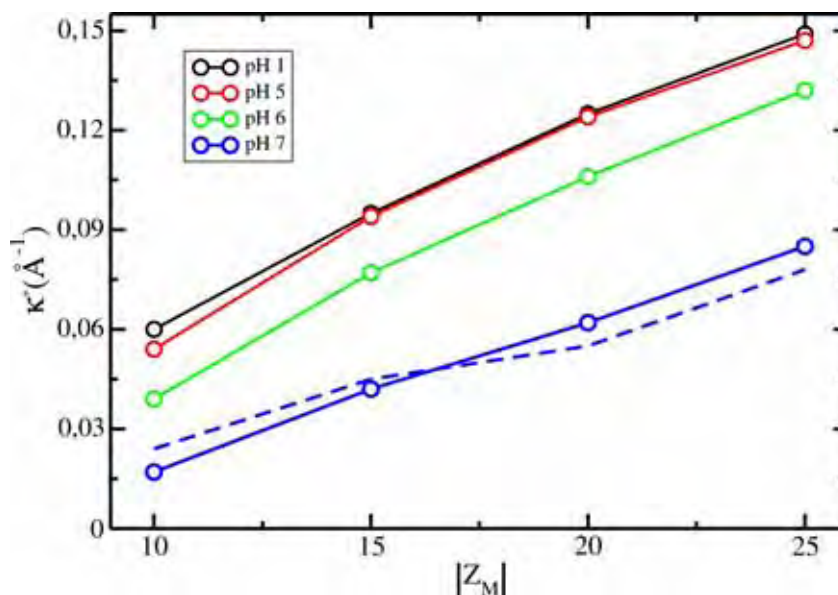


Figura 4.5: Valor de κ^* em função do módulo da carga do macroíon. As curvas cheias preta, vermelha, verde e azul referem-se, respectivamente, ao pH 1, 5, 6 e 7. Na linha tracejada azul apresentamos os valores de κ^* obtidos com a carga do monômero mantida constante e igual a 0,5e.

energia de ligação, o qual indica o início da coexistência de estados entre o polímero adsorvido e livre em solução.

Podemos notar no gráfico acima que para os menores valores de pH, onde os monômeros estão mais carregados, os valores de κ^* são maiores. Isso já foi observado no gráfico A da figura 4.2. A nova informação dessa figura é quando ocorre o aumento de κ^* com o aumento do módulo da valência do macroíon. Esse comportamento já era esperado, pois quanto maior o módulo dessa carga, maior a energia atrativa entre o polímero e a macromolécula. Com isso, a força iônica necessária para blindar essa interação, a ponto de tornar o polímero livre, também tem que ser maior. Outro aspecto importante observado nesse gráfico é que a regulação de carga se torna mais evidente com o aumento de Z_M . Isso é fácil de notar quando observamos a curva tracejada azul, onde simulamos os monômeros com cargas fixas 0,5e, e comparamos com a curva cheia azul obtida em pH 7. Nos pontos onde $Z_M = -10$ e -15 os valores de κ^* para a cadeia de carga fixa são maiores que no caso da cadeia com monômeros ionizáveis, mostrando que a energia de ligação é mais negativa e a adsorção é mais estável para os monômeros que não sofrem regulação de carga, ou seja, nesses casos existe o domínio da interação repulsiva monômero-monômero. Já para o caso com $Z_M = -20$ e -25 a situação se inverte, a interação atrativa entre o polímero com monômeros ionizáveis e o macroíon se torna mais negativa do que para os monômeros de carga fixa.

Na figura 4.6 são apresentados dois gráficos de raio de giro quadrático médio

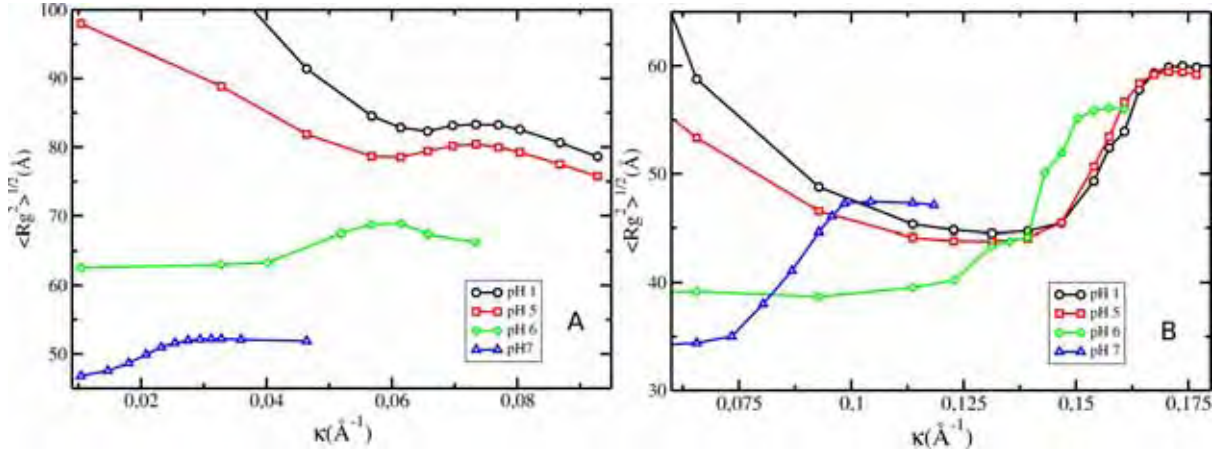


Figura 4.6: Gráficos do raios de giro quadráticos médios em função de κ . No gráfico A a carga do macroíon é $Z_M = -10$ e no B é $Z_M = -25$. As curvas preta, vermelha, verde e azul são respectivamente as soluções com pH 1, 5, 6 e 7, em ambos os gráficos.

em função de κ . O gráfico A pra $Z_M = -10$ e o B com $Z_M = -25$. As curvas pretas estão em solução de pH 1, as vermelhas em pH 5, as verdes em pH 6 e as azuis em pH 7. Ao apresentarmos esses gráficos queremos ver a dependência do raio de giro em relação a carga do macroíon, para tanto, comparamos a sua variação a partir do ponto onde em que ele atinge o seu menor valor. Nesse ponto o valor de κ é praticamente igual ao valor de κ^* e início da região de coexistência de fases. Portanto, conforme aumentamos a força iônica a probabilidade do polímero ficar livre em solução também aumenta. Isso faz com que ele fique mais esticado, tornando seu raio de giro maior. No entanto, esse aumento não é o mesmo para os dois gráficos, no caso de $Z_M = -10$ a variação do raio de giro é pequena. Já para o caso onde $Z_M = -25$ há uma variação maior. Isso ocorre porque a energia atrativa entre o polímero e o macroíon de menor valência (-25) é muito maior, fazendo com que o polieletrólito fique muito mais compactado quando está adsorvido.

Os pontos da figura 4.7 são os valores de κ_c para os diferentes pHs estudados em função do produto do módulo da valência do macroíon (Z_M) e do grau de ionização do polímero (α) em escala logarítmica. Lembramos que a lei de escala é dada por $\sigma\xi \sim \kappa_c^a$ e, uma vez que as equações para o cálculo de σ (equação 2.5) e de ξ (equação 2.4) envolvem constantes ($e/4\pi R_M^2$ e $N/(N-1)L$) e que elas não influenciam no valor da constante a dessa lei, decidimos, assim, omiti-las no cálculo desse expoente. Desse modo, ajustamos os pontos da figura 4.7 com a expressão $Z_M\alpha = B\kappa_c^a$ e podemos comparar o valor da constante a com os valores obtidos na literatura, entre 1,0 e 1,4 [12–18], para o caso de macroíons esféricos e polímeros com carga fixa. A tabela a seguir mostra os valores de a obtidos em nossas simulações.

Podemos observar na tabela 4.1 que os valores de a obtidos variam dentro

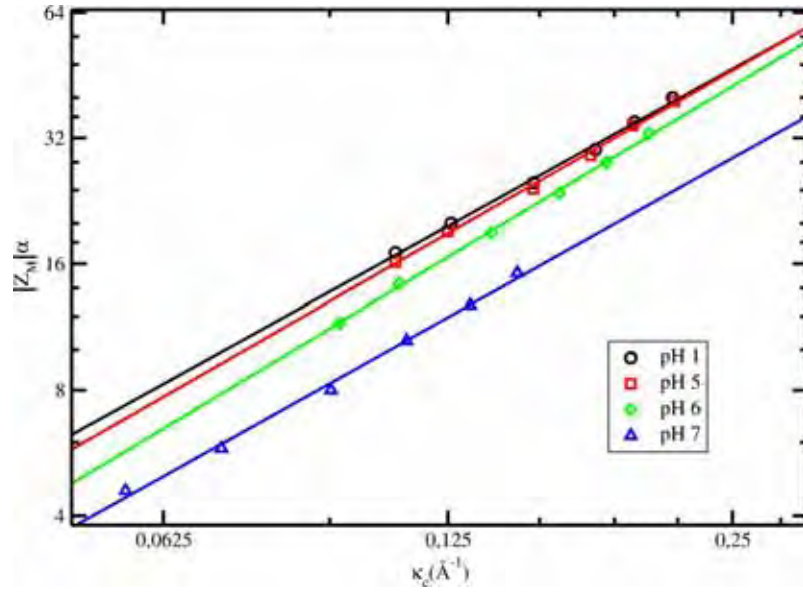


Figura 4.7: Valor de κ_c em função do produto do módulo da valência do macroíon e do grau de ionização do polímero. As curvas preta, vermelha, verde e azul referem-se, respectivamente, aos pHs 1, 5, 6 e 7.

Tabela 4.1: Valores do expoente a para diferentes pHs.

pH da solução	Expoente (a)
1,0	1,25
5,0	1,30
6,0	1,36
7,0	1,26

do intervalo esperado. No entanto, as relações de escala teórico-analíticas abrangem um grande intervalo de valores de Z_M , os quais não foram considerados neste trabalho. Apesar disto, a carga do macroíon foi escolhida de acordo com os valores de trabalhos experimentais [12–18] para um macroíon com essas dimensões, e nesse intervalo conseguimos uma boa concordância com a literatura.

Capítulo 5

Conclusões

Nós estudamos a interação entre polieletrólitos fracos e macroíons esféricos utilizando simulações com o método de Monte Carlo associadas ao algoritmo de Metropolis. Verificamos a influência causada pelo macroíon na distribuição de carga do polímero, observamos que a interação entre eles pode modificar o comportamento da ionização média dos monômeros. A energia atrativa polímero-macroíon faz com que seja energeticamente favorável os monômeros ficarem positivamente carregados. Também notamos que a regulação de carga tem forte dependência do pH e da concentração de sal, sendo mais efetiva em pHs próximos ao pK dos monômeros e concentrações de sal mais baixas que permitam o polieletrólito ficar complexado.

Analisamos a estabilidade da adsorção, variando a concentração de sal e o pH. Observamos uma grande dependência da energia de ligação em função desses parâmetros. No intervalo de $\text{pH} = 1$ até 4 os monômeros do polímero não sofrem mudanças significativas em seu grau de ionização. Sendo assim, o polímero apresenta o mesmo comportamento para todo esse intervalo de pH. Ainda analisando a energia de ligação vimos transições de fase do tipo de primeira-ordem semelhante às do trabalho da referência [25]. Essas foram confirmadas no cálculo da energia livre em função do raio de giro do polieletrólito, a qual apresentou dois mínimos bem definidos, um deles referente ao estado adsorvido e o outro referente ao estado livre. Portanto, assim como em polímeros de carga fixa, a transição de fase também ocorre em polieletrólitos fracos.

Quanto aos aspectos conformacionais, verificamos o efeito da força iônica, do pH e também da carga do macroíon. Notamos que, em baixas concentrações de sal, o polímero tende a ficar esticado, mesmo quando adsorvido no macroíon, isso porque a baixa blindagem eletrostática provoca uma grande repulsão entre os monômeros dificultando que ele se dobre. Quando a concentração de sal é aumentada, e a interação eletrostática é atenuada pela blindagem, o polímero tende a se enrolar na

macromolécula. Quanto ao pH, seu aumento leva a uma desprotonação dos grupos básicos, conseqüentemente ocorre uma diminuição da carga média da cadeia, a qual tende a fazer que o polímero a ficar menos esticado. Por fim, em relação a carga do macroión, quando esta é muito baixa o polímero apenas toca o macroión, não sofrendo alterações conformacionais. Esse efeito, somado a uma solução de pH próximo ao pK , impossibilitou o uso do raio de giro como parâmetro de ordem no cálculo da energia livre para casos onde o macroión tinha valência menor que $Z_M = -17$.

Por último, calculamos o valor da expoente a da expressão de escala $\sigma\xi \sim \kappa_c^a$. O valor desse expoente foi calculado para soluções com pH 1, 5, 6 e 7, sendo que todos os valores obtidos estavam de acordo com o esperado na literatura, no intervalo entre 1,0 e 1,4. Portanto, com tudo que apresentamos neste trabalho, tornamos possível prever o estado de protonação dos monômeros na presença e na ausência de macroíons de carga oposta. Com a análise realizada em relação ao pH da solução, concentração de sal e carga do macroión, possibilitamos uma melhor compreensão sobre os fatores que dirigem a adsorção e a dessorção dos polímeros em macroíons. Por fim, conseguimos um melhor entendimento sobre o mecanismo de regulação de carga, o qual se mostrou muito relevante na interação entre polieletrólitos fracos e macroíons de carga oposta.

Referências Bibliográficas

- [1] WOLFERT, M. et al. Characterization of vectors for gene therapy formed by self-assembly of DNA with synthetic block co-polymers. **Human Gene Therapy**, v. 7, n. 17, p. 2123-2133, Nov. 1996.
- [2] ELOUAHABI, A.; RUYSSCHAERT, J. Formation and intracellular trafficking of lipoplexes and polyplexes. **Mol. Ther.**, v. 11, n. 3, p. 336-347, Mar. 2005.
- [3] De GEEST, B. et al. Polyelectrolyte microcapsules for biomedical applications. **Soft Matter**, v. 5, n. 2, p. 282-291, Jan. 2009.
- [4] IATRIDI, Z. et al. Self-assembly and drug delivery studies of pH/thermo-sensitive polyampholytic (A-*co*-B)-*b*-C-*b*-(A-*co*-B) segmented terpolymers. **Soft Matter**, v. 7, n. 23, p. 11160-11168, Nov. 2011.
- [5] YI, Q.; WEN, D.; SUKHORUKOV, G. B. UV-Cross-Linkable multilayer microcapsules made of weak polyelectrolytes. **Langmuir**, v. 28, n. 29, p. 10822-10829, Jul. 2012.
- [6] NAPPER, D. H. **Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersions**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1983.
- [7] BUFFLE, J. et al. A generalized description of aquatic colloidal interactions: The three-colloidal component approach. **Environ. Sci. Technol.**, v. 32, n. 19, p. 2887-2899, Aug. 1998.
- [8] CARUSO, F.; CARUSO, R. A.; MÖHWALD, H. Nanoengineering of inorganic and hybrid hollow spheres by colloidal templating. **Science**, v. 282, n. 5391, p. 1111-1114, Nov. 1998.
- [9] DECHER, G. Fuzzy nanoassemblies: Toward layered polymeric multicomposites. **Science**, v. 277, n. 5330, p. 1232-1237, Aug. 1997.
- [10] SEYREK, E. et. al. Ionic strength dependence of protein-polyelectrolyte interactions. **Biomacromolecules**, 4(2):273-282, 2003.

-
- [11] GRYPONPRE, K. R. et. al. **Biomacromolecules**, 2:422–429, 2001.
- [12] DUBIN, P. L.; THÉ, S. S.; MCQUIGG, D. W.; CHEW, C. H.; GAN, L. M.. Binding of polyelectrolytes to oppositely charged ionic micelles at critical micelle surface charge density. **Langmuir**, 5:89–95, 1989.
- [13] MCQUIGG, D. W.; KAPLAN, J. I.; DUBIN, P. L. Critical conditions for the binding of polyelectrolyte to small oppositely charged micelles. **J. Phys. Chem.**, 96:1973–1978, 1992.
- [14] ZHANG, H.; OHBU, K.; DUBIN, P. L. **Langmuir**, 16:9082, 2000.
- [15] FENG, X. H.; DUBIN, P. L.; ZHANG, H. W.; KIRTON, G. F.; BAHADUR, P.; PAROTTE, J. **Macromolecules**, 34:6373, 2001.
- [16] MATTISON, K. W.; DUBIN, P. L.; BRITTAI, I. J.. Complex formation between bovine Serum Albumin and strong polyelectrolytes: Effect of polymer charge density. **J. Phys. Chem. B.**, 102(19):3830–3836, 1998.
- [17] MIURA, N.; DUBIN, P. L.; MOOREFIELD, C. N.; NEWKOME, G. R. Complex formation by electrostatic interaction between carboxyl-terminated dendrimers oppositely charged polyelectrolytes. **Langmuir**, 15:4245–4250, 1999.
- [18] COOPER C. L. et. al. Effects of polyelectrolyte chain stiffness, charge mobility, and charge sequences on binding to proteins and micelles. **Biomacromolecules**, 7:1025–1035, 2006.
- [19] WIEGEL F. W. Adsorption of a macromolecule to a charged surface. **J. Phys. A: Math. Gen.**, 10(2):299–303, 1977.
- [20] WIEGEL, F. W. **Conformational Phase Transition in a Macromolecule: Exactly Solvable Models. In Phase Transitions and Critical Phenomena**, volume 7. Academic Press London, 1983.
- [21] ULRICH, S.; SEIJO M.; STOLL. S. The many facets of polyelectrolyte and oppositely charged macroions complex formation. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, 11:268–272, 2006.
- [22] VON GOELER, F.; MUTHUKUMAR, M. Adsorption of a polyelectrolyte onto curved surfaces. **J. Chem. Phys.**, 100(10):7796–7803, 1994.
- [23] BRYNDA, M.; CHODANOWSKI, P.; STOLL, S. Polyelectrolyte–particle complex formation. Polyelectrolyte linear charge density and ionic concentration effects. Monte Carlo simulations. **Colloid Polym. Sci.**, 280:789–797, 2002.

-
- [24] LAGUECIR, A.; STOLL, S.; KIRTON, J.; DUBIN, P. L. Interaction of a polyanion with a cationic micelle: Comparison of monte carlo simulations with experiment. **J. Phys. Chem. B**, 107:8056–1372, 2003.
- [25] de CARVALHO, S. J. First-order-like transition in salt-induced macroion-polyelectrolyte desorption. **Europhys. Lett.**, 92:18001, 2010.
- [26] KUMAR, S. et. al. The Weighted Histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. **J. Comp. Chem.**, 13(8):1011–1021, 1992.
- [27] CHODANOWSKI, P.; STOLL, S. Polyelectrolyte adsorption on charged particles: Ionic concentration and particle size effects – A Monte Carlo approach. **J. Chem. Phys.**, 115(10):4951–4960, 2001.
- [28] LAGUECIR, A.; STOLL, S. Adsorption of a weakly charged polymer on an oppositely charged colloidal particle: Monte carlo simulations investigation. **Polymer**, 46:1359–1372, 2005.
- [29] KONG, C. Y.; MUTHUKUMAR, M. Monte carlo study of adsorption of a polyelectrolyte onto charged surfaces. **J. Chem. Phys.**, 109(4):1522–1527, 1998.
- [30] de VRIES, R. Monte Carlo simulations of flexible polyanions complexing with whey proteins at their isoelectric point. **J. Chem. Phys.**, 120(7):3475–3481, 2004.
- [31] KIRKWOOD, J. G.; SHUMAKER, J. B. Forces between protein molecules in solution arising from fluctuations in proton charge and configuration. **Chemistry**, 38:863–871, 1952.
- [32] LUND, M.; JÖNSSON, B. On the charge regulation of proteins. **Biochemistry**, 44:5722–5727, 2005.
- [33] LUND M.; JÖNSSON, B. **Biophys. J.**, 85:2940–294, 2003.
- [34] ZYDNEY, A. L.; PUJAR, N. S. Protein transport through porous membranes: Effects of colloidal interactions. **Colloids Surf. A**, 138:133–143, 1998.
- [35] da SILVA, F. L. B. et. al. On the complexation of proteins and polyelectrolytes. **J. Phys. Chem. B**, 110:4459–4464, 2006.
- [36] da SILVA, F. L. B.; JONSSON, B. Polyelectrolyte-protein complexation driven by charge regulation. **Soft Matter**, 5:2862–2868, 2009.

-
- [37] PETROV, A. I.; ANTIPOV, A. A.; SUKHORUKOV, G. B. Base-acid Equilibria in Polyelectrolyte Systems: From Weak Polyelectrolyte to Interpolyelectrolyte Complexes and Multilayered Polyelectrolyte Shells. **Macromolecules**, 36: 10079-10086, 2003.
- [38] GALVIN, P.; et. al. Nanoparticle-based drug delivery: case studies for cancer and cardiovascular applications. **Cell. Molec. Life Sciences**, 69: 389-404. 2012.
- [39] FRIEDMAN, H. L. Electrolyte solutions at equilibrium. **Ann. Rev. Phys. Chem.**, v. 32, p. 179-204, Oct. 1981.
- [40] MARCUS, R. A. **J. Chem. Phys.**, 23:1057, 1955.
- [41] MCQUARRIE, D. A. **Statistical Mechanics**. Harper Collins, New York, 1976.
- [42] WENNERSTRÖM, H.; JÖNSSON, B.; and LINSE, P. The cell model for polyelectrolyte systems. Exact statistical mechanics relations, Monte Carlo simulations, and the Poisson-Boltzmann approximation. **J. Chem. Phys.**, 76:4665, 1982.
- [43] GRANFELDT, M.; JÖNSSON, B.; and WOODWARD, C. E.. A mean-field Monte Carlo technique for studies of electric double layers and flexible polyelectrolytes. **J. Phys. Chem.**, 96:10080–10086, 1992.
- [44] HILL, T. L. **An Introduction to Statistical Thermodynamics**. New York: Dover Publications Inc., 1986
- [45] ISRAELACHVILI, J. **Intermolecular & Surface Forces**. 2.ed. London: Academic Press, 1991.
- [46] FRENKEL, D.; SMIT, B. **Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications**. London: Academic Press, 1996.
- [47] SCHLICK, T. **Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide**. New York, NY: Springer, 2000.
- [48] METROPOLIS, N. A. et. al. Equation of state calculations by fast computing machines. **J. Chem. Phys.**, 21:1087–1097, 1953.
- [49] MADRAS, N. and SOKAL, A. D. The Pivot algorithm: A highly efficient Monte Carlo method for the self-avoiding walk. **J. Stat. Phys.**, 50:109–186, 1988.
- [50] ULLNER, M. et. al. A Monte Carlo study of titrating polyelectrolytes. **J. Chem. Phys.**, 104(8):3048–3057, 1996.

- [51] GROSSFIELD, A. home page. <http://dasher.wustl.edu/alan/>.
- [52] CAETANO, D. L. Z.; **Estudo por Simulação Computacional da Interação Entre Polianfóteros Fracos e Macroíons Cilíndricos**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas IBILCE/UNESP. São José do Rio Preto, 2013.

Apêndice A

Variação da energia no processo de titulação

Em nossa simulação nós utilizamos a titulação dos monômeros como uma das quatro possíveis ações realizadas pelo polieletrólito em cada passo de Monte Carlo. Sendo assim, neste apêndice descreveremos de forma analítica como chegamos à expressão da variação de energia associada ao processo de titulação (equação 3.2). Partindo do potencial químico de uma espécie i em uma solução constituída por partículas interagentes:

$$\mu_i = \mu_i^0 + k_B T \ln(\eta_i) + k_B T \ln(\gamma_i) \quad (\text{A.1})$$

onde μ_i^0 representa o potencial químico padrão ou de referência da i -ésima espécie; η_i é a densidade numérica da espécie i e; γ_i é o coeficiente de atividade da i -ésima espécie. Assumindo que os íons não sofrem alterações estruturais em sua camada de hidratação, o trabalho necessário para se adicionar ou modificar a posição de um determinado íon será proporcional à variação da energia potencial eletrostática, ou seja,

$$k_B T \ln(\gamma_i) \propto z_i e \psi(r) = \Delta U_i \quad (\text{A.2})$$

onde z_i é a valência da i -ésima espécie; e é a carga elementar e; $\psi(r)$ é o potencial eletrostático. Assim, substituindo A.2 em A.1, temos

$$\mu_i = \mu_i^0 + k_B T \ln(\eta_i) + \Delta U_i \quad (\text{A.3})$$

Consideramos também que a concentração de prótons segue a distribuição

de Boltzmann. Com isso, temos a expressão abaixo:

$$[H] = [H^0] \exp \left[-\frac{\Delta U_i}{k_B T} \right] \quad (\text{A.4})$$

onde H^0 representa a concentração dos prótons no *bulk* da solução.

Utilizando agora a equação de Henderson-Hasselbalch associada à equação A.4, obtemos:

$$\begin{aligned} pH - pK_i &= \log \left\{ \exp \left[-\frac{\Delta U_i}{k_B T} \right] \right\} + \log \left(\frac{\alpha}{1 - \alpha} \right) \\ 10^{pH - pK_i} &= \left(\frac{\alpha}{1 - \alpha} \right) \exp \left[-\frac{\Delta U_i}{k_B T} \right] \end{aligned} \quad (\text{A.5})$$

onde α representa o grau de ionização da espécie i .

A equação A.5 pode ser reescrita da seguinte forma:

$$\Delta U_i = -k_B T \ln \left[\left(\frac{1 - \alpha}{\alpha} \right) 10^{(pH - pK_i)} \right] \quad (\text{A.6})$$

ou

$$\Delta U_i = \pm k_B T (pH - pK_i) \ln(10) \quad (\text{A.7})$$

onde o sinal positivo refere-se ao processo de protonação e o sinal negativo ao processo de desprotonação.

Quando na presença de outros corpos carregados, devemos adicionar um termo referente à interação eletrostática entre a espécie que irá sofrer o processo de protonação/desprotonação e os demais corpos carregados. Logo, temos que:

$$\Delta U_i = \Delta U_i^{el} \pm k_B T (pH - pK_i) \ln(10) \quad (\text{A.8})$$

Esse apêndice foi adaptado da referência [52].

Apêndice B

Cálculo da variação da energia livre pelo programa WHAM

O programa WHAM calcula a variação da energia livre através do método dos Múltiplos Histogramas. Esse método consiste em determinar uma densidade de estados ω para uma dada temperatura T . Para tanto, são realizadas várias simulações com diversas temperaturas T_i diferentes de T , geralmente com temperaturas $T_i > T$. A soma ponderada das densidades de estado ω_i obtidas a partir destas simulações nos permite determinar a densidade de estados para uma temperatura T . Os pesos, usados na soma ponderada, são obtidos pela minimização dos erros estatísticos $\delta^2\omega$ sobrepondo as distribuições de probabilidade Ω de cada simulação executada em uma temperatura T_i .

A figura B.1 nos mostra justamente a distribuição de probabilidade do raio de giro Ω_{Rg} em função do raio de giro para simulações executadas com oito diferentes temperaturas: 298,15 K, 598,15 K, 1098,15 K, 2098,15 K, 4098,15 K, 7098,15 K, 12098,15 K e 20098,15 K. Escolhemos esses valores de temperatura por dois motivos: para que o polímero ocupe o máximo de configurações conformacionais possíveis e para que as distribuições de probabilidade entre temperaturas consecutivas se sobreponham em pelo menos 40%. Essas duas informações são claramente observadas nos gráficos de B.1, no qual notamos que, conforme aumentamos a temperatura, a distribuição de probabilidade se torna mais larga, “varrendo” mais conformações do polieletrólito e também que existe uma sobreposição mínima necessária das distribuições de probabilidade entre as temperaturas consecutivas.

A figura B.2 apresenta o motivo de utilizar simulações com várias temperaturas para obtermos um bom cálculo da variação da energia livre em função do raio de giro. A curva preta do gráfico representa o resultado obtido pelo programa WHAM

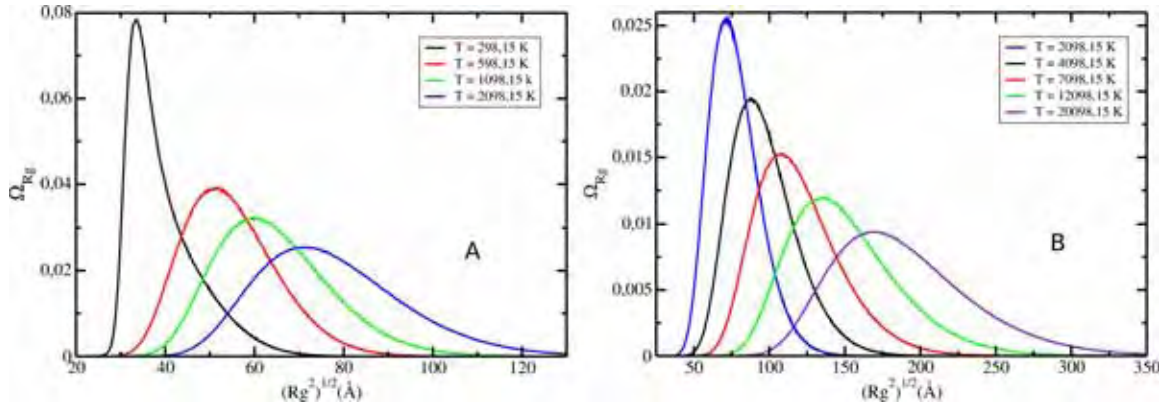


Figura B.1: Gráfico A: Distribuição de probabilidade do raio de giro em função do raio de giro, onde cada curva representa simulações com temperaturas variando entre 298,15 K e 2098,15 K. Gráfico B: Distribuição de probabilidade do raio de giro em função do raio de giro, onde cada curva representa simulações com temperaturas variando entre 2098,15 K e 20098,15 K. Todas as simulações foram feitas em concentração de sal 80 mM e a valência do macroíon foi igual a -25.

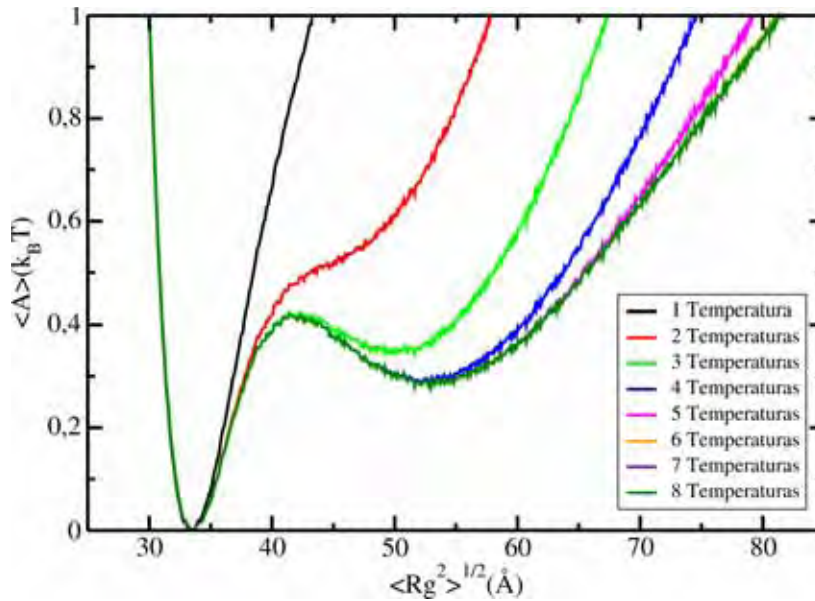


Figura B.2: Variação da energia livre em função do raio de giro. Cada curva representa os resultados obtidos pelo programa WHAM, na curva preta usamos apenas uma temperatura (298,15 K), na vermelha usamos duas temperaturas (298,15 K e 598,15 K), na verde clara usamos 3 temperaturas (298,15 K, 598,15 K e 1098,15), e assim por diante até executarmos o programa usando as 8 temperaturas. Todas as simulações foram feitas em concentração de sal 80 mM e a valência do macroíon foi igual a -25.

quando usamos como parâmetro de entrada os valores do raio de giro de apenas uma temperatura $T = 298K$, nela observamos apenas um mínimo de energia. Conforme aumentamos o número de temperaturas a simulação visita mais estados conformacionais do polieletrólito. Com isso, o perfil de energia livre converge para dois mínimos, e

a partir do uso de seis temperaturas não sofre mais variações significativas.

Autorizo a reprodução xenográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 23/05/2013.

Assinatura