

Amanda Beatriz Quadre

**Efeitos da Regulação de Carga na Interação entre Macroíons e  
Superfícies Carregadas**

São José do Rio Preto  
2022

Amanda Beatriz Quadre

**Efeitos da Regulação de Carga na Interação entre Macroíons e Superfícies Carregadas**

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

Financiadora: CNPq

Orientador: Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho

São José do Rio Preto  
2022

Quadre, Amanda Beatriz.

Efeitos da Regulação de Carga na Interação entre Macroíons e Superfícies Carregadas / Amanda Beatriz Quadre. -- São José do Rio Preto - São Paulo, 2021

XXX f. : il., tabs.

Orientador: Sidney Jurado de Carvalho

Dissertação (Mestrado - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

1. Regulação de Carga. 2. Efeito Coletivo. 3. Equação de Poisson-Boltzmann. I. de Carvalho, Sidney. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU –

Amanda Beatriz Quadre

**Efeitos da Regulação de Carga na Interação entre Macroíons e  
Superfícies Carregadas**

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

Financiadora: CNPq

**Comissão Examinadora**

Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto - SP  
Orientador

Prof. Dr. José Roberto Ruggiero  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto - SP

Prof<sup>a</sup>. Dra. Natalia Bueno Leite Slade  
UFTM – Universidade Federal do Triângulo Mineiro - MG

São José do Rio Preto  
28 de julho de 2022

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a você, leitor, que provavelmente é algum amante da ciência assim como eu, e se interessou por este trabalho de mestrado.

Agradeço a Deus, a quem eu recorri várias vezes para conseguir prosseguir, e sempre encontrei amparo.

Agradeço aos meus pais, Antônio e Aparecida, que são minha base e meu presente mais valioso. Agradeço igualmente ao Dante, pela paciência, por sempre estar comigo nos momentos mais difíceis e por apoiar os meus sonhos e planos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Sidney Jurado de Carvalho, pela orientação e toda contribuição para o meu aprendizado, desde a graduação até o presente momento. Seu cuidado e dedicação foram de extrema importância para a conclusão deste trabalho.

Agradeço aos Prof. Dr. José Roberto Ruggiero e Prof<sup>a</sup>. Dra. Natália Bueno Leite Slade, por terem aceitado fazer parte da banca examinadora. Estendo os agradecimentos aos suplentes Prof. Dr. Jorge Chahine e Prof. Dr. Ronaldo Junio de Oliveira. Agradeço igualmente aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. João Ruggiero Neto e Prof. Dr. Jorge Chahine, pelas valiosas contribuições.

Agradeço a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular e a todo o corpo docente com quem tive o prazer de aprender um pouco sobre tudo. Agradeço igualmente aos funcionários do Departamento de Física, em especial: ao Barbosa, Bruno e ao Marcelino (*in memoriam*), que me acolheu quando tudo parecia não fazer sentido.

Agradeço alguns docentes e amigos que marcaram minha vida:

- Prof. Dr. Jorge Chahine: por sempre apoiar e ajudar a trilhar minha carreira científica e claro, por ter me apresentado uma das matérias mais fascinantes da física: a Mecânica!
- Prof. Dr. João Ruggiero Neto: por conseguir traduzir a beleza da física em palavras e transmitir o amor pela ciência em cada uma de suas aulas, principalmente na disciplina de Física Biológica.
- Prof. Dr. José Roberto Ruggiero: pelo “dom” de conseguir encantar qualquer um com a beleza da física, principalmente quando aplicada aos problemas cotidianos.
- Prof. Dr. José Ramon Beltran Abrego: pelo imenso carinho, e pelas divertidas aulas práticas em “*la universidad*” (como o senhor diz rs).
- Prof. Dr. Sérgio Leandro Nascimento Neves: pela breve orientação de IC, pela amizade que perdura até hoje e por me apresentar a beleza da matemática por intermédio das EDOs e EDPs.
- Dra. Dayane dos Santos Alvares: por me ensinar um pouco mais sobre o laboratório científico em um breve período de IC, minha total admiração e carinho.

Estendo os agradecimentos ao Henry, José Bruno (Novo), Levi, Ricardo. Agradeço também aos amigos que não foram explicitamente mencionados.

Agradeço à CNPq pelo financiamento deste trabalho. A FAPESP e a CAPES pela infraestrutura oferecida.

Gostaria de agradecer também aos meus dois cachorrinhos, Tico e Teco, que me ajudam a manter uma rotina diária, influenciando indiretamente neste trabalho de mestrado rs.

Por último, agradeço ao Jabes (*in memoriam*), que me motivou a seguir meus sonhos e a ser física. Agradeço por ter feito parte da minha vida, e indiretamente ter me ajudado a trilhar minha carreira acadêmica. Até o presente momento consegui seguir fielmente o combinado de ser guiada pelos desejos do meu coração, buscando realizar tudo com amor, máxima dedicação e com excelência. A forma que eu encontrei de eternizá-lo em minha vida foi por meio das coisas que eu mais amo: a natureza e a matemática; portanto, isso explica um pouco a minha motivação e amor pela ciência, em especial, pela física.

“Tenho pensamentos que, se pudesse revelá-los e fazê-los viver, acrescentariam nova luminosidade às estrelas, nova beleza ao mundo e maior amor ao coração dos homens.”

Fernando Pessoa (1976, p. 35)

## RESUMO

Proteínas e outras biomoléculas contêm grupos tituláveis ácidos e básicos que permitem a regulação da sua carga. Alguns estudos vêm mostrando que a regulação da carga afeta o processo de adsorção destas biomoléculas em superfícies carregadas. Inspirado nisso, foi estudado um modelo teórico em que macroíons interagem com uma superfície plana carregada e podem associar ou dissociar cátions da solução de acordo com a isoterma de Langmuir-Davies. Para a descrição do sistema foi utilizado uma abordagem variacional, em que a minimização do funcional da energia livre resultou em uma equação de Poisson-Boltzmann Modificada. Com esta abordagem, foi possível fornecer informações aos questionamentos sobre como o mecanismo de regulação de carga afeta a carga líquida da macromolécula em relação a sua proximidade da superfície carregada. Como um dos objetivos foi considerar o efeito coletivo de interação entre os macroíons, portanto não foi utilizado o modelo de célula para descrever este sistema. Os resultados obtidos são particularmente relevantes para problemas que envolvam proteínas e peptídeos, como por exemplo, no estudo da interação entre peptídeos e membranas e proteínas em poros carregados.

**Palavras-chave:** Regulação de Carga. Efeito Coletivo. Equação de Poisson-Boltzmann.

## **ABSTRACT**

Proteins and other biomolecules have acidic and basic titratable groups that allow their charge regulation. Some studies show that charge regulation affects the adsorption process of biomolecules on charged surfaces. Inspired by this, we studied a theoretical model in which macroions interact with a charged planar surface and can bind cations from the solution according to the Langmuir-Davies isotherm. The system was described using a variational approach, in which the minimization of the free energy functional resulted in a Modified Poisson-Boltzmann equation. As one of the objectives was to consider the collective effect of interaction between macroions, therefore, the cell model was not used to describe this system. As one of the objectives was to consider the collective effect of interaction between macroions, therefore, the cell model was not used to describe this system. These results are particularly relevant for problems involving proteins and peptides, such as the study of the interaction between peptides and membranes and proteins in charged pores.

**Keywords:** Charge Regulation. Collective Effect. Poisson-Boltzmann Equation.

# Lista de Figuras

- 3.1 Representação esquemática do sistema: solução aquosa composta de íons monovalentes, sendo os cátions (vermelho), ânions (preto) e macroíons capazes de associar/dissociar cátions (azul). Na ampliação, nota-se que os macroíons possuem regiões dissociáveis/adsorventes (esferas amarelas), onde ocorre a reação de dissociação  $A + B^+ \rightleftharpoons AB^+$ . A energia livre interna do macroión é dada por  $g(\eta, \Psi)$ , que depende da fração de grupos de ionizáveis  $\eta$ , e do potencial eletrostático local  $\Psi$ . . . . . 17
- 4.1 (A) Parâmetro de carregamento  $q(\zeta, \gamma)$  em função de  $\zeta = z_p P_b / n_b$ . (B) Carga dos macroíons no *bulk*, em unidades de  $z_p$ , em função de  $\zeta$ . Em ambos gráficos, as diferentes cores indicam os valores fixos de  $\gamma$ , sendo  $\gamma = 10^{-10} \approx 0$  (tracejado em preto), 0,1 (verde), 0,5 (vermelho), 1,0 (laranja), 5,0 (azul) e 500,0 (sólido em preto). (C) Parâmetro de carregamento  $q(\zeta, \gamma)$  em função de  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ . (D) Carga dos macroíons no *bulk*, em unidades de  $z_p$ , em função de  $\gamma$ . Em ambos gráficos, as diferentes cores indicam os valores fixos de  $\zeta$ , sendo  $\zeta = 0$  (tracejado em preto), 0,2 (verde), 2,0 (vermelho), 4,0 (azul) e 20,0 (sólido em preto). Em todos os gráficos foi considerado  $z_p = 10$ . . . . . 32
- 4.2 (A) e (C): Contribuição de cada espécie iônica para a densidade de carga total,  $\rho(z/\lambda_D) = en^+ - en^- + e_p p$ , em unidades da carga elementar  $e$ , em função de  $z/\lambda_D$ . As diferentes cores indicam a espécie iônica: cátions  $en^+$  (preto), ânions  $en^-$  (vermelho) e macroíons  $e_p p$  (azul). As linhas sólidas indicam os resultados para  $\gamma = 0, 5$ , enquanto as tracejadas  $\gamma = 5, 0$ . (B) e (D): No gráfico principal tem-se a concentração numérica de macroíons ( $p$ ), em função de  $z/\lambda_D$ , e no *inset*, a carga dos macroíons (em termos de  $z_p$ ), em função de  $z/\lambda_D$ . Nos gráficos (A) e (B), foi utilizado:  $\zeta = z_p P_b / n_b = 2, 0$ ,  $\Xi = \lambda_D / l_{GC} = 1, 0$  e  $z_p = 10$ . Nos gráficos (C) e (D), para manter a mesma concentração de macroíons no *bulk* e carga da superfície plana, utilizou-se:  $\zeta = 0, 2$ ,  $\Xi = 0, 32$  e  $z_p = 10$ . . . . . 34

- 4.3 Concentração numérica reescalada de cada espécie iônica nas imediações da superfície plana positiva ( $a^3 e^{\beta\alpha} C(z/\lambda_D = 0)$ ) em função do parâmetro  $\gamma$ . As diferentes cores indicam a espécie iônica: cátions  $n^+$  (preto), ânions  $n^-$  (vermelho) e macroíons  $p$  (azul). As curvas tracejadas indicam a concentração de cátions (preto) e ânions (vermelho) para um sistema sem macroíons. No *inset*, tem-se apresentado a carga dos macroíons, em termos da valência dos macroíons ( $e_p/z_p$ ), em função de  $\gamma$ . Ambos gráficos consideram como parâmetros as variações dos valores padrão (utilizados nos outros gráficos, sendo  $\Xi = 1$ ,  $\zeta = 2, 0$ ) para cada valor de  $\gamma$ , sendo mantido o padrão  $\Xi = 0, 7071/\sqrt{\gamma}$ ,  $\zeta = 1, 0/\gamma$  e  $z_p = 10$ . 36
- 4.4 Comprimento efetivo de Debye reescalado,  $\lambda_{eff}/\lambda_{Dm}$ , em função da concentração iônica reescalada  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ . As diferentes cores e estilos de curva indicam o valor da concentração de macroíons reescalada, dada por:  $\gamma\zeta = z_p P_b a^3 e^{\beta\alpha}$ , em que  $\gamma\zeta = 10^{-10}$  (preto pontilhada), 0,5 (vermelho sólida), 1,0 (azul sólida), 2,0 (verde sólida), 5,0 (vermelho tracejada), 10,0 (azul tracejada) e 20,0 (verde tracejada). . . . . 38

# Lista de Símbolos

- [A] Concentração de grupos livres presente na superfície dos macroíons.
- [AB<sup>+</sup>] Concentração de grupos ocupados por cátions.
- [B<sup>+</sup>] Concentração de cátions livres em solução.
- $\alpha$  Parâmetro de interação de superfície. Energia livre de ligação entre os cátions e a superfície do macroíon.
- $\beta$  Inverso da energia térmica,  $1/k_B T$ .
- $\eta$  Fração de cátions ligados no macroíon.
- $\eta_b$  Fração de cátions ligados no macroíon na região do *bulk*.
- $\gamma$   $\gamma = n_i a^3 e^{\beta\alpha}$  - Parâmetro que relaciona a concentração iônica no *bulk* com a exponencial energética.
- $\Lambda$  Variável introduzida para simplificar notação,  $\Lambda(\Psi) = \beta[e\Psi - (\alpha + \mu_+)]/2$ .
- $\lambda_D$  Comprimento de Debye.
- $\mu_i$  Potencial químico. O subíndice denota a espécie iônica (cátions “+”, ânions “-” ou macroíons “p”).
- $\nabla^2$  Operador Laplaciano.
- $\Phi$  Potencial eletrostático adimensional.
- $\rho$  Densidade volumétrica de carga.
- $\sigma$  Densidade superficial de carga fixa do plano carregado.
- $\tilde{F}$  Potencial Gran-Canônico (Energia livre de Landau).
- $\tilde{z}$   $\tilde{z} = z/\lambda_D$ , comprimento “z” reescalado em função do comprimento de Debye.

$\Xi$	$\Xi = \lambda_D/l_{GC}$ , razão entre o comprimento de Debye e o comprimento de Gouy-Chapman.
$\zeta$	$\zeta = z_p P_b/n_b$ , razão entre as concentrações das espécies iônicas no <i>bulk</i> vezes a valência máxima do macroíon $z_p$ .
$A(\Psi)$	Variável introduzida para simplificar notação, $A(\Psi) = [1+e^{-2\Lambda(\Psi)}]/[1+e^{-2(\Psi=0)}]$ .
$a_p$	Escala de comprimento microscópico para o “raio” dos macroíons.
$B(\Psi)$	Variável introduzida para simplificar notação, $B(\Psi) = \tanh(\Psi)$ .
$e_p$	Carga dos macroíons.
$l_B$	Comprimento de Bjerrum.
$l_{GC}$	Comprimento de Gouy-Chapman.
$M_p$	Número de grupos negativamente carregados.
$n_b^\pm$	Concentração iônica (cátions/ânions) no <i>bulk</i> .
$N_p$	Número de grupos que podem estar vazios ou ocupados por cátions livres presentes na solução.
$P_b$	Concentração de macroíons no <i>bulk</i> .
$z_p$	Valência máxima dos macroíons.
$\epsilon$	Permissividade dielétrica.
$\Psi$	Potencial eletrostático.
$e$	Carga elementar.
$a$	Escala de comprimento microscópico, visando estabelecer um estado de referência para o potencial químico.
$F$	Funcional de energia livre de Helmholtz.
$F_{ent}$	$F_{ent} = -TS$ , contribuição entrópica das espécies iônicas, sendo T a temperatura e S a entropia do sistema.
$k_B$	Constante de Boltzmann.
$n^\pm$	Densidade numérica de cátions “+” e ânions “-”.
$p$	Densidade numérica de macroíons.

- pI Ponto isoelétrico da proteína.
- q Parâmetro de carregamento, que relaciona a densidade numérica entre cátions e ânions.
- $q_{\pm}$  Carga dos cátions e ânions,  $q_{\pm} = ez_{\pm}$ , sendo  $z_{\pm}$  a respectiva valência iônica.
- $U_{el}$  Energia armazenada no campo eletrostático e na distribuição de carga.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	15
<b>3</b>	<b>MODELO DO SISTEMA</b>	16
<b>3.1</b>	<b>Abordagem variacional</b>	17
3.1.1	Contribuição eletrostática	17
3.1.2	Contribuição Entrópica	19
3.1.3	Minimização da Energia Livre	19
3.1.4	Equação de Poisson-Boltzmann	21
3.1.5	Aproximação de Debye-Hückel	21
<b>3.2</b>	<b>Contribuição dos macroíons</b>	22
3.2.1	Contribuição energética do macroíon	23
3.2.2	Minimização da energia livre total	24
3.2.3	Equação de Poisson-Boltzmann Modificada	25
3.2.4	Eletroneutralidade	27
3.2.5	Aproximação de Debye-Hückel	28
3.2.6	Condições de contorno	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	31
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	39
	<b>REFERÊNCIAS</b>	46
	<b>APÊNDICE - Diferenças finitas</b>	50

# Capítulo 1

## INTRODUÇÃO

Os estudos que abordam os aspectos fundamentais de caracterização do processo de adsorção de macromoléculas em superfícies opostamente carregadas vem despertando o interesse nas últimas décadas [1–3], conforme pode ser constatado pela publicação de trabalhos que utilizam uma variedade de metodologias teóricas [4–8] e experimentais [9–12]. Entre estes, destaca-se o estudo da adsorção de proteínas em superfícies carregadas confinantes, como em mesoporos de sílica [13, 14].

Em vários sistemas de interesse, observa-se que o processo de adsorção em substratos carregados é dominado por interações eletrostáticas, uma vez que a energia livre de ligação entre a superfície e a proteína depende predominantemente da concentração iônica e da variação do pH [15], sendo que a quantidade de proteína que será adsorvida dependerá também de sua carga [16]. Devido às interações eletrostáticas atrativas, a adsorção de proteínas no substrato ocorre quando ambas apresentam cargas de sinais opostos [1, 16]. Porém, alguns trabalhos que consideram superfícies confinantes como a sílica, mostram que em soluções cujo valor do pH é próximo ao ponto isoelétrico da proteína (pI), ou para cargas de mesmo sinal, tem-se uma condição de máxima adsorção [4, 9, 16, 17]. Essa tendência pode ser entendida em termos puramente eletrostáticos, pois nessas condições, a repulsão entre as proteínas é minimizada devido sua carga líquida ser próxima de zero, e isso permite um maior acúmulo nas imediações do substrato, de forma que o processo de adsorção passa ser governado predominantemente pelas interações atrativas entre as proteínas e a superfície carregada [4, 9, 18].

Para explicar essas interações “do lado errado do ponto isoelétrico” [19], podem ser utilizados os mecanismos de regulação de carga e de *patches* de carga [16]. No mecanismo de regulação de carga, a presença da superfície carregada induz uma carga de sinal oposto na proteína, deslocando o equilíbrio químico ácido-base de seus

aminoácidos, favorecendo a adsorção. Já no mecanismo de *patches* de carga, embora a carga líquida da proteína seja nula, ou de mesmo sinal da superfície adsorvente, tem-se a presença de regiões opostamente carregadas que permitem uma interação favorável entre as proteínas e a superfície. Neste mecanismo, as proteínas assumem uma orientação em que aproximam da superfície os seus *patches* de carga oposta, e mantém distante os de mesma carga [16].

No artigo experimental de Moerz e Huber [10], foi apresentado a adsorção seletiva de três proteínas (Citocromo-C, Mioglobina e Lisozima) em mesoporos de sílica SBA-15. Estas proteínas possuem tamanho molecular semelhante e valor de pI distinto. Algumas delas apresentaram o pico de máxima adsorção para valores de pH abaixo de seu pI. Essa adsorção observada pôde ser explicada pela presença de *patches* de carga positiva, apesar da proteína apresentar uma carga líquida negativa [10]. Além disso, os autores hipotetizaram que considerar a contribuição relativa ao mecanismo de regulação da carga poderia ser relevante para explicar tal constatação [10]. Em outro artigo experimental dos mesmos autores [9], onde foi estudado especificamente a interação entre o Citocromo-C em sua forma enovelada e desenovelada numa superfície carregada adsorvente, eles afirmam que a inclusão do mecanismos de regulação de carga na interpretação de seus resultados exigiria o conhecimento da distribuição de carga das proteínas adsorvidas e da sua distribuição espacial em relação à superfície carregada [9]. Desta forma, fica evidente a necessidade do desenvolvimento de modelos teóricos que sejam capazes de contabilizar os efeitos da regulação de carga e de fornecer informações de maneira suficientemente precisa sobre a variação da carga dessas macromoléculas na presença de superfícies carregadas.

Em 1952, Kirkwood e Shumaker [20], usaram a teoria de perturbação da mecânica estatística para mostrar como a correlação entre a distribuição de carga de duas proteínas leva a uma atração intermolecular. Este trabalho inicial abriu caminho para diversos outros estudos que abordam os efeitos da regulação de carga nas interações entre proteínas [21], na estabilidade das estruturas virais proteicas [22], na adsorção de polieletrólitos [23] e proteínas [21], bem como nas interações entre as membranas carregadas [24]. Todas as macromoléculas que possuem grupos tituláveis, como por exemplo as proteínas, estão sujeitas aos efeitos da regulação de carga. O estado de protonação destes grupos não depende apenas do pH da solução, mas também do ambiente químico local, ou seja, são influenciados pela presença de outras moléculas e superfícies carregadas. Desta forma, as interações entre a proteína com outros corpos carregados afeta o equilíbrio ácido-base de um aminoácido em comparação com seu valor no *bulk* da solução [16].

Alguns dos trabalhos presentes na literatura fazem uso da aproximação do

modelo de célula [25] para descrever o processo de regulação de carga [26, 27]. Neste modelo, uma única macromolécula e os íons da solução são isolados dentro de uma célula eletricamente neutra, cuja dimensão está relacionada com a concentração macromolecular total, sendo essa a única maneira em que os efeitos coletivos são contabilizados [25–27]. Devido ao mecanismo de regulação de carga, a carga das proteínas é sensível à presença de outros corpos carregados, o que torna relevante contabilizar os efeitos coletivos. Vale ressaltar que o diferencial deste trabalho consiste no estudo de um modelo teórico que considera o mecanismo de regulação de carga em que a interação entre os macroíons é descrita de maneira coletiva [28].

Este trabalho de mestrado foi motivado pelas questões levantadas nos artigos do Moerz e Huber [9, 10], e se baseou no modelo teórico proposto no artigo do Markovich, Andelman e Podgornik [28], que contabiliza os efeitos da regulação de carga num sistema em que os macroíons interagem entre si e com uma superfície plana carregada. O macroíon pode ser considerado um modelo simplificado de proteína, sendo modelado como uma esfera que pode ligar cátions da solução e variar sua carga de acordo com a concentração iônica do meio e as distribuições de carga ao redor.

## Capítulo 2

### OBJETIVOS

Tem-se como objetivo o estudo de um modelo teórico que descreve o mecanismo da regulação de carga de macroíons que interagem entre si e com uma superfície plana carregada. Por intermédio dos resultados e análises obtidos com este modelo, propõe-se fornecer as informações de maneira suficientemente precisas aos questionamentos experimentais levantados, sobre como o mecanismo de regulação de carga afeta a carga líquida da macromolécula em relação a sua proximidade da superfície carregada, considerando a interação entre eles.

# Capítulo 3

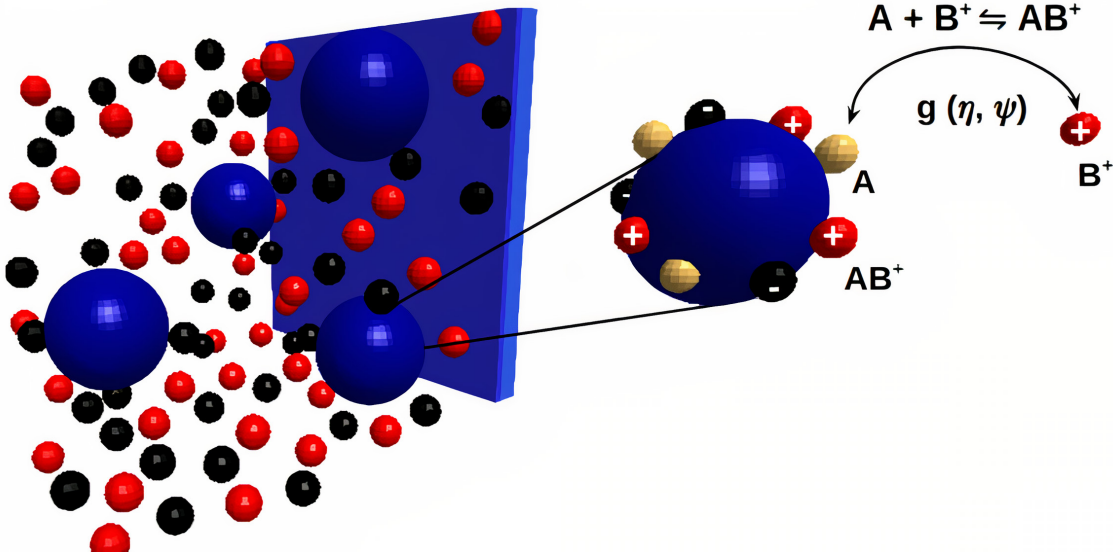
## MODELO DO SISTEMA

A elaboração de um modelo para descrever um sistema físico tem como objetivo trazer respostas para algum questionamento previamente levantado. Inspirados pelos questionamentos supracitados [9, 10], buscou-se, por intermédio do modelo teórico simplificado proposto por Markovich, Andelman e Podgornik [28], fornecer a distribuição espacial dos macroíons em relação à uma superfície adsorvente carregada.

Nesse modelo, os macroíons estão imersos em solução aquosa, composta por sal monovalente com concentração no *bulk*  $n_b^\pm$ , sendo que os índices “+” e “-” se referem respectivamente aos cátions e ânions, na presença de uma superfície plana carregada com uma densidade de carga fixa  $\sigma$ , localizada em  $z = 0$ . O solvente foi representado por um meio contínuo caracterizado por uma permissividade dielétrica  $\epsilon$ . Os macroíons são modelados como esferas que podem associar/dissociar cátions da/para solução, obedecendo a função  $g(\eta, \Psi)$  (energia interna do macroíon), que será tratada com mais detalhes na subseção 3.2.1. Uma representação ilustrativa do sistema é apresentada na Figura 3.1.

Por questões didáticas, inicialmente, na Seção 3.1, aborda-se um sistema sem macroíons, composto apenas pela superfície carregada e a solução iônica monovalente. Define-se a contribuição eletrostática (Eq. 3.5) e a contribuição entrópica (Eq. 3.6), cuja soma resulta na energia livre do sistema (Eq. 3.7). Após realizar a minimização da energia livre, obtém-se a equação de Poisson-Boltzmann (Eq. 3.15) e sua versão linearizada, a aproximação de Debye-Hückel (Eq. 3.18). Na Seção 3.2, os macroíons são incorporados ao sistema, conforme representado na ilustração da Figura 3.1, e as contribuições referentes a ele são contabilizadas na energia livre total do sistema (Eq. 3.19). A minimização desta energia livre total do sistema originará a equação de Poisson-Boltzmann Modificada (Eq. 3.29), cuja solução permitiu a obtenção dos resultados apresentados no Capítulo 4.

Figura 3.1: Representação esquemática do sistema: solução aquosa composta de íons monovalentes, sendo os cátions (vermelho), ânions (preto) e macroíons capazes de associar/dissociar cátions (azul). Na ampliação, nota-se que os macroíons possuem regiões dissociáveis/adsorventes (esferas amarelas), onde ocorre a reação de dissociação  $A + B^+ \rightleftharpoons AB^+$ . A energia livre interna do macroíon é dada por  $g(\eta, \Psi)$ , que depende da fração de grupos de ionizáveis  $\eta$ , e do potencial eletrostático local  $\Psi$ .



Fonte: Elaborada pelo autor.

## 3.1 Abordagem Variacional

Utilizou-se uma abordagem via teoria de campo médio, de forma que uma dada partícula não interage com outras explicitamente, mas com o campo médio das demais [29, 30], de forma que a soma da contribuição eletrostática  $U_{el}$  e da contribuição entrópica  $F_{ent}$  resulta no funcional da energia livre do sistema ( $F = U_{el} + F_{ent}$ ).

### 3.1.1 Contribuição Eletrostática

A energia eletrostática  $U_{el}$ , em unidade gaussiana, é dada por [31]

$$U_{el} = \frac{\epsilon}{8\pi} \int_V d^3\mathbf{r} |\nabla\Psi(\mathbf{r})|^2, \quad (3.1)$$

em que  $\epsilon$  é a permissividade dielétrica do meio e  $\Psi$  o potencial eletrostático. Utilizando a propriedade vetorial em que  $\nabla \cdot (\Psi \nabla \Psi) = \Psi \nabla^2 \Psi + |\nabla \Psi|^2$ , essa contribuição pode ser

reescreta como uma soma de integrais,

$$U_{el} = \frac{\epsilon}{8\pi} \left[ \int_V d^3\mathbf{r} \nabla \cdot (\Psi(\mathbf{r}) \nabla \Psi(\mathbf{r})) - \int_V d^3\mathbf{r} \Psi(\mathbf{r}) \nabla^2 \Psi(\mathbf{r}) \right],$$

onde, fazendo o uso do Teorema do Divergente (Teorema de Gauss), que estabelece uma relação entre a integral do divergente de um campo vetorial sobre um determinado volume e a integral do campo vetorial sobre a superfície que delimita este volume, a primeira integração volumétrica pode ser reescrita como uma integral de superfície,

$$U_{el} = \frac{\epsilon}{8\pi} \left[ \oint_S \Psi(\mathbf{r}) \nabla \Psi(\mathbf{r}) \cdot d^2\mathbf{r} - \int_V d^3\mathbf{r} \Psi(\mathbf{r}) \nabla^2 \Psi(\mathbf{r}) \right]. \quad (3.2)$$

Integrando-a sobre todo o espaço, o primeiro termo vai à zero com  $1/r$ . O termo  $\nabla^2 \Psi(\mathbf{r})$  corresponde à equação de Poisson, que relaciona o potencial eletrostático  $\Psi(\mathbf{r})$ , com a densidade volumétrica de carga  $\rho(\mathbf{r})$  via equação de Poisson,

$$\nabla^2 \Psi(\mathbf{r}) = -\frac{4\pi}{\epsilon} \rho(\mathbf{r}) = -\frac{4\pi}{\epsilon} \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}), \quad (3.3)$$

em que  $\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r})$ , corresponde à densidade de carga total do sistema, sendo  $n^{(i)}$  a densidade numérica das  $M$  espécies iônicas,  $q_i = ez_i$  a carga dos íons, em que  $e$  é a carga elementar e  $z_i$  a valência dos íons.

Substituindo a equação de Poisson (Eq. 3.3) na segunda integral da Eq. 3.2, obtém-se a contribuição eletrostática referente a densidade de carga

$$U_{el} = \frac{1}{2} \int_V d^3\mathbf{r} \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}) \Psi(\mathbf{r}). \quad (3.4)$$

Desta forma, constrói-se um funcional contendo a energia oriunda da interação entre a distribuição de cargas com o campo (primeiro termo) e a energia armazenada no campo eletrostático (segundo termo) [30, 32]

$$U_{el} = \int_V d^3\mathbf{r} \left[ \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}) \Psi(\mathbf{r}) - \frac{\epsilon}{8\pi} \int_V d^3\mathbf{r} |\nabla \Psi(\mathbf{r})|^2 \right]. \quad (3.5)$$

### 3.1.2 Contribuição Entrópica

Sendo a entropia uma grandeza extensiva, e consequentemente aditiva [33], a contribuição entrópica da energia livre de Helmholtz de uma solução diluída composta por  $M$  espécies iônicas, é dada por

$$F_{ent} = k_B T \sum_{i=1}^M \int_V d^3\mathbf{r} \left[ n^{(i)}(\mathbf{r}) \ln [n^{(i)}(\mathbf{r})a^3] - n^{(i)}(\mathbf{r}) \right], \quad (3.6)$$

em que  $k_B$  é a constante de Boltzmann e  $T$  a temperatura. Nesta equação, foi introduzido uma escala de comprimento microscópico, “ $a$ ”, em que  $1/a^3$  é definido como uma densidade máxima de empacotamento, estabelecendo um estado de referência para o potencial químico [30].

### 3.1.3 Minimização da Energia Livre

Tendo definido previamente as contribuições que compõem o sistema, o funcional de energia livre é escrita dado por [30]

$$F = \int_V d^3\mathbf{r} \left[ -\frac{\epsilon}{8\pi} |\nabla\Psi(\mathbf{r})|^2 + \Psi(\mathbf{r}) \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}) + \right. \quad (3.7) \\ \left. + k_B T \sum_{i=1}^M \left( n^{(i)}(\mathbf{r}) \ln [n^{(i)}(\mathbf{r})a^3] - n^{(i)}(\mathbf{r}) \right) \right],$$

em que o primeiro e segundo termo referem-se a contribuição eletrostática (Eq. 3.5), e o terceiro termo contabiliza a contribuição entrópica (Eq. 3.6). O próximo passo consiste em realizar sua minimização funcional.

A variação do funcional da energia livre em relação ao potencial eletrostático  $\Psi(\mathbf{r})$  é dada por:

$$\frac{\delta F}{\delta\Psi} = \frac{df}{d\Psi} - \frac{d}{dx} \frac{df}{d\Psi_x} - \frac{d}{dy} \frac{df}{d\Psi_y} - \frac{d}{dz} \frac{df}{d\Psi_z} = 0, \quad (3.8)$$

onde  $f$  é o integrando da energia livre (Eq. 3.7). Os termos  $\Psi_{x,y,z} = d\Psi/d(x, y, z)$ , denota a derivada do potencial em relação às respectivas coordenadas  $(x, y, z)$  [34, 35]. Aplicando o integrando da energia livre (Eq. 3.7) na Eq. 3.8, tem-se:

$$\sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}) + \frac{\epsilon}{4\pi} \left[ \frac{d^2\Psi(\mathbf{r})}{dx^2} + \frac{d^2\Psi(\mathbf{r})}{dy^2} + \frac{d^2\Psi(\mathbf{r})}{dz^2} \right] = 0. \quad (3.9)$$

Sendo o termo entre colchetes da Eq. 3.9 equivalente a  $\nabla^2\Psi(\mathbf{r})$ , a equação de Poisson é obtida:

$$\nabla^2\Psi(\mathbf{r}) = -\frac{4\pi}{\epsilon} \sum_{i=1}^M q_i n^{(i)}(\mathbf{r}). \quad (3.10)$$

A minimização do funcional de energia livre em relação a densidade numérica  $n^{(i)}(\mathbf{r})$ , levando em conta a restrição de que o número de partículas seja constante ( $\int_V d^3\mathbf{r} n^{(i)}(\mathbf{r}) = \text{constante}$ ), é dada por

$$\frac{\delta F}{\delta n^{(i)}} = \frac{df}{dn^{(i)}} - \left[ \frac{d}{dx} \frac{df}{dn_x^{(i)}} + \frac{d}{dy} \frac{df}{dn_y^{(i)}} + \frac{d}{dz} \frac{df}{dn_z^{(i)}} \right] - \lambda \frac{dn^{(i)}}{dn^{(i)}} = 0, \quad (3.11)$$

em que  $f$  é o integrando da energia livre e  $\lambda$  o multiplicador de Lagrange [34, 35]. Os termos  $n_{x,y,z}^{(i)} = dn^{(i)}/d(x,y,z)$ , denota a derivada da densidade numérica com respeito às respectivas coordenadas  $(x,y,z)$ . Vale ressaltar que  $i = \pm$ , sendo cátions “+” e ânions “-”. Conforme definido no início do capítulo, a superfície plana carregada encontra-se localizada em  $z = 0$ , de forma que a coordenada de interesse seja o eixo  $z$ , perpendicular à ela. Como  $\frac{df}{dn_{(x,y,z)}^{(i)}}$  não apresenta dependência em  $(x,y,z)$ , o termo entre colchetes da Eq. 3.11 é nulo, o que possibilita escrever o multiplicador de Lagrange ( $\lambda$ ) como sendo o potencial eletroquímico do sistema [30].

$$\lambda = \frac{df}{dn^{(i)}} \equiv \mu_i \equiv q_i\Psi(\mathbf{r}) + k_B T \ln [n^{(i)}(\mathbf{r})a^3], \quad (3.12)$$

que contabiliza, respectivamente, a contribuição eletrostática e química.

Na região de *bulk*, onde o potencial eletrostático é considerado nulo, o potencial eletroquímico pode ser escrito como

$$\mu_i = k_B T \ln [n_b^{(i)}(\mathbf{r})a^3], \quad (3.13)$$

onde  $n_b^{(i)}$  corresponde à densidade numérica no *bulk*. Para manter o equilíbrio químico do sistema, por intermédio de ambas expressões do potencial eletroquímico, próximo e distante da superfície carregada (Eqs. 3.12 e 3.13, respectivamente), é possível escrever uma expressão geral para a densidade numérica,

$$n^{(i)}(\mathbf{r}) = n_b^{(i)} e^{-\beta q_i\Psi(\mathbf{r})}, \quad (3.14)$$

que obedece a distribuição de Boltzmann [30, 36].

### 3.1.4 Equação de Poisson-Boltzmann

Substituindo a distribuição de Boltzmann para uma solução composta por íons monovalentes (Eq. 3.14, em que  $z_i = \pm 1$ ), na Equação de Poisson (Eq. 3.10), tem-se como resultado a equação de Poisson-Boltzmann para íons monovalentes

$$\nabla^2 \Psi(\mathbf{r}) = -\frac{4\pi en_b}{\epsilon} \left[ e^{-\beta e \Psi(\mathbf{r})} - e^{\beta e \Psi(\mathbf{r})} \right], \quad (3.15)$$

que pode ser reescrita em termos de um potencial adimensional  $\Phi(\mathbf{r}) = \beta e \Psi(\mathbf{r})$ ,

$$\lambda_D^2 \nabla^2 \Phi(\mathbf{r}) = \sinh \Phi(\mathbf{r}), \quad (3.16)$$

sendo  $\lambda_D = (8\pi l_B n_b)^{-1/2}$  definido como o comprimento de Debye para uma solução composta apenas por íons monovalentes, correspondente ao comprimento característico de blindagem eletrostática [30]. Este comprimento depende da concentração de sal no *bulk* ( $n_b$ ) e do comprimento de Bjerrum,  $l_B = e^2 \beta / \epsilon$  [28], que é definido como o comprimento em que a energia térmica ( $k_B T$ ) é igual a energia eletrostática entre duas cargas unitárias.

Pelo fato da equação de Poisson-Boltzmann ser uma equação diferencial de segunda ordem não linear, sua solução completa exige um conjunto de duas condições de contorno, que consistem em manter fixo o valor do campo elétrico em uma localização específica em que a densidade superficial de carga  $\sigma$  seja conhecida, e também em considerar que o potencial eletrostático na região de *bulk* do sistema seja nulo. Esta equação pode ser resolvida analiticamente para algumas geometrias específicas, como a geometria plana. Porém, quando são consideradas outras geometrias, a solução de forma analítica se dá por intermédio de aproximações, como a aproximação de Debye-Hückel [30]. Outra opção seria optar pela solução via métodos numéricos [37].

### 3.1.5 Aproximação de Debye-Hückel

Uma versão bem útil da equação de Poisson-Boltzmann é utilizar sua forma linearizada, dada pela aproximação de Debye-Hückel. Seu uso pode ser justificável para baixos valores de potencial eletrostático, quando  $e|\Psi| \ll k_B T$  [30]. Para realizar essa linearização, o lado direito da equação de Poisson-Boltzmann (Eq. 3.15) é expandido até o termo de primeira ordem, dando origem a uma expressão que apresenta

dependência linear no potencial eletrostático  $\Psi(\mathbf{r})$

$$\nabla^2 \Psi(r) = -\frac{4\pi}{\epsilon} \sum_{i=1}^M q_i n_b^{(i)} + \frac{4\pi}{\epsilon} \sum_{i=1}^M q_i n_b^{(i)} \beta q_i \Psi(\mathbf{r}). \quad (3.17)$$

Devido a eletroneutralidade do sistema,  $\sum_{i=1}^M q_i n_b^{(i)} = 0$ , o primeiro termo da Eq. 3.17 é nulo. Tem-se para uma solução de íons monovalentes,

$$\nabla^2 \Psi(r) = \kappa_D^2 \Psi(\mathbf{r}), \quad (3.18)$$

em que  $\kappa_D^2 = \lambda_D^{-2} = 8\pi l_B n_b$ .

## 3.2 Contribuição dos Macroíons

Todo desenvolvimento teórico feito até essa seção se baseou num sistema composto por uma superfície carregada e íons em solução. Para refinar essa modelagem simplificada, que resultou na equação de Poisson-Boltzmann, foram acrescentados ao sistema macroíons capazes de associar/dissociar cátions. Desta forma, a energia livre conta com a adição de mais uma contribuição responsável por quantificar o processo de associação/dissociação dos cátions nestes macroíons. Uma representação ilustrativa do sistema foi apresentada na Figura 3.1.

A contribuição elétrica e entrópica já foram previamente descritas para um sistema contendo apenas cátions e ânions em solução (Eqs. 3.5 e 3.6, respectivamente). A contribuição dos macroíons, que podem associar/dissociar cátions, será contabilizada a seguir na expressão do potencial Gran-Canônico

$$\begin{aligned} \tilde{F} = & \int_V d^3\mathbf{r} \left[ -\frac{\epsilon}{8\pi} |\nabla \Psi(\mathbf{r})|^2 + \sum_{i=\pm} e_i n^{(i)}(\mathbf{r}) \Psi(\mathbf{r}) + \right. \\ & + k_B T \sum_{i=\pm} \left[ n^{(i)}(\mathbf{r}) \ln (n^{(i)}(\mathbf{r}) a^3) - n^{(i)}(\mathbf{r}) \right] - \sum_{i=\pm} \mu_i n^{(i)}(\mathbf{r}) + \quad (3.19) \\ & \left. + k_B T \left[ p(\mathbf{r}) \ln (p(\mathbf{r}) a_p^3) - p(\mathbf{r}) \right] - \mu_p p(\mathbf{r}) + p(\mathbf{r}) g(\eta, \Psi) \right]. \end{aligned}$$

Todas as grandezas com sub-índices “ $p$ ”, fazem referência aos macroíons. Os termos  $n^\pm(\mathbf{r})$  e  $\mu_\pm$  correspondem à densidade numérica e potencial químico dos cátions/ânions, e  $p(\mathbf{r})$  e  $\mu_p$  referem-se à densidade numérica e potencial químico dos macroíons. A

carga dos cátions e ânions é dada por  $e_{\pm} = \pm e$ , sendo  $e$  a carga elementar. Por se tratar de um modelo simplificado, o comprimento de escala microscópica “ $a$ ” dos íons e macroíons pode ser considerado aproximadamente igual ( $a_p \approx a$ ) [28].

O termo  $pg(\eta, \Psi)$  refere-se à contribuição da regulação de carga, sendo  $g(\eta, \Psi)$  a energia livre interna do macroíon. Existem diferentes formas de descrever um processo de associação/dissociação, sendo o modelo de célula o mais comumente utilizado [26, 38]. Apesar de apresentar bons resultados, este modelo não captura os efeitos coletivos, visto que os íons e um macroíon são isolados dentro de uma célula eletricamente neutra, em que o efeito dos demais macroíons são quantificados somente na definição do raio limite desta célula. Como neste trabalho é desejável capturar este efeito coletivo entre os macroíons, uma vez que tem-se como interesse relacionar o modelo ao problema experimental de máxima adsorção num poro, onde as proteínas interagem entre si, portanto a presença de outros corpos carregados influencia na distribuição espacial das cargas e no máximo empacotamento, o modelo de célula não foi utilizado.

### 3.2.1 Contribuição Energética do macroíon

Os macroíons possuem  $M_p$  grupos negativamente carregados, que garantem uma carga negativa  $-eM_p$ , e  $N_p$  grupos que podem estar neutros ou ocupados por um cátion. Em seu estado inicial, o macroíon é neutro, isso significa que uma quantidade  $M_p$  de seus  $N_p$  grupos encontram-se ionizados. Essa consideração permite que o macroíon seja capaz de dissociar (ou associar) cátions. Desta forma, à medida em que estes macroíons realizam o processo de associação/dissociação, eles apresentam carga líquida positiva ou negativa  $e_p$ , sendo esta dada pela soma das contribuições de carga de cada um dos grupos, fixos ou dissociáveis:

$$e_p = e(N_p\eta - M_p), \quad (3.20)$$

onde  $\eta$  é a fração de cátions associados e pode variar entre  $0 \leq \eta \leq 1$ .

A contribuição energética do macroíon é dada pela soma de contribuições eletrostáticas e entrópicas, expressando as interações entre os cátions com o macroíon [28]

$$g(\eta, \Psi) = e_p\Psi + k_B T N_p \left[ \eta \ln \eta + (1 - \eta) \ln(1 - \eta) \right] - (\alpha + \mu_+) \eta N_p. \quad (3.21)$$

Nesta equação, o primeiro termo refere-se a contribuição eletrostática, res-

ponsável por descrever a interação do macroíon com o potencial eletrostático ( $\Psi$ ). O segundo termo contabiliza a contribuição entrópica, que relaciona os possíveis arranjos para que  $\eta N_p$  íons sejam associados em  $N_p$  grupos. Já o último termo descreve a interação entre os cátions e o macroíon, em que é contabilizado a soma do potencial químico dos cátions livres em solução ( $\mu_+$ ) e o parâmetro  $\alpha$ , definido como a variação do potencial químico do processo de associação/dissociação para todos os  $\eta N_p$  cátions associados. De acordo com a convenção adotada, os valores de  $\alpha > 0$  e  $\alpha < 0$  correspondem respectivamente à atração e repulsão entre os cátions e o macroíon [28]

Para o caso em que o número de grupos dissociáveis seja igual ao dobro do número de grupos fixos,  $N_p = 2M_p$ , a valência máxima dos macroíons é correspondente à  $z_p = M_p = N_p/2$ , cujo valores aceitáveis fisicamente podem variar entre 1 e 100 [28]. Essa escolha garante a simetria em torno de zero da variação da carga dos macroíons  $-ez_p \leq e_p \leq ez_p$ . Este perfil de cargas simétricas foi mantido para facilitar comparações com os resultados apresentados na referência [28], e também com as futuras aplicações deste modelo para o estudo da interação entre membranas carregadas e peptídeos antimicrobianos (MP1 e HMP1) [39]. Por se tratar de um modelo geral, ele pode ser estendido visando outras aplicações, em que seja necessário considerar outra proporção entre os grupos dissociáveis e negativos [26, 28, 30]. Quando a regulação de carga não é contabilizada, a função  $g(\eta, \Psi)$  se reduz apenas ao termo eletrostático, dado por  $e\Psi$  (vide Eq. 3.21), e a minimização do funcional da energia livre do sistema dá origem a equação de Poisson-Boltzmann (Eq. 3.15, mas com os macroíons).

### 3.2.2 Minimização da Energia Livre Total

Com todos os termos da energia livre total previamente definidos (Eq. 3.19), sua minimização é realizada visando a obtenção da equação de Poisson-Boltzmann Modificada. Quando essa minimização é feita em relação à densidade numérica dos cátions ( $n^+$ ), ânions ( $n^-$ ) e macroíons ( $p$ ), têm-se

$$\pm e\Psi + k_B T \ln(n^\pm a^3) - \mu_\pm = 0, \quad (3.22)$$

$$g(\eta, \Psi) + k_B T \ln(pa^3) - \mu_p = 0. \quad (3.23)$$

Para a minimização enquanto a minimização do funcional da energia livre

total em função da fração de cátions associados aos macroíons ( $\eta$ ), resulta em

$$k_B T \ln \left( \frac{\eta}{1 - \eta} \right) + e\Psi - (\alpha + \mu_+) = 0, \quad (3.24)$$

sendo esta a isoterma de Langmuir-Davies [30, 40], uma extensão da isoterma de Langmuir utilizada para descrever o processo de adsorção de partículas carregadas [30].

Por intermédio das Eqs. 3.22, 3.23 e 3.24, é possível escrever uma expressão para a densidade numérica de cátions/ânions e macroíons, em função do potencial químico e do potencial eletrostático, bem como evidenciar a fração de cátions ligados no macroíon ( $\eta$ ):

$$n^\pm = n_b^\pm e^{\mp\beta e\Psi}, \quad (3.25)$$

$$p = P_b \frac{e^{-\beta g(\eta, \Psi)}}{e^{-\beta g(\eta, \Psi=0)}}, \quad (3.26)$$

$$\eta = \frac{e^{-\beta[e\Psi - (\alpha + \mu_+) ]}}{1 + e^{-\beta[e\Psi - (\alpha + \mu_+) ]}}, \quad (3.27)$$

sendo  $n_b^\pm$  e  $P_b$  a densidade numérica das respectivas espécies iônicas no *bulk*, definidas por:

$$n_b^\pm \equiv \frac{e^{\beta\mu_\pm}}{a^3},$$

$$P_b \equiv \frac{e^{\beta[\mu_p - g(\eta, \Psi=0)]}}{a^3}.$$

Por intermédio deste conjunto de equações (Eq. 3.25, 3.26 e 3.27), a expressão da energia livre interna do macroíon (Eq. 3.21) pode ser escrita como

$$g(\eta, \Psi) = -\frac{z_p}{\beta} \left[ e\beta\Psi - 2 \ln \left( 1 + e^{-\beta[e\Psi - (\alpha + \mu_+) ]} \right) \right]. \quad (3.28)$$

### 3.2.3 Equação de Poisson-Boltzmann Modificada

Quando a minimização da energia livre total é feita em relação ao potencial eletrostático, utilizando as Eqs. 3.25, 3.26 e 3.27, obtém-se a Equação de Poisson-Boltzmann Modificada, que descreve o sistema com a presença de macroíons que podem

associar/dissociar cátions da solução:

$$\begin{aligned}
- \frac{\epsilon}{4\pi} \nabla^2 \Psi &= e(n^+ - n^-) + p \frac{\partial g(\eta, \Psi)}{\partial \Psi} = e \left[ n_b^+ e^{-\beta e \Psi} - n_b^- e^{\beta e \Psi} + \right. \\
&\quad \left. - z_p P_b e^{\beta e \Psi z_p} \left( \frac{1 + \exp(-\beta [e \Psi - (\alpha + \mu_+)])}{1 + \exp(\beta [\alpha + \mu_+])} \right)^{2z_p} \tanh \frac{\beta}{2} (e \Psi - (\alpha + \mu_+)) \right], \tag{3.29}
\end{aligned}$$

sendo que o lado direito desta igualdade corresponde à densidade total de carga  $\rho(\Psi)$ .

A carga do macroíon  $e_p(\mathbf{r})$  é dada pela variação da energia livre interna do macroíon em função do potencial eletrostático,

$$e_p(\mathbf{r}) = \frac{\partial g(\eta, \Psi)}{\partial \Psi}, \tag{3.30}$$

sendo dependente de  $\Psi$  e da fração de cátions ligados no macroíon  $\eta$ , e da posição  $\mathbf{r}$ . Neste trabalho a carga do macroíon pode variar simetricamente entre valores positivos e negativos  $-ez_p \leq e_p \leq ez_p$ .

Visando simplificar a equação de de Poisson-Boltzmann Modificada (Eq. 3.29), considera-se um potencial eletrostático adimensional  $\Phi(\mathbf{r}) \equiv \beta e \Psi(\mathbf{r})$ , e os parâmetros adimensionais  $\zeta \equiv z_p P_b / n_b$ ,  $\gamma \equiv n_b a^3 e^{\beta \alpha}$ . Considerando uma geometria plana, a Eq. 3.29 pode ser reescrita em função da coordenada perpendicular à superfície plana carregada (coordenada  $z$ ), em unidades do comprimento de Debye  $\tilde{z} = z / \lambda_D$ . Devido a possibilidade dos macroíons associarem/dissociarem cátions, define-se o parâmetro de carregamento ( $q = n_b^+ / n_b$ ), que contabiliza a razão entre a concentração de cátions e ânions no *bulk* (tratado em maiores detalhes na Subseção 3.2.4). Feito essas considerações, a equação de Poisson-Boltzmann Modificada pode ser reescrita como uma equação diferencial de segunda ordem não linear:

$$\frac{d^2 \Phi(\tilde{z})}{d\tilde{z}^2} = -\frac{1}{2} \left[ q e^{-\Phi} - e^{\Phi(\tilde{z})} - \zeta e^{\Phi(\tilde{z}) z_p} \left( \frac{1 + e^{-\Phi(\tilde{z})} \gamma q}{1 + \gamma q} \right)^{2z_p} \tanh \left( \frac{\Phi(\tilde{z})}{2} - \frac{1}{2} \ln \gamma q \right) \right] \tag{3.31}$$

sendo que sua solução exige duas condições de contorno, assim como supracitado para a equação de Poisson-Boltzmann (Eq. 3.16). Para definir as condições de contorno é preciso estabelecer a condição de eletroneutralidade do sistema, que será discutida em maiores detalhes na próxima subseção.

### 3.2.4 Eletroneutralidade

No *bulk*, assume-se que o potencial eletrostático é nulo  $\Psi = 0$ . A eletroneutralidade do sistema implica que a densidade de carga total nesta região seja nula, ou seja,  $\rho(\Psi = 0) = 0$ . Então,

$$e \left( n_b^+ - n_b^- \right) + e P_b \frac{\partial g(\eta, \Psi)}{\partial \Psi} \Big|_{\Psi=0} = 0, \quad (3.32)$$

em que derivada da energia interna do macroíon (Eq. 3.28) é dada por:

$$\frac{\partial g(\eta, \Psi)}{\partial \Psi} \Big|_{\Psi=0} = z_p \tanh \left( -\frac{\beta}{2} (\alpha + \mu_+) \right).$$

Tendo garantido a eletroneutralidade via Eq. 3.32, e utilizando os parâmetros pré-definidos  $n_b^\pm$ ,  $\gamma$  e  $\zeta$ , é possível escrever uma expressão para a concentração de cada uma das espécies iônicas. Pelo fato dos macroíons associarem (ou dissociarem) cátions, a solução pode apresentar dois casos: ou  $n_b^+ > n_b$ , quando a solução contém uma concentração numérica de cátions superior a de ânions no *bulk*, indicando que eles foram dissociados para a solução; ou  $n_b^+ < n_b$ , sendo a concentração numérica de ânions superior a de cátions no *bulk*, indicando que os macroíons associam estes cátions da solução [28].

A equação que garante a eletroneutralidade do sistema (Eq. 3.32) pode ser reescrita como uma equação quadrática em relação ao parâmetro de carregamento  $q$ ,

$$q^2 \gamma + q(1 - \gamma + \zeta \gamma) - (\zeta + 1) = 0,$$

cuja solução depende explicitamente de  $\zeta$  e  $\gamma$ ,

$$q(\zeta, \gamma) = \frac{1}{2} \left[ 1 - \zeta - \gamma^{-1} + \sqrt{\left(1 - \zeta - \gamma^{-1}\right)^2 + 4(1 + \zeta)\gamma^{-1}} \right]. \quad (3.33)$$

Em sistemas físicos, a concentração de macroíons costuma ser algumas ordens de grandeza menores que a concentração de eletrólitos, fazendo com que a razão dessas grandezas ( $\zeta$ ), varie entre 0,01 e 10. Já o parâmetro  $\gamma$  pode assumir valores entre 0,001 e 1000 [28]. Para  $\zeta = z_p P_b / n_b = 0$ , o parâmetro de carregamento apresenta um valor constante  $q = 1.0$ . O modelo estudado neste trabalho admite que sejam definidos diferentes valores de concentração de sal que contribuirão para a carga dos macroíons [28].

### 3.2.5 Aproximação de Debye-Hückel

A presença de macroíons que podem associar/dissociar cátions faz com que a forma linearizada da equação de Poisson-Boltzmann modificada passe a apresentar um comprimento efetivo de Debye ( $\lambda_{eff}$ ), que difere do comprimento de Debye ( $\lambda_D$ ) previamente apresentado na Seção 3.1.5. A densidade de carga total do sistema que contabiliza a regulação de carga (lado direito da igualdade apresentada na Eq. 3.29), foi expandida até o termo de primeira ordem, originando o comprimento efetivo de Debye ( $\lambda_{eff}$ )

$$\lambda_{eff}^{-2} = -\frac{4\pi}{\epsilon} \left. \frac{\partial \rho(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0}. \quad (3.34)$$

A derivada da densidade de carga total do sistema em função do potencial eletrostático é dada por

$$\begin{aligned} \frac{\partial \rho(\Psi)}{\partial \Psi} = & \beta e^2 \left[ -n_b^+ e^{-\beta e \Psi} - n_b^- e^{\beta e \Psi} - z_p^2 P_b e^{\beta e \Psi z_p} A(\Psi)^{2z_p} B(\Psi) + \right. \\ & \left. - \frac{z_p P_b}{\beta e} e^{\beta e \Psi z_p} \left( 2z_p A(\Psi)^{2z_p-1} \frac{\partial A(\Psi)}{\partial \Psi} B(\Psi) + A(\Psi)^{2z_p} \frac{\partial B(\Psi)}{\partial \Psi} \right) \right]. \end{aligned} \quad (3.35)$$

Para simplificar a notação, foram introduzidas as variáveis  $A(\Psi)$  e  $B(\Psi)$ :

$$A(\Psi) \equiv \frac{1 + e^{-2\Lambda(\Psi)}}{1 + e^{-2\Lambda(\Psi=0)}},$$

$$B(\Psi) \equiv \tanh \Lambda(\Psi),$$

onde  $\Lambda(\Psi) \equiv \beta[e\Psi - (\alpha + \mu_+)]/2$ . Considerando a eletroneutralidade do sistema e os parâmetros anteriormente definidos ( $\zeta, \gamma, q$ , e  $n_b$ ), a derivada da densidade de carga total em função do potencial, em  $\Psi = 0$ , é escrita como

$$\begin{aligned} \left. \frac{\partial \rho(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0} = & -n_b \beta e^2 \left[ 1 + q + \zeta z_p \tanh \Lambda(0) + \right. \\ & \left. + \frac{2z_p \zeta \tanh \Lambda(0)}{\beta e} \left. \frac{\partial A(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0} + \frac{\zeta}{\beta e} \left. \frac{\partial B(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0} \right]. \end{aligned} \quad (3.36)$$

Fazendo as derivações indicadas e as devidas simplificações com os parâmetros

adimensionais, têm-se:

$$\left. \frac{2z_p \zeta}{\beta e} \frac{\partial A(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0} = -2z_p \frac{\zeta \gamma q}{1 + \gamma q}, \quad (3.37)$$

$$\left. \frac{\zeta}{\beta e} \frac{\partial B(\Psi)}{\partial \Psi} \right|_{\Psi=0} = \frac{\zeta}{2} \operatorname{sech}^2 \left( \beta [e\Psi - (\alpha + \mu_+)] \right) = \frac{2 \zeta \gamma q}{(1 + \gamma q)^2}. \quad (3.38)$$

O comprimento efetivo de Debye (Eq 3.34) é obtido aplicando estes termos (Eq. 3.37 e 3.38) na Eq. 3.36

$$\lambda_{eff}^{-2} = \frac{\lambda_D^{-2}}{2} \left( 1 + q + \frac{(1 - q)^2}{\zeta} \left( z_p - \frac{1}{2} \right) + \frac{\zeta}{2} \right). \quad (3.39)$$

Para  $\zeta \approx 0$  (ou seja, para  $q = 1$ ), o comprimento efetivo de Debye se reduz ao comprimento de Debye ( $\lambda_{eff}^{-2} = \lambda_D^{-2}$ ).

A equação de Poisson-Boltzmann modificada linearizada pode ser escrita em termos da razão entre o comprimento efetivo de Debye e o comprimento de Debye, em função da coordenada reescalada ( $\tilde{z} = z/\lambda_D$ ),

$$\frac{d^2 \Phi(\tilde{z})}{d\tilde{z}^2} = \frac{\lambda_{eff}^{-2}}{\lambda_D^{-2}} \Phi(\tilde{z}). \quad (3.40)$$

### 3.2.6 Condições de Contorno

As equações diferenciais de segunda ordem não lineares, como é o caso da equação de Poisson-Boltzmann Modificada, exige duas condições de contorno para sua completa solução. Conforme esquematizado na Figura 3.1, foi considerado a presença de uma superfície plana com densidade superficial de carga  $\sigma$ , fixa em  $z = 0$ , sendo o eixo  $z$  perpendicular à ela. Devido a isso, as expressões que foram desenvolvidas ao longo deste trabalho e que dependem da posição “ $\mathbf{r}$ ”, serão expressas apenas pela coordenada  $z$ .

Uma das condições de contorno, conforme já explicitado ao longo deste trabalho, consiste em manter nulo o valor do potencial eletrostático na região do *bulk* ( $\Psi(z \rightarrow \infty) = 0$ ). A outra condição de contorno visa obter o potencial eletrostático de acordo com a densidade de carga  $\sigma$  da superfície plana carregada, por intermédio da

lei de Gauss [31]

$$\beta e \frac{\partial \Psi(z)}{\partial z} \Big|_{z=0} = -\frac{4\pi l_B \sigma}{e} = -\frac{2}{l_{GC}}, \quad (3.41)$$

sendo  $l_{GC} = e/2\pi\sigma l_B$  o comprimento de Gouy-Chapman, definido como o comprimento cuja energia térmica é igual a energia eletrostática entre uma carga unitária e uma superfície plana com uma densidade de carga superficial constante  $\sigma$  [30].

Assim como feito para a Equação de Poisson-Boltzmann Modificada, faz-se necessário adequar as condições de contorno levando em consideração a parametrização e a posição reescalada:

$$\Phi(\tilde{z} \rightarrow \infty) = 0, \quad (3.42)$$

$$\frac{\partial \Phi(\tilde{z})}{\partial \tilde{z}} \Big|_{\tilde{z}=0} = -\frac{2\lambda_D}{l_{GC}} = -2\Xi, \quad (3.43)$$

onde  $\Xi = \lambda_D/l_{GC}$  é um parâmetro adimensional definido pela razão entre o comprimento de Debye e o comprimento de Gouy-Chapman. Este parâmetro agrega as informações da superfície plana carregada ( $\sigma$ ) e da concentração iônica ( $n_b$ )

$$\Xi \equiv \frac{\lambda_D}{l_{GC}} = \left( \frac{l_B \pi \sigma^2}{2n_b e^2} \right)^{1/2} = \left( \frac{\beta \pi}{2\epsilon} \right)^{1/2} \frac{\sigma}{\sqrt{n_b}}. \quad (3.44)$$

Tendo definido a equação de Poisson-Boltzmann Modificada, em sua forma linear e não linearizada (Eqs. 3.40 e 3.31), juntamente com suas duas condições de contorno (Eqs. 3.42 e 3.43), têm-se todas as ferramentas necessárias para sua completa solução. Infelizmente, nem sempre é possível obter uma solução analítica exata para este tipo de equação diferencial. Neste trabalho, fez-se necessário o uso de soluções analíticas aproximadas via aproximação de Debye-Hückel [30], e também do método numérico de Diferenças Finitas [37]. Conforme explicado no Apêndice, o objetivo deste método é encontrar soluções numéricas para equações diferenciais utilizando suas condições de contorno. Basicamente, é feito a discretização da equação diferencial e de suas condições de contorno, de forma a serem escritas como equações algébricas, aplicadas no ponto a ser analisado. Se tratando de uma equação diferencial não linear, não é possível encontrar uma solução utilizando diretamente o método de diferenças finitas. Por isso, faz-se necessário aplicar também o método iterativo de Newton [37].

# Capítulo 4

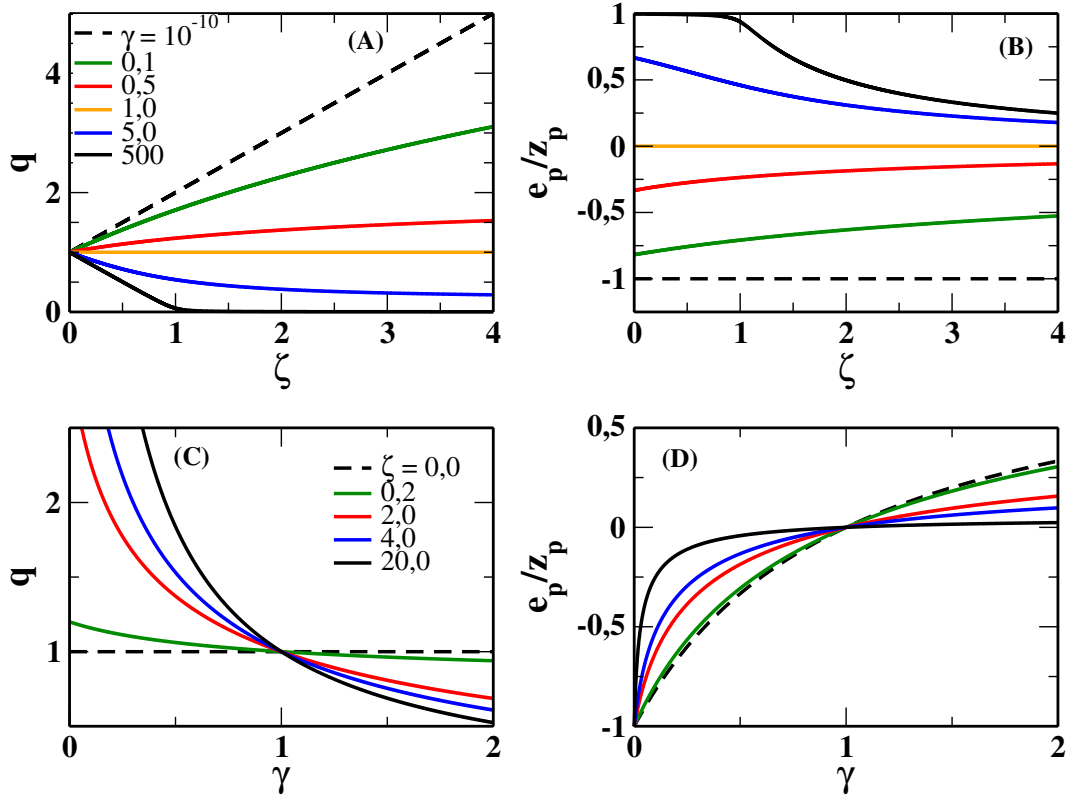
## RESULTADOS

Ao longo deste capítulo são apresentados os resultados que foram obtidos via modelagem teórica que descreve um sistema composto por macroíons capazes de associar/dissociar cátions da solução na presença de uma superfície plana carregada com uma densidade superficial de carga fixa positiva ( $\sigma > 0$ ), vide Figura 3.1. Os macroíons possuem  $M_p$  grupos fixos que garantem uma carga negativa, e o dobro de grupos  $N_p$ , que podem ou não estar ionizados.

Visando garantir a simetria da carga dos macroíons,  $-ez_p \leq e_p \leq ez_p$ , sua valência máxima é dada por  $z_p = M_p = N_p/2$ , sendo  $z_p = 10$  o valor escolhido para este trabalho. Por se tratar de um modelo teórico geral, é possível atribuir outros valores para a valência dos macroíons ( $z_p$ ), bem como estipular outra proporção entre o número de grupos fixos e dissociáveis. Foi mantido este padrão simétrico devido ao interesse futuro de aplicar este modelo para descrição da interação entre membranas carregadas e peptídeos antimicrobianos que apresentam esta proporção de resíduos ácidos e básicos [39]. Para garantir a validade física deste modelo simplificado, deve-se considerar uma baixa concentração de macroíons, quando comparada à concentração iônica, para que sua geometria e dimensão não influencie no empacotamento iônico [28].

Uma vez que os macroíons podem ser ionizados, sua carga  $e_p$  poderá sofrer alteração e a concentração numérica de cátions e ânions no *bulk* poderá ser diferente, conforme foi estabelecido pelo parâmetro de carregamento  $q = n_b^+/n_b$ . Por intermédio da análise da variação de  $q(\zeta, \gamma)$  e de  $e_p$  em função dos parâmetros  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$  e  $\zeta = z_p P_b/n_b$ , apresentada na Figura 4.1, é possível avaliar as condições em que os macroíons associam ou dissociam os cátions. Nos gráficos A e B, o valor de  $\gamma$  é mantido fixo (em cada curva), enquanto  $\zeta = z_p P_b/n_b$  varia. Já nos gráficos C e D, têm-se apresentado os resultados da variação de  $\gamma$ .

Figura 4.1: (A) Parâmetro de carregamento  $q(\zeta, \gamma)$  em função de  $\zeta = z_p P_b / n_b$ . (B) Carga dos macroíons no *bulk*, em unidades de  $z_p$ , em função de  $\zeta$ . Em ambos gráficos, as diferentes cores indicam os valores fixos de  $\gamma$ , sendo  $\gamma = 10^{-10} \approx 0$  (tracejado em preto), 0,1 (verde), 0,5 (vermelho), 1,0 (laranja), 5,0 (azul) e 500,0 (sólido em preto). (C) Parâmetro de carregamento  $q(\zeta, \gamma)$  em função de  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ . (D) Carga dos macroíons no *bulk*, em unidades de  $z_p$ , em função de  $\gamma$ . Em ambos gráficos, as diferentes cores indicam os valores fixos de  $\zeta$ , sendo  $\zeta = 0$  (tracejado em preto), 0,2 (verde), 2,0 (vermelho), 4,0 (azul) e 20,0 (sólido em preto). Em todos os gráficos foi considerado  $z_p = 10$ .



**Fonte:** Elaborada pelo autor.

Nos gráficos A e C, para valores de  $\gamma = 1,0$  e  $\zeta = 0$ , verifica-se que a quantidade de cátions e ânions é equivalente no *bulk*, uma vez que a razão entre a concentração de cátions e ânions nesta região será  $q = n_b^+ / n_b = 1$ . Para essas condições de concentração iônica reescalada, os macroíons apresentam uma carga líquida nula  $e_p = 0$  (vide gráficos B e D), indicando que não há associação nem dissociação dos cátions. A variação dessa concentração iônica reescalada (valores em que  $\gamma \neq 1,0$ ), estabelece as condições em que os macroíons sofrem ionização.

Quando em baixa concentração iônica reescalada, ou seja, para valores de  $\gamma < 1,0$  (representado nos gráficos A e B pelas curvas preto tracejada, verde e verme-

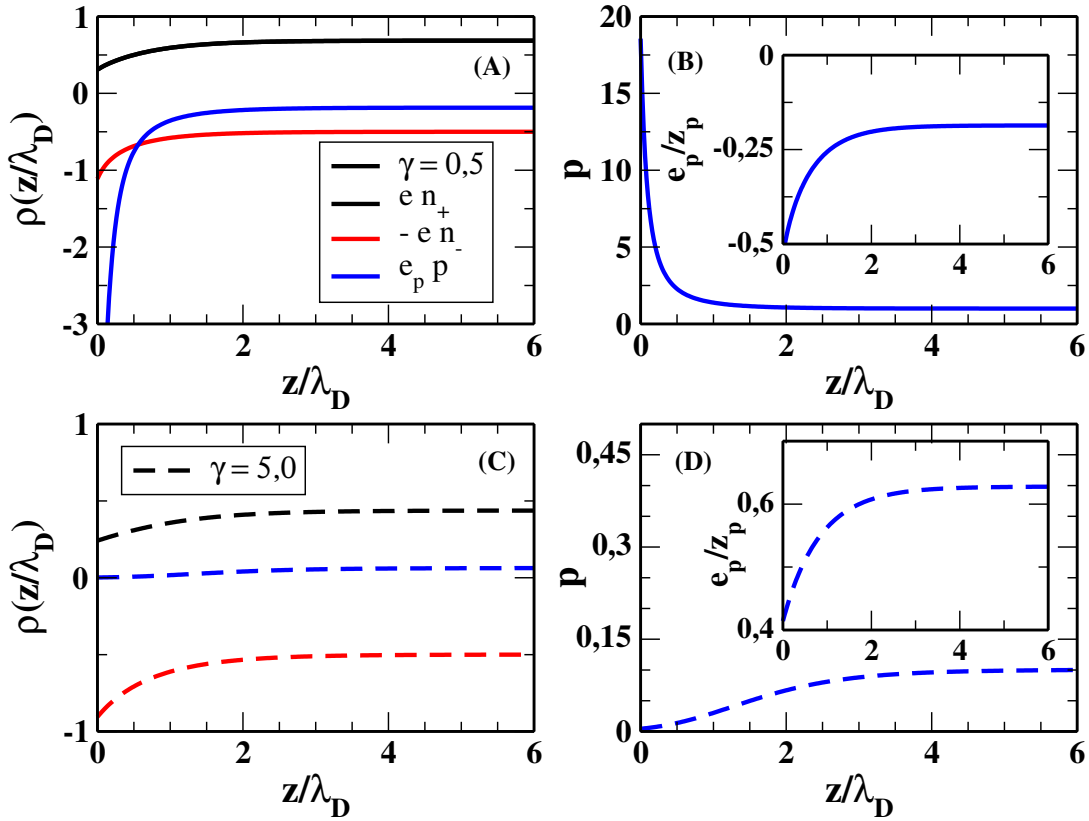
lha), o parâmetro de carregamento apresenta valores de  $q > 1,0$ , ou seja, a quantidade de cátions no *bulk* é superior a de ânions, indicando que os macroíons dissociam cátions para a solução visando manter o equilíbrio químico do sistema. Num caso limite, em que a concentração iônica é próxima à zero ( $\gamma = 10^{-10}$ , curva tracejada em preto nos gráficos A e B), o aumento da concentração reescalada de macroíons ( $\zeta$ ), faz com que mais cátions sejam liberados para a solução, refletindo no aumento linear do valor do parâmetro de carregamento. Pelo fato dos macroíons dissociarem todos seus cátions, visando a garantia do equilíbrio químico do sistema, eles imprimem uma carga líquida máxima negativa ( $e_p = -10$ ).

Já para um sistema com alta concentração iônica, valores  $\gamma > 1,0$  (representado nos gráficos A e B pelas curvas em azul e preto sólida), o parâmetro de carregamento apresenta valores de  $q < 1,0$ , ou seja, a quantidade de ânions é superior à de cátions no *bulk*, uma vez que os macroíons estão associando os cátions da solução. Considerando um outro caso limite, agora de alta concentração iônica reescalada, em que  $\zeta < 1,0$  e  $\gamma = 500,0$ , apresentado nos gráficos A e B pela curva em preto sólida, nota-se que os macroíons associam todos os cátions presentes na solução, de forma que sua carga líquida apresenta a valência máxima positiva ( $e_p = 10$ ). Quando mais macroíons são acrescentados ao sistema (indicado pelos valores de  $\zeta > 1,0$ ), a quantidade de cátions livres torna-se insuficiente para ocupar totalmente todos os grupos disponíveis destes macroíons, fazendo com que eles reduzam sua carga líquida.

Nos gráficos C e D, fica evidente que a escolha do parâmetro adimensional  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ , é crucial na definição de três comportamentos distintos adotados pelos macroíons: i) para valores de  $\gamma < 1,0$  (baixa concentração iônica), os macroíons dissociam seus cátions para solução, apresentando uma carga líquida negativa ( $e_p < 0$ ), que sofre uma diminuição (em módulo) com o aumento da quantidade de macroíons no sistema; ii) quando  $\gamma = 1,0$ , os macroíons estão em equilíbrio com o sistema, ou seja, eles não associam e nem dissociam cátions, de forma a apresentar uma carga líquida neutra ( $e_p = 0$ ); e iii) para valores de  $\gamma > 1,0$  (alta concentração iônica), os macroíons associam os cátions da solução, apresentando uma carga líquida positiva ( $e_p > 0$ ) maior quando a quantidade de macroíons presente no sistema é baixa ( $\zeta < 1,0$ ).

Feito essa análise da variação do parâmetro de carregamento e da carga líquida dos macroíons no *bulk*, na Figura 4.2 tem-se a contribuição de cada espécie iônica (cátions, ânions e macroíons) para a densidade de carga total do sistema,  $\rho(z/\lambda_D) = en^+ - en^- + e_p p$ , em função da distância em relação à superfície plana carregada positivamente localizada em  $z/\lambda_D = 0$ . Foram consideradas duas condições: i) baixa concentração iônica, em que  $\gamma = 0,5$ , e os resultados são apresentados nos gráficos A e B pelas curvas sólidas; e ii) alta concentração iônica, em que  $\gamma = 5,0$ , e os resultados

Figura 4.2: (A) e (C): Contribuição de cada espécie iônica para a densidade de carga total,  $\rho(z/\lambda_D) = en^+ - en^- + e_p p$ , em unidades da carga elementar  $e$ , em função de  $z/\lambda_D$ . As diferentes cores indicam a espécie iônica: cátions  $en^+$  (preto), ânions  $en^-$  (vermelho) e macroíons  $e_p p$  (azul). As linhas sólidas indicam os resultados para  $\gamma = 0,5$ , enquanto as tracejadas  $\gamma = 5,0$ . (B) e (D): No gráfico principal tem-se a concentração numérica de macroíons ( $p$ ), em função de  $z/\lambda_D$ , e no *inset*, a carga dos macroíons (em termos de  $z_p$ ), em função de  $z/\lambda_D$ . Nos gráficos (A) e (B), foi utilizado:  $\zeta = z_p P_b / n_b = 2,0$ ,  $\Xi = \lambda_D / l_{GC} = 1,0$  e  $z_p = 10$ . Nos gráficos (C) e (D), para manter a mesma concentração de macroíons no *bulk* e carga da superfície plana, utilizou-se:  $\zeta = 0,2$ ,  $\Xi = 0,32$  e  $z_p = 10$ .



Fonte: Elaborada pelo autor.

são apresentados nos gráficos C e D pelas curvas tracejadas.

Nas imediações da superfície plana positiva, para  $z/\lambda_D = 0$ , independente da concentração iônica do sistema, devido a repulsão eletrostática entre a superfície plana positiva e os cátions da solução, nota-se uma maior densidade numérica de ânions. Em pontos mais distantes da superfície plana, como por exemplo em  $z/\lambda_D = 6,0$ , nota-se uma diferença na contribuição dos cátions e ânions para a densidade de carga do sistema: i) em baixa concentração iônica (gráfico A,  $\gamma = 0,5$ ), a densidade numérica de cátions é superior a de ânions, resultado da dissociação de cátions dos macroíons

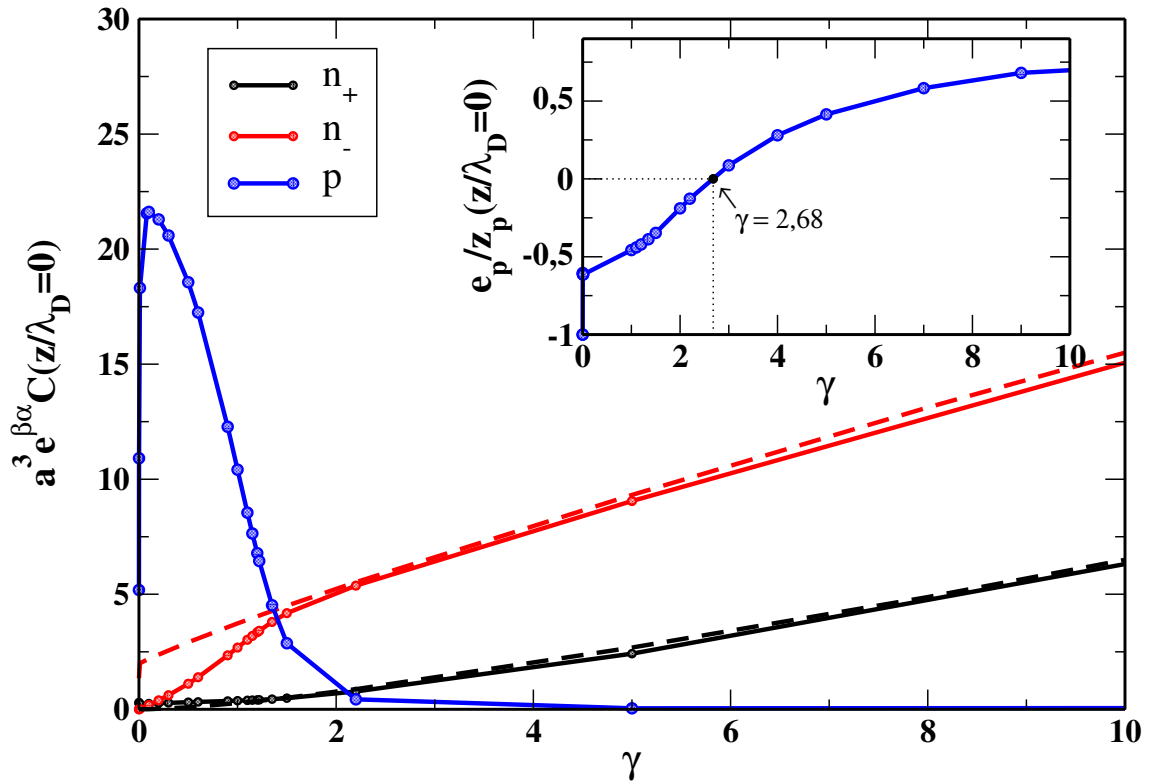
para a solução; e ii) em alta concentração iônica (gráfico C,  $\gamma = 5,0$ ), a densidade numérica de ânions é superior a de cátions, resultado da associação dos cátions livres nos macroíons.

Como a contribuição dos macroíons para a densidade total de carga depende de duas grandezas que variam simultaneamente ( $e_p$  e  $p$ ), não é possível afirmar com clareza qual parâmetro é responsável pela variação observada na curva em azul dos gráficos A e C. Devido a isso, nos gráficos B e D, têm-se apresentado a concentração numérica e a carga dos macroíons para um sistema com baixa ( $\gamma = 0,5$ , curva sólida do gráfico B) e alta ( $\gamma = 5,0$ , curva tracejada do gráfico D) concentração iônica. Em baixa concentração iônica, devido a dissociação dos cátions, os macroíons apresentam uma carga líquida sempre negativa ( $e_p < 0$ ). Vale destacar que nas imediações da superfície plana positiva, a carga dos macroíons apresenta valores mais negativos do que em regiões mais distantes, isso devido a menor concentração de cátions próximos a superfície e também devido a repulsão eletrostática entre os cátions e a superfície positiva que facilita a dissociação de cátions pelos macroíons. Devido a sua carga líquida ser negativa, a superfície atrai os macroíons fazendo com que sua concentração seja elevada em suas imediações. Já em pontos mais distantes à superfície plana, a concentração de macroíons sofre uma diminuição e sua carga líquida se torna menos negativa, ou seja, tem-se uma diminuição da dissociação de cátions para a solução.

Quando o sistema apresenta alta concentração iônica ( $\gamma = 5,0$ , gráfico C e D), a contribuição dos macroíons para a densidade de carga total é próxima de zero para qualquer que seja a distância da superfície plana. Nestas condições, os macroíons apresentam uma carga líquida positiva ( $e_p > 0$ ) devido a associação de cátions livres da solução. Nas imediações da superfície positiva, os macroíons apresentam uma carga menor do que em pontos mais distantes, uma vez que, devido a repulsão eletrostática e portanto uma menor concentração de cátions nas imediações da superfície plana positiva, não é favorável que os macroíons associem cátions nesta região.

Visando analisar a competição entre as espécies iônicas nas imediações da superfície plana positiva, na Figura 4.3 tem-se apresentada a concentração numérica dos cátions (preto), ânions (vermelho) e macroíons (azul), em função da concentração iônica reescalada  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ . No *inset*, a carga líquida dos macroíons é também apresentada. Os resultados referem-se à distância fixa da superfície  $z/\lambda_D = 0$ . Vale ressaltar que para a confecção deste gráfico foi necessário ajustar os parâmetros  $\zeta$  e  $\Xi$  para cada valor de  $\gamma$ , visto que eles encontram-se relacionados por intermédio da densidade de carga iônica  $n_b$ . Para isso, foram considerados os padrões de valores utilizados nos demais gráficos ( $\Xi = 1$  e  $\zeta = 2,0$ ), de forma que para cada valor de  $\gamma$  determina-se os demais parâmetros seguindo o padrão de  $\Xi = 0,7071/\sqrt{\gamma}$  e  $\zeta = 1,0/\gamma$ .

Figura 4.3: Concentração numérica reescalada de cada espécie iônica nas imediações da superfície plana positiva ( $a^3 e^{\beta\alpha} C(z/\lambda_D = 0)$ ) em função do parâmetro  $\gamma$ . As diferentes cores indicam a espécie iônica: cátions  $n^+$  (preto), ânions  $n^-$  (vermelho) e macroíons  $p$  (azul). As curvas tracejadas indicam a concentração de cátions (preto) e ânions (vermelho) para um sistema sem macroíons. No *inset*, tem-se apresentado a carga dos macroíons, em termos da valência dos macroíons ( $e_p/z_p$ ), em função de  $\gamma$ . Ambos gráficos consideram como parâmetros as variações dos valores padrão (utilizados nos outros gráficos, sendo  $\Xi = 1$ ,  $\zeta = 2,0$ ) para cada valor de  $\gamma$ , sendo mantido o padrão  $\Xi = 0,7071/\sqrt{\gamma}$ ,  $\zeta = 1,0/\gamma$  e  $z_p = 10$ .



Fonte: Elaborada pelo autor.

Conforme pode ser observado no *inset* da 4.3, nas imediações da superfície plana positiva, a carga líquida dos macroíons pode ser: i) negativa ( $e_p < 0$ ), para baixos valores de concentração iônica ( $\gamma < 2,68$ ); ii) neutra ( $e_p = 0$ ), quando a concentração iônica é tal que  $\gamma = 2,68$ ; e iii) positiva ( $e_p > 0$ ), para altos valores de concentração iônica ( $\gamma > 2,68$ ). Conforme observado anteriormente nos gráficos B e D da Figura 4.1, na ausência da superfície a neutralidade dos macroíons é atingida para  $\gamma = 1,0$ . Desta forma, fica evidente que a presença de uma superfície carregada afeta a ionização dos macroíons, provocando este deslocamento no valor da concentração iônica  $\gamma$ .

Para um sistema sem macroíons (curvas tracejadas), tem-se um acúmulo

de ânions nas imediações da superfície plana positiva devido à atração eletrostática. Nesta mesma região, a concentração de cátions e ânions sofre um aumento significativo com o aumento da concentração iônica reescalada no *bulk*  $\gamma$ . Quando os macroíons são introduzidos no sistema, numa faixa de para  $\gamma < 1,43$ , sua concentração nas imediações da superfície se torna superior à concentração das demais espécies iônicas. Para este mesmo regime de concentração iônica, os macroíons apresentam uma carga líquida negativa superior a dos ânions ( $e_p/z_p < -0,1$ ), por isso se acumulam próximo a superfície, “expulsando” os ânions desta região.

Para valores de  $\gamma > 1,43$  a concentração de ânions é superior a dos macroíons, seguindo um comportamento similar ao observado para o sistema sem macroíons. Quando  $\gamma > 3$ , os macroíons apresentam carga líquida maior do que a carga dos cátions ( $e_p/z_p > 1$ ), de forma que sua concentração nas imediações da superfície positiva passa a ser zero e a concentração de cátions apresenta um aumento similar ao observado para um sistema sem macroíons. Vale destacar que para  $\gamma = 1,43$  a concentração de ânions passa a ser superior a de macroíons, apesar deles apresentarem uma carga efetiva equivalente a aproximadamente o triplo da carga dos ânions ( $e_p/z_p \approx -0,35$ ).

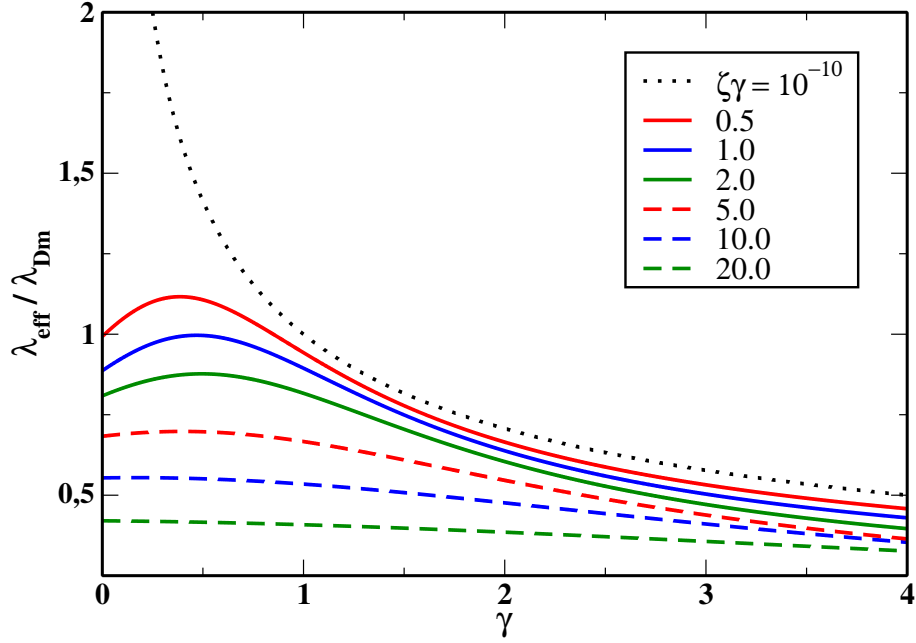
O comprimento efetivo de Debye quantifica o alcance do potencial eletrostático e depende dos mesmos parâmetros que definem o parâmetro de carregamento  $q(\zeta, \gamma)$ . Desta forma, também sofre influência da concentração iônica e da concentração de macroíons. Com o objetivo de explorar suas propriedades, na Figura 4.4 tem-se apresentado o comprimento efetivo de Debye em unidades do comprimento de Debye reescalado:

$$\frac{\lambda_{eff}}{\lambda_{Dm}} = \sqrt{\frac{\gamma}{2} \left( 1 + q + \frac{(1-q)^2}{\zeta} \left( z_p - \frac{1}{2} \right) + \frac{\zeta}{2} \right)}, \quad (4.1)$$

em que  $\lambda_{Dm} \equiv 1/\sqrt{8\pi l_B a^{-3} e^{-\beta\alpha}}$  é definido como o comprimento de Debye reescalado, ou seja, consiste no comprimento de Debye com a concentração iônica  $n_b$  escrita em termos do parâmetro  $\gamma$ :  $n_b = \gamma a^{-3} e^{-\beta\alpha}$ . Neste gráfico, o acréscimo de macroíons é representado pelas diferentes cores e tipos das curvas. No caso limite em que considera-se a ausência de íons ( $\gamma \approx 0$ ), é notado uma diminuição do comprimento efetivo de Debye com o aumento da concentração de macroíons (aumento de  $\zeta\gamma$ ), indicando uma diminuição do alcance do potencial eletrostático. Neste cenário de baixa concentração iônica, a carga líquida dos macroíons é negativa.

Em baixa concentração iônica, os macroíons apresentam carga superior a dos ânions monovalentes. Dessa forma, sua contribuição para a blindagem eletrostática é maior. Porém, quando a concentração iônica do sistema aumenta, a carga dos ma-

Figura 4.4: Comprimento efetivo de Debye reescalado,  $\lambda_{eff}/\lambda_{Dm}$ , em função da concentração iônica reescalada  $\gamma = n_b a^3 e^{\beta\alpha}$ . As diferentes cores e estilos de curva indicam o valor da concentração de macroíons reescalada, dada por:  $\gamma\zeta = z_p P_b a^3 e^{\beta\alpha}$ , em que  $\gamma\zeta = 10^{-10}$  (preto pontilhada), 0,5 (vermelho sólida), 1,0 (azul sólida), 2,0 (verde sólida), 5,0 (vermelho tracejada), 10,0 (azul tracejada) e 20,0 (verde tracejada).



Fonte: Elaborada pelo autor.

croíons vai se tornando cada vez menos negativa de forma que para  $\gamma \leq 0,5$  é observado um crescimento de  $\lambda_{eff}/\lambda_{Dm}$ , principalmente nas curvas em que  $\zeta\gamma$  apresentam menores valores (curvas sólidas). Depois, conforme o parâmetro  $\gamma$  aumenta, os ânions passam a dominar essa competição eletrostática, sendo notável uma queda proporcional a da curva pontilhada, que faz referência ao caso de um sistema sem a presença de macroíons.

# Capítulo 5

## CONCLUSÃO

Neste trabalho foi estudado um modelo teórico que descreve a regulação de carga de macroíons em solução na presença de uma superfície plana carregada positivamente, sendo contabilizado o efeito coletivo entre os macroíons. Para um sistema com alta concentração iônica, os macroíons associam os cátions da solução e a concentração numérica de ânions no *bulk* passa a ser superior a de cátions. O oposto é observado num sistema com baixa concentração iônica, em que os macroíons dissociam cátions para solução, fazendo com que a concentração numérica dessa espécie seja superior a de ânions no *bulk*. Desta forma, a carga líquida dos macroíons varia de acordo com a concentração iônica da solução, apresentando valores de carga negativa quando em baixa concentração iônica, e valores de carga positiva quando em alta concentração iônica.

A presença de uma superfície carregada altera a concentração iônica local e, por isso, nas imediações desta superfície tem-se uma alteração na carga dos macroíons. Para um sistema com alta concentração iônica, devido a repulsão eletrostática, é observado uma grande concentração de ânions e uma baixa concentração de cátions monovalentes, bem como uma concentração nula de macroíons, cuja carga líquida neste cenário é positiva ( $e_p > 0$ ). Porém, num sistema de baixa concentração iônica, devido à atração eletrostática, nas imediações da superfície plana positiva tem-se uma grande concentração de macroíons com carga negativa e uma crescente concentração de ânions monovalentes em relação à distância da superfície plana. Devido a essa grande concentração de contra-íons formada nas imediações desta superfície, tem-se uma blindagem eletrostática, que ora é dominada pela contribuição dos macroíons com carga negativa, ora é dominada pelos ânions monovalentes, e isso provoca uma diminuição no alcance do potencial eletrostático.

Entender o mecanismo da regulação de carga em macroíons, bem como ex-

plorar esses resultados, têm grande relevância e aplicabilidade em diversas áreas. Os resultados obtidos no estudo deste modelo de macroíons capazes de associar/dissociar cátions podem ser aplicados a um modelo simplificado de uma macromolécula, que se enquadre nas condições impostas neste trabalho, cuja superfície tenha grupos ionizáveis. Apesar de utilizarmos um modelo simplificado, os resultados obtidos foram capazes de estabelecer relações entre a concentração iônica e a variação de carga dos macroíons, bem como analisar a influência da superfície plana carregada nessa variação. Vale destacar que na modelagem aqui apresentada fez-se uma aproximação de entropia ideal, que implica na necessidade de se considerar uma baixa concentração de macroíons.

Uma possível aplicação deste modelo que está em início de desenvolvimento seria no estudo da interação de peptídeos antimicrobianos com vesículas carregadas, cujo grau de protonação dos resíduos pode ser afetado pela densidade de carga da membrana, conforme mostrado na referência [39]. Uma outra aplicação seria no estudo de adsorção de proteínas em poros carregados, conforme mostrado nas referências [9, 10]. Apesar das análises realizadas neste trabalho terem como base um modelo simplificado, em que são considerados macroíons interagindo com uma superfície de geometria plana ao invés de confinante (como é o caso da SBA-15), os resultados obtidos contribuem com uma primeira aproximação para o entendimento deste problema, e serão complementados por trabalhos posteriores que irão envolver outras geometrias, visto que o comportamento observado nas imediações de uma superfície confinante pode ser aproximado ao que é obtido para uma superfície plana.

## REFERÊNCIAS

- 1 RABE, M.; VERDES, D.; SEEGER, S. Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.*, Elsevier, v. 162, n. 1-2, p. 87–106, 2011.
- 2 QUAN, X.; LIU, J.; ZHOU, J. Multiscale modeling and simulations of protein adsorption: progresses and perspectives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Elsevier, v. 41, p. 74–85, 2019.
- 3 VRIES, R. de; STUART, M. C. Theory and simulations of macroion complexation. *Current opinion in colloid & interface science*, Elsevier, v. 11, n. 5, p. 295–301, 2006.
- 4 CAETANO, D. L. et al. Adsorption of lysozyme into a charged confining pore. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Royal Society of Chemistry, 2021.
- 5 ZHOU, J.; ZHENG, J.; JIANG, S. Molecular simulation studies of the orientation and conformation of cytochrome c adsorbed on self-assembled monolayers. *J. Phys. Chem. B*, ACS Publications, v. 108, n. 45, p. 17418–17424, 2004.
- 6 LIU, J.; YU, G.; ZHOU, J. Ribonuclease a adsorption onto charged self-assembled monolayers: A multiscale simulation study. *Chemical Engineering Science*, Elsevier, v. 121, p. 331–339, 2015.
- 7 YU, G.; ZHOU, J. Understanding the curvature effect of silica nanoparticles on lysozyme adsorption orientation and conformation: a mesoscopic coarse-grained simulation study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Royal Society of Chemistry, v. 18, n. 34, p. 23500–23507, 2016.
- 8 CAETANO, D. L. et al. Critical adsorption of periodic and random polyampholytes onto charged surfaces. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Royal Society of Chemistry, v. 19, n. 34, p. 23397–23413, 2017.
- 9 MOERZ, S. T.; HUBER, P. Protein adsorption into mesopores: a combination of electrostatic interaction, counterion release, and van der waals forces. *Langmuir*, ACS Publications, v. 30, n. 10, p. 2729–2737, 2014.
- 10 MOERZ, S. T.; HUBER, P. pH-dependent selective protein adsorption into mesoporous silica. *The Journal of Physical Chemistry C*, ACS Publications, v. 119, n. 48, p. 27072–27079, 2015.

- 11 CZESLIK, C.; WINTER, R. Effect of temperature on the conformation of lysozyme adsorbed to silica particles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Royal Society of Chemistry, v. 3, n. 2, p. 235–239, 2001.
- 12 FELLOVALYI, F. et al. Reversibility of the adsorption of lysozyme on silica. *Langmuir*, ACS Publications, v. 27, n. 19, p. 11873–11882, 2011.
- 13 TAO, Z. Mesoporous silica-based nanodevices for biological applications. *Rsc Advances*, Royal Society of Chemistry, v. 4, n. 36, p. 18961–18980, 2014.
- 14 HUBER, P. Soft matter in hard confinement: phase transition thermodynamics, structure, texture, diffusion and flow in nanoporous media. *Journal of Physics: Condensed Matter*, IOP Publishing, v. 27, n. 10, p. 103102, 2015.
- 15 KUBIAK-OSSOWSKA, K. et al. Protein interactions with negatively charged inorganic surfaces. *Current opinion in colloid & interface science*, Elsevier, v. 41, p. 104–117, 2019.
- 16 BOUBETA, F. M.; SOLER-ILLIA, G. J. d. A. A.; TAGLIAZUCCHI, M. Electrostatically driven protein adsorption: charge patches versus charge regulation. *Langmuir*, ACS Publications, v. 34, n. 51, p. 15727–15738, 2018.
- 17 MEISSNER, J. et al. Characterization of protein adsorption onto silica nanoparticles: influence of pH and ionic strength. *Colloid and polymer science*, Springer, v. 293, n. 11, p. 3381–3391, 2015.
- 18 HARTMANN, M. Ordered mesoporous materials for bioadsorption and biocatalysis. *Chem. Mater.*, ACS Publications, v. 17, n. 18, p. 4577–4593, 2005.
- 19 KAYITMAZER, A. B. et al. Protein–polyelectrolyte interactions. *Soft Matter*, Royal Society of Chemistry, v. 9, n. 9, p. 2553–2583, 2013.
- 20 KIRKWOOD, J. G.; SHUMAKER, J. B. Forces between protein molecules in solution arising from fluctuations in proton charge and configuration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences, v. 38, n. 10, p. 863, 1952.
- 21 LUND, M.; JÖNSSON, B. On the charge regulation of proteins. *Biochemistry*, ACS Publications, v. 44, n. 15, p. 5722–5727, 2005.
- 22 NAP, R. J. et al. The role of solution conditions in the bacteriophage pp7 capsid charge regulation. *Biophysical journal*, Elsevier, v. 107, n. 8, p. 1970–1979, 2014.
- 23 BORUKHOV, I. et al. Polyelectrolyte titration: theory and experiment. *The Journal of Physical Chemistry B*, ACS Publications, v. 104, n. 47, p. 11027–11034, 2000.
- 24 LINT, W. de; BIESHEUVEL, P. M.; VERWEIJ, H. Application of the charge regulation model to transport of ions through hydrophilic membranes: one-dimensional transport model for narrow pores (nanofiltration). *Journal of colloid and interface science*, Elsevier, v. 251, n. 1, p. 131–142, 2002.

- 25 WENNERSTRÖM, H.; JÖNSSON, B.; LINSE, P. The cell model for polyelectrolyte systems. exact statistical mechanical relations, monte carlo simulations, and the poisson–boltzmann approximation. *The Journal of Chemical Physics*, American Institute of Physics, v. 76, n. 9, p. 4665–4670, 1982.
- 26 MAY, S.; HARRIES, D.; BEN-SHAUL, A. Lipid demixing and protein-protein interactions in the adsorption of charged proteins on mixed membranes. *Biophysical journal*, Elsevier, v. 79, n. 4, p. 1747–1760, 2000.
- 27 BIESHEUVEL, P. M.; STUART, M. A. C. Cylindrical cell model for the electrostatic free energy of polyelectrolyte complexes. *Langmuir*, ACS Publications, v. 20, n. 11, p. 4764–4770, 2004.
- 28 MARKOVICH, T.; ANDELMAN, D.; PODGORNIK, R. Complex fluids with mobile charge-regulating macro-ions. *EPL (Europhysics Letters)*, IOP Publishing, v. 120, n. 2, p. 26001, 2018.
- 29 MCQUARRIE, D. A. *Statistical mechanics*. [S.l.]: Sterling Publishing Company, 2000.
- 30 MARKOVICH, T.; ANDELMAN, D.; PODGORNIK, R. Charged membranes: Poisson-boltzmann theory, dlvo paradigm and beyond. *arXiv preprint arXiv:1603.09451*, 2016.
- 31 GRIFFITHS, D. J. *Introduction to electrodynamics*. [S.l.]: Prentice Hall New Jersey, 1962.
- 32 JACKSON, J. D. *Classical electrodynamics*. [S.l.]: American Association of Physics Teachers, 1999.
- 33 CALLEN, H. B. *Thermodynamics and an Introduction to Thermostatistics*. [S.l.]: American Association of Physics Teachers, 1998.
- 34 MARION, J. B. *Classical dynamics of particles and systems*. [S.l.]: Academic Press, 2013.
- 35 ARFKEN, G.; WEBER, H. H. *Física matemática: métodos matemáticos para engenharia e física*. [S.l.]: Elsevier, 2007.
- 36 HILL, T. L. *An introduction to statistical thermodynamics*. [S.l.]: Courier Corporation, 2012.
- 37 LEVEQUE, R. J. Finite difference methods for differential equations. *Draft version for use in AMath*, v. 585, n. 6, p. 112, 1998.
- 38 PODGORNIK, R. General theory of charge regulation and surface differential capacitance. *The Journal of chemical physics*, AIP Publishing, v. 149, n. 10, p. 104701, 2018.
- 39 ALVARES, D. d. S. et al. Modulatory effects of acidic ph and membrane potential on the adsorption of ph-sensitive peptides to anionic lipid membrane. *Membranes*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 11, n. 5, p. 307, 2021.

40 DAVIES, J. T. Adsorption of long-chain ions. i. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, The Royal Society London, v. 245, n. 1242, p. 417–428, 1958.

# Apêndice

## Método das Diferenças Finitas

O método das diferenças finitas pode ser utilizado para resolver problemas de valor de contorno ou valor inicial, que envolvam equações diferenciais ordinárias ou parciais [37]. Neste trabalho, o método das diferença finitas foi utilizado para resolver a equação de Poisson-Boltzmann modificada 3.31, que segue a forma:

$$\frac{d^2y(x)}{dx^2} = f(y(x)). \quad (1)$$

A aplicação do método de diferenças finitas leva a um sistema de equações algébricas. Devido a não linearidade destas equações, a solução deste sistema pode ser obtida através de um método iterativo em que um valor inicial é atribuído ao potencial eletrostático, que corresponde ao  $y(x)$  da Eq. 1, sendo que em cada passo desse processo um valor delta ( $\delta$ ) é adicionado ao potencial até que a convergência seja obtida [37]. Em nosso caso, o processo é interrompido e a convergência é alcançada quando  $\delta \leq 10^{-10}$ . O valor de  $\delta$  consiste na solução da equação  $J(\theta)\delta = -G(\theta)$ , sendo  $J(\theta) = G'(\theta)$  é a matriz Jacobiana com elementos

$$J_{ij}(\theta) = \frac{\partial}{\partial \theta_j} G_i(\theta), \quad (2)$$

sendo  $G_i(\theta)$  os termos discretizados oriundos da Equação de Poisson Boltzmann Modificada 3.31 [37].

Para cada valor do potencial obtido pelo método acima, verifica-se se a condição de contorno na superfície é satisfeita (Eq. 3.43). Caso não seja, o método da bisseção é utilizado até que a condição de contorno seja satisfeita dentro da tolerância de  $10^{-10}$ . Vale ressaltar que para satisfazer o modelo físico proposto, tem-se como uma condição de convergência que o potencial eletrostático no *bulk* seja nulo. Para a implementação do código foi utilizado o GNU Octave, visto que ele possui funções

implementadas para solucionar problemas matriciais. O método de diferenças finitas pode ser compreendido em maiores detalhes no livro "Finite difference methods for differential equations" [37], utilizado como base para formulação do código utilizado para obtenção da solução numérica deste trabalho de mestrado.