**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Ciências e Tecnologia

Instituto de Química

Nathalia Salles Vernin Barbosa

# Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada em sistemas biológicos: análise da partição iônica em um eritrócito

Rio de Janeiro

2014

Nathalia Salles Vernin Barbosa

# Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada em sistemas biológicos: análise da partição iônica em um eritrócito

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química,ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Rocha de Almeida Lima

Orientador: Prof. Dr. Frederico Wanderley Tavares

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

B238 Barbosa, Nathalia Salles Vernin
Aplicação da equação de Poisson-Bolzmann modificada em sistemas biológicos: análise da partição iônica em um eritrócito. / Nathalia Salles Vernin Barbosa. – 2014.
146 f.

Orientador: Eduardo Rocha de Almeida; Frederico Wanderley Tavares.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Química.

1. Sistemas biológicos – Teses. 2. Eritrócitos – Teses. 3. Equação de Poisson-Boltzmann – Teses. I. Almeida, Eduardo Rocha da II. Tavares, Frederico Wanderley III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV. Título.

CDU 577.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura Data 30/05/2014

Nathalia Salles Vernin Barbosa

**Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada em sistemas biológicos: análise da partição iônica em um eritrócito**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos, Petróleo e Meio Ambiente.

Aprovada em 25 de abril de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Rocha de Almeida Lima (Orientador)

Instituto de Química - UERJ

Prof. Dr. Frederico Wanderley Tavares (Orientador)

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Evaristo Chalbaud Biscaia Jr.

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Profª. Drª. Yraima Moura Lopes Cordeiro

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Márcio Luiz Lyra Paredes

Instituto de Química - UERJ

Rio de Janeiro

2014

## DEDICATÓRIA

A meus pais, Verônica e Paulo Roberto, pelo amor, apoio epalavras sábias nos momentos mais difíceis, norteando a construção da minha vida pessoal e profissional.

A minha avó, Terezinha, e meu tio avô, Francisco, pelo amparo, o conforto e a força em todos os momentos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e determinação para enfrentar mais uma etapa da minha vida.

À minha família por estarem sempre ao meu lado me apoiando e confiando em minhas escolhas. Especialmente aos meus pais, Verônica e Paulo Roberto, pelo amor incondicional, carinho, conselhos, palavras, enfim, por vocês serem minha motivação, minha vida; sem vocês este sonho não seria possível.

Ao meu namorado Leandro, pelo amor, carinho e paciência em todos os momentos e por me acalmar nos momentos de desespero.

Aos meus orientadores, Eduardo e Fred, pelo apoio, dedicação e confiança em mim depositada desde o início desta caminhada; ajudando-me a crescer como ser humano e profissional.

Aos meus amigos Erika Queiros (*Casaquinho*), Marianne Teixeira,Danielle Valente,Filipe Guterres, Priscila Feitosa, Ilana Kauffman, Thaís Oliveira, Thaiane Fonseca e Renan Ruas pela amizade sincera.

Aos meus mestres por me ajudarem a tornar possível esta caminhada através dos conhecimentos transmitidos.

Á banca examinadora pela avaliação criteriosa e sugestões valiosas.

À agência de fomento CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que contribuíram nesta jornada, muito obrigada!

# RESUMO

BARBOSA, N. S. V. **Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada em sistemas biológicos: análise da partição iônica em um eritrócito**. 2014. 146f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Neste trabalho, a partição iônica e o potencial de membrana em um eritrócito são analisados via equação de Poisson-Boltzmann modificada, considerando as interações não eletrostáticas presentes entre os íons e macromoléculas, assim como, o potencial β. Este potencial é atribuído à diferença de potencial químico de referência entre os meios intracelular e extracelular e ao transporte ativo de íons. O potencial de Gibbs-Donnan via equação de Poisson-Boltzmann na presença de carga fixa em um sistema contendo uma membrana semipermeável também é estudado. O método de aproximação paraboloide em elementos finitos em um sistema estacionário e unidimensionalé aplicado para resolver a equação de Poisson-Boltzmann em coordenadas cartesianas e esféricas. O parâmetro de dispersão relativo às interações não eletrostáticas écalculado via teoria de Lifshitz. Os resultados em relação ao potencial de Gibbs-Donnan mostram-se adequados, podendo ser calculado pela equação de Poisson-Boltzmann. No sistema contendo um eritrócito, quando o potencial β é considerado igual a zero, não se verifica a diferença iônica observada experimentalmente entre os meios intracelular e extracelular. Dessa forma, os potenciais não eletrostáticos calculados via teoria de Lifshitz têm apenas uma pequena influência no que se refere à alta concentração de íon $K^+$ no meio intracelular em relação ao íon $Na^+$.

Palavras-chave: Equação de Poisson-Boltzmann. Eritrócito. Elementos finitos. Partição iônica.

## ABSTRACT

BARBOSA, N. S. V. **Application of the modified Poisson-Boltzmann equation in biological systems: analysis of ion partition in an erythrocyte**. 2014. 146f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

In this work, the ionic partition and the membrane potential in an erythrocyte are analyzed by modified Poisson-Boltzmann equation, considering non-electrostatic interactions between ions and macromolecules as well as the β potential. This potential is attributed to the difference in chemical potential reference states between intracellular and extracellular environment and the active transport of ions. The Gibbs-Donnan potential is also studied usingthe Poisson-Boltzmann equation with fixed chargeon a system containing a semipermeable membrane. The second order spline finite elements methodin a steady one-dimensional system is applied to solve the Poisson-Boltzmann equation in Cartesian and spherical coordinates.The dispersion parameter of the non-electrostatic interactions is calculated by Lifshitztheory. The results regarding the Gibbs-Donnan potential are adequate and can be calculated by the Poisson-Boltzmann equation. In a system containing an erythrocyte, when the β potential is considered equal to zero, it doesn't check the ionic difference observed experimentally between the intracellular and extracellular environment. Thus, non-electrostatic interactions calculated by Lifshitz theory have only a small influence in the high $K^+$level inside cells while keeping $Na^+$ outside.



Keywords: Poisson-Boltzmann equation. Erythrocyte.Finite elements.Ionic partition.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Perfil esquemático de interação DLVO. ..... 23
Figura 2 – Solubilidade da carboxi-hemoglobina em seu ponto isoelétrico função da força iônica para diferentes eletrólitos ..... 28
Figura 3 – Evolução dos modelos de dupla camada elétrica. ..... 36
Figura 4 – Dependência da concentração dos íons com a distância segundo o modelo de Gouy-Chapman ..... 38
Figura 5 – Potencial ζ em função do raio iônico ..... 40
Figura 6 – Distribuição assimétrica dos fosfolipídios entre as monocamadas interna e externa da membrana plasmática do eritrócito humano. ..... 52
Figura 7 – Classes Gerais de transportadores ..... 56
Figura 8 – Diferentes tipos de transporte de íons pequenas moléculas através da membrana ..... 57
Figura 9 – Dimensões normais de uma hemácia humana adulta ..... 59
Figura 10 – Distribuição iônica no plasma e em um eritrócito humano adulto ..... 62
Figura 11 – Esquema representativo dos tipos de potenciais de membrana de acordo com a localização ..... 67
Figura 12 – Esquema representando o equilíbrio de Donnan ..... 68
Figura 13 – Perfil do potencial elétrico através da membrana ..... 74
Figura 14 – Algoritmo Simplificado ..... 83
Figura 15 – Distribuição Gaussiana ..... 85
Figura 16 – Validação método de aproximação paraboloide em elementos finitos em coordenadas cartesianas ..... 89
Figura 17 – Comparação da solução numérica por aproximação paraboloide em elementos finitos em coordenadas esféricas com a solução analítica em coordenadas cartesianas ..... 90
Figura 18 – Comparação da solução numérica por aproximação paraboloide em elementos finitos em coordenadas esféricas e cartesianas na presença de carga fixa ..... 91
Figura 19 – Influência do valor do parâmetro na função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa ..... 92

Figura 20 – Impacto do valor do parâmetro da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no perfil de potencial eletrostático ..... 93
Figura 21 – Impacto do valor do parâmetro da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no perfil de concentração dos íons $Na^+$ e $Cl^-$ ..... 94
Figura 22 – Comparação do perfil de potencial eletrostático com constante dielétrica uniforme e não uniforme em coordenadas retangulares ..... 95
Figura 23 – Comparação do perfil de potencial eletrostático com constante dielétrica uniforme e não uniforme em coordenadas esféricas..... 96
Figura 24 – Perfil do potencial elétrico e concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ na presença de uma membrana semipermeável de acordo com a situação II ..... 98
Figura 25 – Perfil do potencial elétrico de acordo com a situação III..... 99
Figura 26 – Perfil de concentração dos íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ na presença de uma membrana semipermeável de acordo com a situação III..... 100
Figura 27 – Perfis do potencial eletrostático do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com e sem considerar NES ..... 103
Figura 28 – Perfis de concentração do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com e sem considerar NES ..... 104
Figura 29 – Perfil de concentração relativa do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com inclusão de NES..... 105
Figura 30 – Perfil do potencial eletrostático do sistema com densidade superficial de carga especificado igual a -0,02 $Cm^{-2}$ com inclusão de NES ..... 106
Figura 31 – Análise da espessura do plano de cisalhamento comparando o perfil de potencial eletrostático através das condições de contorno potencial especificado e densidade superficial de carga especificada ..... 107
Figura 32 – Perfil de concentração de cargas móveis do sistema com densidade superficial de carga especificado igual a -0,02 $Cm^{-2}$ com inclusão de NES ..... 108
Figura 33 – Perfil do potencial eletrostático considerando-se os meios intracelular e extracelular interligados descontinuamente..... 109
Figura 34 – Perfil teórico do potencial elétrico através da membrana de um eritrócito em uma solução de NaCl com intensidade iônica igual a fisiológica. ..... 110
Figura 35 – Perfil teórico do potencial elétrico através da membrana de um eritrócito em uma solução com intensidade iônica de 150mM..... 110

Figura 36 – Perfil de concentração considerando-se os meios intracelular e extracelular interligados descontinuamente..... 111
Figura 37 – Perfil de concentração relativa no meio intracelular considerando a concentração do seio da fase fluida igual à concentração de íons no meio extracelular ..... 112
Figura 38 – Algoritmo simplificado para inserção do potencial $\beta$..... 113
Figura 39 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão de , sistema descontínuo ..... 113
Figura 40 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão de , sistema descontínuo ..... 115
Figura 41 – Comparação do perfil de potencial eletrostática considerando o sistema descontínuo e o sistema contínuo ..... 118
Figura 42 – Perfil de concentração das cargas móveis considerando o sistema contínuo..... 118
Figura 43 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na interface..... 120
Figura 44 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na interface..... 121
Figura 45 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na metade da membrana plasmática ..... 122
Figura 46 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na metade da membrana plasmática ..... 122
Figura 47 – Esquema do sistema algébrico linear heptadiagonal..... 150

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação da concentração iônica no meio intracelular e extracelular de uma célula típica de mamífero ..... 14
Tabela 2 – Sequência iônica segundo a série de Hofmeister ..... 28
Tabela 3 – Composição da membrana plasmática de um eritrócito humano ..... 60
Tabela 4 – Comparação da concentração iônica no meio intracelular e extracelular de um eritrócito humano adulto. ..... 62
Tabela 5 – Valores do potencial de membrana de eritrócitos humanos medidos por diferentes técnicas ..... 63
Tabela 6 – Comparação da concentração de eletrólito no plasma e líquido intersticial ..... 66
Tabela 7 – Coeficientes do método de aproximação paraboloide em elementos finitos aplicado à equação de Poisson-Boltzmann em diferentes sistemas de coordenadas, com ou sem a inclusão de potenciais não eletrostáticos ( ) ..... 81
Tabela 8 – Concentrações dos eletrólitos $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ consideradas na simulação do sistema contendo um eritrócito ..... 86
Tabela 9 – Propriedades físicas da água, proteínas e membrana celular ..... 101
Tabela 10 – Propriedades físicas dos íons em solução aquosa ..... 101
Tabela 11 – Parâmetro de dispersão dos íons em relação à membrana e a proteína ..... 101
Tabela 12 – Valores do potencial para os íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ ..... 114
Tabela 13 – Comparação entre os potenciais para os íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ nos sistemas considerando a presença e a ausência do potencial não eletrostático ..... 116
Tabela 14 – Energia livre necessária para mover um mol de íon através da membrana plasmática (do meio extracelular para o intracelular) ..... 116

**SUMÁRIO**


**INTRODUÇÃO** ..... 13

1 **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** ..... 19

1.1 **Interações entre Partículas Coloidais: Teoria DLVO** ..... 19

1.2 **Especificidade Iônica** ..... 27

1.2.1 Potenciais íon-partícula via teoria de Lifshitz ..... 31

1.3 **Propriedades elétricas de sistemas coloidais** ..... 32

1.3.1 Estrutura da Dupla Camada Elétrica ..... 35

1.3.2 Teoria de Helmholtz-Perrin ..... 36

1.3.3 Teoria de Gouy-Chapman ..... 37

1.3.4 Teoria de Stern ..... 39

1.4 **Equação de Poisson-Boltzmann Clássica** ..... 41

1.4.1 Distribuição de Boltzmann e o potencial químico ..... 41

1.5 **Equação de Poisson-Boltzmann modificada** ..... 48

1.6 **A origem do potencial elétrico em sistemas biológicos** ..... 50

1.7 **Composição do meio intracelular** ..... 51

1.7.1 Transporte de íons e moléculas através da membrana ..... 55

1.7.2 Eritrócito ..... 59

1.8 **Composição do meio extracelular** ..... 65

1.9 **Potencial de membrana** ..... 66

1.9.1 Potencial de Gibbs-Donnan ..... 68

1.9.2 Potencial de superfície ..... 73

1.9.3 Potencial de não equilíbrio ..... 75

2 **MÉTODOS NUMÉRICOS E MODELAGEM MATEMÁTICA** ..... 77

2.1 **Método de aproximação paraboloide em elementos finitos** ..... 77

2.2 **Aplicação do método de aproximação paraboloide em elementos finitos à equação de Poisson-Boltzmann** ..... 81

2.3 **Função de regularização** ..... 83

2.4 **Função pulso** ..... 84

2.5 **Modelagem do sistema contendo um eritrócito** ..... 85

3 **RESULTADOS E DISCUSSÃO** ..... 88

3.1 **Análise do método de aproximação paraboloide em elementos finitos na resolução da equação de Poisson-Boltzmann** ..... 88

3.2 **Análise da função de regularização** ..... 91

3.3 **Potencial de Gibbs-Donnan *versus* equação de Poisson-Boltzmann clássica** ..... 96

3.4 **Cálculo dos parâmetros de dispersão** ..... 100

3.5 **Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada ao sistema contendo um eritrócito** ..... 101

3.5.1 Análise do meio extracelular ..... 102

3.5.2 Análise do meio intracelular e extracelular: sistema descontínuo ..... 108

3.5.3 Análise do meio intracelular e extracelular: sistema contínuo ..... 117

**CONCLUSÃO** ..... 124

**REFERÊNCIAS** ..... 126

**APÊNDICE A –** Equação de Poisson ..... 134

**APÊNDICE B –**Distribuição de Boltzmann de acordo com a termodinâmica estatística ..... 143

**APÊNDICE C –** Resolução de Sistemas Algébricos Lineares Heptadiagonais ..... 150

# INTRODUÇÃO

As biomoléculas podem ser potencialmente consideradas como derivadas de hidrocarbonetos, com átomos de hidrogênio substituídos por uma variedade de grupos funcionais para produzir famílias diferentes de compostos orgânicos(NELSON; COX, 2006). Dessa forma, grupos carregados e polares são em grande parte encontrados em biomoléculas, tais como aminoácidos, nucleotídeos e fosfolipídios.

Devido à estrutura química das biomoléculas, verifica-se que as interações eletrostáticas estão presentes em grande parte dos sistemas e processos biológicos, assim como as interações do tipo van der Waals.

No citoplasma das células encontram-se dispersas as proteínas estruturais do citoesqueleto, organelas, depósitos ou inclusões (contendo carboidratos, proteínas, lipídeos ou pigmentos), além de aminoácidos nucleotídeos, monossacarídeos, oligossacarídeos e seus derivados fosforilados, vários ácidos mono, di e tricarboxílicos, macromoléculas e íons. As macromoléculas são os principais constituintes das células, destacando-se os ácidos nucleicos, os polissacarídeos e as proteínas.

O interior da célula é separado do meio extracelular através da membrana plasmática que é uma barreira de permeabilidade seletiva.As trocas de substâncias entre a célula e o meio externo ocorre através desta barreira, que éresponsável pela manutenção da constância do meio intracelular que é diferente do líquido extracelular.As moléculas pequenas e alguns íons podem atravessar a membrana plasmática pela ação de proteínas de membrana, enquanto que a entrada e a saída de macromoléculas ocorrem por meio de processos que envolvem modificações visíveis na membrana plasmática. Além disso, algumas substâncias apolares podem dissolver-se na bicamada lipídica e transitar através da membrana plasmática.

Na Tabela 1 pode-se observar a diferença de concentração iônica entre os meios intracelular e extracelular em uma célula típica de mamífero. Verifica-se que ocorre uma maior concentração de potássio no meio intracelular e de sódio no meio extracelular. Essa diferença na partição iônica contribui para a existência de uma diferença de potencial transmembrana.

Tabela 1 – Comparação da concentração iônica no meio intracelular e extracelular de uma célula típica de mamífero

| **Íon** | **Concentração intracelular (mM)** | **Concentração extracelular (mM)** |
|---|---|---|
| $Na^+$ | 5-15 | 145 |
| $K^+$ | 140 | 5 |
| $Mg^{2+}$ | 0,5 | 1-2 |
| $Ca^{2+}$ | $10^{-4}$ | 1-2 |
| $H^+$ | $7x10^{-5}$ (pH 7,2) | $4x10^{-5}$ (pH 7,4) |
| $Cl^-$ | 5-15 | 110 |

Legenda: A célula deve conter quantidades iguais de cargas positivas e negativas (eletroneutralidade). Logo, em adição ao $Cl^-$, a célula contém outros ânions não listados na tabela; em fato, grande parte dos constituintes celulares possuem cargas negativas ($HCO_3^-$, $PO_4^{3-}$, proteínas, ácidos nucleicos, metabólitos contendo grupamentos fosfato e carboxila, dentre outros). A concentração de $Ca^{2+}$ e $Mg^{2+}$ referem-se a íons livres.
Fonte: (ALBERTS *et al.*, 2008)

Muitos sistemas biológicos são classificados como biocoloides. Exemplos são: o sangue, na qual a fase dispersa é composta pelos corpúsculos e o soro sanguíneo corresponde a fase contínua; o citoplasma e membrana celular, na qual ocorre uma coexistência de fases; e sistemas envolvendo proteínas (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Os coloides têm, em geral, características específicas, como possuir massa elevada e apresentar elevada relação área/volume de partícula. Nas superfícies de separação (interfaces) entre a fase dispersa e o meio de dispersão, manifestam-se fenômenos de superfície característicos, tais como efeitos de adsorção e interações eletrostáticas, fenômenos estes, de grande importância na determinação de propriedades físico-químicas do sistema como um todo (LIMA, 2008).Além disso, destacam-se também as interações de dispersão de van der Waals que atuam em todas as partículas, estejam elas carregadas ou não (ISRAELACHVILI, 2011; LIMA, 2008).

De acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry – União Internacional de Química Pura e Aplicada), as forças de van der Waals (em homenagem ao cientista holandês Johannes Diderik van der Waals) são forças atrativas ou repulsivas entre moléculas (ou partículas), ou entre partes das mesmas, excluindo-se aquelas devido a ligações covalentes ou interações eletrostáticas entre dois íons e entre íons e superfícies neutras (NIC; JIRAT; KOSATA, 2012). Essas forças incluem:

a) Forças de dipolo permanente-dipolo permanente (forças de Keesom), entre moléculas que possuem um momento de dipolo elétrico permanente;

b) Forças de dipolo permanente-dipolo induzido (forças de Debye), que ocorrem quando uma molécula não-polar torna-se temporariamente polarizada por influência de uma molécula polar vizinha;

c) Forças (atrativas) de dipolo instantâneo resultante das flutuações de nuvens eletrônicas (forças de London) que, em geral, são as mais importantes, especialmente para moléculas mais polarizáveis. Essa força atrativa universal foi primeiramente relatada por Fritz London em 1930 que as atribuiu à polarização provocada pela flutuação espontânea da nuvem eletrônica de uma molécula em outra, promovendo uma correspondente flutuação na molécula vizinha.

Embora o uso de coloides e sistemas coloidais seja milenar e sua identificação seja centenária, teorias e abordagens quantitativas desses sistemas e de suas interações vêm se desenvolvendo e evoluindo nos últimos tempos. A teoria da dupla camada elétrica foi pioneira na tentativa do tratamento quantitativo baseado na equação de Poisson-Boltzmann. A teoria DLVO (*Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek*) vem fundamentando grandes discussões e estruturando importantes progressos, há várias décadas. A teoria clássica DLVO foi um grande avanço na época de sua formulação, uma vez que aborda as interações eletrostáticas e de dispersão entre macropartículas como interações de mesma magnitude (MOREIRA, 2007).

Porém, a teoria DLVO clássica não prevê os efeitos de dispersão entre íons e macropartículas verificados inicialmente nas pesquisas de Hofmeister e colaboradores. Durante os anos de 1880 a 1890, tais pesquisadores publicaram em uma série de artigos suas observações a respeito da habilidade de diferentes sais em precipitar proteínas, sendo o primeiro grupo a estudar sistematicamente a especificidade iônica. Por mais de 100 anos, esses efeitos não foram reproduzidos por teorias de soluções ou da química dos coloides (como a teoria clássica DLVO). Apenas recentemente algum progresso tem sido alcançado neste sentido (KUNZ; HENLE; NINHAM, 2004).

Diferentes técnicas podem ser utilizadas na modelagem de sistemas coloidais, tais como os métodos implícitos, equações integrais e métodos explícitos.

Os modelos implícitos consideram o solvente como meio contínuo cujas características são descritas por um único parâmetro: a constante dielétrica[1]. Nessa análise, ocorre redução do grau de liberdade do sistema. Exemplos de modelos implícitos são: a

[1] A permissividade dielétrica é uma função da frequência $\nu$ e deve ser escrita como $\varepsilon(\nu)$. Em frequência zero (isto é, em condições estáticas), recebe o nome de constante dielétrica $\varepsilon(0)$ ou $\varepsilon$.

equação de Poisson-Boltzmann (ALIJÓ, 2011; BAKER, 2005; LIMA; BISCAIA; TAVARES, 2009; MOREIRA, 2007), Lei de Coulomb e métodos generalizados de Born (FEIG; BROOKS, 2004).

O uso de equações integrais, tais como: DFT (*Density Functional Theory*) (WU, 2006), HNC (*Hipernetted Chain Closure*) (BRATKO; FRIEDMAN; ZHONG, 1986) e RISM (*Reference Interaction Site Model*) (PRATT; HUMMER; GARCIA, 1994), permitem considerar outros fatores não abordados pelas teorias contínuas, como, por exemplo, as correlações eletrostáticas entre os íons (LIMA; BISCAIA; TAVARES, 2009).

Já os modelos explícitos utilizam técnicas baseadas na mecânica estatística – método de Monte Carlo (WU; MORIKIS, 2006) e dinâmica molecular (CWIKLIK *et al*., 2007; VÁCHA *et al*., 2006; JUNGWIRTH; TOBIAS, 2006) – ou na mecânica quântica, possibilitando considerar o solvente explicitamente, ou seja, como moléculas individuais, considerando os detalhes atômicos dos íons e solvente. O aumento no grau de liberdade nos modelos explícitos aumenta drasticamente o tempo computacional e pode limitar a capacidade de usar estes métodos para gerar estimativas convergentes de fenômenos termodinâmicos e cinéticos a partir de simulações de biomoléculas (BAKER; BASHFORD; CASE, 2006; FEIG; BROOKS, 2004; WAGONER; BAKER, 2004).

Nesta dissertação será abordada a equação de Poisson-Boltzmann. Quando comparada com o método de Monte Carlo, usando o *ensemble* NVT (*canonical ensemble*), e com a teoria de equações integrais, usando a equação de Ornstein–Zernike com HNC, a equação de Poisson-Boltzmann apresenta bons resultados na descrição dos perfis de concentração de cátions e ânions nas proximidades de um macroíon, especialmente para as soluções contendo eletrólitos monovalentes (BOSTRÖM *et al*., 2005b; LIMA; BISCAIA; TAVARES, 2009).

Apesar da equação de Poisson-Boltzmann apresentar limitações para os íons divalentes ou fenômenos nos quais a correlação entre os íons é importante, esta teoria tem a vantagem de ser resolvida com baixo custo computacional e não apresentar instabilidade numérica para os sistemas altamente assimétricos, como ocorre com as teorias das equações integrais (LIMA; BISCAIA; TAVARES, 2009). Como nos sistemas abordados nesta dissertação as concentrações de íons são baixas, não se espera que os efeitos de correlação de tamanho ou correlações eletrostáticas sejam importantes.

Em sistemas biológicos, a equação de Poisson-Boltzmann pode ser usada para obtenção do perfil de potencial eletrostático em células (BERNHARDT; WEISS, 2003; COSTER; DEAR, 1975; CRUZ; VILHENA; CORTEZ, 1982; HEINRICH; GAESTEL;

GLASER, 1982), sítios ativos de enzimas (WARWICKER; WATSON, 1982), análise de $pK_a$ de biomoléculas (BAKER, 2005), sítios ativos de fármacos, dentre outros.

Nesta dissertação, as interações “não eletrostáticas” são introduzidas como potenciais energéticos na equação de Poisson-Boltzmann. Vale ressaltar que no meio científico, há controvérsias a respeito da terminologia desse tipo de interações. Dessa forma, será seguido o mesmo padrão adotado por Lima (2008), em queo termo “interações não eletrostáticas” é utilizado para designar interações de caráter “não coulombiano”, ou seja, interações eletrodinâmicas, que não sejam originárias de cargas ou dipolos permanentes (excluem-se as forças puramente eletrostáticas). Além disso, o termo “potencial de campo médio íon-partícula” refere-se às interações nãoeletrostáticas calculadas pela teoria de Lifshitz. Tais interações são denominadas de interações de dispersão ou interações de van der Waals, segundo a nomenclatura utilizada por Ninham e colaboradores (LIMA, 2008). Daqui para frente a denominação “interação de van der Waals” refere-se a forças de dispersão de London. Já o termo “potenciais não eletrostáticos” designa todos os potenciais de interação entre íons e partículas ou superfícies, excluindo o potencial eletrostático, ou seja, o termo será usado para os potenciais que não aparecem na equação de Poisson-Boltzmann clássica.

O objetivo geral desta dissertação consiste em estudar a partição iônica e o perfil de potencial eletrostático em sistemas biológicos, mais especificamente em um eritrócito (também conhecido como hemácia ou glóbulo vermelho) através da equação de Poisson-Boltzmann. A escolha desta célula se deve ao fato da simplicidade do vista estrutural, uma vez que não apresenta organelas intracelulares nem núcleo.

Os objetivos específicos consistem em:

a) Estudar a correlação entre o potencial de Donnan e o potencial transmembrana calculado via equação de Poisson-Boltzmann com carga fixa;
b) Estudar a utilização da equação de Poisson-Boltzmann modificada (inserção das interações “não eletrostáticas”) em sistemas biológicos (meio intracelular e extracelular);
c) Avaliar e investigar o impacto da inclusão do potencial de dispersão iônica entre íons e proteínas do citoplasma e entre íons e a membrana plasmática;
d) Propor uma abordagem visando calcular o potencial proveniente da ação de transportadores ativos presentes na membrana plasmática via equação de Poisson-Boltzmann.

Após este capítulo introdutório que aborda os aspectos gerais, o Capítulo 1 apresentará uma revisão bibliográfica dos temas de maior importância relacionados à presente dissertação, com enfoque na descrição de sistemas coloidais, na abordagem da equação de Poisson-Boltzmann e na caracterização de sistemas biológicos referentes ao meio intracelular e extracelular.

O Capítulo 2 trata da modelagem e dos métodos numéricos e computacionais utilizados na resolução dos modelos propostos. Destaque especial é dado à descrição do método de aproximação paraboloide em elementos finitos utilizado na resolução numérica da equação de Poisson-Boltzmann modificada.

O Capítulo 3 apresenta os resultados mais importantes obtidos nesta dissertação. O capítulo se encontra dividido em: análise do método numérico na resolução da equação de Poisson-Boltzmann, análise do potencial de Donnan, estudo do impacto do parâmetro da função de regularização, cálculo dos parâmetros das interações não eletrostáticas no eritrócito e aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada no sistema contendo o eritrócito.

Após o Capítulo 3, apresentam-se as conclusões desta dissertação, bem como as perspectivas para futuros trabalhos no campo da ciência dos coloides e fenômenos de interface aplicados a sistemas biológicos.

# 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo apresenta uma revisão da literatura vigente, tratando dos principais temas abordados nesta dissertação. A Seção 1.1discute a descrição das interações entre partículas pela teoria de DLVO, enquanto que a Seção 1.2 descreve os efeitos de especificidade iônica, não previstos pela teoria de DLVO. A Seção 1.3aborda as propriedades elétricas de sistemas coloidais descrevendo as principais teorias clássicas utilizadas no estudo da dupla camada elétrica de íons. A equação de Poisson-Boltzmann clássica é abordada na Seção 1.4enquanto que a equação na forma modificada se encontra na Seção 1.5. A origem do potencial eletrostático em sistemas biológicos é discutida na Seção1.6. A Seção 1.7trata da composição típica do meio intracelular, abordando os principais mecanismos de transportes existentes nas membranas celulares. Além disso, esta seção dá destaque para o eritrócito. A Seção 1.8descreve a composição do meio extracelular. Por fim, a Seção 1.9classifica e discute os tipos de potenciais de membrana em células biológicas.

## 1.1 Interações entre Partículas Coloidais: Teoria DLVO

As diferentes forças intermoleculares são comumente classificadas em categorias opostas. Pode-se dividi-las, por exemplo, em forças atrativas ou repulsivas, de curto alcance ou de longo alcance, forte ou fraca, isotrópica ou direcional. Apesar de caracterizarem importantesdistinções, essas classificações são por vezes ambíguas e confusas. Uma força que tem a mesmaorigem física pode ser tanto de curto alcance como de longo alcance, ou pode ser atrativa num determinadosolvente e repulsiva em outro. Essas formas de classificações podem também resultar em umaforça sendo contabilizada mais de uma vezna análise teórica. Para evitar tais problemas, Israelachvili (2011) sugeriu a classificação de acordo com a diferença de origem física ou química das forças, ressaltando que as forças entre partículas grandes ou superfícies estendidas podem apresentar diferentes modos de classificação quando comparadasàs que ocorrementre dois átomos ou moléculas, uma vez que o conjunto de

interações entre muitas moléculas, o que incluiefeitos entrópicos, não pode ser facilmente relacionado com os potenciais entre pares individuais.

As forças com origem puramente eletrostática decorrem da força de Coulomb entre as cargas. As interações entre cargas, íons e dipolos permanentes se enquadram nesta categoria.(ISRAELACHVILI, 2011).

Há as forças com origem puramente entrópica. Estas surgem do comportamento coletivo de moléculas em temperaturas finitas (T > 0 K) e não podem ser descritas em termos de potencial entre par de espécies ou lei deforça entre duas moléculas. A pressão de um gás ideal é um exemplo de uma força entrópica repulsiva que possuiuma origem puramente entrópica para moléculas obedecendo à estatística de Boltzmann(ISRAELACHVILI, 2011).

O terceiro grupo de forças, de acordo com Israelachvili (2011), possui natureza mecânico-quântica, abrangendo forças que dão origem a ligações químicas ou covalentes, forças de dispersão,interações de transferência de carga eforças repulsivas estéricas que equilibram as forças atrativas em distâncias muito curtas (devido ao princípio de exclusão de Pauli). Os sistemas quânticos sãocaracterizados por terem níveis de energia discretos (quantizados).

Segundo Moreira (2007), quando moléculas, átomos ou íons aproximam-se uns dos outros, pode ocorrer uma reação ou uma interação entre eles. Por definição, ocorre a quebra e/ou formação de ligações químicas nas reações. Em uma interação física, também denominada de interação não covalente ou interação intermolecular, moléculas atraem-se ou repelem-se, sem que ocorra quebra ou formação de novas ligações químicas. As energias envolvidas em tais tipos de interações são muito menores que aquelas envolvidas em processos reativos.

As forças intermoleculares entre as macropartículas em solução é um dos fatores que mais contribuem para a natureza global de um sistema coloidal (SHAW, 1992). Tais forças entre duas partículas em solução (forças de campo médio) podem ser relacionadas ao potencial de campo médio. Fisicamente, o potencial médio de partículas é o trabalho (energia livre) necessário para trazer partículas de coloides de uma separação infinita para uma configuração na solução.Durante esse processo, todas as outras partículas do sistema (água, sal, etc.) podem semover livremente. Em geral, o potencial de campo médio é uma interação multipartículasque depende da posição e orientação relativa das partículas de coloides e é amédia sobre todas as posições das moléculas de solvente. Na maioria das

aproximações,entretanto, o potencial de campo médio é tratado simplesmente como um potencialaditivo para pares de partículas (MOREIRA, 2007).

Desde oinício do século XIX, as forças entre partículas têm sido alvo de estudos e teorias. Em 1831, Poisson afirmou que nas proximidades de uma interface em um meio líquido deveria haver um perfil não uniforme de densidade e orientação induzido pelas interações das moléculas do líquido com a interface(NINHAM, 1999; NINHAM; LO NOSTRO, 2010).

Após um longo caminho de estudos e teorias, muitas vezes conflitantes e polêmicos, a teoria DLVO (*Derjaguin-Laudau-Verwey-Overbeek*) forneceu à ciência dos coloides e fenômenos de superfície os fundamentos de um modelo quantitativo para as interações entre macropartículas. Em 1948, Verwey e Overbeek forneceram bases físicas firmes ao problema da estabilidade de suspensões coloidais através da introdução do conceitodas forças de van der Waals juntamente com a teoria da dupla camada elética ou eletroquímica (NINHAM; LO NOSTRO, 2010; PARSEGIAN, 2006; SHAW, 1992).

Neste modelo, considera-se que dois tipos de força de natureza eletromagnética, as forças eletrostáticas da dupla camada e as forças atrativas de van der Waals, agem entre as partículas em função da distância interpartículas (LIMA, 2008; MOREIRA, 2007). As interações coulombianas da dupla camada têm origem nas interações elétricas das partículas carregadas, sendo diretamente proporcionaisà quantidade de carga e inversamente proporcionais ao quadrado da distância que as separa.

Dessa forma, enquanto a natureza das interações coulombianas da dupla camada é puramente eletrostática e atua apenas em partículas fortemente carregadas, as forças de atração de van der Waals atuam em todas as partículas, estejam elas carregadas ou não (ISRAELACHVILI, 2011; LIMA, 2008). Estas forças desempenham um papel importante em todos os fenômenos intermoleculares. Assim, a interação total entre duas superfícies quaisquer tem sempre que incluir as interações de van der Waals.

Ao contrário das interações da dupla camada, o potencial de interação de van derWaals é altamente insensível a variações na concentração do eletrólito e pH do meio, podendo ser considerada fixa, em primeira aproximação. Essas interações tendem a predominar a pequenas distâncias, pois se trata de uma lei de potências: $W$ ,em que é a energia potencial de interação e é a distância entre superfícies. Já as interações de dupla camada permanecem finitas ou crescem mais lentamente quando a distância tende a zero (ISRAELACHVILI, 2011).

As interações diretas entre duas superfícies devido às forças de van der Waals são quantificadas pela teoria de Hamaker, desenvolvida em 1937, que juntamente com Bradley, Derjaguin e de Boer, muito contribuíram para o entendimento das forças entre corpos macroscópicos (ISRAELACHVILI, 2011; LIMA, 2008).

A energia total de interação entre duas partículas em dispersão coloidal, de acordo com a teoria DLVO, é obtida pelo somatório das energias da dupla camada e de van der Waals. A teoria envolve estimativas da energia de atração de van der Waals e da energia de repulsão (superposição da dupla camada elétrica), ambas em termos da distância interpartículas macroscópicas. Nesta teoria, a estabilidade de dispersõescoloidais é tratada em termos do potencial de campo médio entre duas partículas coloidais, sendo muito sensível à presença de eletrólitos e à carga superficial de partículas coloidais.

A Figura 1 mostra, esquematicamente, os vários tipos de potenciais de interação que podem existirentre duas superfícies ou partículas coloidais carregadas em uma solução eletrolítica 1:1 devido à combinação dessas duas forças. De acordo com a teoria DLVO, dependendo da concentração de eletrólito e da carga ou potencial na superfície, as seguintes situações podem ocorrer (ISRAELACHVILI, 2011; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006):

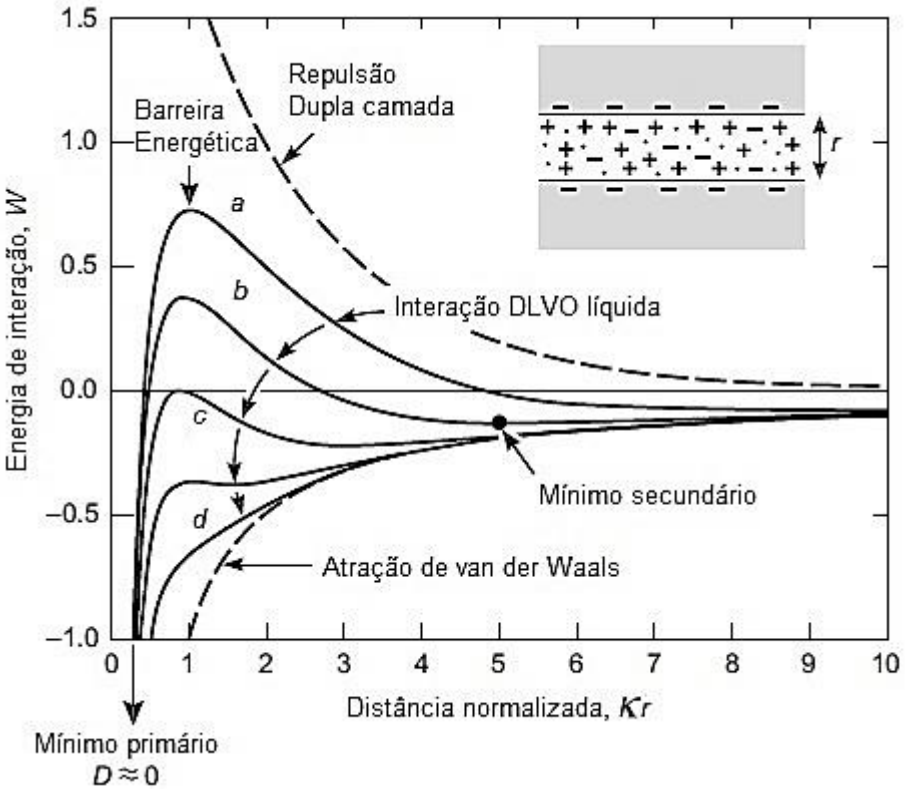
a) Para superfícies altamente carregadas imersas em eletrólito diluído, há uma forte repulsão de longo alcance, cujo pico situa-se geralmente entre 1 a 5 nm, na chamada barreira energética. Se esse pico é grande comparado ao termo energético de partículas coloidais, o sistema deve ser estável, pelo menos na ausência de outra força(Figura 1, curva a).

b) Em soluções eletrolíticas mais concentradas, há um significativo mínimo secundário,geralmente acima de 3 nm, a uma distância um pouco maior que a barreira energética. O mínimo de energia à distância de contato é chamado de mínimo primário. Para um sistema coloidal, ainda que o equilíbrio termodinâmico seja com as partículas em contato no mínimo primário, a barreira energética pode ser muito alta para ser superada em um período razoável de tempo. Quando isso ocorre, as partículas podem estabilizar-se (flocular) em um mínimo secundário ou permanecer totalmente dispersas em solução. Neste último caso, o coloide é dito cineticamente estável (Figura 1, curva b).

c) Para superfícies com baixa densidade líquida de carga ou potencial, a barreira energética serámuito mais baixa. Isto leva a uma agregação lenta, conhecida como coagulação. Acima de uma determinada concentração, conhecida como concentração crítica de coagulação, a barreira energética fica abaixo do eixo( ) e as partículas coagulam rapidamente. Esse coloide é referido como instável (Figura 1, curva c).

d) Conforme a carga superficial ou o potencial se aproximam de zero, a curva de interação se aproxima da curva de atração de van der Waals pura e as duas superfícies se atraem fortemente em qualquer distância de separação. Neste cenário, as partículas coloidais coagulam mais facilmente (Figura 1, curva d).

Figura 1 – Perfil esquemático de interação DLVO.




Legenda: (a) Superfícies altamente carregadas com alta barreira energética. (b) Solução eletrolítica mais concentrada, apresentando um mínimo secundário. (c) Superfícies com carga superficial ou potencial baixo, caracterizando um coloide instável. (d) Carga superficial ou potencial próximos a zero, a curva se aproxima da curva de atração de van der Waals.

Fonte: ISRAELACHVILI, 2011.

Israelachvili (2011) baseou-seem uma visão cinética ao explicitar os possíveis efeitos da concentração de eletrólitos e de carga ou potencial na superfície sobre as interações entre partículas coloidais, considerando somente o potencial de interação entre duas partículas, desconsiderando efeitos entrópicos do sistema como um todo. Uma visão mais termodinâmica foi empregada por Lima (2008) e Alijó (2011) na qual, além do efeito de energia, levou-se em conta também o efeito entrópico da presença de inúmeras partículas no meio. Nesta abordagem, a estabilidade de sistemas coloidais é principalmente influenciada pelo favorecimento entrópico da dispersão das partículas no meio.

A energia associada ao potencial de interação entre duas partículas quaisquer pode ser obtida pela soma das energias potenciais de atração e repulsão, de acordo com a equação:

$$W = W^{el} + W^{Ham} + W^{hs} \tag{1}$$

sendo a energia potencial de esfera rígida (exclusão de volume), a energia de repulsão (ou atração) coulombiana da dupla camada elétrica e a energia atrativa de van der Waals entre duas partículas (interação de Hamaker).

A energia potencial de esfera rígida é dada por (LIMA, 2008; TAVARES *et al.*, 2004):

$$W^{hs} = \begin{cases} \infty, para\ r_{ij} < r_i + r_j \\ 0, para\ r_{ij} \geq r_i + r_j \end{cases} \tag{2}$$

sendo a distância centro-a-centro entre as partículas *i* e *j* e o raio da partícula.

O potencial de interação eletrostática entre duas partículas, na ausência de saldissolvido no meio, é dado por (ISRAELACHVILI, 2011):

$$W^{el} = \frac{z_i z_j e^2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 r_{ij}}, para\ r_{ij} \geq r_i + r_j \tag{3}$$

em quez é a valência das partículas, *e* é a carga elementar do elétron, é a constante dielétrica do meio e é a permissividade do vácuo.

Na presença de eletrólitos 1:1 de concentração no meio, entre duas partículas esféricas de raio costuma ser calculado pela solução da equação de Poisson-Boltzmann linearizada (ALIJÓ, 2011; ISRAELACHVILI, 2011):

$$W^{el} = \frac{64\pi k_B T c_\infty r_p \gamma^2}{\kappa^2} e^{-\kappa r_i}, \quad \gamma = \tanh\left(\frac{e\psi_0}{4k_B T}\right) \tag{4}$$

em que é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta em Kelvin, é a constante de Debye, é o potencial eletrostático na superfície da partícula e é a distância entre as superfícies das duas partículas.

A linearização da equação de Poisson-Boltzmann, apesar de facilitar a abordagem, pode ser uma simplificação muito drástica em várias situações. A equação linearizada, também conhecida como equação de Debye-Hückel, só é válida para baixos valores de potencial eletrostático (LIMA, 2008).

O potencial de campo médio entre duas partículas esféricas *i* e *j* de acordo com a teoria de Hamaker e aproximações de Derjaguin é expresso por(MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; PARSEGIAN, 2006):

$$W^{Ham} = -\frac{B_{ij}}{6}\frac{r_i r_j}{(r_i+r_j)}\frac{1}{[r_{ij}-(r_i+r_j)]}, para\ r_{ij}-(r_i+r_j) \ll r_i, r_j \tag{5}$$

em que é o coeficiente de dispersão entre as duas partículas. O coeficiente de dispersão, neste caso também conhecido como constante de Hamaker, depende da natureza do material que constitui as partículas e é uma função do número de átomos por unidade de volume nas partículas.

Vale ressaltar que a teoria de DLVO possui limitações inerentes ao modelo, tanto por hipóteses simplificadoras ou por limitações intrínsecas. A hipótese fundamental da teoria de DLVO é que a energia total de interação entre dois coloides é composta unicamente pelas interações da dupla camada eletrostática e pelas interações de van der Waals. Além disso, assume-se que estas duas interações podem ser computadas separadamente e adicionadas entre si. Ambas as hipóteses são questionáveis. Primeiramente porque outros tipos de interações podem estar presentes. Em segundo lugar, quando se computam as interações da

dupla camada elétrica baseada na equação de Poisson-Boltzmann clássica, a distribuição de Boltzmann dos íons é obtida com base somente na energia potencial eletrostática. A distribuição iônica deve ser baseada na energia total ou no potencial de campo médio (considerando-se tanto o potencial elétrico como o potencial devido às interações de dispersão) (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Nesta teoria, o solvente é tratado como contínuo (modelo implícito) e sua presença é contabilizada através da constante de Hamaker efetiva e da constante dielétrica efetiva do meio. Podem-se verificar modificações nas predições da energia de interação, considerando o modelo explícito quando comparado ao contínuo, particularmente quando duas superfícies interagindo entre si estão a uma distância próxima da ordem da dimensão da molécula de solvente (menor que 1 nm) (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Quando se utiliza a equação de Poisson-Boltzmann clássica para o cálculo das interações da dupla camada, ignoram-se as dimensões finitas dos íons, tratando estes como cargas pontuais que interagem uns com os outros e com a macropartícula apenas através de um potencial eletrostático médio, não considerando os efeitos de correlações entre íons, interações não eletrostáticas entre íons, ou ainda, interações de imagem em interfaces não carregadas. Vale ressaltar que quando a concentração iônica no seio da fase liquida for maior quecerca de 0,5 M, a distribuição iônica ao redor de interfaces carregadas passa a não ser bem descrita (ALIJÓ, 2011; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; NINHAM, 1999).

A possibilidade teórica de atração entre partículas coloidais com cargas superficiais suficientemente altas através da inclusão de correlações íon-íon foi demonstrada por Patey (1980) e Kjellander e Marcelja (1984). Tal fato também não pode ser previsto pela equação de Poisson-Boltzmann clássica. Simulações computacionais indicam que o potencial de campo médio entre duas esferas rígidas similarmente carregadas imersas em uma solução eletrolítica pode ser atrativo (GRØNBECH-JENSEN; BEARDMORE; PINCUS, 1998; WU *et al*., 1999). E ainda, o potencial de campo médio entre partículas opostamente carregadas pode ser repulsivo (WU *et al*., 2000). Estes efeitos possuem importantes implicações na estabilidade e no comportamento de fases de soluções coloidais e não são descritos pela equação de Poisson-Boltzmann em sua forma clássica (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007).

Além disso, considera-se que as interações de van der Waals são não-retardadas e aditivas. A suposição de interações aditivas aos pares inerentes às fórmulas e definições das interações não-retardadas de van der Waals e da constante de Hamaker ignoram a influência das partículas da vizinhança sobre a interação entre qualquer par de partículas em evidência. A polarizabilidade efetiva de uma partícula é alterada quando cercada por outras partículas.

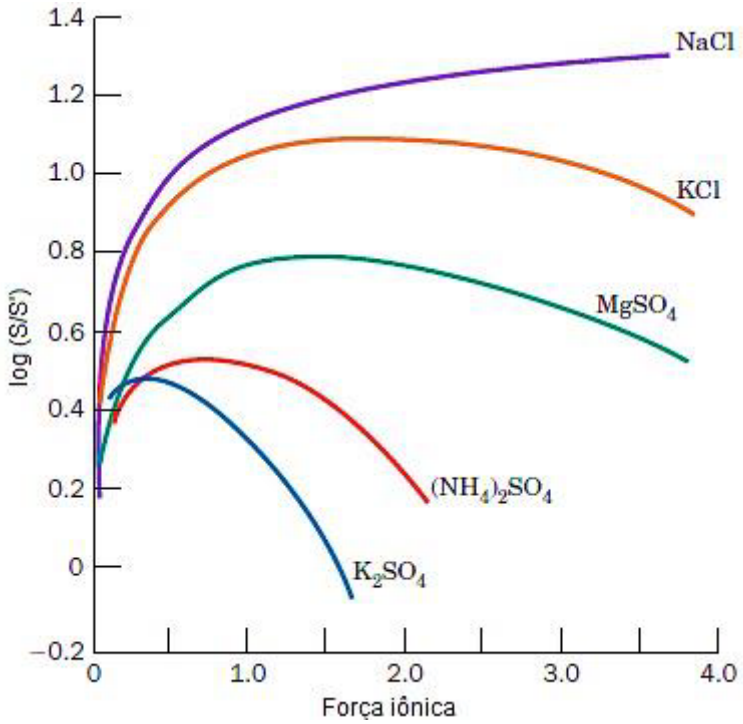
Em meios rarefeitos como em gases, esses efeitos são pequenos e a suposição de aditividade pode ser válida, porém não é o caso de meios condensados. Logo, a abordagem da aditividade não pode ser formalmente estendida para corpos interagindo em um meio (MOREIRA, 2007).

Este problema da aditividade é completamente evitado na teoria de Lifshitz(Seção 1.2) que estabelece uma forma de calcular tanto as interações de van der Waals entre duas partículas (Hamaker), como as interações entre íons e macropartículas (ISRAELACHVILI, 2011). A teoria de DLVO clássica também é incapaz de descrever efeitos de especificidade iônica observados experimentalmente (efeitos de Hofmeister).

## 1.2 Especificidade Iônica

Conforme comentado anteriormente, a teoria DLVO é insuficiente para descrever a especificidade iônica comumente observada experimentalmente, uma vez que se considera apenas o potencial de campo médio entre macropartículas (Hamaker), desprezando o potencial de campo médio entre íons e macropartículas. Deste modo, a teoria não pode explicar porque dois sais de mesma valência afetam os sistemas coloidais de forma diferente, como ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Solubilidade da carboxi-hemoglobina em seu ponto isoelétricofunção da força iônica para diferentes eletrólitos




Legenda: S e S' são respectivamente a solubilidade da proteína em solução salina e em água pura.
Fonte: VOET, D.; VOET, J., 2011, p. 133.

Efeitos de especificidade iônica encontram-se disseminados por diversos campos da ciência como biologia, bioquímica, química e engenharia química. O primeiro pesquisador a estudar, sistematicamente, este efeito foi Hofmeister em 1887, que observou a precipitação da albumina do ovo em uma dispersão aquosa por diferentes sais a diferentes concentrações. Ele também estudou o mesmo efeito em suspensões coloidais de óxido férrico e oleato sódico.Hofmeister formulou uma série de íons conhecida como série liotrópica ou série de Hofmeister (Tabela 2), a qual classifica qualitativamente o efeito dos íons sobre a precipitação de proteínas (ISRAELACHVILI, 2011; KUNZ; HENLE; NINHAM, 2004; NINHAM; LO NOSTRO, 2010).

Tabela 2 – Sequência iônica segundo a série de Hofmeister

| Tipo de Íon | Série Liotrópica |
|---|---|
| Cátions monovalentes | $Li^{+}<Na^{+}<K^{+}<Rb^{+}<Cs^{+}$ |
| Cátions divalentes | $Mg^{2+}<Ca^{2+}<Sr^{2+}<Ba^{2+}$ |

| | |
|---|---|
| Ânions monovalentes | $Cl^- < Br^- < NO_3^- < I^- < SCN^-$ |

Fonte: (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007).

Hofmeister verificou que as interações entre proteínas são mais afetadas por alguns sais do que por outros. Em uma solução aquosa, a presença de eletrólitos dissolvidos induz uma mudança distinta na estrutura e nas propriedades da água líquida. A natureza dessa estrutura da água é por si mesma uma consequência das interações íon-água (MOREIRA, 2007; NINHAM; LO NOSTRO, 2010). Além disso, a diferença na capacidade de diferentes sais provocarem a precipitação de uma proteína, como observado na Figura 2, está diretamente relacionada à polarizabilidade dos íons em solução (LIMA, 2008).

NaFigura 2, pode-se observar como a solubilidade da carboxi-hemoglobina em meio aquoso é afetada em função da concentração e do tipo de sal em solução. Numa escala de baixas concentrações de sal, a solubilidade geralmente aumenta com a concentração. Este fenômeno, conhecido como *salting in*, pode ser explicado pela blindagem fornecida pelos contra-íons adicionais presentes à medida que a concentração aumenta, já que a baixas concentrações, as partículas estão afastadas a uma distância maior que o tamanho da dupla camada elétrica. Já em altas concentrações, a solubilidade diminui com o aumento da força iônica do meio. Este efeito é conhecido como *salting out*. Acredita-se que sua ocorrência esteja associada à soma de dois efeitos: a competição entre íons e outros solutospor moléculas de solvatação, levando à queda da atividade do solvente e favorecendo as interações soluto-soluto; e a diminuição da espessura da dupla camada elétrica ocasionada pelo aumento da concentração de sais, o que diminui as interações repulsivas e favorece a precipitação das partículas (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007).

A ordem da série de Hofmeister não é sempre a mesma, apresentando variações dependendo do caso estudado. Essa fato reflete principalmente nas interações contra-íon específicas com grupamentos específicos de uma proteínaparticular (dependendo do ponto isoelétrico desta e do pH) (NINHAM; LO NOSTRO, 2010). Ries-Kautt e Ducruix (1989) observaram tais efeitos ao estudarem a solubilidade da lisozima a pH 4,5, revelando que os ânions eram os principais responsáveis pelos efeitos observados, e ainda, que estes seguiam ordem inversa da série de Hofmeister. O mesmo grupo demonstrou, certo tempo depois, que a ordem direta para a lisozima se dá em valores de pH maiores que o ponto isoelétrico da proteína (CARBONNAUX; RIES-KAUTT; DUCRUIX, 1995).

Esses trabalhos provocaram o ressurgimento dos estudos da especificidade iônica, pois a partir de então, este tema passou a ser amplamente pesquisado. Desde então, vários

pesquisadores têm investigado esse fenômeno para diferentes proteínas em diversas condições de pH por metodologias experimentais (TARDIEU *et al*., 2002).

Uma teoria adequada para predizer as interações responsáveis por essa especificidade iônica é a teoria de Lifshitz. Esta teoriaignora a estrutura atômica e a natureza discreta do solvente, considerando que as forças entre partículas sejam tratadas em um meio contínuo, no qual as propriedades como a constante dielétrica e o índice de refração dos corpos são definidos(ISRAELACHVILI, 2011). Observa-se que a teoria de Lifshitz considera cada sistema (partículas e meios) como contínuo e homogêneo, sendo seu uso mais adequado quando as superfícies estão mais afastadas que dimensões moleculares. A teoria de Lifshitz pode ser utilizada para calcular a constante de Hamaker que é característica das interações de campo médio entre diferentes partículas no meio aquoso.

Boström*et al*. (2002a, 2002b, 2003, 2004, 2005a, 2005b, 2006) demonstraram que a especificidade iônica pode ser entendida quando as forças de van der Waals entre íons e proteína são tratadas no mesmo nível não-linear que as interações da dupla camada elétrica, sendo incluídas na equação de Poisson-Boltzmann; a inclusão das forças de van der Waals atuantes entre íons e macropartículas, e dos efeitos íon-específicos de solvatação explicam grande parte dos efeitos de especificidade iônica e corroboram a série proposta por Hofmeister. Lima (2008) propôs o uso generalizado da série de Hofmeister, não somente em sistemas envolvendo proteínas, como os abordados por Hofmeister, mas em quaisquer sistemas que apresentem especificidade iônica, isto é, sistemas que apresentem uma ou mais propriedades dependentes do tipo de íon em solução. Nesta definição generalizada, a série de Hofmeister depende não somente do pH do meio, mas de outros parâmetros, como carga superficial, concentração de íons e distância entre partículas.

Duas diferentes estratégias podem ser utilizadas para a inclusão de interações não eletrostáticas na equação de Poisson-Boltzmann: inclusão de potenciais de campo médio íon-partícula, calculados pela teoria de Lifshitz (ALIJÓ, 2011; LIMA*et al.*, 2007a, b; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007) e inclusão direta de potenciais íon-partícula obtidos por simulação molecular (LIMA, 2008; LIMA *et al.*, 2008a, b, c).

Nesta dissertação, será utilizada a estratégia via teoria de Lifshitz.

### *1.2.1* Potenciais íon-partícula via teoria de Lifshitz

Para o cálculo do potencial de campo médioíon-partícula, considera-se que o íon é muito menor que a partícula. Neste caso, o potencial é obtido considerando uma partícula esférica pequena e uma macropartícula esférica (BOSTRÖM; WILLIAMS; NINHAM, 2002a):

$$U_i = -\frac{B_i}{(r-r_p)^3\left[1+\frac{(r-r_p)^3}{2r_p^3}\right]}, \qquad para\ r \geq r_i + r_p \tag{6}$$

em que é o parâmetro de dispersão do íon , e são, respectivamente, os raios do íon e da partícula coloidal, é a distância perpendicular entre os centros do íon e da partícula coloidal. Esta expressão para o potencial de interação íon-coloide foi empregada por Alijó (2011), Lima(2008), Moreira (2007), dentre outros autores, na modelagem de uma macropartícula coloidal esférica carregada imersa em um meio eletrolítico.

Para interação entre um íon e uma superfície plana, com $r -$ e , tem-se (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007; NINHAM; LO NOSTRO, 2010):

$$U_i = -\frac{B_i}{x^3}, \qquad para\ x \geq r_i \tag{7}$$

em que é a distância perpendicular do centro do íon a superfície. De acordo com Ninham e Lo Nostro (2010), essa fórmula é quando o centro do íon está a um ou dois diâmetros distante da superfície. Quando o coeficiente é positivo, a interação é atrativa, promovendo, em geral, uma adsorção do íon na interface. Por outro lado, um valor de negativo indica uma repulsão, promovendo, em geral, uma depleção do íon na superfície.

Conforme proposto por Ninham e Yaminsky (1997), o parâmetro de dispersão pode ser calculado pela teoria de Lifshitz como segue:

$$\frac{B_i}{k_B T} = \frac{\alpha_i(0)}{4\varepsilon_w(0)}\left[\frac{\varepsilon_m(0)-\varepsilon_w(0)}{\varepsilon_m(0)+\varepsilon_w(0)}\right] + \frac{h}{4\pi k_B T}\int_{\nu_{min}}^{\infty}\frac{\alpha_i(\nu)}{\varepsilon_w(\nu)}\left[\frac{\varepsilon_m(\nu)-\varepsilon_w(\nu)}{\varepsilon_m(\nu)+\varepsilon_w(\nu)}\right]d\nu \quad (8)$$

em que e são as permissividades dielétricas da macropartícula nas frequências 0 e , respectivamente; e são as polarizabilidades efetivas do íon nas frequências 0 e , é a constante de Planck e é a primeira frequência não nula ( $\nu_{min} = 2\pi$).

Para calcular os parâmetros de interação $B_i$, precisa-se conhecer como a polarizabilidade efetiva dos íons e as permissividades dielétricas das macropartículas e do solvente variam com a frequência. Para uma molécula com uma frequência de ionização , sua polarizabilidade e permissividade dielétrica na frequência podem ser expressas pelo modelo do oscilador-harmônico (TAVARES *et al*, 2004; NINHAM; LO NOSTRO, 2010):

$$\alpha(\upsilon) = \frac{\alpha(0)}{1+(\nu/\nu^I)^2} \quad (9)$$

$$\varepsilon(\upsilon) = 1 + \frac{n^2-1}{1+(\nu/\nu^I)^2} \quad (10)$$

em que *n* é o índice de refração (para a raia D do sódio). A frequência de ionização dos íons em solução pode ser estimada a partir da energia livre de hidratação dos íons(TAVARES *et al*., 2004).

## 1.3 Propriedades elétricas de sistemas coloidais

Os fenômenos eletrocinéticos se tornaram um importante aspecto na ciência dos coloides desde antes do século 20. Apesar das primeiras observações dos fenômenos eletrocinéticos datarem dos estudos de Reuss, em 1809, através de experimentos simples que envolviam a aplicação de uma diferença de potencial elétrico a sistemas contendo água e partículas sólidas eletricamente carregadas, resultando no movimento relativo entre a fase líquida e a fase sólida, o primeiro desenvolvimento teórico foi atribuído a Helmholtz em 1879

e Smoluchowski em 1903(LIMA, 2008; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; VOYUTSKY, 1978).

Eletrosmose representa o movimento, devido à aplicação de um campo elétrico, de uma solução eletrolítica relativa a uma superfície estacionária carregada. O movimento de partículas eletricamente carregadas, tais como partículas coloidais, relativo a um líquido estacionário causado pela aplicação de um campo elétrico é conhecido como eletroforese. Em um fenômeno inverso à eletroforese, um potencial elétrico é gerado quando partículas carregadas se movem em um meio líquido. O movimento das partículas pode ser por influência de um campo gravitacional ou centrífugo. Este fenômeno é muitas vezes designado efeito Dorn ou potencial de migração. Da mesma forma, um potencial de escoamento é gerado quando um líquido é forçado a passar por um meio poroso eletricamente carregado. Esses quatro fenômenos, em que se tenta remover a parte móvel da dupla camada, são denominados fenômenos eletrocinéticos (ALIJÓ, 2011; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; LIMA, 2008).

Partículas dispersas em solventes polares normalmente desenvolvem cargassuperficiais, tanto por dissociação de grupos superficiais ou através de ligações químicas ou adsorção de íons provenientes do eletrólito (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Alguns dos importantes mecanismos que dão origem a cargas superficiais são listados abaixo (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; SHAW, 1992):

a) Ionização de grupos superficiais: em superfícies contendo grupamentos ácidos, a dissociação destes dá origem a superfícies negativamente carregadas, enquanto superfícies básicas dão origem a cargas positivas. A magnitude das cargas superficiais depende da força dos grupamentos ácidos e básicos superficiais e do pH da solução. Em baixo pH, moléculas proteicas tendem a ficar carregadas positivamente e em alto pH, carregadas negativamente. OpHreferente a carga líquida zero é conhecido como ponto isoelétrico (pI).

b) Dissolução diferencial de íons a partir de superfícies cristalinas pouco solúveis: substâncias iônicas podem adquirir carga através de uma dissolução desigual das cargas opostas que as compõem. Por exemplo, quando iodeto de prata (AgI) é posto em meio aquoso a temperatura ambiente, a dissolução ocorre até que o produto das concentrações iônicas se iguale ao produto de solubilidade

$[Ag^+][I^-] = 10^{-16}$ $(mol/L)^2$. Se quantidades iguais de íons $Ag^+$ e $I^-$ forem dissolvidas, então $[Ag^+] = [I^-] = 10^{-8}$ $(mol/L)^2$, não havendo cargas superficiais. Entretanto, os íons $Ag^+$ dissolvem preferencialmente, resultando numa superfície negativamente carregada. Se íons $Ag^+$ forem adicionados na forma de uma solução de $AgNO_3$, a dissolução preferencial dos íons prata é suprimida e a carga se anula a uma dada concentração; a partir da qual novas adições de $AgNO_3$ resultarão numa superfície positivamente carregada, já que os íons iodeto passam a se dissolver preferencialmente;

c) Substituição Isomórfica: argilas podem trocar íons adsorvidos intercalados ou íons estruturais por outros de menor valência, produzindo assim uma carga superficial negativa. Por exemplo, $Al^{+3}$ pode substituir $Si^{+4}$ na superfície da argila, produzindo uma carga negativa. Neste caso, a carga pode se anular pela redução de pH, já que os íons $H^+$ adicionados se combinam com as cargas negativas para formar grupos OH;

d) Superfícies cristalinas carregadas: Quando um cristal é quebrado, ou apresenta vacâncias em sua estrutura, superfícies com diferentes propriedades ficam expostas, podendo levar à formação de cargas internas à superfície. Neste caso, não há um único pI, mas cada tipo de superfície vai ter seu próprio pI;

e) Adsorção íon-específica: adquirida através da adsorção desigual à superfície de cargas iônicas opostas. Íons surfactantes catiônicos podem adsorver em superfícies negativamente carregadas, dando origem a cargas positivas na superfície; enquantoíonssurfactantes aniônicos podem mascarar as cargas positivas da superfície ao adsorver nestas. Os íons surfactantes ocupam um papel fundamental na modificação das cargas da superfície e, consequentemente, afetam o comportamento de suspensões coloidais em termos de sua estabilidade.

Em todos os casos, o pH da solução eletrolítica dentro da qual uma superfície é imergida afeta o potencial elétrico superficial.

Superfícies em contato com meio aquoso são geralmente negativamente carregadas. Isso é uma consequência do fato deos cátions serem frequentemente mais hidratados que os

ânions e possuírem, portanto, uma maior tendência para continuar no seio da fase, enquanto os ânions, menos hidratados e mais polarizáveis, têm uma maior tendência em serem adsorvidos na superfície, gerando uma carga superficial líquida negativa (LIMA, 2008; SHAW, 1992).

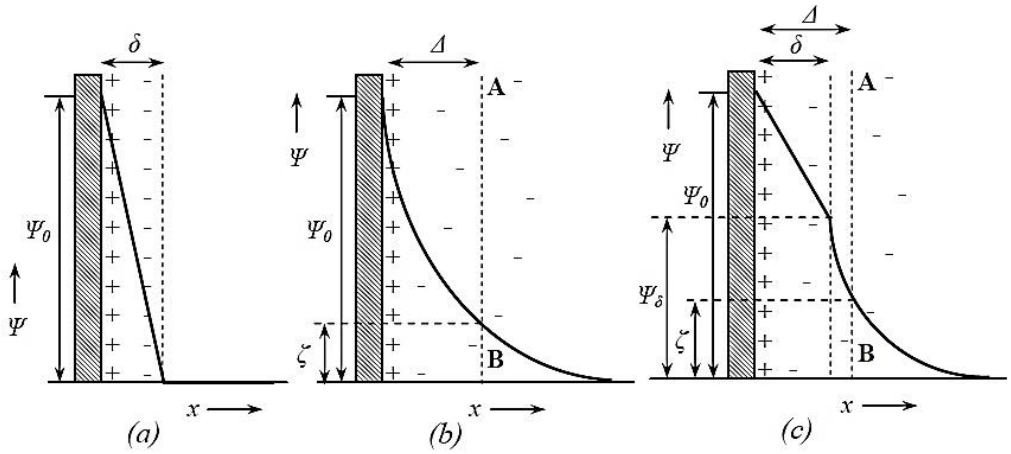
As superfícies hidratadas (proteínas e polissacarídeos) adsorvem íons com menor facilidade que superfícies hidrofóbicas (lipídeos) (LIMA, 2008).

### *1.3.1* Estrutura da Dupla Camada Elétrica

A presença de uma superfície eletricamente carregada em uma solução eletrolítica influencia a distribuição de íons próxima a esta. Uma redistribuição dos íons ao redor dessa superfície dá origem à dupla camada elétrica. Esta consiste em uma camada de íons firmemente ligados à fase sólida dispersa (cargas fixas na superfície), que são os íons determinantes do potencial, e uma quantidade equivalente de íons de cargas opostas provenientes do eletrólito, os contraíons. Estes, por sua vez, ou são aqueles que foram dissociados da superfície, ou são os que estavam ligados aos íons adsorvidos, já que originalmente vale o princípio da eletroneutralidade. Apesar de atraídos para a superfície de carga oposta, estes contraíons permanecem dispersos no solvente às vizinhanças da superfície, devido ao favorecimento entrópico. Os íons dispersos na fase fluida que possuam a mesma carga dos íons determinantes do potencial são chamados de coíons. A carga da superfície influencia a distribuição dos íons em sua proximidade: os contraíons são atraídos pela superfície e os coíons são repelidos para longe desta (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; VOYUTSKY, 1978).

Há um equilíbrio dinâmico entre os contraíons e os íons livres do mesmo sinal no seio da solução. Dessa forma, a dupla camada elétrica não é estática. As teorias de dupla camada elétrica abordam a distribuição de íons e o potencial elétrico nas proximidades de superfícies carregadas, diferindo entre si na interpretação da estrutura da camada de contraíons (Figura 3). Algumas simplificações e aproximações costumam ser utilizadas para a abordagem deste problema. A seguir, podem-se observar algumas dessas teorias. Vale ressaltar, que estas consideram a fase dispersa como contínua, em queo efeito sobre a dupla camada elétrica é determinado por sua constante dielétrica, ignorando-se a natureza molecular das espécies envolvidas.

Figura 3 – Evolução dos modelos de dupla camada elétrica.




Legenda: (a) Modelo de Helmholtz-Perrin: dupla camada comparada a um capacitor de placas; (b) Modelo de Gouy-Chapman: dupla camada difusa; (c) Modelo de Stern: Combinação dos modelos de Helmholtz-Perrin e Gouy-Chapman.
Fonte: LIMA, 2008.

### *1.3.2* Teoria de Helmholtz-Perrin

É uma abordagem de importância histórica apenas, pois não é suficiente para descrever uma gama de aspectos eletrocinéticos. Nessa teoria, a dupla camada é comparada a um capacitor de placas, em que uma das placas está diretamente conectada à superfície sólida e a outra, que possui carga oposta, está na fase líquida a uma pequena distância da primeira placa. O perfil do potencial resultante apresenta comportamento linear (Figura 3a), variando abruptamente ao longo da estreita dupla camada. A densidade de carga ( ) na superfície é dada por (LIMA, 2008; VOYUTSKY, 1978):

$$\sigma = \frac{C}{A_s}\psi_0 = \frac{\varepsilon\varepsilon_0}{\delta}\psi_0 \qquad (11)$$

Em que é a capacitância, é a área superficial das placas, é a diferença de potencial entre a fase sólida dispersa e a solução e é a distância entre as placas (espessura da dupla camada).

A maior falha dessa teoria é a espessura ser considerada muito pequena, da ordem do diâmetro molecular. Além disso, essa teoria prevê que a diferença de potencial total é igual ao potencial eletrocinético, os quais são comprovadamente diferentes (VOYUTSKY, 1978).

### *1.3.3* Teoria de Gouy-Chapman

A teoria da dupla camada elétrica difusa foi desenvolvida independentemente por Gouy em 1910 e Chapman em 1913. As hipóteses simplificadoras são (LIMA, 2008; VOYUTSKY, 1978):

a) Superfície plana, de extensão infinita e uniformemente carregada;
b) Íons da camada difusa são cargas puntiformes distribuídas de acordo com a distribuição de Boltzmann;
c) Solvente só influencia a dupla camada por meio da sua constante dielétrica, a qual se supõe que possua o mesmo valor ao longo de toda a camada difusa;
d) Existência de um único eletrólito simétrico de carga *z*.

Esta última hipótese facilita a dedução e não acarreta grandes perdas, pois a carga do coíon é relativamente de pouca importância (LIMA, 2008).

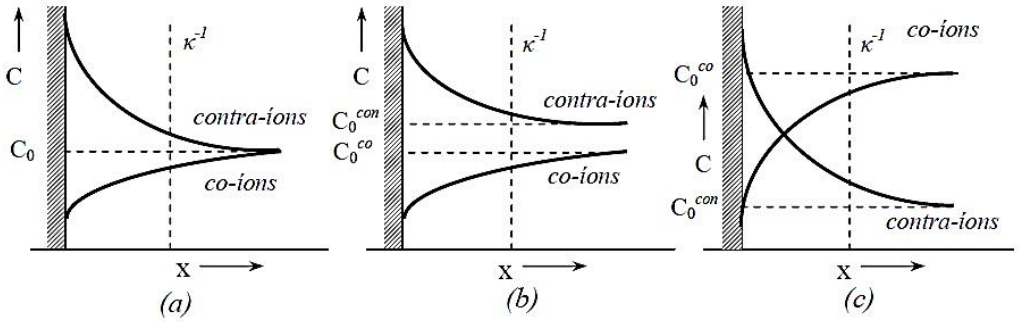
De acordo com esta teoria, os contraíons não estão concentrados apenas na interface, mas dispersos pela fase líquida a certa distância da interface. Como a ação do campo elétrico da fase sólida prevalece nas proximidades da interface, este atrai uma quantidade equivalente de contraíons o mais perto possível da interface. Conforme a distância em relação à interface aumenta, o campo elétrico diminui e os íons tornam-se cada vez mais dispersos, devido à energia térmica, até que a concentração dos mesmos se iguale à do seio da fase. Esta combinação de forças ocasiona a formação de uma dupla camada formada pela superfície carregada e pelo excesso de contraíons sobre coíons, distribuídos de forma difusa no meio líquido, neutralizando a carga da superfície. Um equilíbrio dinâmico é estabelecido nesta camada difusa.Estes efeitos combinados provocam uma distribuição de potencial na camada difusa (LIMA, 2008; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; VOYUTSKY, 1978).

O perfil do potencial elétrico é não-linear, pois os contraíons, que compensam a carga da superfície, não estão distribuídos uniformemente. A inclinação da curva é maior na região

onde os contraíons estão mais concentrados e diminui gradativamente até o potencial do seio da fase fluida, como se pode observar naFigura 3b.

Na Figura 4a, observa-se que as concentrações de coíons e contraíons também variam exponencialmente com a distância à superfície, alcançando valores iguais no seio da fase fluida, para eletrólitos simétricos. No caso de eletrólitos assimétricos, as concentrações no seio da fase fluida são diferentes, seguindo a estequiometria da dissociação do eletrólito (Figura 4b e Figura 4c). O comprimento de Debye, expresso por , será definido posteriormente (Seção 1.4.1) e é proporcional à espessura da dupla camada.

Figura 4 – Dependência da concentração dos íons com a distância segundo o modelo de Gouy-Chapman




Legenda: (a) Eletrólitos simétricos; (b) Eletrólitos assimétricos, com $C_0^{con} > C_0^{co}$; (c) Eletrólitos assimétricos , com $C_0^{con} < C_0^{c}$. $C_0$ é a concentração do seio da fase fluida e os sobrescritos *con* e *co* referem-se aos contraíons e coíons, respectivamente.
Fonte: ALIJÓ, 2011.

Como a difusão dos contraíons é determinada pela dispersão térmica, todos os contraíons devem estar concentrados junto à fase sólida à medida que a temperatura do sistema tender ao zero absoluto. Assim, a teoria de Helmholtz-Perrin torna-se um caso particular da teoria de Gouy-Chapman, quando (LIMA, 2008).

Apesar da teoria de Gouy-Chapman ser um grande avanço em relação à teoria de Helmholtz-Perrin, possui limitações, tais como: não previsão da inversão de sinal do potencial devido à adsorção dos íons em solução e não explica o motivo de contraíons diferentes afetarem a dupla camada de forma distinta, mesmo tendo a mesma valência (efeito da especificidade iônica).

Essa teoria tem aplicações limitadas a sistemas coloidais diluídos, mas não é aplicável a sistemas coloidais com alta concentração de eletrólitos e/ou com contraíons polivalentes (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008).

Utilizando a teoria de Gouy-Chapman com a equação de Poisson, que relaciona a densidade volumétrica de carga com o potencial eletrostático , chega-se à equação de Poisson-Boltzmann clássica, que será desenvolvida na Seção1.4.

### *1.3.4* Teoria de Stern

Esta teoria foi proposta por Stern em 1924, combinando as ideias de Gouy-Chapman e de Helmholtz-Perrin (Figura 3c). Nesta teoria, subdivide-se a dupla camada elétrica em duas partes (LIMA, 2008; SHCHUKIN *et al.*, 2001):

a) Uma parte densa que é mais próxima à superfície, conhecida como camada de Stern-Helmholtz. Os íons estão ligadas à superfície sob ação tanto de forças iônicas como de forças de adsorção, a uma distância , como previsto pela teoria de Helmholtz-Perrin;
b) E uma parte difusa, a camada de Gouy-Chapman, onde estão os demais íons necessários para compensar a carga dos íons determinantes do potencial.

Admite-se que os íons possuem dimensões finitas e, consequentemente, os centros iônicos não podem estar a uma distância menorque um raio iônico, em relação à superfície e consideram-seas interações específicas nãoeletrostáticas dos íons com a superfície, na forma de interação química (LIMA, 2008).

O potencial total é composto pelo potencial da parte difusa da duplacamada, somado à diferença de potencial entre as placas do capacitor $(\psi_0$

Permanece ainda não muito clara a localização do plano de cisalhamento ( na Figura 3c). Alguns autores consideram que este coincide com o plano que separa as regiões de Helmholtz-Perrin e Gouy-Chapman, mas em geral, o plano de cisalhamento localiza-se um pouco mais afastado da superfície, pois certa quantidade de solvente e mesmo coíons pode estar ligada à superfície.

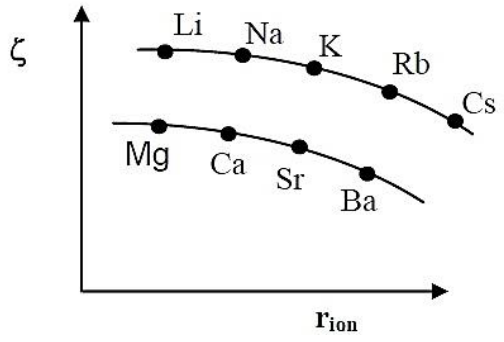
O potencial *zeta* ($\zeta$), também conhecido como potencial eletrocinético, corresponde ao potencial no plano de cisalhamento. O potencial $\zeta$ é medido experimentalmente e a partir

deste pode-se estimar o valor do potencial na superfície, de difícil determinação experimental (LIMA, 2008; SHAW, 1992).

A adsorção de uma substância tensoativa não iônica provoca a localização da superfície de cisalhamento a uma distância relativamente grande do plano de Stern, fazendo com que o potencial $\zeta$ seja consideravelmente menor que . A adição de eletrólitos leva à contração da camada difusa e aumenta o número de íons adsorvidos, provocando a diminuição do potencial $\zeta$ (LIMA, 2008).

De acordo com esta teoria, a distribuição dos íons depende fortemente da natureza (valência) dos contraíons. Se dois contraíons possuírem a mesma valência, a espessura da dupla camada e o número de íons adsorvidos em cada caso dependem da polarizabilidade e da hidratação desses íons, propriedades estas dependentes do raio iônico. Uma grande polarizabilidade favorece a contração da dupla camada devido ao aumento das forças de adsorção. Para íons de mesma carga, a hidratação iônica diminui conforme o raio iônico aumenta. Essa diminuição acarreta a contração da dupla camada, porque a hidratação diminui a interação eletrostática com a superfície sólida (LIMA, 2008). NaFigura 5, pode-se observar a dependência do potencial $\zeta$ com o raio iônico, considerando partículas negativas em suspensão em uma solução aquosa contendo contraíons mono e divalentes.

Figura 5 – Potencial $\zeta$ em função do raio iônico




Fonte: (VOYUTSKY, 1978).

De acordo com Stern, a carga na parte densa da dupla camada elétrica pode ser determinada pela teoria de Langmuir para adsorção monomolecular.

Quando a solução é diluída, a estrutura da dupla camada aproxima-se mais do modelo de Gouy-Chapman; quando a concentração aumenta, a estrutura se aproxima mais do modelo de Helmholtz-Perrin.

Através da teoria de Stern é possível explicar porque o sinal do potencial eletrocinético pode mudar quando íons polivalentes de carga oposta são introduzidos no sistema. Esses íons adentram a camada de adsorção e podem ser adsorvidos numa quantidade tão grande, que não só neutralizam a carga da superfície como também a invertem. Essa grande capacidade de adsorção deve-se a fortes interações eletrostáticas e à grande polarizabilidade desses íons (LIMA, 2008; VOYUTSKY, 1978).

As principais limitações da teoria de Stern são: o potencial de adsorção é considerado independente da concentração; o conceito de plano de cisalhamento não é muito claro; considera-se que o potencial não eletrostático só tem influência na camada de Stern, quando na realidade essa influência diminui à medida que se aumenta a distância à superfície; não explica os efeitos de especificidade iônica e como estes podem depender do pH do meio (LIMA, 2008).

## 1.4 Equação de Poisson-Boltzmann Clássica

A equação de Poisson-Boltzmann é uma equação diferencial parcial de segunda ordem. Em sua forma clássica, é obtida a partir da equação de Poisson (dedução pode ser observada no Apêndice A) ao se considerar que a concentração de íons varia com a distância em relação à superfície de acordo com a distribuição de Boltzmann, sendo afetada pelo potencial eletrostático e pela temperatura, conforme abordagem de Gouy-Chapman paradupla camada elétrica.

### *1.4.1* Distribuição de Boltzmann e o potencial químico

A distribuição de Boltzmann pode ser obtida igualando-se o potencial eletroquímico de uma espécie, ao longo de uma região em equilíbrio.

Considerando uma diferença de potencial ao longo da região analisada e tomando como referência em , tem-se que o potencial eletroquímico ( ) da espécie em uma posição é igual a:

$$\mu_i = \mu_i^* + k_B T \ln c_i + e z_i \psi \tag{12}$$

sendo o potencial eletroquímicoda espécie no estado de referência, é a concentração do íon (número de íons por unidade de volume), é a carga do elétron, é a valência do íon , é a constante de Boltzmann e é a temperatura absoluta.

Em , o potencial eletroquímico da espécie é igual à:

$$\mu_{i,\infty} = \mu_i^* + k_B T \ln c_{i,\infty} \tag{13}$$

em que é a concentração do íon *i* a uma distância infinitamente grande da fase sólida (no seio do fluido, ). O subíndice será usado para identificar os valores das propriedades no estado de referência, ou seja, a uma distância infinita da superfície (ou no reservatório de referência).

Igualando as Equações (12) e (13), obtém-se:

$$k_B T \ln c_i + e z_i \psi = k_B T \ln c_{i,\infty} \tag{14}$$

$$c_i = c_{i,\infty} \exp\left(\frac{-e z_i \psi}{k_B T}\right) \tag{15}$$

A Equação (15) é conhecida como distribuição de Boltzmann. Essa equação também pode ser derivada tendo como base conceitos da mecânica estatística (Apêndice B).

O produto representa o trabalho necessário para transferir um íon do seio da solução ( ) para o ponto em que o potencial é igual a ; o produto representa a energia térmica (LIMA, 2008).

A equação de Poisson, que relaciona a densidade volumétrica de carga com o potencial eletrostático , pode ser escrita da seguinte forma:

$$\varepsilon_0 \nabla \cdot (\varepsilon \nabla \psi) = -\rho_l \tag{16}$$

A constante dielétrica do meio ( ) pode ser considerada uniforme, como na teoria de Gouy-Chapman, ou função da posição no espaço, em uma abordagem mais realística (LIMA,2008; LIMA *et al.*,2008b, c).

Quando não há cargas elétricas envolvidas, o lado direito da Equação (16) anula-se, fazendo com que a equação de Poisson reduza-se a equação de Laplace. Havendo cargas elétricas envolvidas, a densidade volumétrica de carga é expressa pelo somatório das densidades volumétricas de carga móveis ( ) e fixas ( ):

$$\rho_l = \rho_m + \rho_f \tag{17}$$

$$\rho_m = e \sum_i z_i c_i \tag{18}$$

$$\rho_l = e \sum_i z_i c_i + \rho_f \tag{19}$$

Substituindo a Equação (19)na equação de Poisson, Equação (16), e utilizando a distribuição de Boltzmann, Equação (15), para expressar a concentração de íons, obtém-se a equação de Poisson-Boltzmann, dada por:

$$\varepsilon_0 \nabla \cdot (\varepsilon \nabla \psi) = -e \sum_i z_i c_{i,\infty} \exp\left(\frac{-e z_i \psi}{k_B T}\right) - \rho_f \tag{20}$$

Vale ressaltar que as cargas fixas geralmente não são incluídas na forma clássica da equação de Poisson-Boltzmann; sendo atribuído valor igual a zero para estas.

As condições de contorno comumente associadas à Equação (20) são de dois tipos:

a) Potencial especificado na superfície:

Neste caso, considerando-se uma única superfície sólida, tem-se:

$$\psi(x)|_{superfície} = \psi_0 \tag{21}$$

$$\psi(x)|_{x\to\infty} = \psi_\infty = 0 \tag{22}$$

Sendo o potencial na superfície.

b) Densidade superficial de carga especificada na superfície:

Neste caso, considerando-se uma única superfície sólida, tem-se:

$$\left\{\left[\varepsilon\frac{\mathrm{d}\psi(x)}{\mathrm{d}x}\right]\Bigg|_{superfície}\right\}\cdot\vec{n} = -\frac{\sigma}{\varepsilon_0} \tag{23}$$

$$\frac{\mathrm{d}\psi(x)}{\mathrm{d}x}\Bigg|_{x\to\infty} = 0 \tag{24}$$

Sendo o vetor unitário normal à superfície.

A densidade de carga superficial usada como condição de contorno para a equação de Poisson-Boltzmann pode ser obtida dividindo a carga média da macropartícula por sua área superficial. Para superfícies esféricas, tem-se (ALIJÓ, 2011):

$$\sigma = \frac{Q_p}{4\pi {r_p}^2} \tag{25}$$

Em que é a carga elétrica média e é o raio da partícula esférica.

Uma condição de contorno que é usualmente empregada em sistemas constituídos por uma esfera é a derivada do potencial no centro da esfera ( $\nabla\psi(x)|_x$), conhecida como condição de simetria.

Por conveniência numérica, escreve-se a Equação (20) na forma adimensional como:

$$\nabla \cdot (\bar{\varepsilon} \nabla y) = -\frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} - \bar{\rho}_f \tag{26}$$

$$\bar{\rho}_f = \frac{\rho_f}{e \sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} \tag{27}$$

Em que $y = e$ é o potencial eletrostático adimensional, é constante dielétricanormalizada, sendo igual a $\bar{\varepsilon}$ =, é a constante dielétrica da água na temperatura do sistema analisado e é a carga fixa adimensional.

Na Equação (26), todas as variáveis espaciais estão adimensionadas pelo fator , dado por:

$$\kappa^2 = \frac{e^2 \sum_i c_{i,\infty} z_i^2}{\varepsilon_W \varepsilon_0 k_B T} \tag{28}$$

Em que é o comprimento de Debye. Deve-se lembrar de que é o número de íons *i* por unidade de volume no seio da fase fluida. Para introduzir a concentração molar de íons ( ) nas Equações (26) e (28), deve-se multiplicar esta pelo número de Avogadro ( ):

$$c_{i,\infty} = C_{i,\infty} N_A \tag{29}$$

Considerando um eletrólito simétrico do tipo *z:z*, constante dielétrica uniforme ( ) e ausência de carga fixa, tem-se:

$$\nabla^2 \varphi = \frac{\exp(\varphi) - \exp(-\varphi)}{2} = \text{senh}\,(\varphi) \tag{30}$$

Sendo $\varphi = ez\psi / k_B$.

A conhecida equação de Debye-Hückel consiste na linearização da equação de Poisson-Boltzmann. Portanto, para obtê-la basta linearizar o termo exponencial da Equação (30) (LIMA, 2008):

$$\nabla^2\varphi = \varphi \tag{31}$$

Sendo a solução correspondente dada por:

$$\psi(x) = \psi_0 \exp(-\kappa x) \tag{32}$$

A Equação (32) resulta em valores razoáveis somente para potenciais baixos, uma vez que muitas informações foram perdidas no processo de linearização (LIMA, 2008).

Para uma única superfície plana, uniforme e eletrólito simétrico do tipo *z:z*, a equação de Poisson-Boltzmann (20) pode ser resolvida analiticamente (LIMA, 2008; MOREIRA, 2007; VOYUTSKY, 1978):

$$\psi(x) = \frac{2k_BT}{ez}\ln\left[\frac{1+\gamma\exp(-\kappa x)}{1-\gamma\exp(-\kappa x)}\right] \tag{33}$$

$$\gamma = \tanh\frac{ez\psi_0}{4k_BT} = \frac{\exp\left(\frac{ez\psi_0}{2k_BT}\right)-1}{\exp\left(\frac{ez\psi_0}{2k_BT}\right)+1} \tag{34}$$

$$\kappa^2 = \frac{2c_\infty(ez)^2}{\varepsilon\varepsilon_0 k_BT} \tag{35}$$

Neste caso, pode-se relacionar o potencial na superfície com a densidade de carga na superfície (LIMA, 2008):

$$\sigma = -\int_0^\infty \rho dx = \int_0^\infty zec_\infty\left\{\exp\left[\frac{ez\psi(x)}{k_BT}\right] - \exp\left[-\frac{ez\psi(x)}{k_BT}\right]\right\}d \tag{36}$$

$$\sigma = 2zec_\infty\int_0^\infty\left\{\operatorname{senh}\left[\frac{ez\psi(x)}{k_BT}\right]\right\}dx \tag{37}$$

Resolvendo a Equação (37) para a expressão do potencial obtida na Equação(35), obtém-se (LIMA, 2008; VOYUTSKY, 1978):

$$\sigma = \sqrt{8N_A c_\infty \varepsilon\varepsilon_0 k_B T}\,\mathrm{senh}\left(\frac{ez\psi_0}{2k_B T}\right) \tag{38}$$

Essa equação é conhecida como equação de Grahame, válida para uma única placa, eletrólito simétrico e constante dielétrica uniforme. Para potenciais baixos, essa expressão, reduz-se a (LIMA, 2008):

$$\sigma = \varepsilon\varepsilon_0 \kappa \psi_0 \tag{39}$$

Tal expressão está totalmente de acordo com a equação (11), pois é a espessura da dupla camada. Neste caso, a capacitância é a mesma do capacitor de placas, como proposto por Helmholtz e Perrin (LIMA, 2008).

A abordagem apresentada até aqui é a abordagem clássica de Poisson-Boltzmann, na qualtodos os tipos de forças, exceto aquelas derivadas de forças de Coulomb (eletrostáticas), são ignorados.

Diversas alternativas de modificação da equação de Poisson-Boltzmann clássica estão disponíveis naliteratura, dentre estas destacam-se a inclusão de interações não eletrostáticas (ALIJÓ, 2011; LIMA, 2008; MOREIRA, 2007). Lima (2008) discute a aplicação da equação de Poisson-Boltzmann para duas placas e duas esferas, em sua forma clássica ou modificada a fim de levar em conta também interações não eletrostáticas, transpondo muitas das limitações da teoria de Gouy-Chapman.

Dentre as diversas alternativas estudadas por Lima (2008) para melhorar odesempenho da equação de Poisson-Boltzmann, destaca-se o uso do sistema de coordenadas bi-esféricas (LIMA *et al.*, 2007b; LIMA; TAVARES; BISCAIA, 2007) para solução da equação de Poisson-Boltzmann através do método dos volumes finitos, o que segundo o autor representou ganhos ao considerar efeitos de curvatura da superfície coloidal e ao gerar uma malha que prioriza a região entre as esferas, a mais influenciada pelo potencial.

Outra alternativa para transpor algumas dessas limitações é baseada na teoria de Stern, em que se abandona o conceito de cargas pontuais ao considerar o tamanho dos íons a pequenas distâncias da superfície, na camada de Stern(ALIJÓ, 2011).

## 1.5 Equação de Poisson-Boltzmann modificada

Visando a inserção de outros tipos de interação além das eletrostáticas na equação de Poisson-Boltzmann, deve-se expressar a lei de distribuição de Boltzmann, Equação (15), em uma forma mais genérica. Esta expressão,conforme mencionado anteriormente, é proveniente da igualdade de potenciais químicos e fornece a distribuição de íons em equilíbrio, em um campo de força:

$$c_i = c_{i,\infty} \exp\left(-\frac{U_i - U_{i,\infty}}{k_B T}\right) \tag{40}$$

em que é a energia potencial do íon no seio da fase fluida (ou no reservatório); é a energia potencial do íon em função de sua posição no espaço.

Considerando que os potenciais de interação sejam aditivos, de tal forma que a presença de um determinado potencial não influencie diretamente na ação de outro, o potencial total é obtido através da soma dos potenciais. Assim, a energia potencial de um íon em um elemento de volume é dada por (LIMA, 2008; MOREIRA, 2007; NINHAM, 1999):

$$U_i = z_i e\psi + \sum_j U_{i,j} \tag{41}$$

em que é a *j*-ésima contribuição energética não eletrostática referente ao íon . As interações não eletrostáticas podem ser, por exemplo, interações de van der Waals entre o íon e a superfície, de imagem, de hidratação, dentre outras. Moreira (2007) estudou a influência desses diferentes potenciais em diferentes sistemas coloidais, mostrando que estes são relevantes para explicar alguns fenômenos, como adsorção de partículas coloidais e tensão superficial de soluções eletrolíticas. Outros potenciais podem ser adicionados na distribuição de Boltzmann, como será visto na Seção 2.5.

Considerando que, no seio da fase fluida, tanto o potencial elétrico da dupla camada, como o potencial de dispersão de van der Waals entre os íons e macropartícula em solução e outros potenciais que por ventura venham a ser considerados, tendem a zero (estado de

referência), pode-se substituir o potencial total pela soma destes potenciais, obtendo assim uma expressão mais geral da distribuição de Boltzmann:

$$c_i = c_{i,\infty} \exp\left(-\frac{z_i e\psi + \sum_j U_{i,j}}{k_B T}\right) \tag{42}$$

A equação de Poisson-Boltzmann modificada é obtida por meio da aplicação da Equação (42) em conjunto com as Equações (16) e (19) resultando em:

$$\varepsilon_0 \nabla \cdot (\varepsilon \nabla \psi) = -e \sum_i z_i c_{i,\infty} \exp\left(-\frac{z_i e\psi + \sum_j U_{i,j}}{k_B T}\right) - \rho_f \tag{43}$$

Note que, se as interações não eletrostáticas forem desconsideradas, a Equação (42) reduz-se à Equação(15). Assim, a equação de Poisson-Boltzmann em sua forma clássica, Equação (20), é um caso particular da equação modificada, Equação (43).

A forma adimensional da Equação (43) pode ser obtida de forma similar ao desenvolvido para a equação de Poisson-Boltzmann clássica na Seção 1.4, obtendo-se:

$$\nabla \cdot (\bar{\varepsilon} \nabla y) = -\frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp\left(-z_i y - \sum_j u_{i,j}\right)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} - \bar{\rho}_f \tag{44}$$

em que $u_{i,j} = \sum_i U_i$ referem-se às interações não eletrostáticas adimensionais.

Nesta dissertação serão analisadas as interações não eletrostáticas calculadas via teoria de Lifshitz (Seção1.2.1).

Com o rápido desenvolvimento da capacidade de processamento dos computadores, avanços significativos têm ocorrido na aplicação de dinâmica molecular, simulações de Monte Carlo e técnicas baseadas em DFT para descrição das interações eletrostáticas na química dos coloides e de superfícies. Entretanto, a solução da equação de Poisson-Boltzmann ainda é uma ferramenta importante para o cálculo de interações de sistemas coloidais, pois permite integrar diferentes escalas (desde a escala nanométrica até a escala macroscópica) (LIMA, 2008).

Embora as limitações da abordagem de Poisson-Boltzmann sejam bem conhecidas, como, por exemplo, a aproximação de campo médio e a consideração de cargas pontuais,

muitos estudos têm demonstrado concordância da solução da equação de Poisson-Boltzmann tanto com simulações moleculares (BOSTRÖM *et al*., 2005b) quanto com resultados experimentais (LIMA *et al*., 2007a). Normalmente, os desvios dos resultados de Poisson-Boltzmann ocorrem a altas concentrações iônicas, altas densidades de carga na superfície ou contraíons de maior valência (divalentes e trivalentes) (MOREIRA, 2007).

## 1.6 A origem do potencial elétrico em sistemas biológicos

Interações eletrostáticas são consideradas relevantes para praticamente todos os sistemas e processos biomoleculares. Grupos carregados e/ou polares estão frequentemente presentes nas macromoléculas biológicas, por exemplo: mais de 20% de todos os aminoácidos de uma proteína globular são ionizados em condições fisiológicas e mais de 25% das cadeiras laterais destes possuem grupos polares; os ácidos nucleicos são considerados os mais fortes polieletrólitos presentes na natureza e as membranas plasmáticas possuem fosfolipídios carregados que estão envolvidos com funções fisiológicas (FOGOLARI; BRIGO; MOLINARI, 2002). Além disso, como dito anteriormente, as interações de van der Waals atuam em todas as partículas, estejam elas carregadas ou não.

O potencial elétrico de sistemas biológicos pode ser originado de várias fontes tais como: a existência de íons livres, grupos moleculares ionizados ou polarização elétrica de biomoléculas. Outra fonte de potencial elétrico deve-se a ocorrência de reações de transferência de elétrons em certos sistemas bioquímicos de reação. Em certos sistemas biológicos, processos quimioelétricos, mecanoelétricos e termoelétricos acoplados podem produzir um tipo especial de potencial elétrico. Moléculas não polares podem exercer força elétrica em outras moléculas através da polarização instantânea devido à flutuação elétrica dentro das moléculas (OHKI, 1985).

O potencial elétrico mais estudado em sistemas biológicos é aquele associado à membrana plasmática. Verifica-se experimentalmente a existência de concentrações iônicas distintas entre os meios intracelular e extracelular, como pode ser observado na Tabela 1. Além disso, há uma diferença de potencial elétrico entre estes dois meios no estado de repouso celular.

Para compreender melhor o potencial de membrana é necessário conhecer a constituição dos meios intracelular e extracelular.

## 1.7 Composição do meio intracelular

Os organismos vivos se reproduzem através da transmissão de informação genética para sua progênie. A célula individual é a unidade mínima de autoreprodução, e é o veículo para a transmissão da informação genética em todas as espécies vivas (ALBERTS *et al.*, 2008). As células eucariontes apresentam duas partes fundamentais: o citoplasma e o núcleo.

A membrana plasmática, ou plasmalema, é o constituinte mais externo do citoplasma, sendo uma barreira de permeabilidade seletiva entre a célula e o meio extracelular com espessura de 7,5 a 10 nm. De uma forma geral, as membranas definem o limite externo das células e regulam o trânsito molecular e iônico por meio desse limite; nas células eucarióticas elas também dividem o espaço interno em compartimentos discretos separando os componentes e processos distintos entre si. As atividades biológicas das membranas devem-se as suas notáveis propriedades físicas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

Outras funções e características das membranas são: organização de sequências de reações complexas, como a síntese de lipídeos e de certas proteínas; conservação de energia e comunicação entre células por meio de estruturas específicas; flexibilidade, permitindo alterações da forma para acompanhar o crescimento celular e a movimentação; autoselantes, podendo fundir-se, como na exocitose; habilidade de se romper, podendo sofrer fissão produzindo dois compartimentos selados, como na endocitose ou na divisão celular, sem que ocorram grandes perdas através das superfícies celulares; permeabilidade seletiva, podendo reter certos compostos e íons dentro das células e compartimentos intracelulares específicos, enquanto excluem outras substâncias desses locais(HIANIK, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

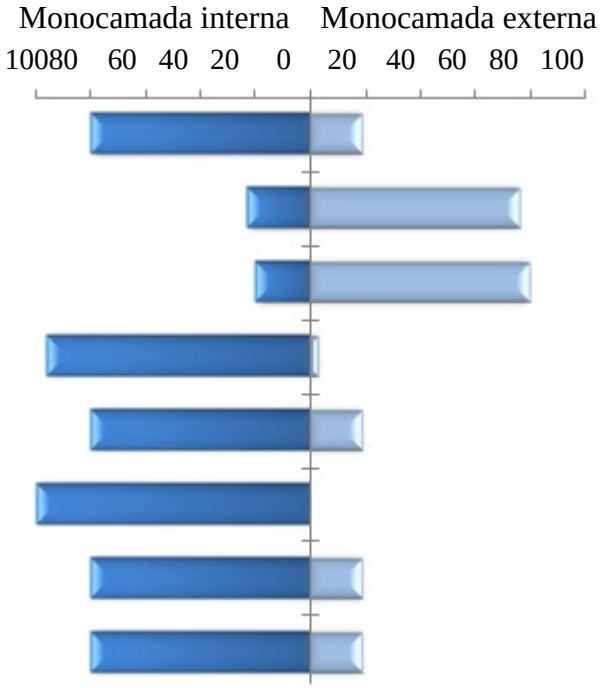
Ao microscópio eletrônico a membrana aparece como uma estrutura trilaminar, denominada unidade de membrana, sendo esta comum a todas as membranas presentes nas células. As membranas celulares são compostas, principalmente, por duas camadas de moléculas de fosfolipídios, com seus grupamentos hidrofóbicos voltados para o centro da membrana. Os grupamentos hidrofílicos desses lipídeos ficam nas duas superfícies da membrana. Aparentemente, o aspecto trilaminar das membranas celulares é devido à deposição de ósmio sobre esses grupamentos hidrofílicos localizados nas superfícies das

membranas, durante a preparação do corte. Além dos fosfolipídios as membranas celulares contêm outros lipídeos, como glicolipídios e colesterol (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

Os lipídeos da membrana plasmática são distribuídos assimetricamente entre as duas monocamadas da bicamada (DEVAUX, 1991). Na membrana plasmática dos eritrócitos, por exemplo, lipídeos contendo colina (fosfatidilcolina e esfingomielina) são encontrados na monocamada externa (extracelular ou exoplasmática), enquanto fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositóis são mais comuns na monocamada citoplasmática, conforme pode ser observado na Figura 6(ZACHOWSKI, 1993).

Figura 6 – Distribuição assimétrica dos fosfolipídios entre as monocamadas interna e externa da membrana plasmática do eritrócito humano.

| | **% em massa do total de fosfolipídios** | **Distribuição na membrana** |
|---|---|---|
| Fosfatidiletanolamina | 30 | |
| Fosfatidilcolina | 27 | |
| Esfingomielina | 23 | |
| Fosfatidilserina | 15 | |
| Fosfatidilinositol | 5 | |
| Fosfatidilinositol 4-fosfato | | |
| Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato | | |
| Ácido fosfatídico | | |




Fonte: (ZACHOWSKI, 1993)

Mudanças na distribuição de lipídeos entre as monocamadas da membrana plasmática têm consequências biológicas. Por exemplo, em uma plaqueta, esta somente exerce sua função na formação de coágulo sanguíneo quando a fosfatidilserina da membrana plasmática se move para a monocamada exoplasmática (NELSON; COX, 2006; ZACHOWSKI, 1993).

Os glicolipídios possuem cadeias de oligossacarídeos que se projetam para o lado exoplasmático, a partir da superfície celular, contribuindo para acentuar a assimetria da membrana plasmática (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Devido ao seu interior hidrofóbico, a dupla camada lipídica da membrana previne a passagem da maior parte das moléculas polares e íons. Esta barreira permite à célula manter a concentração de solutos no citossol diferente daquela no meio extracelular. Para se beneficiar desta barreira, a célula precisa de um mecanismo de transferência demoléculas específicas solúveis em água e íons através da membrana, a fim de ingerir nutrientes essenciais, excretar produtos metabólicos residuais e regular a concentração iônica no meio intracelular. Dessa forma, as membranas não são somente barreiras passivas. Estas apresentam um conjunto de proteínas especializadas na promoção ou na catálise de uma variedade de processos celulares(ALBERTS *et al.*, 2008).

Na superfície celular, poros funcionais permitem o trânsitode certas moléculas e íons; transportadores conduzem solutos orgânicos específicos e íons inorgânicos através da membrana; receptores identificam sinais extracelulares e desencadeiam alterações moleculares na célula e moléculas de adesão mantêm juntas células vizinhas (ALBERTS *et al.*, 2008; HIANIK, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006). Mais informações sobre os transportadores de membrana podem ser observadas na Seção 1.7.1.

As proteínas, que representam aproximadamente 50% em peso da membrana plasmática, podem ser divididas em dois grupos operacionais. As proteínas integrais são aquelas firmemente associadas com a membrana através de interações hidrofóbicas, enquanto que as proteínas periféricas são aquelas que se associam com as membranas por meio de interações eletrostáticas e ligaçõesde hidrogênio que estabelecem com os domínios hidrofílicos das proteínas integrais e com as cabeças polares dos lipídeos de membrana. As proteínas periféricas podem ser facilmente extraídas através de alteração do pH ou da força iônica, remoção do íon cálcio por um agente quelante ou adição de ureia ou carbonato. Porém, as proteínas integrais só podem ser extraídas após a destruição da estrutura da membrana, geralmente por surfactantes, solventes orgânicos ou desnaturantes. Algumas proteínas integrais, denominadas proteínas transmembrana, atravessam inteiramente a membrana, fazendo saliência tanto na face intracelular como na superfície externa da membrana. Certas proteínas transmembrana atravessam a membrana diversas vezes. Por isso, as proteínas transmembrana podem ser divididas em: proteínas de passagem única e proteínas de passagem múltipla (ALBERTS *et al.*, 2008; HIANIK, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

A integração das proteínas na membrana depende principalmente da interação dos aminoácidos lipofílicos da superfície da proteína com os lipídeos da membrana. Mas a posição das proteínas, em relação ao plano da membrana plasmática, geralmente é determinada pela associação com moléculas do citoesqueleto. Todavia, quando impulsionadas pelo citoesqueleto, as proteínas podem deslizar ao longo do plano da membrana, uma vez que a bicamada lipídica é fluida. A distribuição da proteína em mosaico na bicamada lipídica da membrana plasmática deu origem ao modelo do mosaico fluido para as membranas celulares. Como acontece com os lipídeos, a distribuição das proteínas também é diferente nas duas camadas da membrana(JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Assim como ocorre com os glicolipídios, a porção glicídica das glicoproteínas invariavelmente se situa com os resíduos glicídicos na superfície externa da célula(JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A superfície externa da membrana é recoberta por uma camada mal delimitada, rica em carboidratos, o glicocálice, bem visível no microscópio eletrônico. O glicocálice é constituído pelas cadeias glicídicas das glicoproteínas e glicolipídios da membrana e por glicoproteínas e proteoglicanos secretados pela célula. O glicocálice participa do reconhecimento entre as células e da união das células umas com as outras e com as moléculas extracelulares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

No citoplasma celular se localizam o citoesqueleto, as organelas e os depósitos ou inclusões, geralmente temporários, de carboidratos, proteínas, lipídeos ou pigmentos.

O citoesqueleto é uma rede complexa de microtúbulos, filamentos de actina (microfilamentos) e filamentos intermediários. Essas proteínas estruturais influem na forma das células e, junto com as proteínas motoras, possibilitam os movimentos de organelas e vesículas citoplasmáticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O espaço entre as organelas e os depósitos é preenchido pela matriz citoplasmática ou citossol, de consistência variável entre um sol e um gel, contendo diversas substâncias, como aminoácidos, proteínas, outras macromoléculas, nutrientes energéticos e íons. A membrana plasmática contém proteínas denominadas integrinas que se ligam a filamentos do citoesqueleto localizados no citoplasma e a macromoléculas extracelulares. Por meio dessas ligações, existe uma troca constante de influência nos dois sentidos, entre o citoplasma e o meio extracelular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

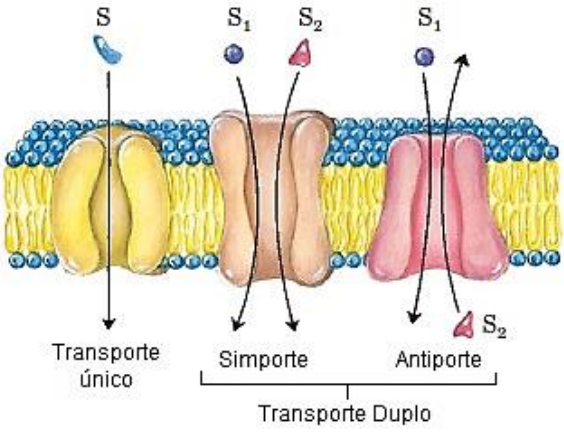
### *1.7.1* Transporte de íons e moléculas através da membrana

Os transportadores e canais são as duas maiores classes de proteínas transportadoras na membrana. Os transportadores, que também podem ser denominados de carreadores ou permeases, ligam-se a um soluto específico a ser transportado e submetem-se a uma série de mudanças conformacionais a fim de transportar o soluto através da membrana (ALBERTS *et al.*, 2008).

Em contraste, os canais interagem com o soluto a ser transportado mais fracamente. Eles formam um poro aquoso que se estende ao longo da camada lipídica; quando abertos, estes canais permitem a passagem de solutos específicos (geralmente íons inorgânicos com tamanho e carga apropriados) através da membrana. Os canais geralmente permitem a movimentação através da membrana em velocidades de várias ordens de magnitude maiores que aquelas típicas dos carreadores; essas velocidades aproximam-se do limite de velocidade da difusão simples. Tipicamente, os canais mostram especificidade menor que os transportadores e, em geral, não são saturáveis(ALBERTS *et al.*, 2008; NELSON; COX, 2006).

Há três tipos de classes gerais de transportadores (Figura 7), diferindo em relação ao número de solutos ou substratos transportados e no sentido de transporte de cada um deles. Transportadores que carregam apenas um substrato são denominados de sistemas de transporte único ou uniporte. Quando o transportador carrega simultaneamente dois substratos, é conhecido como sistema de transporte duplo. Neste aspecto, quando o sentido que os dois substratos se movem é o mesmo, o processo é denominado cotransporte ou simporte. Quando o sentido de transporte é oposto, o processo é chamado contratransporte ou antiporte (ALBERTS *et al.*, 2008; NELSON; COX, 2006).

Figura 7 – Classes Gerais de transportadores




Legenda: S representa o soluto transportado.
Fonte: NELSON; COX, 2006.

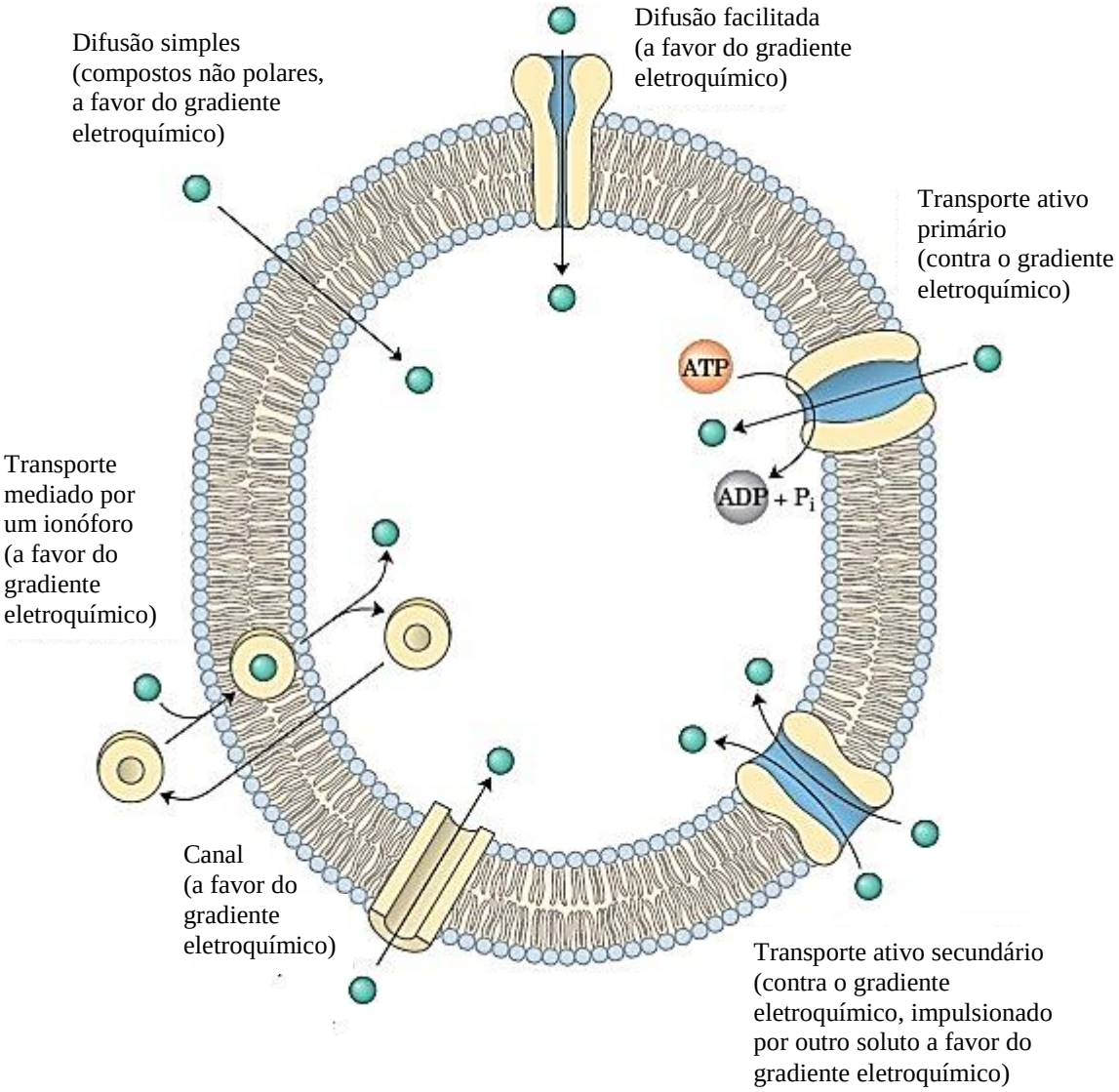
Todos os canais e muitos transportadores permitem que o soluto atravesse a membrana somente de forma passiva, em um processo conhecido como transporte passivo ou difusão facilitada (Figura 8). No caso do transporte de uma única molécula não carregada, a diferença de concentração entre os dois lados da membrana conduz o transporte passivo e determina seu sentido. Se o soluto possuir carga, tanto o gradiente de concentração como a diferença de potencial elétrico entre os dois lados da membrana influenciam no sentido do transporte(LODISH *et al*., 2000; NELSON; COX, 2006).

As células também possuem proteínas transportadoras que conduzem a passagem do soluto contra o gradiente eletroquímico, promovendo o transporte ativo (Figura 8). O transporte ativo é termodinamicamente desfavorável e ocorre apenas quando acoplado a um processo exergônico como a absorção da luz solar, uma reação de oxidação, a quebra de ATP ou o fluxo concomitante de alguma espécie química no sentido decrescente do seu gradiente eletroquímico (NELSON; COX, 2006).

Conforme observado na Figura 8, o transporte ativo primário se caracteriza pelo bombeamento do soluto acoplado diretamente a uma reação exergônica, como a conversão de ATP em ADP (adenosina difosfato) e fosfato inorgânico ($P_i$). O transporte ativo secundário ocorre quando o transporte endergônico de um soluto é acoplado ao fluxo exergônico de um soluto diferente que foi originalmente bombeada na direção ascendente por um transporte ativo primário (NELSON; COX, 2006).

Os transportadores ativos que utilizam ATP também são denominados de ATPases. As principais classes de ATPases são: ATPases do tipo P, ATPases do tipo F, ATPases do tipo V e transportadores ABC.

Figura 8 – Diferentes tipos de transporte de íons pequenas moléculas através da membrana




Legenda: Os círculos verdes representam o soluto envolvido no transporte
Fonte: Adaptado de Nelson e Cox (2006).

Os ATPases do tipo P são transportadores de cátions reversivelmente fosforilados pelo ATP como parte do ciclo de transporte; a fosforilação promove uma mudança conformacional que tem importância central na movimentação do cátion através da membrana. Todos os transportadores ATPases do tipo P possuem similaridades na sequencia de aminoácidos, especialmente nas proximidade do resíduo de ácido aspártico que é fosforilado. Consistem de uma proteína integral de membrana com um único polipeptídio possuindo 10 regiões que atravessam a membrana; algumas também possuem uma segunda subunidade (ALBERTS *et al.*, 2008; LODISH *et al.*, 2000; NELSON; COX, 2006).

Como dito anteriormente, verifica-se em praticamente todas as células animais, uma concentração de $Na^+$ menor na célula do que no meio circundante, e uma concentração de $K^+$ maior. Esse desequilíbrio é atribuído à enzima $Na^+K^+$ATPase (uma ATPase do tipo P). Acredita-se que esta enzima esteja presente em todas as células. Ela acopla a quebra de ATP à movimentação simultânea de $Na^+$ e $K^+$ contra seus gradientes eletroquímicos. Para cada molécula de ATP convertido a ADP e $P_i$, o transportador move dois íons $K^+$ para o meio intracelular e três íons $Na^+$ para o meio extracelular. Logo, trata-se de um processo eletrogênico (ALBERTS *et al.*, 2008; LODISH *et al.*, 2000; NELSON; COX, 2006).

O transportadores ativos denominados ATPases tipo F desempenham um papel central nas reações conservadoras de energia nas mitocôndrias. Estas ATPases tipo F catalisam a passagem transmembrana de prótons que se movimentam no sentido ascendente, sendo impulsionados pela hidrólise de ATP. São constituídos de múltiplas subunidades diferentes (ALBERTS *et al.*, 2008; LODISH *et al.*, 2000; NELSON; COX, 2006).

A reação catalisada pelas ATPases tipo F é reversível; assim, um gradiente de prótons pode suprir a energia necessária para potenciar a reação inversa, isto é, a síntese de ATP (NELSON; COX, 2006).

ATPases do tipo V são uma classe de ATPases transportadoras de prótons e se relacionam estruturalmente com as ATPases do tipo F. São responsáveis pela acidificação de compartimentos intracelulares, tais como lisossomos, endossomos, complexos de Golgi e vesículas secretoras (NELSON; COX, 2006).

Os transportadores ABC constituem uma grande família de transportadores dependentes de ATP que bombeiam aminoácidos, peptídeos, proteínas, íons metálicos, vários lipídeos, sais biliares e muitos outros compostos, tais como fármacos, para o meio extracelular e contra o gradiente eletroquímico (ALBERTS *et al.*, 2008; NELSON; COX, 2006).

A movimentação de água através da membrana plasmática ocorre através da presença de canais denominados aquaporinas. Mais de dez aquaporinas são conhecidas na espécie humana, cada uma delas desempenha um papel específico.

Outra forma de transporte de íons através da membrana é por meio de ionóforos (Figura 8), que são compostos que neutralizam a carga elétrica de íons, permitindo a passagem pela membrana celular (NELSON; COX, 2006).

A entrada na célula de macromoléculas e de partículas maiores ocorre em bloco, por meio de processos que envolvem modificações visíveis na membrana plasmática. A entrada de material em quantidade dá-se o nome de endocitose. A exocitose é o processo equivalente, porém direcionado para o meio extracelular. Todavia, do ponto de vista molecular, a

endocitose e exocitose são processos diversos e que dependem da participação de proteínas diferentes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

### *1.7.2* Eritrócito

O eritrócito, denominado também de hemácia ou glóbulo vermelho, é uma célula estudada por muitos pesquisadores. As hemácias de mamíferos são células altamente diferenciadas para sua função primária de transporte de oxigênio e dióxido de carbono; de um ponto de vista estrutural são as mais simples de todas as células eucarióticas, uma vez que são anucleadas e não possuem organelas citoplasmáticas. Durante o processo de maturação das hemácias, o núcleo se torna picnótico e é expulso da célula (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Devido a estas simplicidades estruturais, o eritrócito consiste na célula objeto deste estudo para análise da partição iônica em sistemas biológicos.

Eritrócitos humanos têm a forma de um disco bicôncavo com 7,5 μm de diâmetro, com 2,6 μm de espessura próximo à sua borda e 0,8 μm no centro (Figura 9). A forma bicôncava proporciona grande superfície em relação ao volume, o que facilita as trocas gasosas. Um eritrócito normal de um adulto humano possui volume globular médio de 80-96 fL e uma área de superfície de 140 μm² (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; YAWATA, 2003).

Figura 9 – Dimensões normais de uma hemácia humana adulta

Fonte: Adaptado de Sabbatino ([2013]).

Como dito anteriormente, a distribuição dos fosfolipídios de membrana é assimétrica (Figura 6). Segundo Devaux e Morris (2004), o folheto citoplasmático da membrana

plasmática de eritrócitos contém mais lipídeos insaturados do que a parte externa. Rosenberg e Guidotti (1968) estudaram a composição da membrana plasmática de eritrócitos humanos verificando que 49,2% em massa consistem de proteínas, 43,2% são lipídeos e 7,2%, carboidratos (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição da membrana plasmática de um eritrócito humano

| **Componente** | **% em massa** |
|---|---|
| Proteína | 49,2 |
| Lipídeo (total) | 43,6 |
| Fosfolipídio | 32,5 |
| Colesterol | 11,1 |
| Carboidrato (total) | 7,2 |
| Carboidrato neutro | 4,0 |
| Hexosaminas | 2,0 |
| Ácido siálico | 1,2 |

Fonte: ROSENBERG; GUIDOTTI, 1968.

Verifica-se também uma maior preferência do colesterol pelo folheto citoplasmático da membrana de eritrócitos humanos (SCHROEDER *et al*., 1991).

A superfície externa da membrana do eritrócito é revestida por albumina e outras globulinas plasmáticas. Resíduos de ácido siálico, que possuem carga negativa, são abundantes na superfície exoplasmática. Esses resíduos são geralmente presentes na glicoforina, uma glicoproteína integral de membrana, e também na banda 3 (trocador de ânion) e glicolipídios (FREEDMAN, 2001; YAWATA, 2003).

A hemoglobina, proteína transportadora de oxigênio, está presente em uma concentração de 34g/100 mL de células, correspondendo a 5,2 mM, sendo uma das proteínas mais solúveis da célula e constitui mais que 98% em massa das proteínas presentes na hemácia. É formada por quatro subunidades, cada uma contendo um grupo heme ligado a um polipeptídio. O grupo heme é um derivado porfirínico contendo $Fe^{2+}$. O tetrâmero de $\alpha_2\beta_2$, que representa 97% do total de hemoglobina presente em um humano adulto, possui dimensões aproximadamente esféricas de 65 Å x 55 Å x 50 Å. No interior dos eritrócitos, a hemoglobina se encontra empacotada com uma distância média entre a superfície das proteínas vizinhas de aproximadamente 20 Å (PONDER, 1948 *apud* FREEDMAN, 2001).

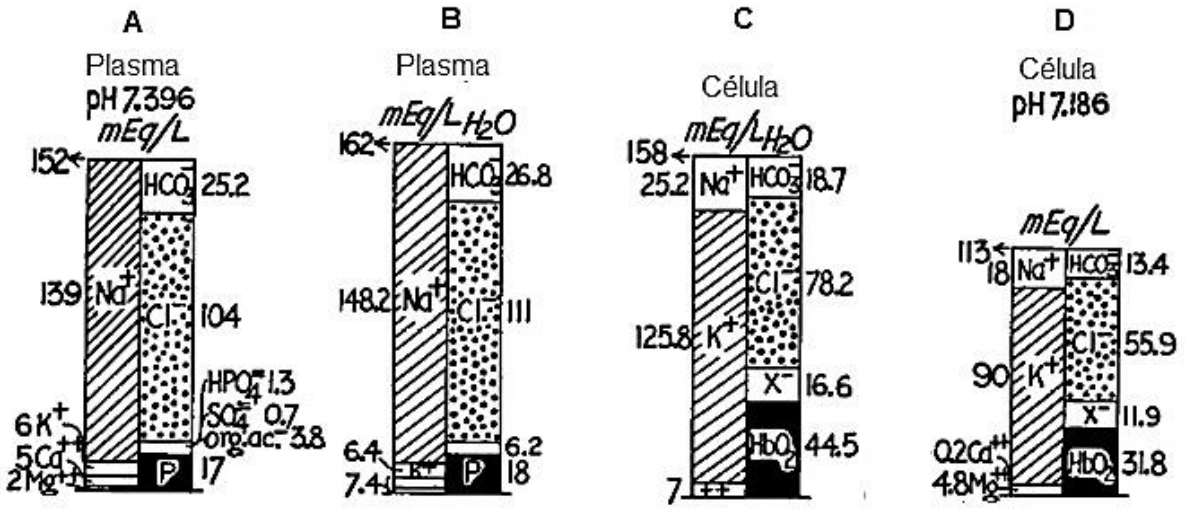
Nos pulmões, onde a pressão parcial de oxigênio é alta, cada molécula de hemoglobina se combina com quatro moléculas de $O_2$ (uma molécula de $O_2$ para cada $Fe^{+2}$ da hemoglobina), formando-se a oxi-hemoglobina. Esta combinação é reversível, e o oxigênio transportado pela hemoglobina é transferido para os tecidos, onde a pressão parcial de $O_2$ é baixa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O $CO_2$ liberado durante a respiração celular dos tecidos para o plasma sanguíneo pode ser carregado por três formas distintas. A maior parte do $CO_2$ entra no eritrócito e é convertido em bicarbonato pela anidrase carbônica. O retorna ao plasma sanguíneo através de um trocador cloreto-bicarbonato para ser transportado até os pulmões. Pelo fato de o ser mais solúvel no plasma sanguíneo que o $CO_2$, essa via sinuosa aumenta a capacidade do sangue de transportar dióxido de carbono. Nos pulmões, o retorna ao eritrócito através do transportador de cloreto-bicarbonato e é convertido em $CO_2$, que é eventualmente liberado no espaço pulmonar e exalado. Outra parcela do $CO_2$ pode se combinar com a hemoglobina formando a carbamino-hemoglobina. Essa combinação é facilmente reversível quando chega nos pulmões. Além disso, uma pequena parte do $CO_2$ também pode ser transportado dissolvido no plasma ou na célula (BRIGGS, 1968; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; NELSON; COX, 2006).

O trocador de cloreto-bicarbonato, também chamado de proteína trocadora de ânion, aumenta a permeabilidade da membrana do eritrócito ao por um fator de mais de um milhão. Trata-se de uma proteína integral que promove um contratransporte entre o e o $Cl^-$. Não havendo transferência líquida de carga elétrica, pode-se afirmar que a troca é eletricamente neutra.

Assim como em outras células, observa-se uma diferença na concentração iônica no meio intracelular e extracelular em um eritrócito humano adulto: ocorre maior predominância do íon $K^+$ no meio intracelular quando comparado ao $Na^+$.Drabkin *et al*. (1950) publicou valores de concentrações iônicas médias em eritrócitos humanos presentes na circulação arterial de um adulto do sexo masculino em relação ao volume do eritrócito e em relação ao volume de água presente na célula. (Figura 10).Na Figura 10, também se pode observar valores relativos à concentração iônica plasmática em base de volume plasmático total e em base de água presente no plasma.

Figura 10 – Distribuição iônica no plasma e em um eritrócito humano adulto




Legenda: A – Concentração iônica no plasma arterial relativa ao volume plasmático. B – Concentração iônica no plasma arterial relativa ao volume de água presente. C – Concentração iônica no eritrócito humano adulto.D – Concentração iônica no eritrócito humano adulto relativo ao volume de água presente na célula. $X^-$ referem-se a outros ânions, tais como fosfatos orgânicos. $P^-$ refere-se às proteínas e $HbO_2$ a oxi-hemoglobina.
Fonte: DRABKIN *et al.*, 1950.

Funder e Weith (1966a,b) analisaram as concentrações em mEq por Kg do eritrócito e por Kg de água dos íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ no sangue venoso de indivíduos tanto do sexo masculino como feminino (Tabela 4). Utilizando a conversão de 1 Kg de eritrócito equivale a 0,91 L de eritrócito, pode-se obter a concentração em mEq/L de eritrócito(FUNDER; WEITH, 1966a).

Tabela 4 – Comparação da concentração iônica no meio intracelular e extracelular de um eritrócito humano adulto.

| **Íon** | **$Na^+$** | **$K^+$** | **$Cl^-$** |
|---|---|---|---|
| **Concentração intracelular (mEq/kg de eritrócito)** | 10,9 | 89,6 | 50,8 |
| **Concentração intracelular (mEq/kg de água)** | 16,6 | 134,6 | 76,2 |
| **Concentração extracelular (mEq/L de plasma)** | 138,4 | 3,7 | 105,0 |
| **Concentração extracelular (mEq/L de água)** | 151,6 | 4,1 | 115,1 |

Fonte: FUNDER; WEITH, 1966a,b

O metabolismo produtor de energia no eritrócito depende de um suprimento constante de glicose proveniente do plasma sanguíneo onde sua concentração é mantida em torno de 5 mM. A glicose entra no eritrócito por difusão facilitada através de um transportador específico, o GLUT1, em velocidade da ordem de $10^4$ maior que a velocidade de difusão não catalisada (NELSON; COX, 2006).

Além do trocador de ânions e do GLUT1, outros mecanismos de transporte de substratos se destacam na membrana plasmática de eritrócitos, tais como: $Na^+K^+$ATPase, cotransportador de $Na^+K^+2Cl^-$, cotransportador de $K^+Cl^-$, $Ca^{2+}$ATPase, aquaporinas, canal de $K^+$, canal de $Na^+$ e canal de $Cl^-$. Atribui-seà $Ca^{2+}$ATPase a manutenção da concentração de $Ca^{2+}$ intracelular abaixo da concentração do meio extracelular(FREEDMAN, 2001).

O valor do potencial de membrana de eritrócitos humanos em solução fisiológica foi estimado através de diversas técnicas, tais como: microeletrodos, sonda com corantes fluorescentes, medidas da distribuição de cloreto e íons lipofílicos radioativos. Na Tabela 5, podem-se observar valores de potencial de membrana em eritrócitos humanos.

Tabela 5 – Valores do potencial de membrana de eritrócitos humanos medidos por diferentes técnicas

| **Técnica utilizada** | **Potencial demembrana (mV)** |
|---|---|
| Microeletrodos | -8 a -14[a]<br>-8±0,21[b] |
| Sonda com Corante Fluorescente CC6 | -5 a -8[c] |
| Sonda com Corante FluorescenteDi-S-C3 | -9,0[c] |
| Sonda com Corante Fluorescente$DiBAC_4$ | -13,8± 5,6[d] |
| Sonda com Corante FluorescenteCCCP | -10,2 ± 2,1[d] |
| Distribuição de cloreto | -9,7[e]<br>-9,0[f]<br>-11,0[g] |
| Cátions lipofílicos | -8,4± 1,3[h] |

Legenda: CC6: 3,3'-dihexil-2,2'oxacarbocianina; Di-S-C3: 3,3'-dipropil-2,2'tiadicarbocianina iodeto; $DiBAC_4$: bis(1,3-ácido dibutilbarbitúrico) trimetil oxonol; CCCP: carbonilcianida-m-clorofenilhidrazona.
Fonte: [a]LASSEN; STEN-KNUDSEN, 1968. [b]JAY; BURTON, 1969. [c]HOFFMAN; LARIS, 1974. [d]MOERSDORF*et al*., 2013. [e]BEAUGE, 1975. [f]COTTERRELL; WHITTAM, 1971. [g]FREEDMAN, 2001. [h]CHENG*et al*., 1980

Para verificar a validade do cálculo do potencial de membrana utilizando a equação de Nernst para a distribuição do íon cloreto nos meios intracelular e extracelular, Cotterrell e Whittam (1971) checaram a distribuição passiva desse íon sob diversas condições de concentração de cloreto no meio extracelular e pH. Verificou-se que a permeabilidade do $Cl^-$ pela membrana plasmática é bem mais alta quando comparada à dos íons $K^+$ e $Na^+$.

De acordo com Bernhardt e Weiss (2003) e Freedman (2001), a permeabilidade da membrana plasmática ao $Cl^-$ é da magnitude de duas ordens de grandeza maior do que a permeabilidade ao $K^+$ e $Na^+$. Além disso, segundo os mesmos autores, a razão entre a permeabilidade do $K^+$ e a do $Na^+$ em um eritrócito é 1,5.

Beauge (1975) verificou que a concentração do $Na^+$ no meio intracelular não possui influência significativa no potencial de membrana do eritrócito.

Para análise do meio intracelular do eritrócito humano através de modelos implícitos, é necessário conhecer a constante dielétrica do meio citoplasmático. Através de um modelo analítico proposto por Prodan *et al*. em 1983, que leva em conta o espectro dielétrico total de células em suspensão, consistindo tanto da dispersão α de baixa frequência e da dispersão β de alta frequência, Di Biasio e Cametti (2010) analisaram a influência da D-glicose nos parâmetros elétricos dos eritrócitos humanos. Para concentrações fisiológicas normais de D-glicose, a constante dielétrica do citossol varia de 62 a 70, enquanto que a da membrana plasmática varia de 5,5 a 7,7.

Di Biasio e Cametti (2011) simularam o espectro dielétrico de um eritrócito humano e estimaram a constante dielétrica do meio externo, membrana plasmática e citossol através de um procedimento de ajuste exato baseado no método de Levenberg-Marquardt para função complexa, obtendo os valores de: 2,86 para constante dielétrica da membrana plasmática, 65,22 para a constante dielétrica do citossol e 75,40 para a constante dielétrica do meio externo.

O potencial *zeta* (ζ) de eritrócitos humanos foi estudado por Jan e Chien (1973). Os eritrócitos adicionados a uma solução salina de 0,15 M de NaCl contendo 0,5 g/ 100 mL de albumina sérica humana apresentaram potencial *zeta* igual a -15,0 mV.

Devido à presença do glicocálice na membrana externa de um eritrócito, a carga elétrica fixa na superfície externa da membrana plasmática encontra-se distribuída em uma camada com aproximadamente 6 nm de espessura dispersa sobre toda a área superficial da célula. Segundo Donath e Lerche (1980), a densidade superficial de carga corresponde a $1{,}8 \times 10^7$ cargas elementares por eritrócito.

## 1.8 Composição do meio extracelular

Como oseritrócitos são células sanguíneas, o meio extracelular em questão é o sangue. O sangue é o líquido contido num compartimento fechado, o aparelho circulatório, que o mantém em movimento regular e unidirecional, devido essencialmente às contrações rítmicas do coração.

A observação microscópica *in vivo* dos capilares mostra que o sangue é formado pelos glóbulos sanguíneos e pelo plasma, parte líquida, na qual os primeiros estão suspensos. Os glóbulos sanguíneos são os eritrócitos, as plaquetas (fragmentos do citoplasma dos megacariócitos da medula óssea) e diversos tipos de glóbulos brancos ou leucócitos(JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O valor de referência de eritrócitos em uma pessoa adulta varia em torno de 3,9 a 5 milhões de eritrócitos por $mm^3$. Já os leucócitos estão presentes em uma concentração de 3500 a 10500 por $mm^3$, enquanto que as plaquetas apresentam concentração normal em torno de 150000 a 450000 por $mm^3$(FEHER, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O plasma é uma solução contendo componentes de pequeno e de elevadamassa molar, que correspondem a 10% do seu volume. As proteínas plasmáticas correspondem a 7% e os sais orgânicos inorgânicos a 0,9%, sendo o restante formado por compostos orgânicos diversos, tais como aminoácidos, vitaminas, hormônios e glicose(FEHER, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As principais proteínas do plasma são as albuminas, alfa, beta e gamaglobulinas, as lipoproteínas e as proteínas que participam da coagulação do sangue, como protombina e fibrinogênio (FEHER, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A albumina sérica é a proteína mais abundante do plasma corresponde a mais de 50% de todas as proteínas plasmáticas. A concentração de albumina no plasma é em torno de 2,8 a 4,5 g de albumina por 100 mL de plasma(FEHER, 2012).

Conforme mostrado anteriormente o plasma sanguíneo possui mais íons $Na^+$ quando comparado ao meio intracelular (Tabela 4,Figura 10 e Tabela 6).

Os componentes de baixo peso molecular do plasma estão em equilíbrio, através das paredes de capilares e das vênulas, com o líquido intersticial dos tecidos. Por isso, a composição do plasma é um indicador da composição do líquido intersticial (Tabela 6).

Tabela 6 – Comparação da concentração de eletrólito no plasma e líquido intersticial

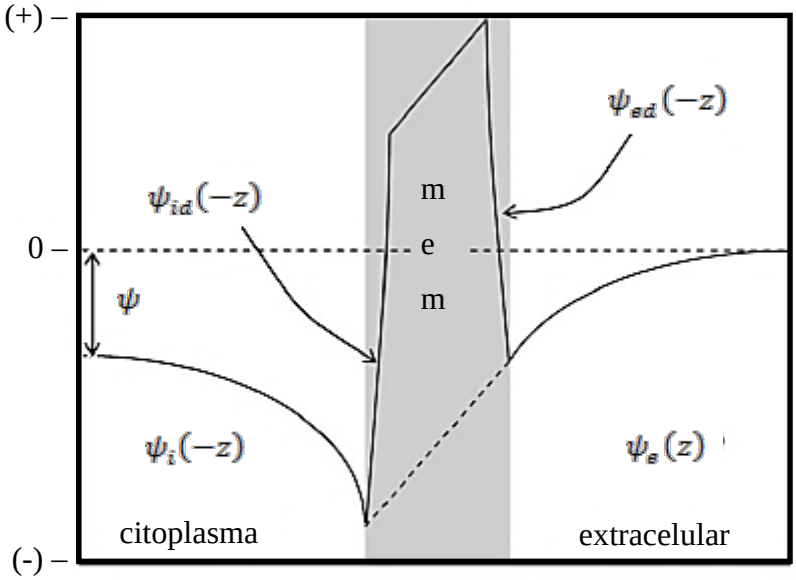
| Eletrólitos | Plasma (mEq/L) | Líquido intersticial (mEq/L) |
|---|---|---|
| $Na^+$ | 142 | 144 |
| $K^+$ | 4 | 4 |
| $Ca^{2+}$ | 5 | 2,4 |
| $Mg^{2+}$ | 3 | 1,5 |
| $H^+$ | $3,9x10^{-5}$ | $3,7x10^{-5}$ |
| $Cl^-$ | 105 | 114 |
| $HCO_3^-$ | 24 | 25 |
| Fosfatos | 2,5 | 2,5 |
| Sulfatos | 1 | 1 |
| Ácidos orgânicos | 5 | 5 |
| Proteínas | 16 | 4 |

Legenda: A concentração fornecida refere-se à concentração total e não a concentração de íons livres. No caso do $Ca^{2+}$, por exemplo, cerca da metade dos 5 mEq/L estão ligados a proteínas plasmáticas. Concentrações expressas por Lde plasma ou L de líquido intersticial.
Fonte: FEHER, 2012.

## 1.9 Potencial de membrana

Segundo Krysinski e Tien (1986), os vários tipos de potencial elétrico que estão associados a membranas biológicas podem ser divididos de diversas formas. De acordo com a localização, o perfil elétrico associado à membrana celular (potencial de membrana) é supostamente constituído de dois componentes principais: o potencial transmembrana e o potencial de fronteira (Figura 11). O potencial transmembrana é determinado pela diferença de concentração dos íons no meio intracelular e extracelular e desempenha um papel importante na regulação da função de proteínas de membrana, enquanto que o potencial de fronteira é usualmente medido na interface entre a membrana e a solução líquida adjacente (FARRELL; SHOPE; BROWNELL, 2006; HIANIK, 2008; LIN; BAKER; MCCAMMON, 2002; O'SHEA, 2004; PETERSON *et al.*, 2002).

Figura 11 – Esquema representativo dos tipos de potenciais de membrana de acordo com a localização




Legenda: o potencial de membrana é representado por ; é o potencial de dipolo da face citoplasmática, enquanto que é o potencial de dipolo da face exoplasmática; é o perfil de potencial do meio intracelular e refere-se ao meio extracelular. O potencial em refere-se ao potencial de superfície do lado citoplasmático, enquanto que em 0, tem-se o potencial de superfície da face exoplasmática.

Fonte: FARRELL; SHOPE; BROWNELL, 2006.

O potencial de fronteira é usualmente medido na interface água-lipídeo e possui dois componentes: o potencial de superfície (devido à carga de lipídeos e proteínas na superfície da membrana) e o potencial de dipolo. A origem deste último é atribuída à distribuição anisotrópica da orientação das cabeças dos grupamentos lipídicos e a “sobrecompensação” da resposta dipolar das moléculas de água recobrindo a membrana. Por conseguinte, o potencial dipolo ocupa as regiões na ou perto da superfície da membrana, mas também está localizado no interior, sendo geralmente considerado no interior da membrana. Seu valor é sempre positivo e possui valor em torno de 300 mV (FARRELL; SHOPE; BROWNELL, 2006; HIANIK, 2008; LIN; BAKER; MCCAMMON, 2002; O'SHEA, 2004; PETERSON *et al.*, 2002).

Do ponto de vista termodinâmico, há dois tipos de potenciais de membrana: o potencial de equilíbrio e o potencial de não equilíbrio.

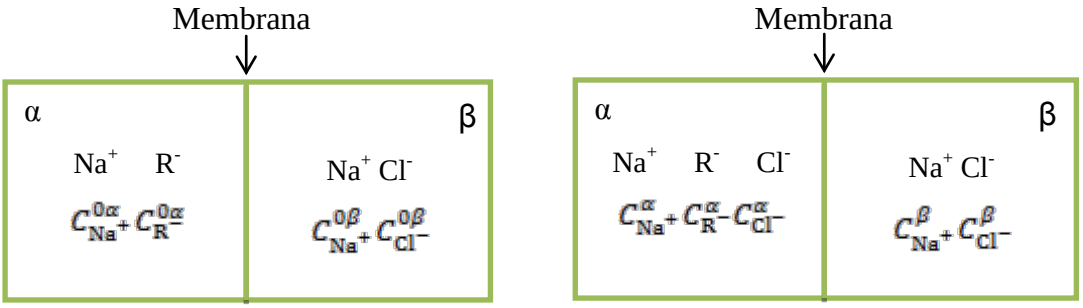
O potencial de equilíbrio engloba o potencial de Gibbs-Donnan e o potencial de superfície. Já o potencial de não equilíbrio esta associado à presença de uma força motriz, sendo descrito pela equação de Nernst-Planck.

### *1.9.1* Potencial de Gibbs-Donnan

Esse tipo de potencial ocorre quando um íon não permeável é desigualmente distribuído entre as duas soluções eletrolíticas separadas por uma membrana de permeabilidade seletiva, que permite a passagem de certos íons entre as duas soluções. A distribuição obedece à segunda lei da termodinâmica e ao princípio da eletroneutralidade (KRYSINSKI; TIEN, 1986).

Para ilustrar o potencial de Gibbs-Donnan, considera-se um sistema aquoso contendo três espécies iônicas: $Na^+$, $Cl^-$ e $R^-$, sendo $R^-$ um ânion muito maior que o $Cl^-$. Água está em excesso e todas as concentrações iônicas são pequenas. O sistema é divido em dois compartimentos (α e β) separados por uma membrana de permeabilidade seletiva, conforme mostrado na Figura 12. Esta membrana é permeável à água, $Na^+$ e $Cl^-$, mas impermeável ao ânion $R^-$.

Figura 12 – Esquema representando o equilíbrio de Donnan




A – Estado Inicial (não equilíbrio) B – Equilíbrio

Legenda: e referem-se às concentrações de $Na^+$ e $R^-$ no compartimento α no estado inicial (estado de não equilíbrio). e referem-se às concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ no compartimento β no estado inicial (estado de não equilíbrio). , e referem-se às concentrações de $Na^+$, $R^-$ e $Cl^-$ no compartimento α no equilíbrio. e referem-se às concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ no compartimento β no equilíbrio.

Inicialmente (antes de o equilíbrio ser estabelecido), o lado esquerdo (α) contém somente água e os íons $Na^+$ e $R^-$ em concentrações molares de e , respectivamente. O lado esquerdo contém apenas água e os íons $Na^+$ e $Cl^-$ em concentrações molares de e , respectivamente. O princípio da eletroneutralidade requer que:

$$C_{Na^+}^{0\alpha} = C_{R^-}^{0\alpha} \quad (45)$$

$$C_{Na^+}^{0\beta} = C_{Cl^-}^{0\beta} \quad (46)$$

Permitindo que o sistema analisado alcance o equilíbrio, como representado na Figura 12b, obtém-se uma variação igual a  na concentração de $Na^+$ presente em α. Como $R^-$ não pode se mover através da membrana, a mudança na concentração de $Cl^-$ em β é igual a  .

No equilíbrio obtém-se que as concentrações dos eletrólitos no compartimentoα são iguais a:

$$C_{Na^+}^{\alpha} = C_{Na^+}^{0\alpha} + \delta \quad (47)$$

$$C_{Cl^-}^{\alpha} = \delta \quad (48)$$

$$C_{R^-}^{\alpha} = C_{R^-}^{0\alpha} \quad (49)$$

E as concentrações no equilíbrio em β são iguais a:

$$C_{Na^+}^{\beta} = C_{Na^+}^{0\beta} - \delta \quad (50)$$

$$C_{Cl^-}^{\beta} = C_{Cl^-}^{0\beta} - \delta \quad (51)$$

$$C_{R^-}^{\beta} = 0 \quad (52)$$

Para obter a diferença de potencial entre as duas fases Prausnitz, Lichtenthaler e Azevedo (1999) abordam a igualdade de potencial químico do solvente entre os dois compartimentos, assim como a igualdade de potencial químico do sal entre os referidos compartimentos. Estes autores ressaltam que a igualdade do potencial químico referente aos íons é incorreta. Haynie (2008) defende a mesma abordagem. Porém, na literatura encontram-se controvérsias a respeito do assunto. Krysinski e Tien (1986), Sperelakis (2001) e Mafé,

Manzanares e Reiss (1993) relatam a igualdade de potencial químico da espécie iônica e não do sal.

Ambos os caminho convergem para uma equação que relaciona as concentrações de equilíbrio dos eletrólitos presentes em cada compartimento.

De acordo com a abordagem de Prausnitz, Lichtenthaler e Azevedo (1999), o potencial químico do solvente em cada um dois compartimentos é igual no equilíbrio, sendo:

$$\mu_s^{\alpha} = \mu_s^{\beta} \tag{53}$$

$$\mu_s^{\alpha} = \mu_s^{*} + P^{\alpha} v_s + RT \ln a_s^{\alpha} \tag{54}$$

$$\mu_s^{\beta} = \mu_s^{*} + P^{\beta} v_s + RT \ln a_s^{\beta} \tag{55}$$

Sendo o potencial químico do solvente no compartimento , é a pressão do sistema no compartimento , é o volume molar do solvente, é a atividade do solvente no compartimento e é o potencial químico de referência do solvente (líquido puro na temperatura do sistema e pressão zero).

Substituindo as Equações (54) e (55) na Equação (53), obtém-se:

$$\frac{RT}{v_s} \ln\left(\frac{a_s^{\beta}}{a_s^{\alpha}}\right) = P^{\alpha} - P^{\beta} = \pi \tag{56}$$

sendo a pressão osmótica.

Para o eletrólito, Prausnitz, Lichtenthaler e Azevedo (1999) consideram:

$$\mu_{\mathrm{NaCl}}^{\alpha} = \mu_{\mathrm{NaCl}}^{\beta} \tag{57}$$

Como o NaCl é totalmente dissociado em $Na^+$ e $Cl^-$, a Equação (57) pode ser escrita na forma:

$$\mu_{\mathrm{Na}^+}^{\alpha} + \mu_{\mathrm{Cl}^-}^{\alpha} = \mu_{\mathrm{Na}^+}^{\beta} + \mu_{\mathrm{Cl}^-}^{\beta} \tag{58}$$

$$P^{\alpha}(\bar{v}_{Na^+} + \bar{v}_{Cl^-}) + RT\ln\left(a^{\alpha}_{Na^+} a^{\alpha}_{Cl^-}\right) = P^{\beta}(\bar{v}_{Na^+} + \bar{v}_{Cl^-}) + RT\ln\left(a^{\beta}_{Na^+} a^{\beta}_{Cl^-}\right) \quad (59)$$

Sendo o volume parcial molar de quando todos os solutos estão em concentrações infinitamente baixas.

Reorganizando a Equação (59) para evidenciar a pressão osmótica, tem-se:

$$\pi = \frac{RT}{\bar{v}_{Na^+} + \bar{v}_{Cl^-}} \ln\left(\frac{a^{\beta}_{Na^+} a^{\beta}_{Cl^-}}{a^{\alpha}_{Na^+} a^{\alpha}_{Cl^-}}\right) \quad (60)$$

Igualando as Equações (56) e (60), tem-se:

$$\frac{a^{\beta}_{Na^+} a^{\beta}_{Cl^-}}{a^{\alpha}_{Na^+} a^{\alpha}_{Cl^-}} = \left(\frac{a^{\beta}_{s}}{a^{\alpha}_{s}}\right)^{\frac{\bar{v}_{Na^+} + \bar{v}_{Cl^-}}{v_s}} \quad (61)$$

Em uma solução muito diluída, $a^{\alpha}_{s} =$ e a atividade do soluto é igual a sua concentração molar, . A Equação (61), torna-se:

$$C^{\alpha}_{Na^+} C^{\alpha}_{Cl^-} = C^{\beta}_{Na^+} C^{\beta}_{Cl^-} \quad (62)$$

Pela definição de δ, a Equação (62) pode ser escrita na forma:

$$\left(C^{0\alpha}_{Na^+} + \delta\right)\delta = \left(C^{0\beta}_{Na^+} - \delta\right)^2 \quad (63)$$

Fornecendo:

$$\delta = \frac{\left(C^{0\beta}_{Na^+}\right)^2}{C^{0\alpha}_{Na^+} + 2C^{0\beta}_{Na^+}} \quad (64)$$

De acordo com a abordagem de Prausnitz, Lichtenthaler e Azevedo (1999), o potencial elétrico através da membrana pode ser calculado pela equação de Nernst:

$$\Delta\psi = \frac{RT}{N_A e z_{Na^+}} \ln \frac{a^{\beta}_{Na^+}}{a^{\alpha}_{Na^+}} = \frac{RT}{N_A e z_{Cl^-}} \ln \frac{a^{\beta}_{Cl^-}}{a^{\alpha}_{Cl^-}} \tag{65}$$

Considerando a atividade igual à concentração e utilizando a Equação (64), a equação de Nernst torna-se:

$$\Delta\psi = \frac{RT}{N_A e z_{Na^+}} \ln \frac{C^{0\alpha}_{Na^+}}{C^{0\alpha}_{Na^+} + C^{0\beta}_{Na^+}} \tag{66}$$

Expressando a equação de Nernst em função das concentrações dos eletrólitos $R^-$ no compartimento αe $Na^+$ no compartimento β (que é igual à concentração de $Cl^-$ em β), tem-se:

$$\Delta\psi = \frac{RT}{F z_{Na^+}} \ln \frac{-C^{\alpha}_{R^-} + \sqrt{(C^{\alpha}_{R^-})^2 + 4C^{\alpha}_{Na^+}}}{2C^{\alpha}_{Na^+}} \tag{67}$$

sendo  a constante de Faraday (  $F$).

Controversamente, Krysinski e Tien (1986) igualam o potencial químico dos íons e desprezam a pressão na expressão de potencial químico; considerando que o desenvolvimento de um diferencial de pressão não afeta significativamente a distribuição de soluto. Obtém-se:

$$\mu^{\alpha}_{Na^+} = \mu^{\beta}_{Na^+} \tag{68}$$

$$\mu^{\alpha}_{Cl^-} = \mu^{\beta}_{Cl^-} \tag{69}$$

$$RT \ln\left(a^{\alpha}_{Na^+}\right) + z_{Na^+} F\psi^{\alpha} = RT \ln\left(a^{\beta}_{Na^+}\right) + z_{Na^+} F\psi^{\beta} \tag{70}$$

$$RT \ln\left(a^{\alpha}_{Cl^-}\right) + z_{Cl^-} F\psi^{\alpha} = RT \ln\left(a^{\beta}_{Cl^-}\right) + z_{Cl^-} F\psi^{\beta} \tag{71}$$

sendo  o potencial elétrico no compartimento  .

Evidenciando a diferença de potencial e considerando a atividade igual à concentração, obtém-se a equação de Nernst.

Observa-se, portanto, que independentemente da abordagem utilizada, ambos os desenvolvimentos conduziram à diferença de potencial sendo calculado pela equação de Nernst.

Donnan (1925) realizou uma análise similar, porém partindo da equação da energia livre do sistema, sabendo que no equilíbrio o diferencial desta a pressão e temperatura constante é igual a zero. A partir desta análise, Donnan (1925) obteve a Equação (62) e utilizou a equação de Nernst para o cálculo da diferença de potencial.

### *1.9.2* Potencial de superfície

O potencial de superfície aparece na interface entre a membrana e a solução eletrolítica adjacente e é atribuído, principalmente,à presença de cargas fixas ou adsorvidas na membrana. Estas cargas fixas, que são originadas de grupos iônicos, fazem parte da estrutura da membrana. Conforme abordado anteriormente, os fosfolipídios e proteínas presentes na membrana contribuem para o potencial de superfície, assim como o glicocálice presente na face exoplasmática.

No caso de uma densidade superficial de carga pequena e soluções diluídas, a situação pode ser representada por duas camadas difusas (uma interna e outra externa), sendo eletricamente neutra como um todo. Se o potencial de dipolo for negligenciado, o perfil de potencial se torna análogo a uma interface entre dois líquidos imiscíveis (KRYSINSKI; TIEN, 1986).

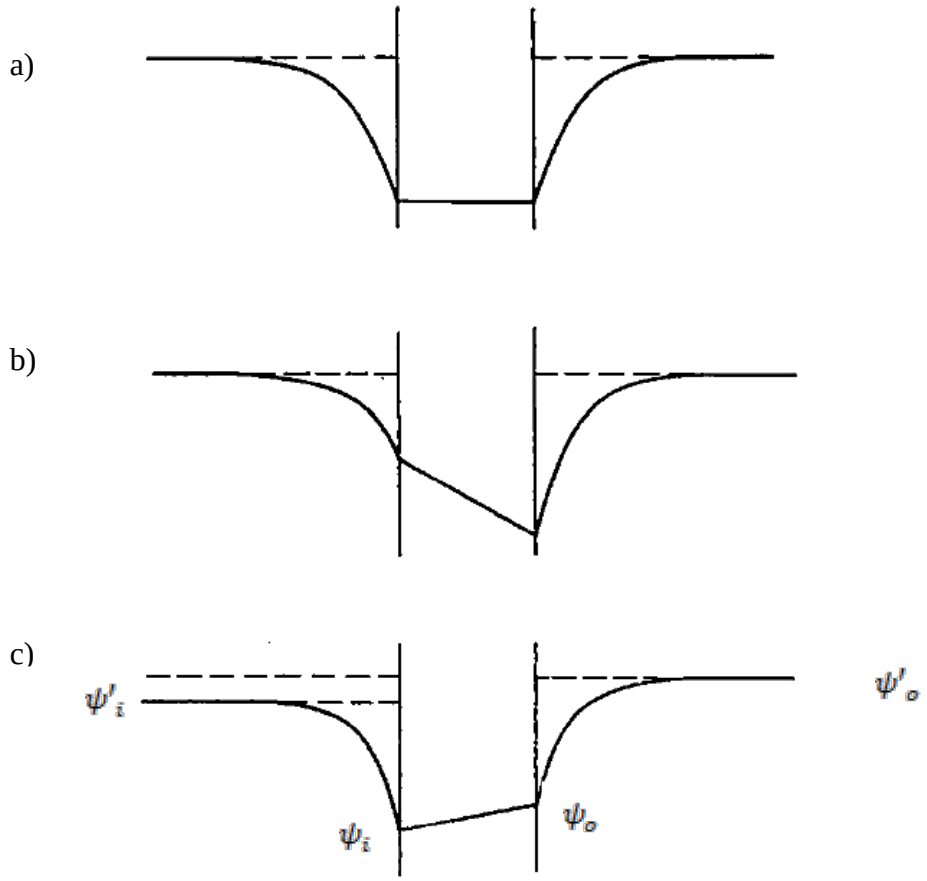
Segundo Goulden (1976), o perfil do potencial elétrico de uma membrana simétrica em contato com uma solução eletrolítica no equilíbrio pode ser representado pela Figura 13a. O potencial é reduzido a zero nos dos seios dos fluidos. Mesmo que a membrana possua uma distribuição de carga assimétrica entre as duas superfícies, não pode haver uma diferença líquida de potencial elétrico proveniente da carga nas superfícies nos dois seios dos fluidos (Figura 13b).

Esta mesma situação ocorre para uma membrana simétrica impermeável com adição de uma quantidade extra de eletrólito em um lado. Esta adição resultará em uma redução do

potencial de superfície da face da membrana onde o sal foi adicionado (GOULDEN, 1976; KRYSINSKI; TIEN, 1986).

Porém, uma diferença líquida de potencial elétrico pode existir no caso de uma membrana assimétrica semipermeável, na qual o potencial de Donnan pode ser sobreposto ao potencial de superfície (Figura 13c). Tal fato também é possível quando a membrana é permeável, porém há o não equilíbrio com gradiente de concentração através da membrana (GOULDEN, 1976; KRYSINSKI; TIEN, 1986).

Figura 13 – Perfil do potencial elétrico através da membrana




Legenda: a) membrana simétrica permeável; b) membrana assimétrica permeável; c) membrana assimétrica semipermeável. Na representação do perfil foi negligenciado o potencial de dipolo. Sendo e os potenciais de superfície em cada face da membrana e e os potenciais nos seios dos fluidos em cada lado da membrana.

Fonte: GOULDEN, 1976.

### *1.9.3* Potencial de não equilíbrio

Fenômenos termodinâmicos de não-equilíbrio ocorrem devido à presença de forças motrizes que promovem um desvio da condição de equilíbrio. Esses fenômenos são descritos, geralmente, por uma relação linear simples entre um fluxo de propriedade e sua correspondente força motriz que, em geral, são gradientes de algum potencial (concentração, potencial químico, temperatura, pressão, etc.). Exemplos de equações constitutivas que descrevem essa propriedade são: lei de Fourier, lei de Fick e lei de Ohm(KRYSINSKI; TIEN, 1986; MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Considerando a análise do gradiente eletroquímico em soluções eletrolíticas, o fluxo de íons nesta solução sujeita a um campo elétrico externo é dada pela equação de Nernst-Planck. Trata-se de uma equação da difusão de íons que descreve a conservação de cargas.

Assumindo o meio como contínuo e tratando o íon como um ponto de carga, a distribuição iônica pode ser representada pela equação de Nernst-Planck (ALIJÓ, 2012).

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \nabla \cdot \Gamma_i = g_i \tag{72}$$

Em que o primeiro termo à esquerda da igualdade diz respeito ao acúmulo de cargas, o segundo é o fluxo líquido de cargas através do volume de controle, enquanto  é a taxa de geração ou extinção de cargas devido a reações químicas.  é o vetor fluxo da espécie iônica , obtido a partir da lei de difusão de Fick, como segue:

$$\Gamma_i = -\frac{D_i}{k_B T} c_i \nabla \mu_i \tag{73}$$

em que  é o coeficiente de difusão e  é o potencial químico do íon .

Considerando  igual a zero e sistema estacionário e substituindo a Equação (12), que se refere ao potencial químico do íon , na Equação (73) e esta, por sua vez, na Equação (72) obtém-se:

$$\nabla \cdot [D_i \nabla c_i + m_i F z_i c_i \nabla \psi] = 0 \tag{74}$$

em que é a mobilidade do íon presente no sistema, sendo igual a:

$$m_i = \frac{D_i}{k_B T} \tag{75}$$

A fim de se encontrar o potencial de membrana, a partir da equação de Nernst-Planck, são comuns algumas simplificações e hipóteses, tais como (KRYSINSKI; TIEN, 1986):

a) Goldman propôs a linearização do gradiente de potencial através da membrana, considerando o gradiente de concentração como não linear. Após a aproximação de Goldman, pode-se integrar a equação resultante.Através do princípio da eletroneutralidade, pode-se correlacionar o fluxo de cada espécie iônica presente no sistema, obtendo-se a diferença de potencial em função das concentrações;
b) Assume-se condição de equilíbrio entre a interface da membrana com a solução eletrolítica adjacente, igualando os potenciais químicos na interface da membrana com o seio da fase fluida para cada lado desta.
c) Assume-se igual valor para o potencial químico de referência em cada lado do seio da fase fluida, assim como na interface com a membrana.

Dessa forma, obtém-se a equação de Goldman-Hodkin-Katz:

$$\Delta\psi = \frac{k_B T}{e} \frac{\sum_c P_c^* C_c^o + \sum_a P_a^* C_a^i}{\sum_c P_c^* C_c^i + \sum_a P_a^* C_a^o} \tag{76}$$

sendo que os subscritos e referentes, respectivamente, aos cátions e ânions presentes no sistema. Os sobrescritos e referem-se ao lado intracelular e extracelular, respectivamente e é o coeficiente de permeabilidade da espécie .

# 2 MÉTODOS NUMÉRICOS E MODELAGEM MATEMÁTICA

Na Seção 2.1, descreve-se o método numéricode aproximação paraboloide em elementos finitosem um sistema estacionário e unidimensional. Já na Seção 2.2é abordada a aplicação do método dos de aproximação paraboloide em elementos finitos à Equação de Poisson-Boltzmann. Outros métodos de resolução de equações diferenciais são comumente aplicados à resolução da equação de Poisson-Boltzmann, tais como método das diferenças finitas, método de diferenciação regressiva, volumes finitos e colocação ortogonal. Na Seção 2.3, aborda-se a função de regularização, que foi utilizada na modelagem de sistemas considerando o meio intracelular e extracelular simultaneamente para definições de densidade volumétrica de carga fixa, potencial não eletrostático, constante dielétrica e potencial . A Seção 2.4 descreve a função pulso utilizada na definição de densidade volumétrica de carga fixa nas interfaces da membrana celular. A Seção 2.5 apresenta as premissas gerais utilizadas na modelagem de um sistema contendo um eritrócito.

## 2.1 Métododе aproximação paraboloide em elementos finitos

O método de aproximação paraboloide em elementos finitosconsiste na divisão do domínio, no qual é definido o problema que se deseja modelar, em domínios menores. Em cada uma dessas subdivisões do domínio, as variáveis envolvidas no problema são aproximadas por meio da interpolação dos seus valores fixados no contorno. Obtém-se assim, um modelo matemático representado por um conjunto de equações cujas incógnitas são os valores destas mesmas variáveis nos contornos das várias subdivisões (nós dos elementos finitos) (PINTO; LAGE, 2001).

Como exemplo para a aplicação do método de aproximação paraboloide em elementos finitos para o caso unidimensional em estado estacionário, considera-se a equação geral:

$$\frac{d}{dx}\left(\Theta\frac{dy}{dx}\right)+S=0 \tag{77}$$

em que é a variável independente, é a variável dependente e é o termo fonte.

No desenvolvimento do método de aproximação paraboloide em elementos finitos, procuram-se aproximações polinomiais de segunda ordem para os subintervalos (elementos finitos) (PINTO; LAGE, 2001). Dessa forma, tem-se que:

$$y(x, a, b, c) = a + bx + cx^2 \tag{78}$$

$$y'(x, b, c) = b + 2cx \tag{79}$$

$$y''(x, c) = 2c \tag{80}$$

Para cada elemento , variando de 1 até (número de elementos finitos), há um conjunto de coeficientes ( $c$) referentes ao *spline* de segunda ordem.

De acordo com Pinto e Lage (2001), define-se como resíduo a função obtida quando se substitui a aproximação proposta na equação que se deseja resolver. Dessa forma, se a aproximação for exata, o resíduo é nulo nos pontos do intervalo considerado.

Dividindo o intervalo em elementos finitos, sendo a fronteira de cada elemento (varia de até , uma vez que se excetuam as fronteiras inicial e final) e utilizando a aproximação polinomial de segunda ordem, obtém-se parâmetros, sendo necessárias equações para resolver o sistema obtido, de forma a se obter uma única solução.

O sistema resíduo para uma equação diferencial de segunda ordem é composto pelas:

a) Condições de contorno substituídas da aproximação polinomial proposta, obtendo-se duas equações. Sendo as condições de contorno do tipo valor da variável definido como nas Equações(81) e (82), tem-se que as duas primeiras equações do sistema resíduo ( e ) são iguais as Equações (83) e (84).

$$y(x)|_{x=x_0} = y_0 \tag{81}$$

$$y(x)|_{x=x_f} = y_\infty \tag{82}$$

$$res_1 = y(x_0, a_1, b_1, c_1) - y|_{x=x_0} \tag{83}$$

$$res_2 = y(x_f, a_n, b_n, c_n) - y|_{x=x_f} \tag{84}$$

Se as condições de contorno forem do tipo valor da derivada definido, obtêm-se como e , as Equações (85) e (86).

$$res_1 = y'(x_0, b_1, c_1) - y'|_{x=x_0} = 0 \tag{85}$$

$$res_2 = y'(x_f, b_n, c_n) - y'|_{x=x_f} = 0 \tag{86}$$

b) Condições de continuidade do *spline*na fronteira dos elementos, obtendo-se equações. Para variando de 1 até , tem-se:

$$res_{2+i} = y(xm_i, a_i, b_i, c_i) - y(xm_{i+1}, a_{i+1}, b_{i+1}, c_{i+1}) \tag{87}$$

c) Condições de diferenciabilidade do *spline* na fronteira dos elementos, obtendo-se equações. Para variando de 1 até , tem-se:

$$res_{1+n+i} = y'(xm_i, b_i, c_i) - y'(xm_{i+1}, b_{i+1}, c_{i+1}) = 0 \tag{88}$$

d) Equações diferenciais substituídas pela aproximação polinomial em pontos de colocação no interior de cada subintervalo, obtendo-se equações. Adotou-se como ponto de colocação ( )o ponto médio do elemento. Dessa forma, há pontos de colocação.

Quando o termo fonte for não linear, o sistema algébrico a ser resolvido também é não linear. Uma estratégica utilizada para resolver o problema consiste na linearização do termo fonte em torno dovalor de no ponto de colocação do elemento finito considerado na iteração anterior ( ).

$$S = S_c y_c + S_p \tag{89}$$

Sendo e coeficientes dependentes dos valores da propriedade na iteração anterior. Essa linearização será tratada mais detalhadamente na Seção 2.2, onde o método é aplicado à equação de Poisson-Boltzmann.

Assim, a solução desse sistema deve ser iterativa, ou seja, o sistema linearizado é resolvido a cada iteração e a solução do sistema não linear é obtida após a convergência das soluções dos sistemas lineares em iterações consecutivas (LIMA, 2008; PINTO; LAGE, 2001).

Vale ressaltar que o sistema linear obtido caracteriza-se como um sistema esparso. Como estratégia para resolução, optou-se por ordenar as equações de forma a se obter sistema banda composto pela diagonal principal mais três diagonais imediatamente superiores a esta e duas diagonais imediatamente inferiores a diagonal principal.

Nessa estrutura, a primeira equação caracteriza-se pela equação diferencial substituída pela aproximação polinomial em ; a segunda equação refere-se à primeira equação de contorno; posteriormente vêm as equações de continuidade e diferenciabilidade em e , seguida pela equação diferencial em . Essa sequencia de equação de continuidade seguida pela equação de diferenciabilidade e equação diferencial repete-se até o ponto . A penúltima equação consiste na equação diferencial substituída pela aproximação polinomial em e a última equação é a segunda condição de contorno.

O método utilizado para resolver o sistema algébrico linear obtido caracteriza-se por um método modificado de Thomas para resolução de sistemas heptadiagonais, que pode ser observado no Apêndice C.

## 2.2 Aplicação do método de aproximação paraboloide em elementos finitosà equação de Poisson-Boltzmann

A equação de Poisson-Boltzmann é uma equação diferencial parcial elíptica de segunda ordem. Em uma equação elíptica, qualquer alteração em um determinado ponto do domínio afeta as regiões adjacentes em cada dimensão.

Tornando a considerar a equação de Poisson-Boltzmann em sua forma adimensional definida nas Seções 1.4 e 1.5 e comparando-a com a Equação (77), podem-se identificar os termos e correspondentes. A Tabela 7apresenta tais termos obtidos mediante a aplicação do método de aproximação paraboloide em elementos finitosà resolução numérica da equação de Poisson-Boltzmann, nas geometrias retangulares e esféricas, ambas unidimensionais. Nota-se que o termo corresponde ao lado direito da equação de Poisson-Boltzmann com o sinal invertido, enquanto que o termo origina-se do Laplaciano e da constante dielétrica normalizada, expresso no sistema de coordenadas considerado.

NaTabela 7, refere-se ao potencial nãoeletrostático adimensional do íon , apresentadona Seção 1.5.

Tabela 7 – Coeficientes do método de aproximação paraboloide em elementos finitos aplicado à equação de Poisson-Boltzmann em diferentes sistemas de coordenadas, com ou sem a inclusão de potenciais não eletrostáticos ( )

| **Coordenadas** | **Variáveis independentes** | $\boldsymbol{\Theta}$ | $\boldsymbol{S}$ |
|---|---|---|---|
| Retangulares | $x$ | $\bar{\varepsilon}$ | $\frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \bar{\rho}_f$ |
| Esféricas | $r$ | $\bar{\varepsilon} r^2$ | $r^2 \left( \frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \bar{\rho}_f \right)$ |
| Retangulares com | $x$ | $\bar{\varepsilon}$ | $\frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp\left(-z_i y - \sum_j u_{i,j}\right)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \bar{\rho}_f$ |
| Esféricas com | $r$ | $\bar{\varepsilon} r^2$ | $r^2 \left( \frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp\left(-z_i y - \sum_j u_{i,j}\right)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \right.$ |

Durante o procedimento de resolução do sistema algébrico não-linear resultante, a linearização iterativa do termo fonte em torno de um ponto da iteração anterior ( ) resulta na Equação (89). Neste caso, os coeficientes e podem ser obtidos considerando os dois primeiros termos da expansão em série de Taylor do lado direito da equação de Poisson-Boltzmann em torno de . Assim, para coordenadas retangulares, tem-se:

$$S \cong \frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^*)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} - \frac{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^*)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} (y_c - y_c^*) + \bar{\rho}_f \tag{90}$$

Logo,

$$S_c = -\frac{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^*)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} \tag{91}$$

$$S_p = \frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^*)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \frac{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^*)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} y_c^* + \bar{\rho}_f \tag{92}$$

Para a equação de Poisson-Boltzmann modificada pela inclusão de potencias não eletrostáticos, em coordenadas retangulares, seguindo o mesmo procedimento, tem-se:

$$S_c = -\frac{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^* - u_i)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} \tag{93}$$

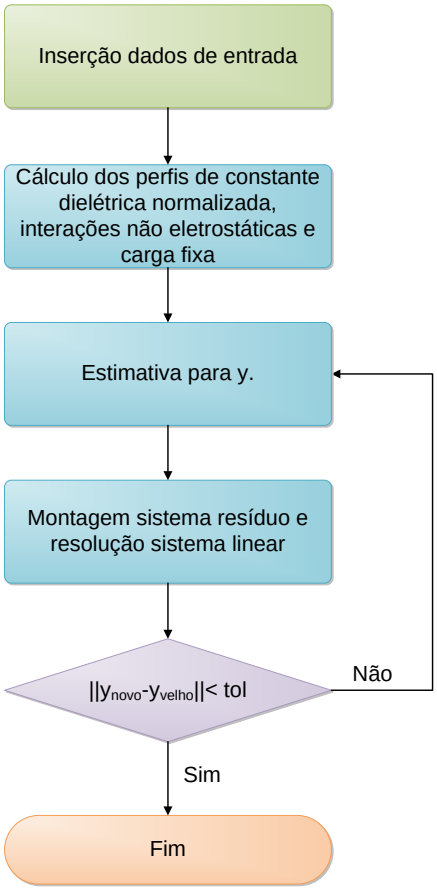
$$S_p = \frac{\sum_i z_i c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^* - u_i)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} + \frac{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty} \exp(-z_i y_c^* - u_i)}{\sum_i z_i^2 c_{i,\infty}} y_c^* + \bar{\rho}_f \tag{94}$$

Para coordenadas esféricas, o processo de linearização ocorre da mesma forma.

Uma vez obtidos os coeficientes e , utiliza-se o procedimento descrito na Seção 2.1 para construir o sistema resíduo que pode ser resolvido através de um método modificado para resolução de sistemas heptadiagonais (Apêndice C). Cada coeficiente da matriz é obtido em função do valor do potencial eletrostático adimensional obtido na iteração anterior. Esse procedimento é repetido iterativamente, até que a convergência seja atingida. A solução deste

sistema, após a convergência do método, corresponde à solução da equação não-linear de Poisson-Boltzmann (Figura 14).

Figura 14 – Algoritmo Simplificado




## 2.3 Função de regularização

No decorrer das simulações envolvendo simultaneamente os meios intracelular e extracelular, por vezes é necessário expressar uma variação brusca de uma determinada propriedade entre os dois meios em questão, tais como: constante dielétrica, interações não eletrostáticas (devido à variação do parâmetro de dispersão entre os dois meios) e carga fixa.Utilizaram-se funções de regularização com esta finalidade, de forma a garantir a continuidade eeliminar possíveis problemas numéricos.

Funções de regularização são usadas para unir duas funções distintas de uma mesma variável, quando se deseja utilizar uma equação para um intervalo da variável e outra para

outro intervalo, de forma a gerar uma função contínua em todo o intervalo da referida variável (FREITAS, 2012).

A função de regularização utilizada nesta dissertação consiste na função tangente hiperbólica. Sejam duas funções genéricas e de tal forma que:

$$f(x) = \begin{cases} g(x), & para\ x \leq x^* \\ h(x), & para\ x > x^* \end{cases} \tag{95}$$

A função é descontínua. Para transformá-la em uma função contínua , realiza-se o seguinte equacionamento:

$$F(x) = v(x)h(x) + [1 - v(x)]g(x) \tag{96}$$

sendo:

$$v(x) = \frac{1 + \tanh\left(\frac{x - x^*}{\eta}\right)}{2} \tag{97}$$

O parâmetro relaciona-se à suavidade da curva. Altos valores de geram curvas mais suaves, enquanto que baixos valores geram curvas mais bruscas.

## 2.4 Função pulso

Para representação de carga fixa concentrada em determinadas pontos, utilizou-se a distribuição normal de Gauss a fim de se obter uma função pulso. Essa situação pode ser exemplificada pela presença de cargas fixas nas superfícies da membrana plasmática.

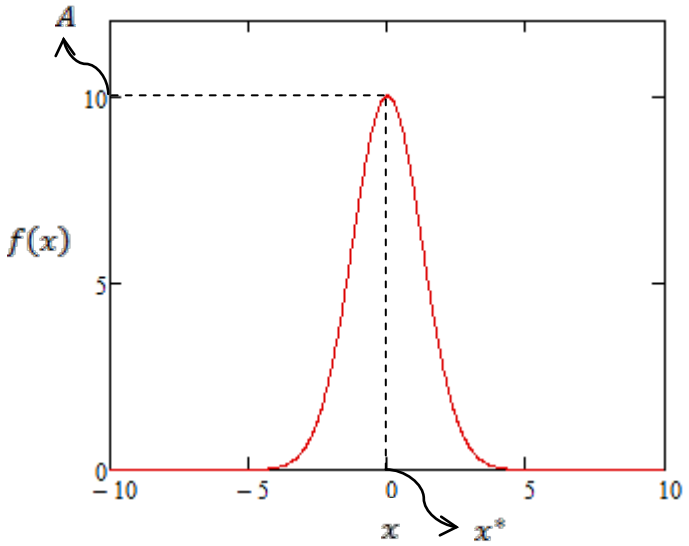
A distribuição Gaussiana (Figura 15) é uma curva simétrica em relação a um valor médio , apresentando dois pontos de inflexão (um à direita e outro a esquerda de ).

A função de Gauss pode ser representada por:

$$f(x) = A \exp\left\{\frac{-[(x - x^*)\eta']^2}{2}\right\} \tag{98}$$

em que é o ponto máximo ou mínimo da função, é o ponto médio e é um parâmetro que determina a largura do pico. Quanto maior , mais estreito será o pulso e quanto menor, mais largo.

Figura 15 – Distribuição Gaussiana




Legenda: refere-se ao ponto médio, onde ocorre o pico de maior magnitude ( ).

## 2.5 Modelagem do sistema contendo um eritrócito

As principais premissas adotadas na modelagem do sistemacontendo um eritrócito envolvem:

a) Consideração da temperatura do sistema sendo igual a 310,15 K (temperatura corpórea);
b) Eritrócito sendo considerado como uma esfera com raio equivalente igual a 2,673 μm;
c) Espessura da membrana plasmática mais glicocálice sendo igual a 10 nm;

d) Constante dielétrica do meio intracelular igual a 65,22, estando de acordo com as simulações do espectro dielétrico realizadas por Di Biasio e Cametti (2011);

e) Constante dielétrica do meio extracelular igual a da água na temperatura do sistema, uma vez que a composição do plasma é mais do que 90% em massa de água;

f) Glóbulos sanguíneos localizados a uma distância suficientemente grande entre si;

g) Não consideração da presença de proteínas, tais como alumina e globulinas, no meio extracelular;

h) Presença apenas dos íons móveis $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$, negligenciando-se os outros. As concentrações adotadas no seio da fase fluida para cada meio (intracelular e extracelular) podem ser observadas naTabela 8.As concentrações de sódio e potássio nos meios intracelulare extracelular, assim como a de cloreto no meio intracelular, estão de acordo com os dados obtidos por Funder e Wieth (1966a, b) expressos anteriormente na Tabela 4. Para a conversão de mEq/Kg $H_2O$ para mEq/L $H_2O$ utilizou-se a massa específica da água na temperatura de 310,15 K que é igual a 0,9933 Kg/L (ISRAELACHVILI, 2011). A concentração de cloreto no meio extracelular foi obtida através do princípio de eletroneutralidade. Uma vez que se considerou a presença apenas do ânion cloreto no meio extracelular, a concentração deste é igual ao somatório dos cátions presentes no meio extracelular.

Tabela 8 –Concentrações dos eletrólitos $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ consideradas na simulação do sistema contendo um eritrócito

| **Íons** | **Concentração no meio intracelular (mEq/L $H_2O$)** | **Concentração no meio extracelular (mEq/L $H_2O$)** |
|---|---|---|
| $Na^+$ | 16,5 | 151,6 |
| $K^+$ | 133,7 | 4,1 |
| $Cl^-$ | 75,7 | 155,7 |

i) Concentração equivalente de proteínas no meio intracelular igual a 74,5mEq/L, sendo inserida no equacionamento através de uma carga fixa constante. Esse

valor foi obtido com base no princípio da eletroneutralidade no meio intracelular. Nas análises simultâneas do meio intracelular com o meio extracelular utilizou-se uma função de regularização entre os meios;

j) Consideração da membrana celular como uma placa plana para o cálculo das interações de dispersão entre íons e membrana celular (raio do íon é muito menor do que o raio da célula). Utilizou-se a Equação (6) apresentada na Seção 1.2.1;

k) Consideração de uma distância fixa entre íons e proteínas presentes no citoplasma. Conforme mencionado na Seção 1.7.2, 98% em massa das proteínas presentes no eritrócito referem-se à hemoglobina e de acordo com Ponder (1948 *apud* FREEDMAN, 2001), no interior dos eritrócitos, a hemoglobina se encontra empacotada com uma distância média entre a superfície das proteínas vizinhas de aproximadamente 20 Å. Dessa forma, foi considerada uma distância média entre os íons e a proteína igual a 5Å. Assim, considera-se então que as proteínas estão uniformemente distribuídas dentro da célula e que 5Å seria a distância média representativa entre íons e proteínas.

l) Presença de canais iônicos não específicos na membrana celular, de forma que não haja uma resistência cinética ao transporte iônico e preferência ao transporte de determinado íon.

Como mencionado na Seção 1.5, outros potenciais podem ser adicionados na distribuição de Boltzmann modificada. Para análise do meio intracelular simultaneamente com o extracelular considerou-se a adição do potencial que inclui a diferenças entre os potencias químicos de referência entre os dois meios (intracelular e extracelular) e presença de transportadores ativos na membrana plasmática.

Dessa forma a distribuição de Boltzmann modificada assume a forma:

$$c_i = c_{i,\infty} \exp\left(-\frac{z_i e\psi + \sum_j U_{i,j} + \beta_i}{k_B T}\right) \tag{99}$$

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, os resultados obtidos na presente dissertação são apresentados. Os resultados estão agrupados de acordo com a análise realizada em cada seção. Todos foram obtidos a partir do programa computacional desenvolvido em linguagem Fortran, o qual utiliza o método de aproximação paraboloide em elementos finitospara resolver a equação de Poisson-Boltzmann clássica e modificada.

A Seção3.1 analisa a validação do método de aproximação paraboloide em elementos finitos para resolução da equação de Poisson-Boltzmann unidimensional. A resolução obtida pelo referido método em um sistema com coordenadas cartesianas e na ausência de carga fixa é comparada a solução analítica. Nesta seção a solução da equação de Poisson-Boltzmann em coordenadas cartesianas também é comparada com a solução em coordenadas esféricas.

A Seção 3.2 analisa o impacto do parâmetro da função de regularização (relativo à suavização) da densidade volumétrica de carga fixa nos perfis de potencial eletrostático e de concentração de cargas móveis. Analisa também o impacto na não uniformidade da constante dielétrica na solução da equação de Poisson-Boltzmann.

A Seção 3.3 estuda o potencial de Gibbs-Donnan e o compara ao potencial obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann em um sistema formado por dois compartimentos interligados por uma membrana de permeabilidade seletiva na presença de carga fixa.

Os parâmetros de dispersão referentes aos potenciais não eletrostáticos presentes no eritrócito são calculados na Seção 3.4.

Por fim, a Seção 3.5aplica a equação de Poisson-Boltzmann ao sistema contendo um eritrócito.

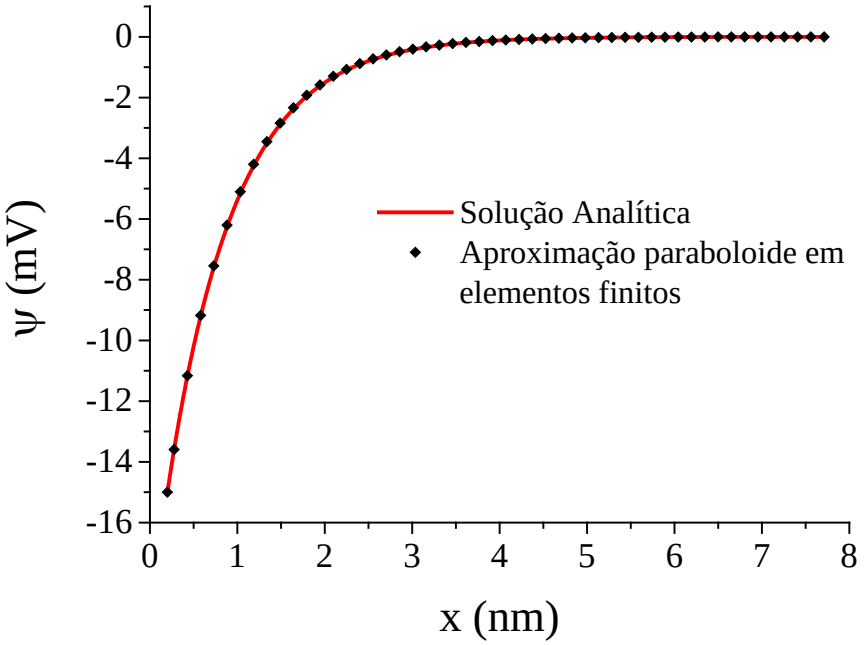
## 3.1 Análise do método de aproximação paraboloide em elementos finitos na resolução da equação de Poisson-Boltzmann

Visando a validação do método de aproximação paraboloide em elementos finitos, este foi comparado à solução analítica obtida na abordagem de Gouy-Chapman (coordenadas cartesianas), sem incluir o potencial não eletrostático.

Este é um problema clássico, unidimensional, para uma única placa, com o potencial especificado ( $\psi(x = 2\text{Å}) = -1$), sendo o sistema aquoso com eletrólitos simétricos *z:z* a uma concentração no seio da fase fluida igual a 150,0 mM e temperatura igual a 310,15 K (Figura 16). A constante dielétrica do meio corresponde à da água na referida temperatura ( $\varepsilon$ =). Em relação ao domínio da variável independente, este compreende de $2x10^{-10}$m até 10 m.

Na Figura 16, pode-se observar que a solução apresentada pelo método de aproximação paraboloide em elementos finitos, utilizando 50 elementos finitos, é satisfatória quando comparada à solução analítica.

Figura 16 – Validação método de aproximação paraboloide em elementos finitosem coordenadas cartesianas



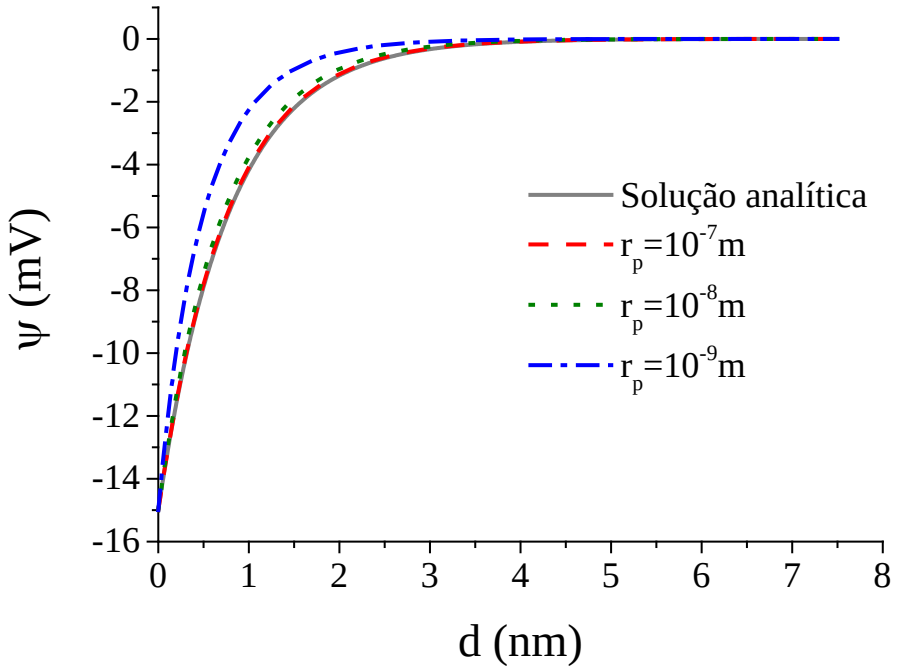

Legenda: Os principais dados do sistema são: $2\text{Å}) = -15{,}0\ mV$ , $150{,}0\ mM$ , $0{,}15\ K$ e ,16 .

Em coordenadas esféricas, quando o raio de uma partícula carregada em uma solução eletrolítica é grande o suficiente, a solução tende a se aproximar da solução em coordenadas cartesianas. Dessa forma, foi avaliada a solução para coordenadas esféricas considerando três

diferentes raios de partículas, nas mesmas condições do sistema anterior (Figura 17).O domínio da variável independente ( ) corresponde a 0 m até m. Foram utilizados 50 elementos finitos na resolução numérica.

De acordo com a Figura 17, para partículas carregadas com raio da ordem de $10^{-7}$m ou maior, verifica-se concordância com a solução analítica em coordenadas retangulares na presença de uma placa plana carregada.

Figura 17 – Comparação da solução numérica por aproximação paraboloide em elementos finitos em coordenadas esféricas com a solução analítica em coordenadas cartesianas

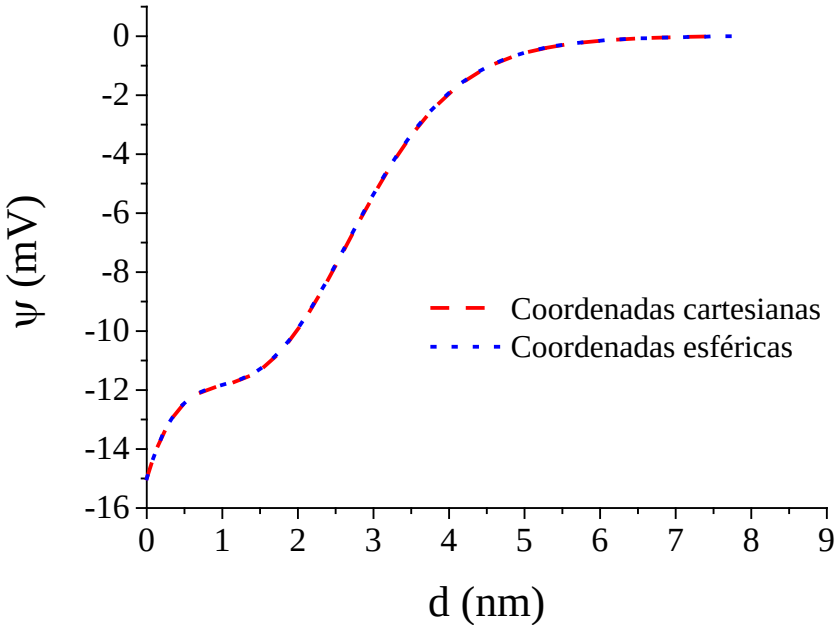



Legenda: Os principais dados do sistema são: $0) = -15{,}0\ mV$ , $50{,}0\ mM$ , $0{,}15\ K$ e ,16 . refere-se ao raio da partícula carregada e é a distância a partir de , em que é o raio do íon. A solução analítica foi obtida considerando coordenadas cartesianas e a presença de uma superfície plana.

Compararam-se também as soluções entre as coordenadas cartesianas e esféricas (com igual a $10^{-7}$m) nas mesmas condições anteriores, porém com um pico de carga fixa em $d =$ de densidade volumétrica de carga mínima igual a $-1{,}5 \times 10^{-}$, a fim de avaliar o comportamento do perfil de potencial eletrostático das duas situações quando na presença de uma perturbação. Na Figura 18, pode-se observar concordância entre as soluções

mesmo na presença da perturbação.O domínio da variável independente ( ) corresponde a 0 m até m. Foram utilizados 50 elementos finitos na resolução numérica.

Figura 18 – Comparação da solução numérica por aproximação paraboloide em elementos finitos em coordenadas esféricas e cartesianas na presença de carga fixa




Legenda: Os principais dados do sistema são: $0) = -15{,}0\ mV$ , $150{,}0\ mM$ , $0{,}15\ K$ e $,16$ . é a distância a partir , em que é o raio do íon e é o raio da partícula carregada no caso das coordenadas esféricas e espessura da placa plano no caso das coordenadas cartesianas. O pico de carga fixa localiza-se em $5\ nm$ , sendo intensidade mínima de densidade volumétrica de carga igual a : $10^{-7} C/m^3$ .

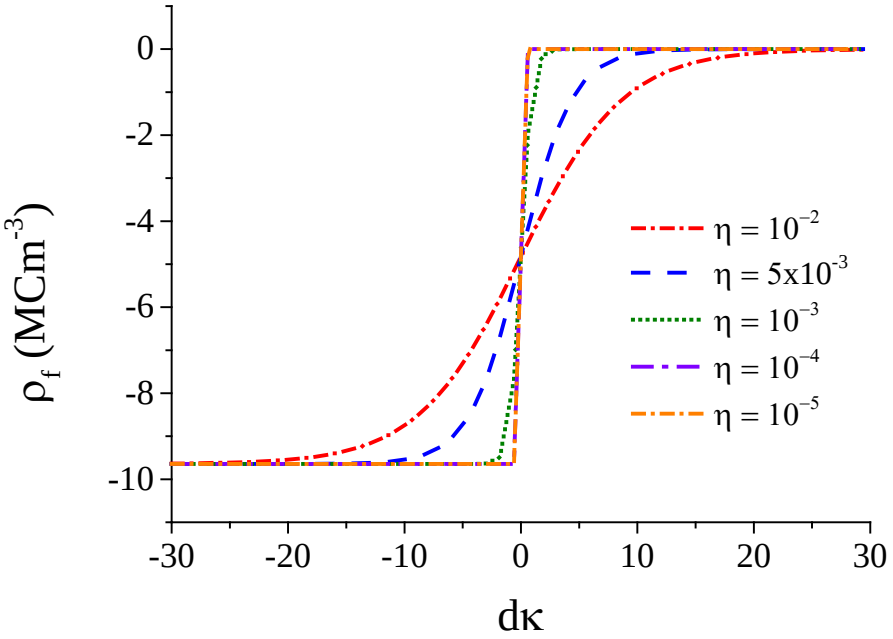
## 3.2 Análise da função de regularização

A suavização das funções de regularização, como dito anteriormente, é determinada pelo valor do parâmetro . Esta seção visa analisar o impacto do valor deste parâmetro em sistemas nos quais a função de regularização é utilizada para definir a carga fixa. Em relação à constante dielétrica, foi analisada a solução da equação de Poisson-Boltzmann com uma função de regularização e sem o uso desta (constante dielétrica uniforme). A constante dielétrica é dita uniforme quando tem o mesmo valor em qualquer posição do espaço.

O sistema analisado consiste em dois compartimentos separados por uma membrana de permeabilidade seletiva não carregada em um meio aquoso na presença de NaCl a temperatura de 310,15 K. A constante dielétrica do meio é igual a 74,16. Em um dos compartimentos há uma concentração equivalente constante de proteína (com carga líquida negativa) igual a 100 mEq/L, enquanto que no outro compartimento a concentração no seio da fase fluida é igual a 70 mM de $Na^+$ e 70 mM de $Cl^-$. Avaliaram-se as modificações no parâmetro para definir o perfil de densidade volumétrica de carga fixa. Foram adotados os valores de $10^{-2}$, $5x10^{-3}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$ e $10^{-5}$. O domínio da variável independente varia de –até + a partir de (localização da membrana). O número de elementos finitos utilizados equivale a 300 (proporcional ao domínio da variável independente em função de ).

Na Figura 19, pode-se observar que quanto maior o valor de , mais suave é a curva de densidade volumétrica de carga fixa. A função com os valores de iguais a $10^{-4}$e $10^{-5}$não apresentam diferenças significativas entre si.

Figura 19 – Influência do valor do parâmetro na função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa

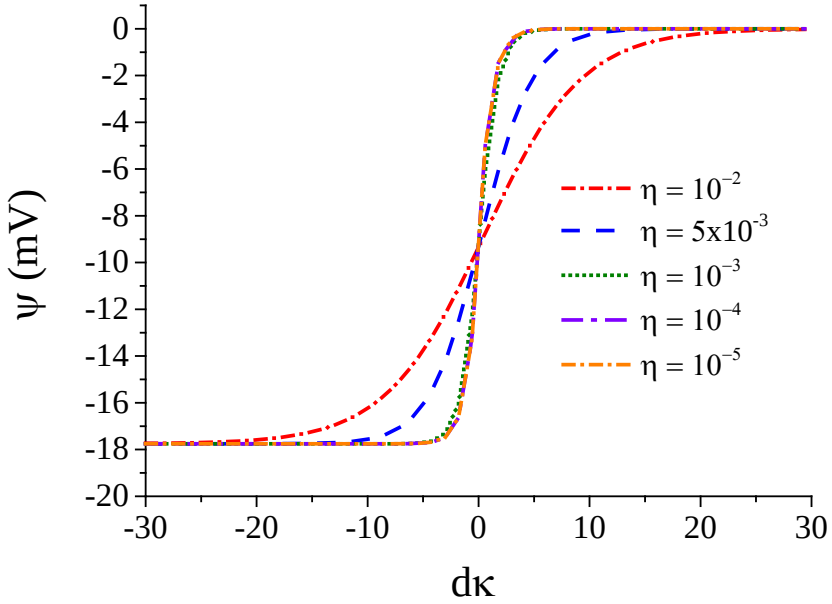



Legenda: refere-se a distância adimensional a partir da membrana; logo, a membrana está localizada em igual a zero.$\rho_f$ refere-se à densidade volumétrica de carga fixa.

Na Figura 20, pode-se observar o impacto do parâmetro da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no potencial eletrostático. Para valores de iguais a $10^{-3}$, $10^{-4}$ e $10^{-5}$o valor do potencial eletrostático é muito similar, refletindo o observado na Figura 19.

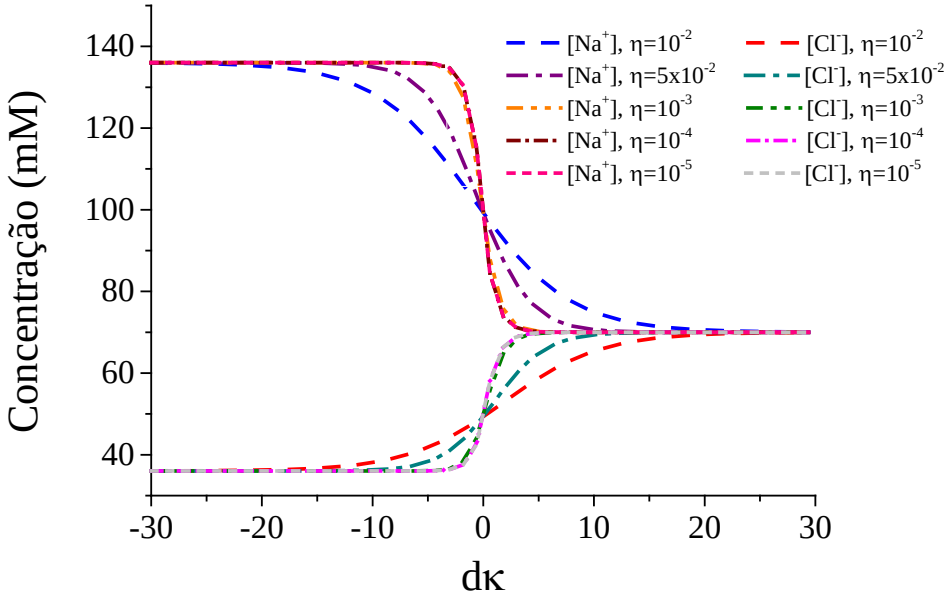
Na Figura 21, é apresentado o perfil de concentração dos íons $Na^{+}$ e $Cl^{-}$ encontrado na resolução de Poisson-Boltzmann utilizando diferentes valores do parâmetro da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no potencial eletrostático. O impacto é o mesmo observado no potencial eletrostático (com valores de iguais a $10^{-3}$, $10^{-4}$ e $10^{-5}$, o perfil de concentração apresenta similaridade). Para maiores valores de , a faixa de transição entre as concentrações do seio da fase fluida de cada compartimento é maior, refletindo a maior suavidade da curva de densidade volumétrica de carga fixa.

Figura 20 – Impacto do valor do parâmetro da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no perfil de potencial eletrostático




Legenda: refere-se a distância adimensional a partir da membrana. O compartimento da esquerda possui uma concentração equivalente de proteína igual a 100 mEq/L e concentrações de $Na^{+}$ e $Cl^{-}$ respetivamente iguais a 136,02 mM e 36,02 mM no seio da fase fluida, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 70 mM de $Na^{+}$ e 70 mM de $Cl^{-}$. $0{,}15\,K$ e $16$ .

Figura 21 – Impacto do valor do parâmetro  da função de regularização da densidade volumétrica de carga fixa no perfil de concentração dos íons $Na^+$ e $Cl^-$

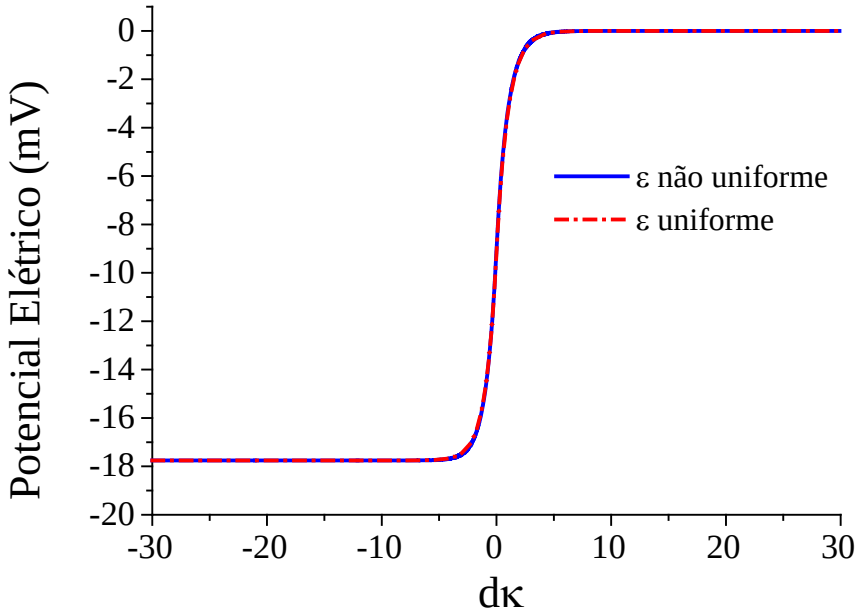



Legenda: Dados do sistema iguais ao da Figura 20.

Por meio da análise dos meios separados por uma membrana semipermeável, com concentrações do seio da fase fluida dos dois compartimentos iguais ao caso anterior, verificou-se o impacto no perfil de potencial eletrostático da uniformidade ou não da constante dielétrica. Na não uniformidade, a função da constante dielétrica foi tratada por meio de uma função de regularização com  igual a $10^{-3}$, com constante dielétrica igual a 74,16 no extremo à direita e 65,22 no extremo à esquerda. A temperatura do sistema em ambos os casos é de 310,15 K.

AFigura 22 apresenta uma comparação entre os perfis de potencial eletrostático considerando a constante dielétrica uniforme e não uniforme. Verifica-se que há uma grande similaridade no perfil de potencial eletrostático com constante dielétrica uniforme e constante dielétrica não uniforme.

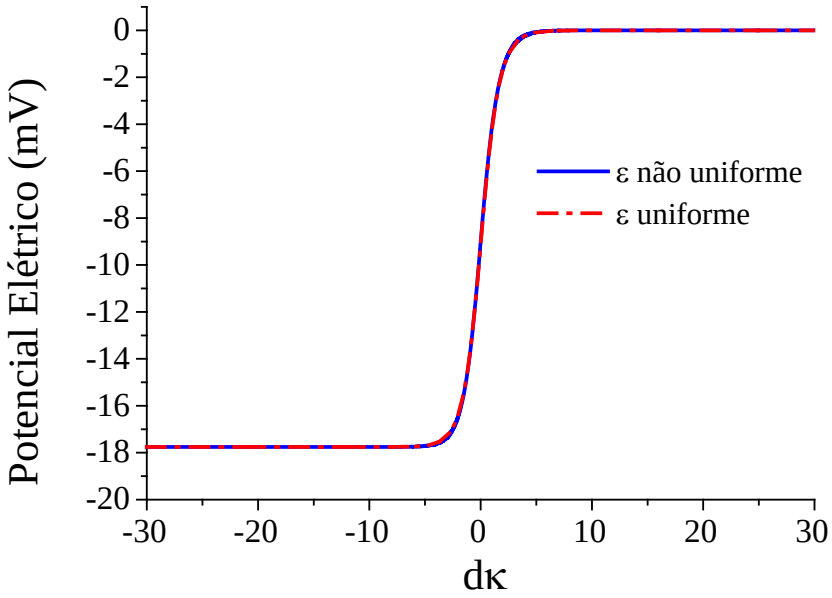
Figura 22 – Comparação do perfil de potencial eletrostático com constante dielétrica uniforme e não uniforme em coordenadas retangulares




Legenda: refere-se a distância adimensional a partir da membrana. O compartimento da esquerda possui uma concentração equivalente de proteína (com carga líquida negativa) igual a 100 mEq/L e concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ respetivamente iguais a 136,02 mM e 36,02 mM no seio da fase fluida, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 70 mM de $Na^+$ e 70 mM de $Cl^-$. $0{,}15\,K$ ; constante dielétrica do sistema uniforme igual a 74,16 e no sistema não uniforme: constante dielétrica igual a 74,16 no extremo a direita e 65,22 no extremo a esquerda.

Esta situação também foi analisada em coordenadas esféricas, apresentando resultado semelhante. Considerou-se o raio da célula igual a 100 nm (Figura 23).

Figura 23 – Comparação do perfil de potencial eletrostático com constante dielétrica uniforme e não uniforme em coordenadas esféricas




Legenda: refere-se a distância adimensional a partir da membrana.O compartimento da esquerda possui uma concentração equivalente de proteína (com carga líquida negativa) igual a 100 mEq/L e concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ respetivamente iguais a 136,02 mM e 36,02 mM no seio da fase fluida, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 70 mM de $Na^+$ e 70 mM de $Cl^-$. $0{,}15\,K$ ; constante dielétrica do sistema uniforme igual a 74,16 e no sistema não uniforme: constante dielétrica igual a 74,16 no extremo a direita e 65,22 no extremo a esquerda. Raio da célula igual a 100 nm.

Verifica-se, portanto, que o valor do parâmetro referente à densidade volumétrica de carga fixa possui uma correlação direta com os perfis de potencial eletrostático e concentração das cargas móveis, enquanto que o valor de referente à constante dielétrica entre os meios intracelular e extracelular apresenta pouco efeito nesses perfis, nas condições analisadas.

## 3.3 Potencial de Gibbs-Donnan *versus* equação de Poisson-Boltzmann clássica

Utilizando o equilíbrio de Gibbs-Donnan em conjunto com a equação de Nernst, é possível calcular o potencial eletrostático entre duas fases separadas por uma membrana semipermeável, como apresentado na Seção 1.9.1. Vale ressaltar que esta análise teórica não considera os potenciais não eletrostáticos.

Por meio da abordagem de Krysinski e Tien (1986), Sperelakis (2001) e Mafé, Manzanares e Reiss (1993) torna-se possível a utilização da distribuição de Boltzmann para descrever o perfil de concentração ao longo de uma solução eletrolítica, uma vez que nestas abordagens há uma igualdade de potencial químico dos íons entre as duas fases separadas pela membrana semipermeável.

A equação de Poisson-Boltzmann clássica unidimensional em coordenadas cartesianas na presença de cargas fixas foi resolvida através do método de aproximação paraboloide em elementos finitos (com utilização de 300 elementos finitos) a fim de comparaçãocom os resultados obtidos pelo equilíbrio de Gibbs-Donnan.

Em todas as situações analisadas nesta seção, o sistema refere-se apresenta dois compartimentos separados entre si por uma membrana de permeabilidade seletiva não carregada em; o meio consiste em uma solução aquosa com eletrólitos a temperatura de 310,15 K e constante dielétrica do meio igual a 74,16. O domínio da variável independente varia de – até +, a partir de (localização da membrana). Além disso, adotou-se o valor de igual a $10^{-3}$ para definir a função de densidade volumétrica de carga fixa.

A situação Irefere-se ao mesmo sistema analisado na Seção 3.2: sistema aquoso eletrolítico com NaCl; em um dos compartimentos há uma concentração equivalente constante de proteína (com carga líquida negativa) igual a 100 mEq/L, enquanto que no outro compartimento a concentração no seio da fase fluida é igual a 70 mM de $Na^+$ e 70 mM de $Cl^-$. O perfil de densidade volumétrica de carga fixa em $MCm^{-3}$ pode ser observado naFigura 19 (curva pontilhada verde).

De acordo com a Equação (67), o potencial de Gibbs-Donann entre os dois compartimentos separados pela membrana é igual a -17,754 mV e a concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ no meio que contém a proteína são respectivamente iguais a 136,02 mM e 36,02 mM.

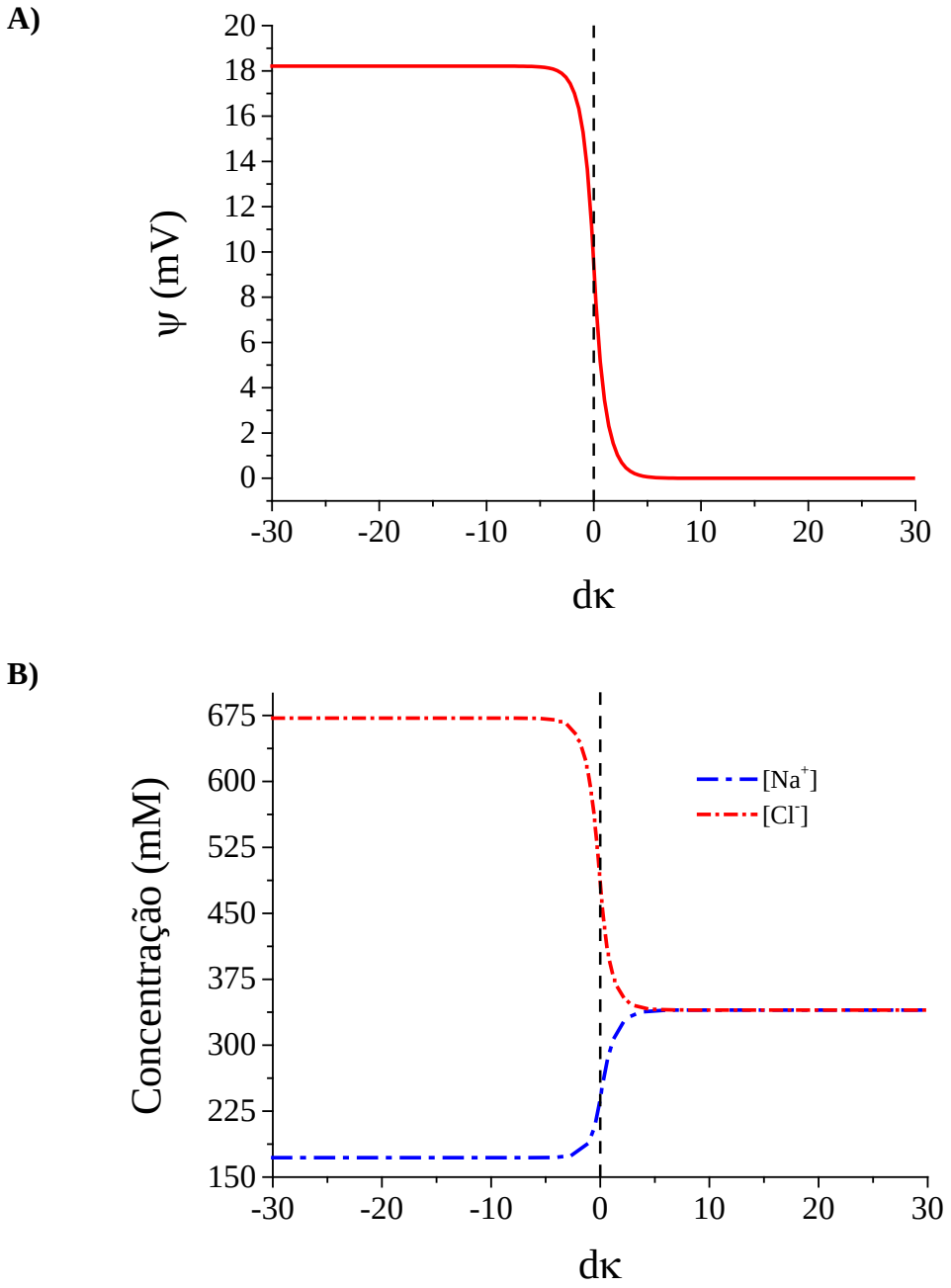
Por meio da equação de Poisson-Boltzmann, obteve-se uma diferença de potencial entre os seios das fases fluidas igual ao previsto pelo potencial de Gibbs-Donnan (Figura 20, curva pontilhada verde); o mesmo fato ocorreu em relação às concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ no seio da fase fluida do compartimento a esquerda (Figura 21, curvas pontilhadas laranja e verde, respectivamente).

A situação II consiste no compartimento àesquerda apresentando 500 mM de um cátion impermeável à membrana e o compartimento a direita apresentando concentração de 340 mM do sal NaCl. Segundo o equilíbrio de Gibbs-Donnan, o potencial elétrico entre os

dois compartimentos é igual a 18,209 mV e as concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ no seio da fase fluida do compartimento a esquerda são iguais a 172,02 mM e 672,02 mM, respectivamente.

A solução da equação de Poisson-Boltzmann com carga fixa forneceu os mesmos valores para a diferença de potencial elétrico e concentração dos íons $Na^+$ e $Cl^-$ no seio da fase fluida do compartimento a esquerda, como pode ser observado na Figura 24.

Figura 24 –Perfil do potencial elétrico e concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$na presença de uma membrana semipermeável de acordo com a situação II




Legenda: A linha tracejada preta refere-se à localização da membrana semipermeável (em igual a zero). Em A tem-se o perfil do potencial elétrico, enquanto que em B, o perfil de concentração de $Na^+$ e $Cl^-$. O compartimento da esquerda possui uma concentração de

cátion impermeável igual a 500 mM e concentrações de $Na^+$ e $Cl^-$ respetivamente iguais a 172,02 mM e 672,02 mM no seio da fase fluida, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 340 mM de $Na^+$ e 340 mM de $Cl^-$.

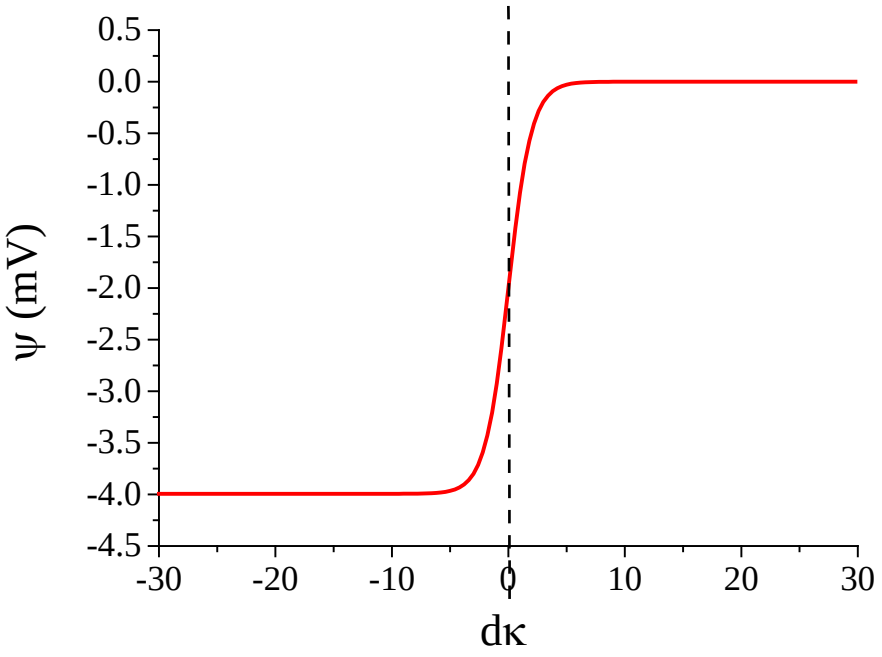
A situação III consiste na presença de proteína em um dos compartimentos, com densidade volumétrica de carga fixa igual a -4,34 $MCm^{-3}$ (concentração equivalente igual a 45 mEq) no seio da fase fluida na presença dos íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ A concentração desses íons no seio da fase fluida ausente de proteína é igual a 140 mM, 10 mM e 150 mM.

Segundo a teoria do equilíbrio de Gibbs-Donnan, o potencial elétrico entre os dois compartimentos na situação III é igual a -3,99 mV e as concentrações de $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ no seio da fase fluida referente ao compartimento com proteína são iguais a 162,57 mM, 11,61 mM e 129,18 mM.

Assim como nas situações anteriores, obteve-se o mesmo resultado para a diferença de potencial (Figura 25) e concentrações de íons no seio da fase fluida do compartimento que contém o íon impermeável (Figura 26) através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann.

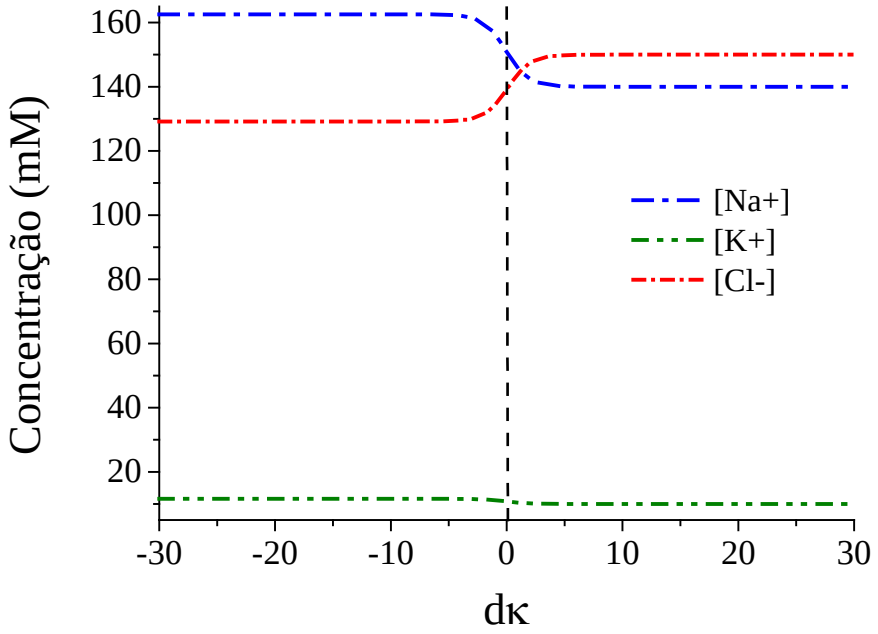
Dessa forma, é possível demonstrar que o potencial de Gibbs-Donnan surge na resolução da equação de Poisson-Boltzmann na presença de carga fixa.

Figura 25 – Perfil do potencial elétrico de acordo com a situação III




Legenda: A linha tracejada preta refere-se à localização da membrana semipermeável (em igual a zero). O compartimento da esquerda possui uma concentração equivalente de proteína impermeável igual a 45 mEq, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 140 mM de $Na^+$, 10 mM de $K^+$ e 150 mM de $Cl^-$.

Figura 26 – Perfil de concentração dos íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$na presença de uma membrana semipermeável de acordo com a situação III




Legenda: A linha tracejada preta refere-se à localização da membrana semipermeável (em igual a zero). O compartimento da esquerda possui uma concentração equivalente de proteína impermeável igual a 45 mEqe concentrações de $Na^+$, $K^+$e $Cl^-$ respetivamente iguais a 162,57 mM, 11,61 mM e 129,18 mM no seio da fase fluida, já o compartimento a direita possui concentrações no seio da fase fluida iguais a 140 mM de $Na^+$, 10 mM de $K^+$ e 150 mM de $Cl^-$.

## 3.4 Cálculo dos parâmetros de dispersão

Calcularam-se os parâmetros de dispersão entre os íons presentes no sistema e a membrana celular e entre os mesmos íon eas proteínas em meio aquoso, utilizando a metodologia via teoria de Lifshitz (Seção 1.2.1) proposta por Tavares *et al*. (2004). A Tabela 9 apresenta as constantes dielétricas estáticas, energias de ionização e índices de refração da água, da membrana celular e da proteína.

A frequência de ionização dos íons em solução pode ser estimada a partir da energia livre de hidratação dos íons(TAVARES *et al*., 2004). Os dados da polarizabilidade em água dos íons e energia de ionização destes na água multiplicados pela constante de Planck ($hv^I$) podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 9 – Propriedades físicas da água, proteínas e membrana celular

| Propriedades físicas | Água | Proteína | Membrana celular |
|---|---|---|---|
| Índice de refração (para a raia D do sódio), | 1,3313[a] | 1,6[a] | 1,48[a] |
| Constante dielétrica, | 74,16[b] | 2,56[c] | 5,0[d] |
| Energia de ionização, ($10^{12}$ erg) | 20[c] | 20[c] | 20[c] |

Fonte: [a]ISRAELACHVILI, 2011; [b]MALMBERG; MARYOTT, 1956; [c]TAVARES*et al*., 2004; [d]SPERELAKIS, 2001.

Tabela 10 – Propriedades físicas dos íons em solução aquosa

| Íons | Polarizabilidade em água $\alpha(0)$ | Energia de ionização em água $h\nu^{I}(10^{12}$ erg) |
|---|---|---|
| Na+ | 0,1485 | 54,7 |
| K+ | 0,7912 | 33,1 |
| Cl- | 3,764 | 9,15 |

Fonte:TAVARES *et al*., 2004.

Desta forma, considerando a temperatura do sistema igual a 310,15 K (temperatura corpórea), calcularam-se os parâmetros de dispersão que são apresentados naTabela 11.

Tabela 11 – Parâmetro de dispersão dos íons em relação à membrana e a proteína

| Íons | Parâmetro de dispersão em relação à membrana, | Parâmetro de dispersão em relação à proteína, |
|---|---|---|
| Na+ | 0,075 | 0,134 |
| K+ | 0,316 | 0,560 |
| Cl- | 0,606 | 1,060 |

## 3.5 Aplicação da equação de Poisson-Boltzmann modificada ao sistema contendo um eritrócito

Diversas abordagens foram utilizadas na simulação do meio contendo um eritrócito: envolvendo o meio intracelular, o meio extracelular e ambos simultaneamente.Conforme mencionado anteriormente, a temperatura considerada para o sistema é igual a 310,15 K (temperatura corpórea), com constante dielétrica para o meio intracelular sendo igual a 65,22 e para o meio extracelular igual a 74,16.

Para a resolução do método numérico, em todas as análises da equação de Poisson-Boltzmann aplicada ao eritrócito, utilizou-se o sistema de coordenadas cartesianas com 300 elementos finitos.

### *3.5.1 Análise do meio extracelular*

A equação de Poisson-Boltzmann foi resolvida na sua forma clássica e modificada (com interações não eletrostáticas) para o meio extracelular, considerando o raio equivalente da célulaigual a 2,673 μm ( ) e espessura da membrana ( )igual a 10 nm.

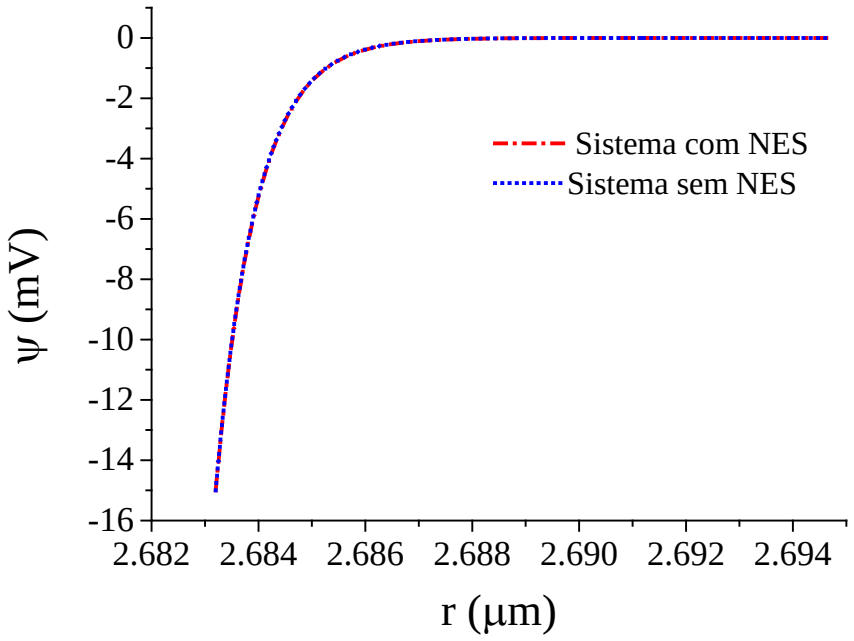
Na primeira simulação, considerou-se o potencial especificado próximo a superfície (em $d =$, que é o raio do íon)igual ao potencial *zeta* (ζ); o potencial ζ considerado foi igual a -15 mV (JAN; CHIEN, 1973).A variável refere-se à distância a partir do raio da célula mais a espessura da membrana. O domínio da variável independente varia m a partir de $r_{cel} + \delta_{memb}$.

Analisando o perfil de potencial eletrostático nesta situação, verifica-se que há concordância entre o sistema considerando os potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz (NES) e o sistema sem considerar os potenciais não eletrostáticos (Figura 27). Isto se deve principalmente ao tipo de condição de contorno utilizado na simulação: potencial fixo na superfície.

Os perfis de concentração das cargas móveis no sistema considerando NES e sem considerar, pode ser observado na Figura 28. Verifica-se que nas proximidades da membrana celular há uma maior concentração dos íons devido aos potenciais não eletrostáticos. Em relação aos cátions, o efeito dos potenciais não eletrostáticos é somado ao efeito de contraíons (a carga superficial da membrana celular mais o glicocálice é negativa) de forma a propiciar esta maior concentração de cátions nas proximidades da membrana. Após a inserção de NES,

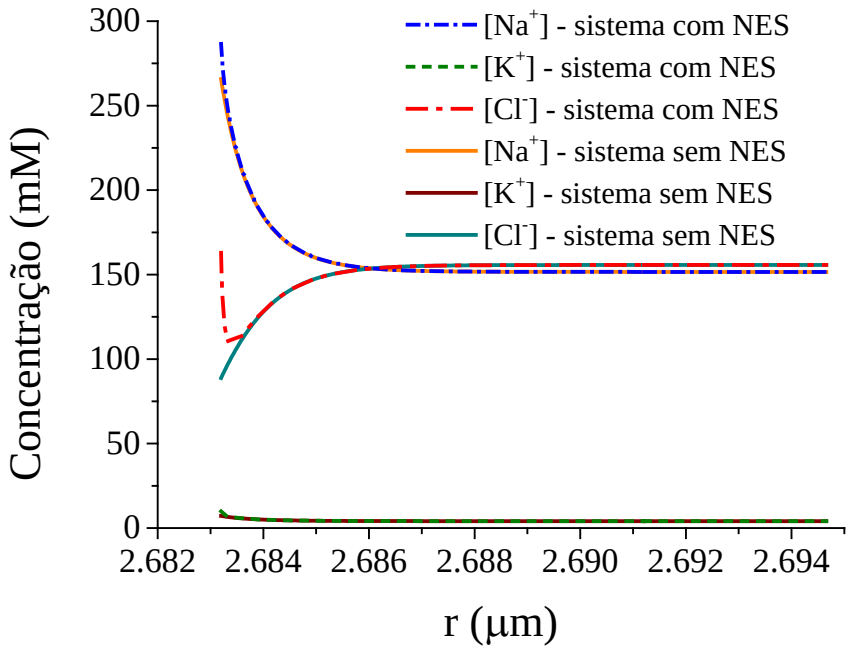
verifica-se um aumento considerável na concentração do cloreto perto a membrana, justificado devido à alta polarizabilidade deste e consequente adsorção na membrana plasmática.

Figura 27 – Perfis do potencial eletrostático do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com e sem considerar NES




Legenda: Sistema resolvido para meio extracelular com potencial especificado em igual ao potencial *zeta* (-15,0 mV). NES refere-se aos potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz.

Figura 28 – Perfis de concentração do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com e sem considerar NES

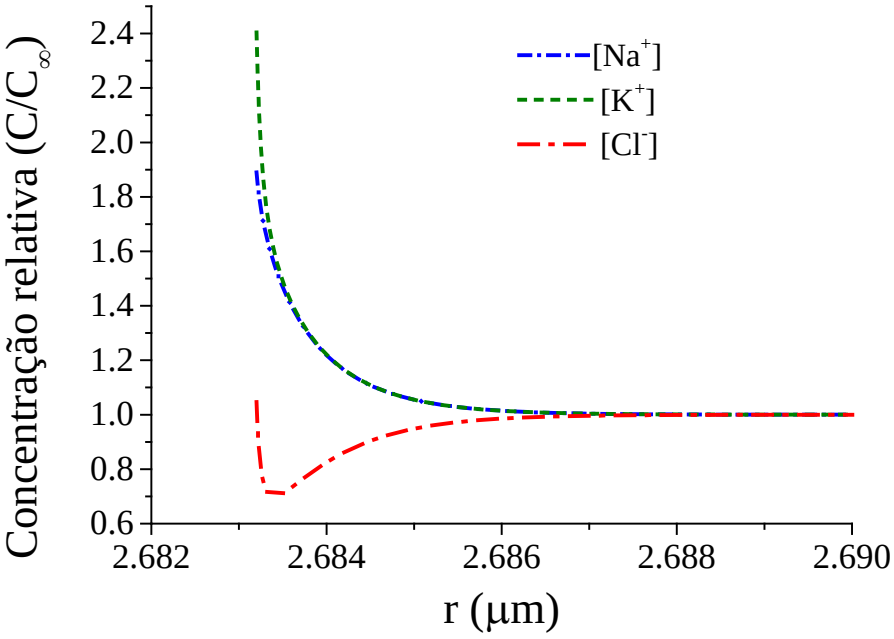



Legenda: Sistema resolvido para meio extracelular com potencial especificado em igual ao potencial *zeta* (-15,0 mV). NES refere-se aos potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz.

O impacto da inclusão de NES pode ser mais bem observado na Figura 29, na qual o $K^+$ apresenta uma maior concentração relativa próxima à membrana celular, quando comparado com o $Na^+$. Como o $K^+$ é mais polarizável, este tende a se acumular próximo a membrana, que possui uma grande área de adsorção de íons (LIMA, 2008).

Boström *et al*. (2009) obteve resultados similares ao observados nesta dissertação quando analisou a partição iônica entre duas fases, sendo uma composta por partículas coloidais (micelas) neutras e a outra livre de micelas. Observou-se que quanto mais polarizável o íon, maior a tendência deste de se acumular na fase mais densa que era composta pelas micelas, adsorvendo-se na superfície destas.

Figura 29 – Perfil de concentração relativa do sistema com potencial especificado igual -15,0 mV com inclusão de NES

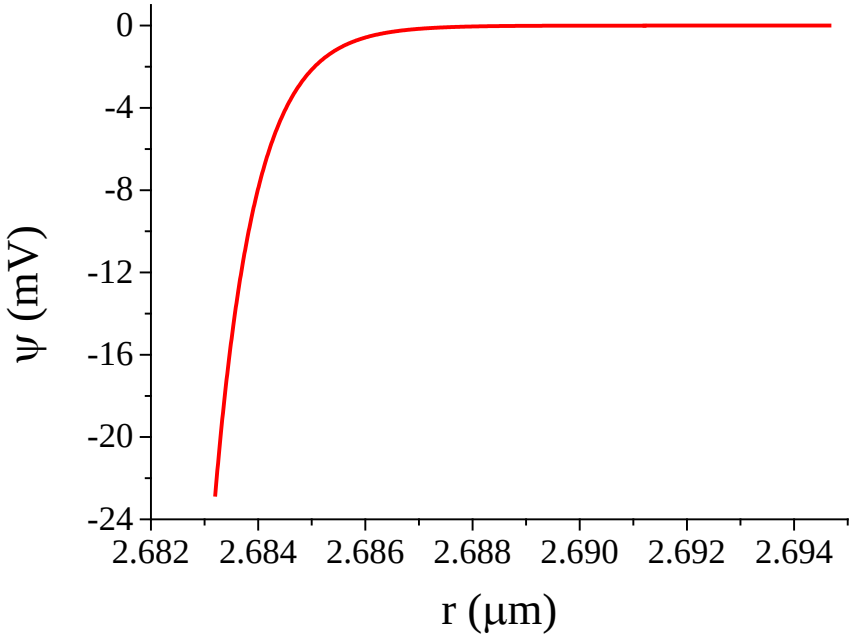



Legenda: Sistema resolvido para meio extracelular com potencial especificado em igual ao potencial *zeta* (-15,0 mV). NES refere-se aos potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz.

Para a simulação do meio extracelular com densidade superficial de carga especificada, adotou-se o valor de igual a -0,02, conforme sugerido por Donath e Lerche (1980). AFigura 30 apresenta o perfil de potencial eletrostático para este sistema. Nota-se que o potencial em neste caso é inferior àquele de quando se especificou o potencial *zeta* nesta distância. Donath e Lerche (1980) não atribuíram tal fato a uma maior densidade superficial de carga e sim à diferença entre o potencial *zeta* e o potencial de superfície.

Vale ressaltar que ambas as abordagens são aproximações. Apesar de o potencial *zeta* ser o potencial efetivamente sentido pelas cargas móveis em solução, não é conhecida a localização exata do plano de cisalhamento, isto é, não se conhece a espessura da camada hidrodinâmica. Na primeira análise (potencial especificado) considerou-se a localização do plano de cisalhamento em .No caso da densidade superficial de carga, adotou-se, também, essa em , devido a problemas numéricos (as interações não eletrostáticas tendem numericamente a infinito quando a distância entre a superfície e o ponto analisado tende a zero).

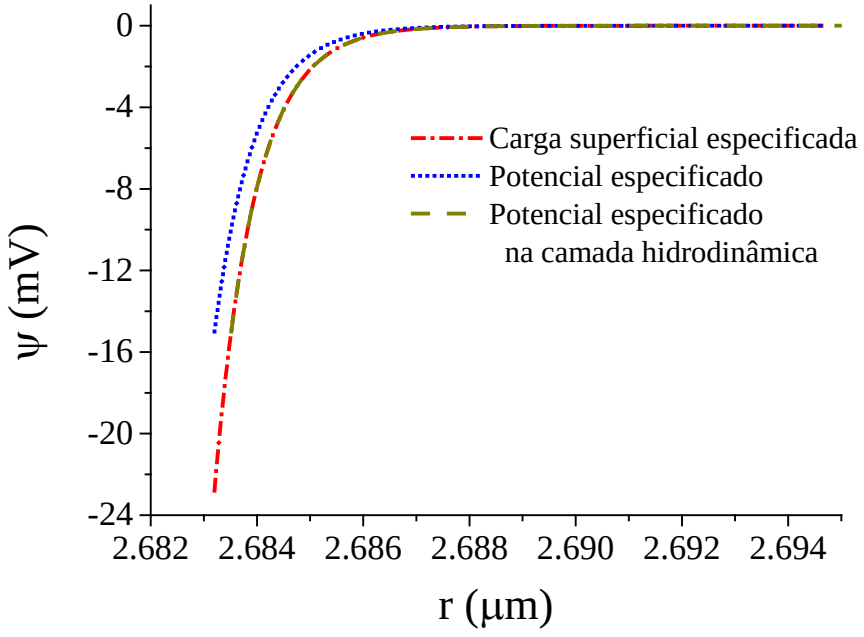
Figura 30 – Perfil do potencial eletrostático do sistema com densidade superficial de carga especificado igual a -0,02 $Cm^{-2}$ com inclusão de NES




Legenda: Sistema resolvido para meio extracelular com densidade de carga especificada em $n$ sendo igual a -0,02 C/m². NES refere-se aos potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz.

Considerando a densidade superficial de carga em $d$, calculou-se qual seria a localização do plano de cisalhamento para o potencial *zeta* ser igual a -15,0 mV, encontrando o valor de 0,515 nm a partir da superfície externa da célula. Este valor está próximo ao previsto por Masliyah e Bhattacharjee (2006) que considera a localização do plano de cisalhamento a uma distância de um a dois raios iônicos. Na Figura 31, pode-se observar a diferença entre os perfis de potencial eletrostático considerando: o potencial especificado em $d$ igual ao potencial *zeta*, densidade superficial de carga especificada em $d$ igual a -0,02 C/m²; e potencial especificado em $d = 0{,}5$ (distancia entre a superfície externa da célula e o plano de cisalhamento) igual ao potencial *zeta*.

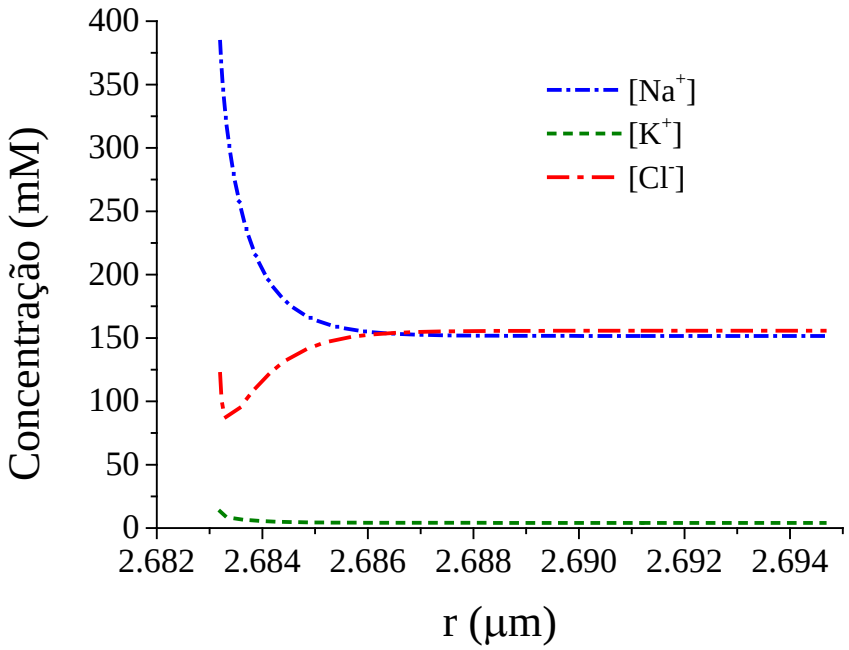
Figura 31 – Análise da espessura do plano de cisalhamento comparando o perfil de potencial eletrostático através das condições de contorno potencial especificado e densidade superficial de carga especificada




Legenda: Situação 1: densidade superficial de carga especificada em igual a -0,02 C/m²; Situação 2: potencial especificado em igual a -15,0 mV; Situação 3: potencial especificado (distância entre a superfície externa da célula e o plano de cisalhamento) igual a -15,0 mV.

O perfil de concentração das cargas móveis presentes no sistema com densidade de carga especificada igual a -0,02Cm$^{-2}$pode ser observado na Figura 32. Verifica-se uma maior concentração de $Na^+$ e $K^+$ próximos à membrana quando comparado com a situação apresentada na Figura 28; por outro lado, há uma menor concentração do íon cloreto.

Figura 32 – Perfil de concentração de cargas móveis do sistema com densidade superficial de carga especificado igual a -0,02 $Cm^{-2}$ com inclusão de NES




Legenda: Sistema resolvido para meio extracelular com densidade de carga especificada em $n$ sendo igual a -0,02 C/m². NES refere-se aos potenciais não eletrostáticos via teoria de Lifshitz.

### *3.5.2 Análise do meio intracelular e extracelular: sistema descontínuo*

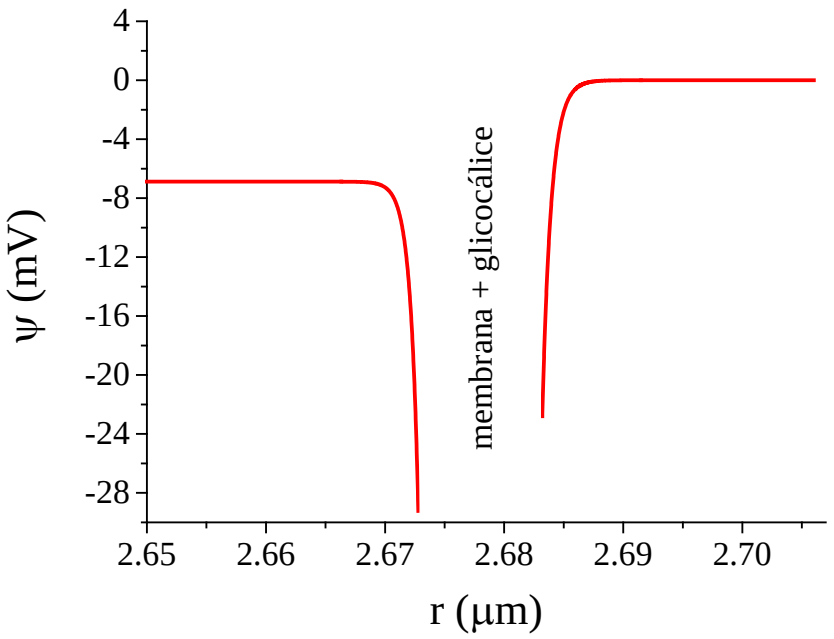
A equação de Poisson-Boltzmann também foi resolvida para o meio intracelular, considerando a concentração do seio da fase fluida igual aquela presente no meio extracelular (reservatório). Nas condições de contorno utilizou-se a condição de simetria e densidade superficial de carga especificada em $d = -\delta_{ce}$. (equivalente a $r = r_{ce}$) O valor adotado para densidade superficial de carga foi igual a -0,02$Cm^{-2}$, sendo igual ao do meio extracelular.

O domínio da variável independente para o meio intracelular varia de $r_{cel} -$ até $r_{ce}$, enquanto que para o meio extracelular varia de $r_{ce}$ até $r_{cel} + \delta_{cel} +$.

Na Figura 33, podem-se observar os perfis de potencial eletrostático para os dois meios em um mesmo gráfico. A membrana celular mais o glicocálice são representados pelo hachurado. O potencial transmembrana neste caso é de -6,88 mV.

O potencial transmembrana obtido é inferior, de uma forma geral, aos dados experimentais apresentados na Tabela 5 da Seção 1.7.2, estando dentro da faixa apenas do potencial transmembrana medido através da sonda com corante fluorescente CC6 (HOFFMAN; LARIS, 1974).

Figura 33 – Perfil do potencial eletrostático considerando-se os meios intracelular e extracelular interligados descontinuamente



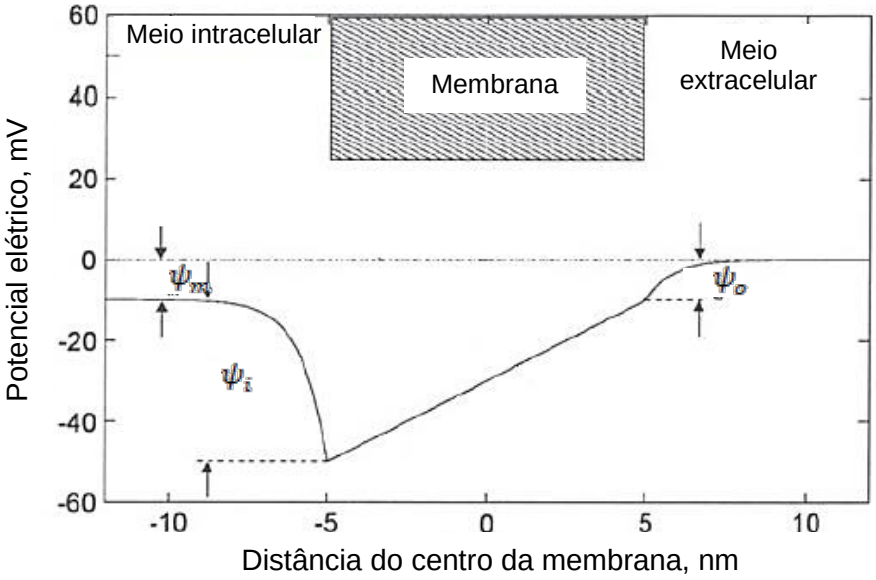

Legenda: Densidade superficial de carga especificada em $_{1} - r_{ion}$ e $_{1} + \delta_{cel} + r_{ion}$ sendo igual a -0,02 C/m². Potencial transmembrana igual a -6,88 mV.

Bernhardt e Weiss (2003) analisaram teoricamente o perfil de potencial eletrostático de um eritrócito em uma solução de NaCl de intensidade iônica próxima à fisiológica. De acordo com o perfil obtido pelos autores, o potencial superficial na interface citoplasmática é inferior ao obtido nesta dissertação, como pode ser observado na Figura 34. Vale ressaltar que na referida análise, os autores fixaram o potencial transmembrana sendo igual ao observado em dados experimentais.

Heinrich, Gaestel e Glaser (1982) também estudaram o perfil de potencial elétrico através da membrana de eritrócitos. Nesta análise a densidade superficial de carga da interface citoplasmática foi considerada igual a –0,09 C/m² e na interface exoplasmática considerou-se uma densidade volumétrica de carga fixa constante (-3,5x10$^{6}$ C/m³) em uma espessura de 5,5 nm referente ao glicocálice. O sistema foi analisado de forma descontínua, e a concentração de referência de cada meio analisado equivalia à concentração do seio da fase fluida deste. Para o cálculo do perfil de concentração do meio intracelular via distribuição de Boltzmann,

Heinrich, Gaestel e Glaser (1982) inseriram o potencial transmembrana. De acordo com esses autores, o potencial superficial interno é ainda menor do que o previsto por Bernhardt e Weiss (2003) e nesta dissertação, conforme apresentado na Figura 37.

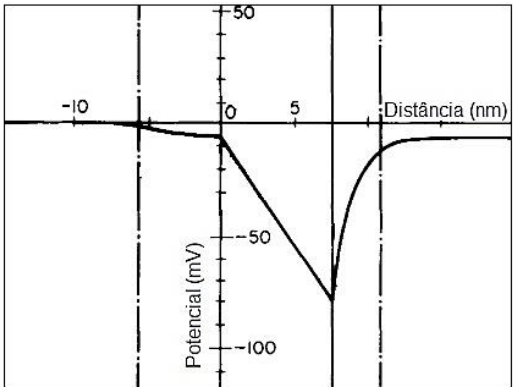
Figura 34 – Perfil teórico do potencial elétrico através da membrana de um eritrócito em uma solução de NaCl com intensidade iônica igual a fisiológica.




Legenda: refere-se ao potencial transmembrana, é o potencial superficial interno e é o potencial superficial externo.
Fonte: Adaptado de Bernhardt e Weiss (2003).

Cruz, Vilhena e Cortez (2000) obtiveram resultados similares aos de Heinrich, Gaestel e Glaser (1982), uma vez que as condições foram similares, principalmente ao que se refere às condição de contorno nas superfícies.

Figura 35 – Perfil teórico do potencial elétrico através da membrana de um eritrócito em uma solução com intensidade iônica de 150mM.

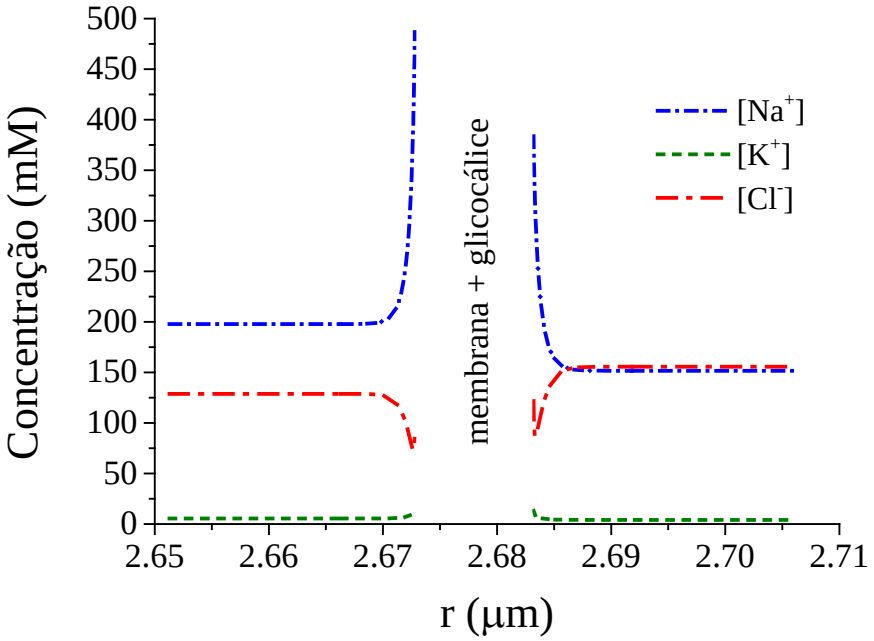



Fonte: Adaptado de Heinrich, Gaestel e Glaser (1982).

A Figura 36 apresenta os perfis de concentração dos íons móveis no meio intracelular e extracelular. Considerando a concentração do seio da fase fluida igual à concentração do meio extracelular, observa-se que a concentração do meio intracelular não é igual ao previsto pela análise experimental. Como dito anteriormente, o meio intracelular apresenta uma concentração maior de $K^+$quando comparado ao $Na^+$ (FUNDER; WEITH, 1966a). Esta discrepância nos dados computacionais em relação aos experimentais pode estar ocorrendo devido a uma diferença entre os potencias químicos de referência entre os dois meios (intracelular e extracelular) e presença de transportadores ativos na membrana plasmática.

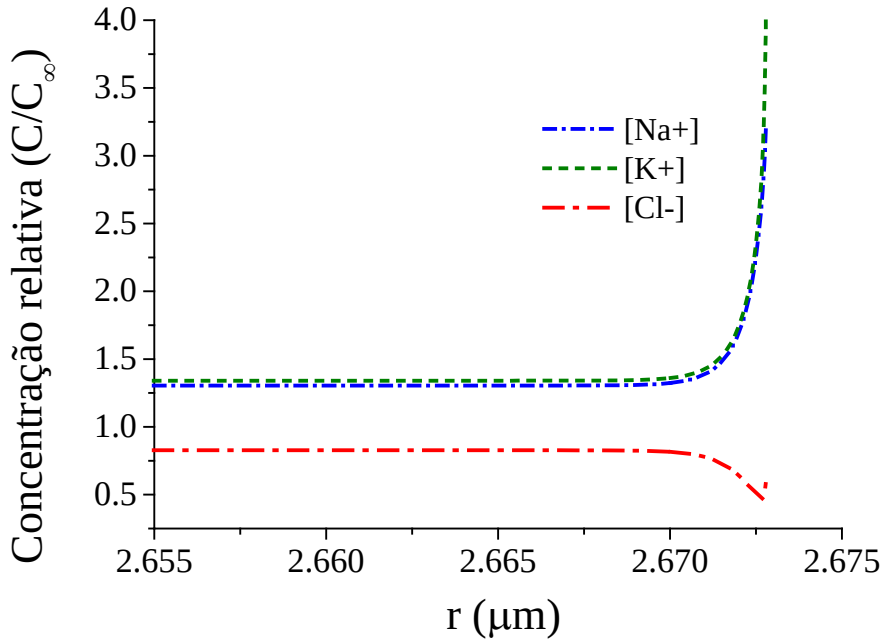
Analisando o perfil de concentração relativa no meio intracelular (Figura 37), observa-se que o $K^+$ apresenta uma maior tendência a se concentrar no meio intracelular quando comparado ao $Na^+$. Tal fato se deve às interações não eletrostáticas. Como no meio intracelular há uma grande quantidade de proteínas, o $K^+$ que é mais polarizável tende a se adsorver preferencialmente nessas proteínas quando comparado ao $Na^+$. Porém a presença das interações não eletrostáticas não foi suficiente por si só para explicar a maior concentração de $K^+$ no interior das células observada experimentalmente.

Figura 36 – Perfil de concentração considerando-se os meios intracelular e extracelular interligados descontinuamente




Legenda: Densidade superficial de carga especificada em $_1 - r_{ion}$ e $_1 + \delta_{cel} + r_{ion}$ sendo igual a -0,02 C/m².

Figura 37 – Perfil de concentração relativa no meio intracelular considerando a concentração do seio da fase fluida igual à concentração de íons no meio extracelular

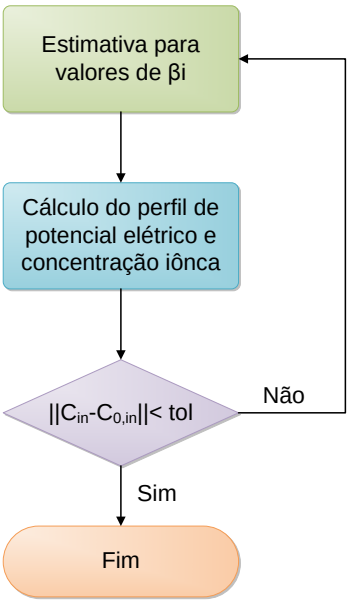



Legenda: Densidade superficial de carga especificada em $_1 - r_{ion}$ sendo igual a -0,02 C/m².

Na literatura, essa diferença na partição iônica dos íons sódio e potássio é geralmente atribuída à ação da bomba $Na^+K^+$ATPase. A fim de analisar a contribuição dos transportadores ativos na diferença de partição iônica em sistemas envolvendo um eritrócito, propôs-se a resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com a inclusão do potencial (Seção 2.5).

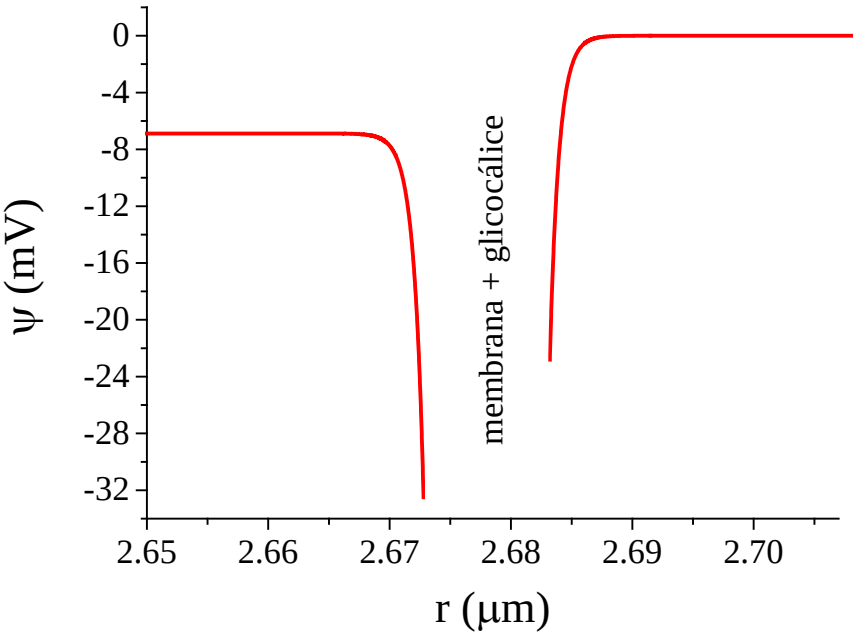
O algoritmo caracteriza-se por ter um *loop* externo, de forma a convergir a concentração do seio da fase fluida do meio intracelular para os valores apresentados na Tabela 8. A cada nova iteração obtém-se novos valores para até a convergência (Figura 38).

Figura 38 – Algoritmo simplificado para inserção do potencial $\beta$




A Figura 39 apresenta o perfil de potencial eletrostático obtido pela resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial . O potencial do meio extracelular foi considerado igual a zero. Os valores encontrados de para cada íon referenteao meio intracelular podem ser observados na Tabela 12.

Figura 39 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão de , sistema descontínuo



Legenda: Densidade superficial de carga especificada em $_{1} - r_{ion}$ e $_{1} + \delta_{cel} + r_{ion}$ sendo igual a -0,02 C/m². Potencial transmembrana igual a -6,87 mV.

Tabela 12 – Valores do potencial para os íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$

| Íon | Potencial , adimensionado |
|---|---|
| $Na^+$ | 2,484 |
| $K^+$ | -3,191 |
| $Cl^-$ | 0,531 |

Comparando o potencial transmembrana na ausência do potencial e na presença deste, observa-se que é praticamente invariável. Conforme mencionado anteriormente, o potencial transmembrana obtido nesta dissertação é de uma forma geral inferior aos dados experimentais. Algumas hipóteses podem ser levantadas para justificar este fato, tais como: negligência de outros íons presentes no sistema e aproximação na densidade volumétrica de carga fixa relativa à hemoglobina.

Segundo Bernhardt e Weiss (2003), sob condiçõesfisiológicas, a movimentação líquida dos íons $K^+$ e $Na^+$ em comparação ao $Cl^-$ através da membrana celular do eritrócito é muito menor (cerca de duas ordens de grandeza inferior), isto é, a permeabilidade do íon $Cl^-$ através da membrana é muito maior do que a dos íons $K^+$ e $Na^+$, podendo-se considerar o íon $Cl^-$ em equilíbrio entre os meios intracelular e extracelular.

Como comentado anteriormente, o potencial refere-se à diferença entre os potencias químicos de referência entre os dois meiose à presença de transportadores ativos na membrana plasmática. Considerando o $Cl^-$ em equilíbrio, sendo distribuído passivamente através da membrana devido à alta permeabilidade, era esperado que fosse próximo a zero. Porém, na análise realizada, consideraram-se como cloreto todos os ânions presentes no meio extracelular (incluindo bicarbonatos, sulfatos, fosfatos orgânicos, proteínas, dentre outros). Tal fato, somado à consideração de que a diferença do potencial químico de referência entre os dois meios analisados também está incluído em ,pode justificar o valor de ser igual a 0,531. Vale observar que o valor em módulo de é menor do que os valores de e .

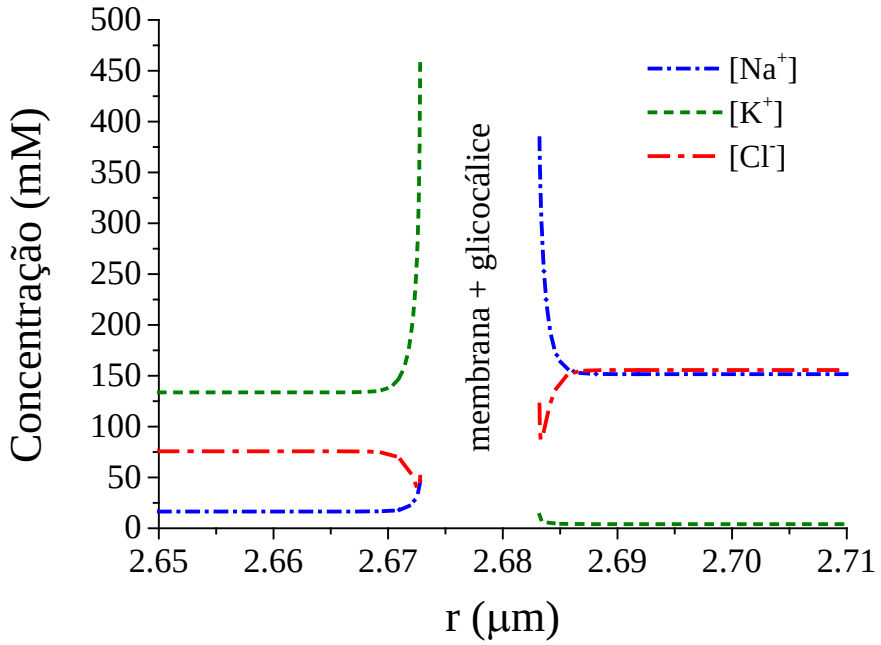
Bernhardt e Weiss (2003) calcularam a razão entre a permeabilidade de íon $K^+$ em relação ao íon $Na^+$ através da equação de Goldman-Hodkin-Katz, encontrando um valor de

1,5. Considerando que o potencial está relacionado à permeabilidade do íon através da membrana celular, calculou-se a razão em módulo de $\beta_p$, encontrando 1,3.

Na Figura 40, pode-se observar o perfil de concentração das cargas móveis analisadas na presença do potencial . Nas proximidades da membrana celular e glicocálice há uma maior concentração iônica devido à adsorção dos íons a essas superfícies.

Caso as interações não eletrostáticas entre os íons e macromoléculas não sejam consideradas explicitamente na resolução de Poisson-Boltzmann modificada, o valor do potencial para cada íon passa a ser responsável também por expressaro potencial não eletrostático.Os valores do potencial referente a cada íon nos sistemas,explicitando ou não as interações não eletrostáticas podem ser observados na Tabela 13. Assim, torna-se possível analisar o impacto relativo de tais das interações.

Figura 40 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão de , sistema descontínuo




Legenda: Densidade superficial de carga especificada em $_1 - r_{ion}$ e $_1 + \delta_{cel} + r_{ion}$ sendo igual a -0,02 C/m².

Analisando a Tabela 13, observa-se que apesar da presença das interações não eletrostáticas diminuírem a quantidade de energia atribuída aos transportadores iônicos através da membrana, essa contribuição é pequena.

Tabela 13 – Comparação entre os potenciais para os íons $Na^+$, $K^+$ e $Cl^-$ nos sistemas considerando a presença e a ausência do potencial não eletrostático

| Íon | Potencial (sistema com NES), adimensional | Potencial (sistema sem NES), adimensional |
|---|---|---|
| $Na^+$ | 2,484 | 2,475 |
| $K^+$ | -3,191 | -3,227 |
| $Cl^-$ | 0,531 | 0,464 |

A energia livre necessária para mover um mol de soluto através da membrana plasmática (no sentido do meio extracelular para o intracelular) é dado por: $-RT\ln(C,$ sendo R a constante universal dos gases, a concentração no meio extracelular e a concentração do meio intracelular. Essa energia livre para mover um soluto iônico precisa ser igual a: $z_i F\delta\psi + RT\delta u_i +$, sendo a constante de Faraday, o potencial transmembrana, a diferença de potencial não eletrostático transmembrana e a diferença de potencial transmembrana.

A energia livre necessária para mover um mol de íon através da membrana plasmática pode ser observada na Tabela 14.

Tabela 14 – Energia livre necessária para mover um mol de íon através da membrana plasmática (do meio extracelular para o intracelular)

| Íon | ΔG (kJ/mol) |
|---|---|
| $Na^+$ | -5,72 |
| $K^+$ | 8,99 |
| $Cl^-$ | -1,86 |

A energia livre padrão de hidrólise do ATP é igual a -30,5 kJ/mol. Nos eritrócitos humanos, as concentrações médias de ATP, ADP e $P_i$ presentes no citoplasma são iguais a 2,25 mM, 0,25 mM e 1,65 mM, respectivamente. Considerando o pH 7,0 e temperatura de 25°C, encontra-se o valor da energia livre de hidrólise do ATP no eritrócito sendo igual a -51,8 kJ/ mol (NELSON; COX, 2006).

Sen e Post (1964) consideram que em condições fisiológicas de reagentes e produtos, a hidrólise de ATP libera aproximadamente 11 kcal/ mol, o que corresponde a 46,1 kJ/mol. Em seus trabalhos experimentais encontraram uma estequiometria de $3Na^+$:$2K^+$:1,16±0,04ATP relativo a bomba $Na^+K^+$ATPase.

Analisando os dados obtidos na Tabela 14, verifica-se que em um ciclo da bomba $Na^+K^+$ATPase em base molarsão necessários 35,14 kJ (energia de Gibbs necessária para mover três mols de $Na^+$ e dois mols de $K^+$ contra o gradiente eletroquímico). Para comparar essa energia em termos de ATP é necessário corrigir pela eficiência do transportador. Segundo Skou (1998), para o transporte dos íons $Na^+$ e $K^+$ através da membrana plasmática, utiliza-se 70-85% da energia livre de hidrólise do ATP. Considerando o valor de 70% de eficiência, são necessários 50,20kJ de energia, o que equivale a 0,97 ATP. Este valor é próximo ao observado por Sen e Post (1964).

### *3.5.3* Análise do meio intracelular e extracelular: sistema contínuo

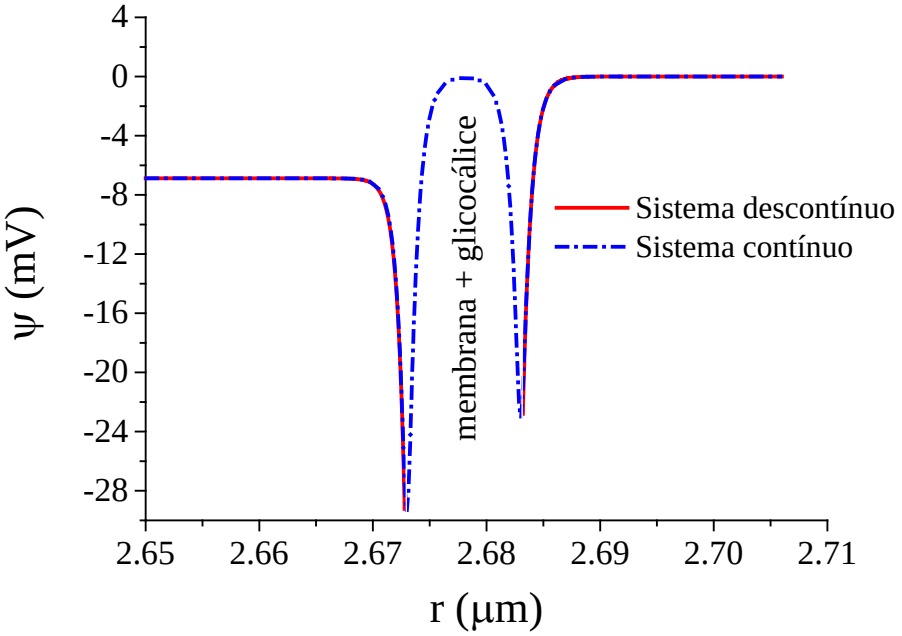
Com o objetivo de se obter um sistema contínuo entre os meios intracelular e extracelular, considerou-se um pico de densidade volumétrica de carga nas interfaces entre as soluções eletrolíticas e a membrana plasmática para representar cada face da membrana plasmática, de modo a obter um perfil de potencial eletrostático similar ao da Figura 33. A densidade volumétrica de carga adotada na face citoplasmática (interface citoplasma-membrana) através da função pulso apresenta valor mínimo igual a $-1{,}16\times10^{8}$ C/m³, enquanto que na face exoplasmática, este valor é igual $-9{,}85\times10^{7}$ C/m³. As condições de contorno referem-se à simetria de centro e densidade superficial de carga igual a zero no seio da fase fluida referente ao meio extracelular.

O domínio da variável independente para o sistema contínuo varia $r_{cel}$ – até $r_{cel}+\delta_{cel}+$. Nos sistemas contínuos o valor de (fator de suavização) referente à função de regularização dos potenciais não eletrostáticos foi igual a $10^{-3}$.

A Figura 41 apresenta uma comparação do perfil de potencial eletrostático entre os sistemas contínuo e descontínuo. Pode-se observar similaridade entre ambas as situações. O perfil de concentração das cargas móveis pode ser observado na Figura 42.Vale ressaltar que

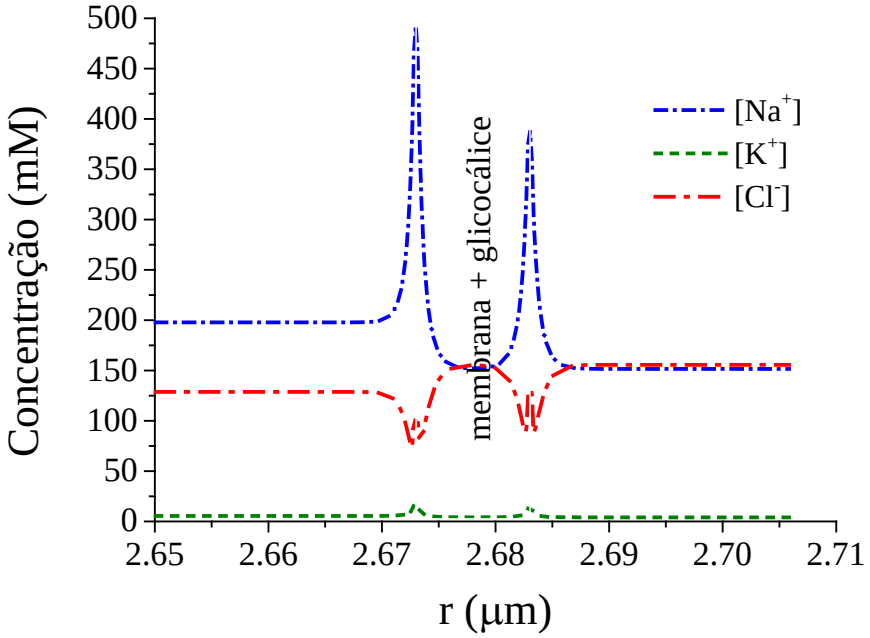
o perfil de potencial e concentração dentro da membrana não é real, estando presente simplesmente pela estratégia numérica da continuidade.

Figura 41 – Comparação do perfil de potencial eletrostática considerando o sistema descontínuo e o sistema contínuo




Legenda: Condição de contorno para o sistema descontínuo nas extremidades da membrana plasmática: densidade superficial de carga especificada igual a -0,02 C/m². No sistema contínuo, densidade volumétrica de carga adotada na face igual a $-1{,}16 \times 10^{8}$ C/m³ enquanto que na face exoplasmática igual a $-9{,}85 \times 10^{7}$ C/m³. igual a $5{,}0 \times 10^{9}$.

Figura 42 – Perfil de concentração das cargas móveis considerando o sistema contínuo



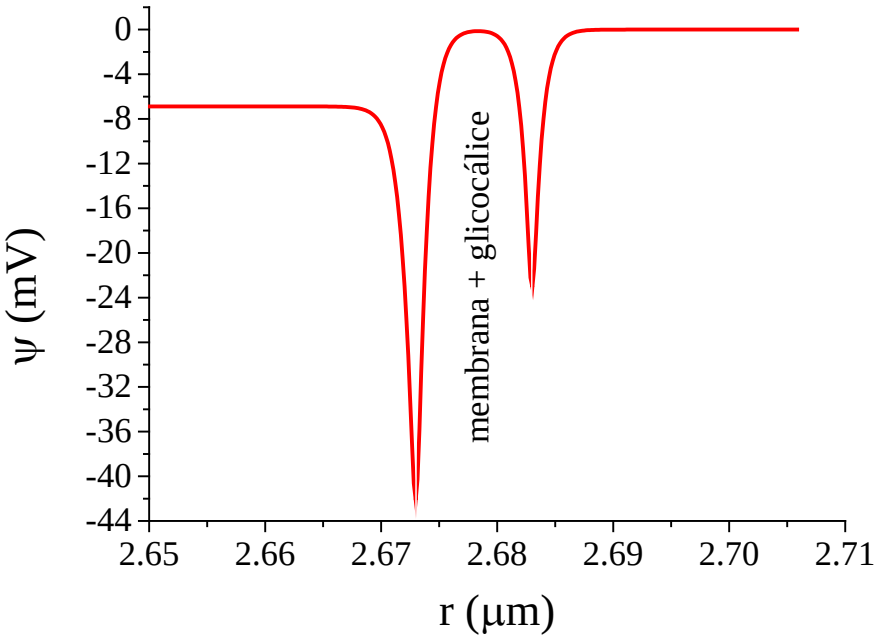
Legenda: Densidadevolumétrica de carga adotada na face citoplasmática (interface citoplasma-membrana) foi igual a -1,16x108 C/m³ enquanto que na face exoplasmática igual a -9,8x107 C/m³.

Após a resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada continuamente entre os meios intracelular e extracelular, analisou-se a inclusão do potencial na equação de Poisson-Boltzmann. O potencial foi inserido por meio de função de regularização de tal forma que no meio extracelular o potencial de todos os íons seja igual a zero e no meio intracelular apresente um valor específico.

Duas situações foram analisadas. A primeira considerando (parâmetro da função de regularização do potencial ) na interface entre o citoplasma e a membrana plasmática, e a segunda considerando na metade da membrana plasmática. Em ambas as situações, (fator de suavização) referente à função de regularização do potencial foi igual a $10^{-3}$.

O perfil de potencial eletrostático referente à primeira situação pode ser observado na Figura 43. Verifica-se que o potencial transmembrana é igual ao encontrado para o sistema descontínuo, porém o potencial referente à interface citoplasma-membrana celular é inferior. Enquanto que no sistema descontínuo, o potencial da interface citoplasma-membrana celular é igual a -32,5 mV, no sistema contínuo com na interface, esse é igual a -43,0 mV.

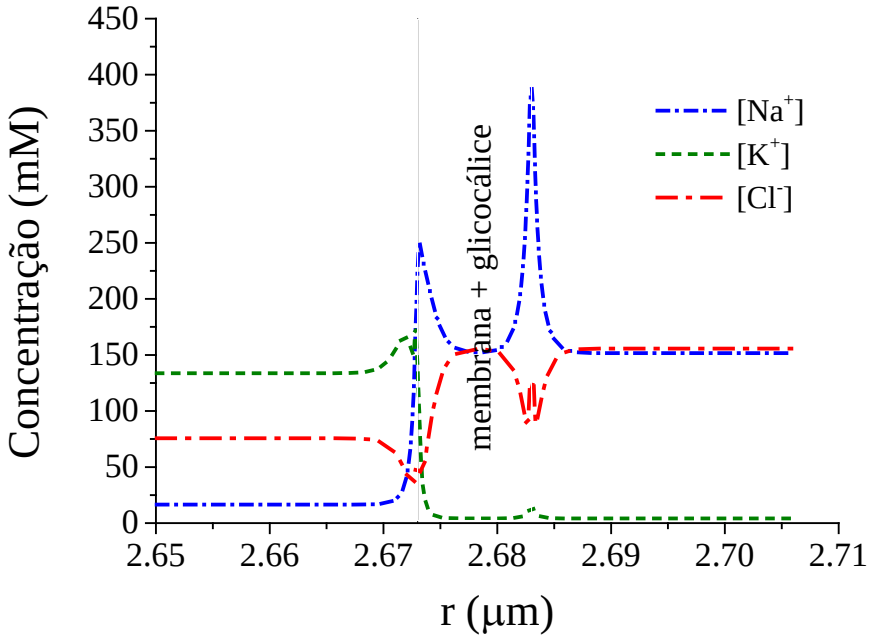
Figura 43 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na interface




Legenda: Potencial transmembrana igual a -6,87 mV. relativo a função de regularização do potencial localizado na interface citoplasma-membrana.

Na Figura 44 observa-se o perfil de concentração dos íons referente à primeira situação. Verifica-se que na interface citoplasmática há um aumento da concentração do íon sódio, bem como um aumento e posterior diminuição da concentração do íon potássio, por consequência da função de regularização do potencial .

Figura 44 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na interface

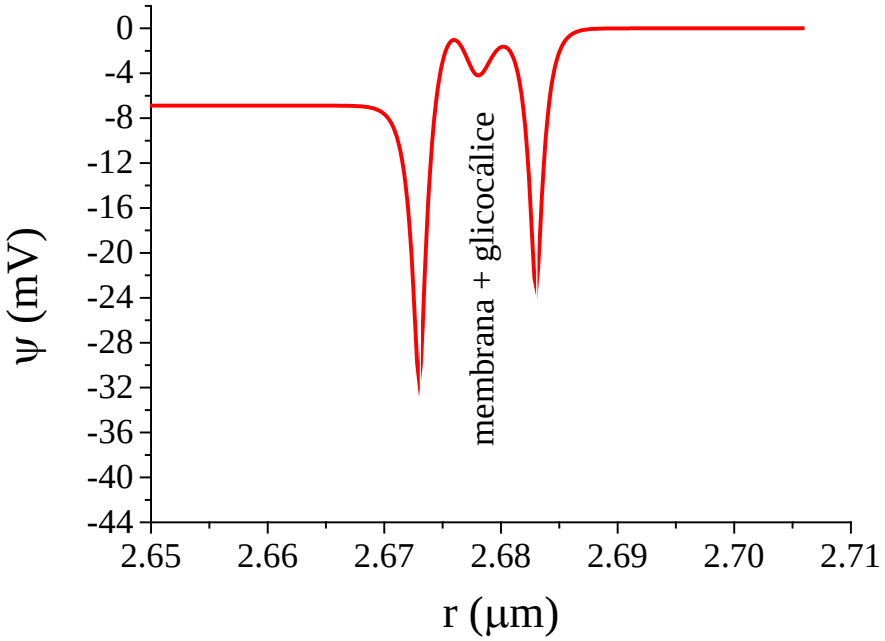



Legenda: Potencial transmembrana igual a -6,87 mV. relativo a função de regularização do potencial localizado na interface citoplasma-membrana.

Analisando o mesmo caso, porém com localizado no meio da membrana plasmática, obtém-se um potencial transmembrana igual a -31,3 mV (Figura 45), o que é mais próximo ao observado no sistema descontínuo. A queda do potencial eletrostático no interior da membrana plasmática refere-se ao impacto do potencial . Verifica-se então que o perfil da função de regularização do potencial influencia fortemente no perfil do potencial eletrostático.

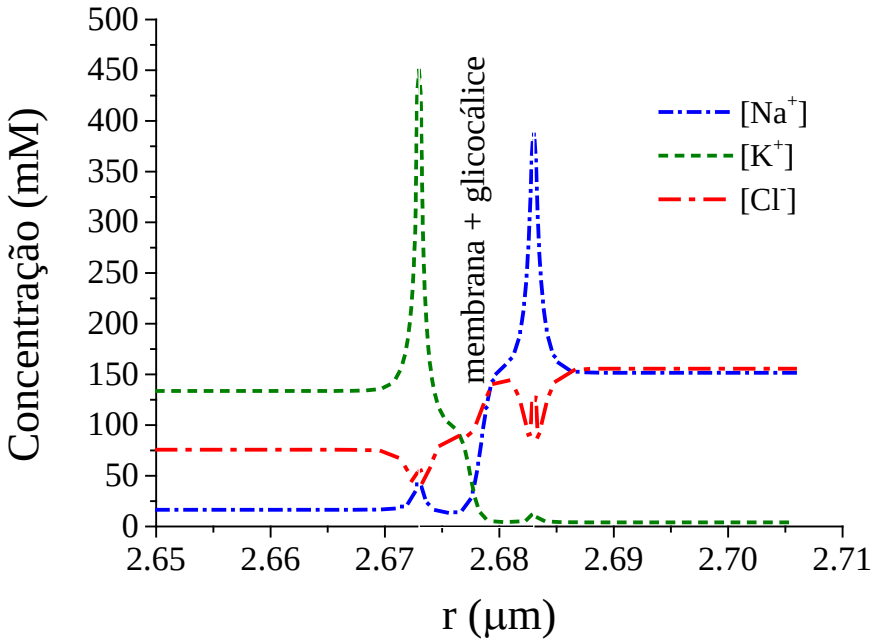
Analisando a Figura 46, verifica-se um perfil similar ao caso do sistema descontínuo (Figura 40), em que nas proximidades da interface há um aumento das concentrações dos íons devido às interações não eletrostáticas com a membrana.

Figura 45 – Perfil do potencial eletrostático obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na metade da membrana plasmática




Legenda: Potencial transmembrana igual a -6,87 mV. relativo a função de regularização do potencial localizado no interior da membrana plasmática.

Figura 46 – Perfil de concentração iônica obtido através da resolução da equação de Poisson-Boltzmann modificada com inclusão do potencial – sistema contínuo com na metade da membrana plasmática




Legenda: Potencial transmembrana igual a -6,87 mV. relativo a função de regularização do potencial localizado no centro da membrana plasmática.

Comparando os perfis de concentração iônica presentes na Figura 44 com aqueles presentes naFigura 46, observa-se que o último condiz mais com o esperado, uma vez que apresenta um pico de concentração de $K^+$ próximo à interface citoplasmática e um aumento sutil na concentração de $Na^+$ próximo a esta interface (pico de $Na^+$ na Figura 46 de acordo com a concentração deste íon no meio intracelular).

Nesta seção, inicialmente analisaram-se os perfis de potencial eletrostático e de concentração iônica para o meio extracelular utilizando a condição de contorno do tipo potencial especificado, na qual o potencial na superfície foi considerado igual ao potencial *zeta*. A fim de expandir a análise para o meio intracelular, considerou-se a condição de contorno do tipo densidade de carga especificada, em que as densidades superficiais de carga na face citoplasmática e exoplasmática da membrana celular foram consideradas iguais a -0,02C/m².

Utilizando o modelo com densidade superficial de carga especificada, analisou-se o impacto dos potenciais e , verificando que o potencial referente às interações não eletrostáticas possui pouca influência na partição dos íons $K^+$ e $Na^+$ observados experimentalmente. O potencial de membrana encontrado nas simulações apresentou valor inferior aos dados experimentais.

Por último, foi proposto um modelo contínuo entre o meio intracelular e extracelular modificando o perfil de densidade volumétrica de carga fixa. A vantagem do sistema contínuo consiste na obtenção dos perfis de potencial e concentração nos meios intracelular e extracelular através de uma única compilação do algoritmo computacional, enquanto que no sistema descontínuo, são necessárias duas compilações (uma para o meio intracelular e outra para o meio extracelular).

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos na presente dissertação, conclui-se que a equação de Poisson-Boltzmann pode ser uma ferramenta útil para analisar sistemas em que o potencial de Gibbs-Donnan está presente.

Na análise do eritrócito incluíram-se na equação de Poisson-Boltzmann os potenciais não eletrostáticos entre os íons e as macromoléculas presentes (proteínas intracelulares e macromoléculas presentes na membrana plasmática). No cálculo do parâmetro de dispersão relativo aos potenciais de campo médio entre íons e macromoléculas,foiutilizada a teoria de Lifshitz.

Além disso, incluiu-se na equação de Poisson-Boltzmann o potencial que é relativo à diferença de potencias químicos de referência entre os dois meios (intracelular e extracelular) e à presença de transportadores ativos na membrana plasmática. Com a inclusão do potencial foi possível convergir a concentração do seio da fase fluida do meio intracelular para os valores obtidos experimentalmente.

Em relação à partição iônica, verificou-se que os potenciais não eletrostáticos calculados via teoria de Lifshitz têm apenas uma pequena influência no que se refere à alta concentração de íon $K^+$ no meio intracelular em relação ao íon $Na^+$. Apesar do meio intracelular possuir uma maior superfície de adsorção devido à maior presença de proteínas, não é suficiente por si só para explicar a maior concentração de $K^+$ (mais polarizável do que o $Na^+$) no interior da célula.

A inserção do potencial permitiu a análise da energia envolvida na diferença entre os potencias químicos de referência entre os dois meios e presença de transportadores ativos na membrana plasmática.

No que se refere ao potencial transmembrana obtido, este é inferior aos relatos na literatura para um eritrócito. Tal fato pode ser atribuído às aproximações e premissas consideradas na análise do sistema. Está consolidado na literatura que o potencial transmembrana em um eritrócito está diretamente relacionado à concentração de cloreto, uma vez que este possui alta permeabilidade através da membrana plasmática devido a canais iônicos e transportadores passivos presentes. Porém, na análise realizada nesta dissertação,

consideraram-se todos os outros ânions presentes no sistema, principalmente no meio extracelular, como cloreto.

O perfil de potencial eletrostático analisado não inclui o interior da membrana plasmática que é governado, principalmente, pelo potencial de dipolo que tem origem atribuída à distribuição anisotrópica da orientação das cabeças dos grupamentos lipídicos e a "sobrecompensação" da resposta dipolar das moléculas de água recobrindo a membrana. Para análise do potencial de dipolo é necessário o uso de técnicas explícitas ou híbridas.

Foram propostas duas abordagens contínuas para resolução de um sistema contendo o meio intracelular e extracelular. Em uma delas, o parâmetro da função de regularização referente ao potencial foi inserido na interface entre o citoplasma e a membrana plasmática e, na outra, este foi inserido no centro da membrana plasmática. A vantagem do sistema contínuo consiste na obtenção dos perfis de potencial e concentração nos meios intracelular e extracelular através de uma única compilação do algoritmo computacional.

Como futuros desdobramentos da pesquisa realizada nesta dissertação, destacam-se: estudo da contribuição da diferença de potencial químico de referência entre dois meios distintos; análise das interações entre íons e membrana celular por simulação molecular para prever os efeitos de assimetria de membrana; análise das interações não eletrostáticas relativo à camada de glicocálice presente na superfície extracelular; inclusão de outras espécies iônicas presentes nos sistemas biológicos; estudo de estratégias envolvendo a inclusão das proteínas presente no meio extracelular; estudo prevendo a influencia do pH nos perfis de potencial eletrostático e concentração iônicas em células biológicas, uma vez que o pH do meio intracelular é diferente do meio extracelular; e estudoda partição iônica em células mais complexas, em que estão presentes a membrana nuclear e o núcleo.

## REFERÊNCIAS


ALBERTS, B. *et al*.**Molecular biology of the cell**. 5. ed. New York: Garland Science, 2008.

ALIJÓ, P. H. R. **Cálculo de propriedades físico-químicas de sistemas coloidais assimétricos via equação de Poisson-Boltzmann modificada**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa em Pós-Graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

ALIJÓ, P. H. R. **Análise transiente de fenômenos eletrocinéticos utilizando ferramentas de fluidodinâmica computacional (CFD)**. 2012. 95 f. Exame de qualificação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BAKER, N. A. Improving implicit solvent simulations: a Poisson-centric view. **Current opinion in structural biology**, v.15, n.2, p. 137-143, 2005.

BAKER, N. A.; BASHFORD, D.; CASE, D. A. Implicit Solvent Electrostatics in Biomolecular Simulation. In: LEIMKUHLER, B., *et al*. **New algorithms for macromolecular simulation**. Heidelberg: Springer, 2006. v.49, cap. 5, p. 263-295.

BEAUGE, L. Non-pumped sodium fluxes in human red blood cells evidence for facilitated diffusion. **Biochimica et biophysica acta**, v. 401, n. 1, p. 95-108, 1975.

BERNHARDT, I.; WEISS, E. Passive membrane permeability for ions and membrane potential. In: BERNHARDT, I.; ELLORY, J. C. (Ed.) **Red cell membrane transport in health and disease**. Heidelberg: Springer, 2003. cap. 4, p. 83-109.

BOSTRÖM, M. *et al*. Why forces between proteins follow different Hofmeister series for pH above and below pI. **Biophysical chemistry**, v.117, n. 3, p. 217-224, 2005a.

BOSTRÖM, M. *et al.* Specific ion effects in solution of globular proteins: Comparison between analytical models and simulation. **The journal of physical chemistry B**, v. 109, n. 51, p. 24489-24494, 2005b.

BOSTRÖM, M. *et al*. Effect of salt identity on the phase diagram for a globular protein in aqueous electrolyte solution. **The journal of physical chemistry B**, v. 110, n. 48, p. 24757-24760, 2006.

BOSTRÖM, M. *et al*. Anion-specific partitioning in two-phase finite volume systems: possible implications for mechanisms of ion pumps. **The journal of physical chemistry B**, v. 113, n. 23, p. 8124-8127, 2009.

BOSTRÖM, M.; WILLIAMS, D. R. M.; NINHAM, B. W. Ion specificity of micelles explained by ionic dispersion forces. **Langmuir**, v. 18, n. 16, p. 6010-6014, 2002a.

BOSTRÖM, M.; WILLIAMS, D. R. M.; NINHAM, B. W. Influence of Hofmeister effects on surface pH and binding of peptides to membranes. **Langmuir**, v.18, n. 22, p. 8609-8615, 2002b.

BOSTRÖM, M.; WILLIAMS, D. R. M.; NINHAM, B. W. Specific ion effects: Why the properties of lysozyme in salt solutions follow a Hofmeister series. **Biophysical journal**, v. 85, n. 2, p. 686-694, 2003.

BOSTRÖM, M.; WILLIAMS, D. R. M.; NINHAM, B. W. Specific ion effects: Role of salt and buffer in protonation of cytochrome c. **The European physical journal E**, v. 13, n. 3, p. 239-245, 2004.

BRATKO, D.; FRIEDMAN, H. L.; ZHONG, E. C. An integral equation approach to structure and dynamics of ionic colloidal solutions. **The journal of chemical physics** , v.85, n.1, p. 377-384, 1986.

BRIGGS, P. A. Erythrocyte Mechanisms in the Transport of Carbon Dioxide: An Optional Scheme. **Metabolism**, v. 17, n. 7, p. 582-587, 1968.

CARBONNAUX, C.; RIES-KAUTT, M.; DUCRUIX, A. Relative effectiveness of various anions on the solubility of acidic Hypoderma lineatum collagenase at pH 7.2. **Protein science**, v. 4, n. 10, p. 2123-2128, 1995.

CHENG, K. *et al*. Measurement of membrane potentials ($\psi$) of erythrocytes and white adipocytes by the accumulation of triphenylmethylphosphonium cation. **The journal of membrane biology**, v. 56, n. 3, p. 191-201, 1980.

COSTER, H. G. L.; DEAR, A. A simple approximation technique for solution of Poisson-Boltzmann Equation for fixed charge systems. **Mathematical biosciences**, v. 23, n. 1-2, p. 113-125, 1975.

COTTERRELL, D.; WHITTAM, R. The influence of the chloride gradient across red cell membranes on sodium and potassium movements. **The journal of physiology**, v. 214, n. 3, p. 509-536, 1971.

CRUZ, F. A. O.; VILHENA, F. S. D. S.; CORTEZ, C. M. Solution of non-linear Poisson-Boltzmann equation for erythrocyte membrane. **Brazilian journal of physics**, v. 30, n. 2, p. 403-409, 2000.

CWIKLIK, L. *et al*. Segregation of inorganic ions at surface of polar non-aqueous liquids. **ChemPhysChem**, v. 8, n. 10, p.1457-1463, 2007.

DEVAUX, P. Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. **Biochemistry**, v. 30, n. 5, p. 1163-1173, 1991.

DEVAUX, P.; MORRIS, R. Transmembrane asymmetry and lateral domains in biological membranes. **Traffic**, v. 5, n. 4, p. 241-246, 2004.

DI BIASIO, A.; CAMETTI, C. D-glucose-induced alterations in the electrical parameters of human erythrocyte cell membrane. **Bioelectrochemistry**, v. 77, n. 2, p. 151-157, 2010.

DI BIASIO, A.; CAMETTI, C. On the dielectric relaxation of biological cell suspensions: the effect of the membrane electrical conductivity. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 84, n.2, p. 433-441, 2011.

DONATH, E.; LERCHE, D. 309 - Electrostatic and structural properties of the surface of human erythrocytes. I-cell-electrophoretic studies following neuraminidase treatment. **Bioelectrochemistry and bioenergetics**, v. 7, n. 1, p. 41-53, 1980.

DONNAN, F. G. The theory of membrane equilibria. **Chemical reviews**, v. 1, p. 73-90, 1925.

DRABKIN, D. L. Spectrophotometric studies : XV. Hydration of macro sized crystals of human hemoglobin , and osmotic concentrations in red cells. **The journal of biological chemistry**, v. 185, n. 1, p. 231-245, 1950.

FARRELL, B.; SHOPE, C. D.; BROWNELL, W. E. Voltage-dependent capacitance of human embryonic kidney cells. **Physical review E: statistical, nonlinear, and soft matter physics**, v. 73, n. 4, 041930, 2006.

FEHER, J. J. Plasma and red blood cells. In: FEHER, J. J. **Quantitative human physiology:**an introduction. San Diego: Academic Press, 2012. cap. 5.2, p. 128-436.

FEIG, M.; BROOKS, C. L. I. Recent advances in the development and application of implicit solvent models in biomolecule simulations. **Current opinion in structural biology**, v. 14, n. 2, p. 217-224, 2004.

FOGOLARI, F.; BRIGO, A.; MOLINARI, H. The Poisson-Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology. **Journal of molecular recognition**, v. 15, n. 6, p. 377-392, 2002.

FREEDMAN, J. Membrane transport in red blood cells. In: SPERELAKIS, N. **Cell physiology sourcebook:** A molecular Approach. 3. ed. Ohio: Academic Press, 2001. cap. 23, p. 377-392.

FREITAS, T. C.; QUINTO, T. C.; SECCHI, A. R.; BISCAIA, E. C. An Efficient adjoint-free dynamic optimization methodology for batch processing using Pontryagin's formulation. In: BOGLE, I. D. L.; FAIRWEATHER, M. (Ed.) **22nd European Symposium on Computer Aided Process Engineering**. Amsterdam: Elsevier, 2012.

FUNDER, J.; WEITH, J. O. Potassium, sodium and water in normal human red blood cells. **Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation**, v. 18, n. 2, p. 167-180, 1966a.

FUNDER, J.; WEITH, J. O. Chloride and hydrogen ions distribution between human red cell and plasma. **Acta physiologica Scandinavica**, v. 98, n. 2, p. 234-245, 1966b.

GOULDEN, P. T. The biological membrane potential some theoretical considerations. **Journal of theoretical biology**, v. 58, n. 2, p. 425-438, 1976.

GRøNBECH-JENSEN, N.; BEARDMORE, K. M.; PINCUS, P. Interactions between charged spheres in divalent counterion solution. **Physica A: statistical mechanics and its applications**, v. 261, n. 1-2, p. 74-81, 1998.

GUPTA, M. C. Statistical mechanics of a system of independent particles. In: GUPTA, M. C. **Statistical thermodynamics**. 2. ed. Nova Deli: New Age International, 1999. cap. 6, p. 77-98.

HAYNIE, D. T. **Biological thermodynamics**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 2008.

HEINRICH, R.; GAESTEL, M.; GLASER, R. The electric potential profile across the erythrocyte membrane. **Journal of theoretical biology**, v. 96, n. 2, p. 211-231, 1982.

HIANIK, T. Biological membranes amd membrane mimics. In: BARTLETT, P. N. (Ed.)**Bioelectrochemistry:** fundamentals, experimental techniques and applications. Chichester: John Wiey & Sons, 2008. cap. 3, p. 87-158.

HOFFMAN, J. F.; LARIS, P. C. Determination of membrane potentials in human and amphiuma red blood cells by means of fluorescent probe. **The journal of physiology**, v. 239, n. 3, p. 519-552, 1974.

ISRAELACHVILI, J. N. **Intermolecular ans surface forces**. 3. ed. Burlington: Academic Press, 2011. 674 p.

JAN, K. M.; CHIEN, S. Role of surface electric charge in red blood cell interactions. **The journal of general physiology**, v. 61, n. 5, p. 638-654, 1973.

JAY, A. W. L.; BURTON, A. C. Direct measurement of potencial difference across the human red blood cell membrane. **Biophysical journal**, v. 9, n. 2, p. 115-121, 1969.

JUNGWIRTH, P.; TOBIAS, D. J. Specific Ion Effects at the Air/Water Interface. **Chemical reviews**, v. 106, p. 1259-1281, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488 p.

KJELLANDER, R.; MARCELJA, S. Correlation and image charge effects in electric double layers. **Chemical physics letters**, v. 112, n. 1, p. 49-53, 1984.

KRYSINSKI, P.; TIEN, H. T. Membrane electrochemistry. **Progress in surface science**, v. 23, n. 4, p. 317-412, 1986.

KUNZ, W.; HENLE, J.; NINHAM, B. W. ‘Zur Lehre von der Wirkung der Salze’ (about the science of the effect of salts): Franz Hofmeister's historical papers. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 9, n. 1-2, p. 19-37, 2004.

LASSEN, U. V.; STEN-KNUDSEN, O. Direct measurements of membrane potential and membrane resistance of human red cells. **The journal of physiology**, v. 195, n. 3, p. 681-696, 1968.

LIMA, E. R. A. **Cálculo de Propriedades físico-químicas de sistemas coloidais via equação de Poisson-Boltzmann**. 2008. 144 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Programa em Pós-Graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

LIMA, E. R. A. *et al*. Co-ion and ion competition effects: ion distributions close to a hydrophobic solid surface in mixed electrolyte solutions. **Langmuir**, v. 24, n. 8, p. 3944-3948, 2008a.

LIMA, E. R. A. *et al*. Forces between air-bubbles in electrolyte solution. **Chemical Physical letters**, v. 458, n. 4-6, p. 299-302, 2008b.

LIMA, E. R. A. *et al*. Ion-specific forces between a colloid nanoprobe and a charge surface. **Langmuir**, v. 23, n. 14, p. 7456-7458, 2007a.

LIMA, E. R. A. *et al*. Osmotic Second Virial Coefficiebts and phase diagrams for aqueous proteins from a much-improves Poisson-Boltzmann equation. **Journal of physical chemistry C**, v. 111, n. 43, p. 16055-16059, 2007b.

LIMA, E. R. A. *et al*. Specific ion adsorption and surface forces in colloid science. **Journal of physical chemistry B**, v. 112, n. 6, p. 1580-1585, 2008c.

LIMA, E. R. A.; BISCAIA, E. C.; TAVARES, F. W. Modelagem computacional de sistemas coloidais. In: NETO, M. F., *et al*. **Modelagem computacional em materiais**. Rio de Janeiro: Ciência Moderna, 2009.

LIMA, E. R. A.; TAVARES, F. W.; BISCAIA, E. C. Finite volume solution of modified Poisson-Boltzmann equation for two colloidal particles. **Physical chemistry chemical physics**, v. 9, n. 24, p. 3174-3180, 2007.

LIN, J.; BAKER, N. A.; MCCAMMON, J. A. Bridging implicit and explicit solvent approachesfor membrane electrostatics. **Biophysical journal**, v. 83, n. 3, p. 1374-1379, 2002.

LODISH, H. *et al*. **Molecular cell biology**. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 2000.

MAFÉ, S.; MANZANARES, J. A.; REISS, H. Donnan phenomena in membranes with charge due to ion adsorption. Effects of the interaction between adsorbed charged groups. **The journal of chemical physics**, v. 98, n. 3, p. 2325-2331, 1993.

MALMBERG, C. G.; MARYOTT, A. A. Dielectric Constant of water from 0° a 100°C. **Journal of research of the national Bureau of standards**, v. 56, n. 1, p. 1-6, 1956.

MASLIYAH, J. H.; BHATTACHARJEE, S. **Electrokinetic and colloid transport phenomena**. Hokoben: John Wiley & Sons, 2006.

MOERSDORF, D. *et al*. Transmembrane potential of red blood cells under low ionic strength conditions. **Cellular physiology and biochemistry**, v. 31, n. 6, p. 875-882, 2013.

MOREIRA, L. A. **Cálculo de propriedades físico-químicas de sistemas coloidais via equação de Poisson-Boltzmann: efeito da inclusão de potenciais não-eletrostáticos**. 2007. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Programa em Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger:** princípios de bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202 p.

NIC, M.; JIRAT, J.; KOSATA, B. Compedium of Chemical Terminology: Gold Book. **IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry**, 2012. Disponivel em: <http://goldbook.iupac.org/>. Acesso em: 16 dez. 2013.

NINHAM, B. W. On progress in forces since the DLVO theory. **Advances in colloid and interface science**, v. 83, n. 1-3, p. 1-17, 1999.

NINHAM, B. W.; LO NOSTRO, P. **Molecular forces and self assembly**. Cambrigde: Cambridge University Press, 2010.

NINHAM, B. W.; YAMINSKY, V. Ion binding and ion specificity: The Hofmeister effect and Onsager and Lifshitz theories. **Langmuir**, v. 13, n. 7, p. 2097-2108, 1997.

OHKI, S. The origin of electrical potential in biological systems. In: SRINIVASAN, S., *et al*. **Comprehensive treatise of electrochemistry:** Volume 10 Bioelectrochemistry. New York: Springer US, 1985. cap. 1, p. 1-130.

O'SHEA, P. Membrane potentials: measurement, occurrence and roles in cellular functions. In: WALZ, D.; TEISSIÉ, J.; MILAZZO, G. (Ed.)**Bioelectrochemistry of membranes**. Basel: Birkhäuser Verlag, 2004. cap. 2, p. 23-59.

PARSEGIAN, V. A. **Van der Waals forces:** a handbook for biologists, chemists, engineers, and physicits. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.

PATEY, G. N. The interaction of two spherical colloidal particles in electrolyte solution. An application of the hypernetted-chain approximation. **The journal of chemical physics**, v. 72, n. 10, p. 5763-5771, 1980.

PETERSON, U. *et al*. Origin of membrane dipole potential: contribution of the phospholipid fatty acid chains. **Chemistry and physics of lipids**, v. 177, n. 1-2, p. 19-27, 2002.

PINTO, J. C.; LAGE, P. L. C. **Métodos numéricos em problemas de engenharia química.** Série escola piloto em engenharia química, COPPE/UFRJ. Rio de Janeiro: e-papers, 2001.

PONDER, E. **Hemolysis and related phenomena**. New York: Grune and Stratton, 1948. *Apud*FREEDMAN, J. Membrane transport in red blood cells. In: SPERELAKIS, N. Cell physiology sourcebook: A molecular Approach. 3. ed. Ohio: Academic Press, 2001. cap. 23, p. 377-392.

POPOVIC, Z.; POPOVIC, B. D. **Introductory electromagnetics**. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2000.

PRATT, L. R.; HUMMER, G.; GARCIA, A. E. Ion pair potentials-of-mean-force in water. **Biophysical chemistry**, v. 51, p.147-165, 1994.

PRAUSNITZ, J. M.; LICHTENTHALER, R. N.; AZEVEDO, E. G. **Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria**. 3. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999.

RIES-KAUTT, M. M.; DUCRUIX, A. F. Relative effectiveness of various ions on the solubility and crystal growth of lysozyme. **The journal of biological chemistry**, v. 264, n. 2, p. 745-748 , 1989.

ROSENBERG, S. A.; GUIDOTTI, G. The protein of human erythrocyte membranes: I. preparation, solubilization, and partial characterization. **The journal of biological chemistry**, v. 243, n. 8, p. 1985-1992, 1968.

SABBATINO, V. E. Capítulo 6: Sangre y Linfa. **Biología celular y humana**, [2013]. Disponivel em: <http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_06.htm>. Acesso em: 16 dez. 2013.

SCHROEDER, F. *et al*. Transmembrane distribution of sterol in the human erythrocyte. **Biochimica et biophysica acta (bba) - biomembranes**, v. 1066, n. 2, p. 183-192, 1991.

SEN, A. K.; POST, R. L. Stoichiometry and localization of erythrocyte stoichiometry and localization of adenosine dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte. **The journal of biological chemistry**, v. 239, n. 1, p. 345-352, 1964.

SHAW, D. J. **Introduction to colloid and surface chemistry**. 4. ed. Oxford: Elsevier Science, 1992.

SHCHUKIN, E. D. *et al*. Interfaces between condensed phases. Wetting. In: SHCHUKIN, E. D., *et al*. **Collois and surface chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. cap. 3, p. 165-259.

SKOU, J. C. The identification of sodium pump**. Bioscience reports**, v. 18, n. 4, p. 155-169, 1998.

SPERELAKIS, N. **Cell physiology source book:** a molecular approach. 3. ed. Ohio: Academic Press, 2001.

TARDIEU, A. *et al*. Understanding salt or PEG induced attractive interactions to crystallize biological macromolecules. **Acta crystallographica. Section D**, v. 58, n.10, p. 1549-1553, 2002.

TAVARES, F. W. *et al*. Ion-specific effects in the colloid-colloid or protein of mean force: role of salt-macroion van der Waals interactions. **The journal of physical chemistry B**, v. 108, n. 26, p. 9228-9235, 2004.

TIEN, C. L.; LIENHARD, J. H. Classical statistics of independent particles. In: TIEN, C. L.; LIENHARD, J. H. **Statistical thermodynamics**. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1979. cap. 3, p. 57-80.

VÁCHA, R. *et al*. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons at the air-water interface: molecular dynamics simulations and experimental atmospheric observations. **Physical chemistry chemical physics**, v.8, n. 38, p. 4461-4467, 2006.

VOET, D.; VOET, J. G. **Biochemistry**. 4. ed. Kendallville: John Wiley & Sons, 2011.

VOYUTSKY, S. S. **Colloid chemistry**. Tradução de N. Brobov. Moscow: Mir Publishers, 1978.

WAGONER, J.; BAKER, N. Solvation forces on biomolecular structures: a comparison of explicit solvent and Poisson-Boltzmann models. **Journal ofcomputational chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1623-1629, 2004.

WARWICKER, J.; WATSON, H. C. Calculation of the electric potential in the active site cleft due to α-helix dipoles. **Journal of molecular biology**, v. 154, n.4, p. 671-679, 1982.

WU, J. Density functional theory for chemical engineering: from capillarity to soft materials. **AIChE Journal**, v. 52, n. 3, p. 1169-1193, 2006.

WU, J. Z. *et al*. Monte Carlo simulation for the potential of mean force between ionic colloids in solutions of asymmetric salts. **Journal of chemical physics**, v. 111, n. 15, p. 7084-7094, 1999.

WU, J. Z. *et al*. Interaction between oppositely charged micelles or globular proteins. **Physical review E**, v. 62, n. 4, p. 5273-5280, 2000.

WU, J.; MORIKIS, D. Molecular thermodynamics for charged biomacromolecules. **Fluid phase equilibria**, v. 241, n. 1-2, p. 317-333, 2006.

YAWATA, Y. **Cell membrane:** the red blood cell as a model. Darmstadt: Wiley-VCH Verlag, 2003.

ZACHOWSKI, A. Phospholipids in animal eukaryotic membranes: transverse asymmetry and movement. **Biochemical journal**, v. 294, n. 1, p. 1-14, 1993.

**APÊNDICE A** – Equação de Poisson

De acordo com Masliyah e Bhattacharjee (2006), a eletrostática possui quatro princípios (leis) fundamentais. O primeiro princípio é sobre a conservação de cargas, isto é, para um corpo isolado a carga total não pode ser mudada:

$$\sum_i Q_i = constante \tag{A.1}$$

sendo a *i-ésima* carga contida no corpo.

De acordo com o segundo princípio, a carga total de um corpo é um múltiplo inteiro da carga fundamental, que é a carga de um elétron: $e = 1{,}602 \times$ .

O terceiro princípio é a lei de Coulomb que diz que a força entre duas cargas estacionárias ( e ) no vácuo separadas por uma distância é proporcional ao produto das cargas e inversamente proporcional ao quadro da distância de separação entre as cargas (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; POPOVIC, Z.; POPOVIC, B., 2000):

$$F = k_e \frac{Q_1 Q_2}{R^2} \tag{A.2}$$

Sendo:

$$k_e = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \tag{A.3}$$

em que é a constante de Coulombe é a permissividade do vácuo ( $\varepsilon_0 = 8{,}854 \times 10^{-12} C^2 J^{-}$.

A lei de Coulomb na forma vetorial é:

$$\vec{F}_{12} = k_e \frac{Q_1 Q_2 \hat{R}_{12}}{\vec{R}_{12}^{\,2}} \tag{A.4}$$

$$\vec{F}_{12} = -\vec{F}_{21} \tag{A.5}$$

em que e são as posições das cargas 1 e 2, respectivamente, o vetor $\vec{R}_{12} = R$ é a distância vetorial entre as cargas, $\hat{R}_{12} = R_{12}$ (vetor unitário que aponta de para , é igual a , é a força vetorial aplicada em por e é a força vetorial aplicada em por .

A força ocorre ao longo da linha reta que une os dois pontos de carga. Se as duas cargas tem o mesmo sinal, a força eletrostática entre eles é repulsiva; se tiverem sinais diferentes, a força entre eles será atrativa.

A força elétrica tende para quando as cargas se aproximam a uma distância zero. Vale ressaltar que as interações carga-carga não podem ser integradas sobre um domínio infinito e não se pode truncar em qualquer distância sem erro (POPOVIC, Z.; POPOVIC, B., 2000).

O quarto princípio da eletrsotática é o da superposição. A força entre quaisquer duas cargas mão é afetada pela presença de outra carga (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Utilizando o princípio da superposição, a força total exercida por cargas *i* em uma carga teste é dada por:

$$\vec{F} = \vec{F}_{1A} + \vec{F}_{2A} + \cdots + \vec{F}_{nA} = k_e Q_A \sum_{i=1}^{n} \frac{Q_i \hat{R}_{iA}}{\vec{R}_{iA}^{\,2}} \tag{A.6}$$

O campo eletrostático ( ) é definido como a força por carga teste positiva unitária:

$$\vec{E} = \frac{F}{Q_A} = k_e \sum_{i=1}^{n} \frac{Q_i \hat{R}_{iA}}{\vec{R}_{iA}^{\,2}} \tag{A.7}$$

Um campo elétrico é um campo vetorial que associa a cada ponto no espaço a força Coulomb experimentada por uma carga de teste. A força e a direção da força de Coulomb em uma carga teste dependem do campo elétrico .

Um caso especial da equação acima é o campo elétrico em devido a uma carga pontual localizada na origem:

$$\vec{E} = k_e Q \frac{\hat{R}}{\vec{R}^2} \tag{A.8}$$

A lei de Gauss é uma lei conservadora que estabelece a relação entre o fluxo de campo elétrico que passa através de uma superfície fechada com a carga elétrica que existe dentro do volume limitado por esta superfície. A forma integral da lei de Gauss consiste em(MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006):

$$J = \oiint \vec{E} \cdot \mathrm{d}\vec{S} = \oiint (\vec{E} \cdot \vec{n}) \mathrm{d}S = \oiint \frac{(\hat{R} \cdot \vec{n})\, k_e Q}{\vec{R}^2} \mathrm{d}S \tag{A.9}$$

em que é um vetor unitário normal para fora da superfície controle e *J* o fluxo de campo elétrico.

Para uma carga puntiforme em uma esfera tem-se um campo elétrico simétrico e esférico. Reconhecendo que o ângulo sólido do elemento é dado por $(\hat{R} \cdot \vec{n})$, tem-se:

$$J = \oiint \vec{E} \cdot \mathrm{d}\vec{S} = k_e \oiint_0^{4\pi} Q \, \mathrm{d}\Omega = \frac{Q}{\varepsilon_0} \tag{A.10}$$

Dessa forma, o fluxo de campo elétrico através de uma superfície fechada *S* é proporcional à carga enclausurada pela superfície. A relação é independente da forma da superfície ou da posição da carga dentro da superfície fechada. Utilizando o princípio da superposição, pode-se generalizar a Equação (A.10) de modo que o ponto de carga *Q* é a soma de todos os pontos de cargas dentro da superfície fechada *S*.

$$J = \oiint \vec{E} \cdot d\vec{S} = \sum_i J_i = \frac{\sum_i Q_i}{\varepsilon_0} \tag{A.11}$$

O teorema de Gauss relaciona uma integral tripla num sólido de com a integral sobre a superfície que é fronteira deste sólido.

Seja *V*uma região fechada e limitada de cuja fronteira é uma superfície orientada positivamente. Se é um campo vetorial num subconjunto aberto de que contém *V*, então:

$$\oiint \vec{v} \cdot d\vec{S} = \oiiint \nabla \cdot \vec{v} dV \tag{A.12}$$

Aplicando o teorema de Gauss na eletrostática, tem-se:

$$\oiint \vec{E} \cdot d\vec{S} = \oiiint (\nabla \cdot \vec{E}) dV \tag{A.13}$$

Pode-se expressar a densidade de carga dentro de um volume *V* em termos de carga total *Q*:

$$Q = \oiiint \rho dV \tag{A.14}$$

Através das Equações (A.10) e (A.14), obtém-se:

$$\oiiint (\nabla \cdot \vec{E}) dV = \frac{1}{\varepsilon_0} \oiiint \rho dV \tag{A.15}$$

Para um volume arbitrário V, tem-se:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\varepsilon_0} \tag{A.16}$$

Essa é a fórmula diferencial da Lei de Gauss.

A magnitude do campo eletrostático pode ser calculada como o gradiente de uma função escalar simples ( ), a função potencial (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006):

$$\vec{E} = -\nabla\psi \tag{A.17}$$

Utilizando a função escalar, pode-se reduzir um problema vetorial para um escalar. Consequentemente, em muitos casos, é mais fácil trabalhar com o potencial eletrostático do que com a magnitude de campo elétrico.

O sinal negativo refere-se ao fato que o movimento contra o campo elétrico resulta em trabalho positivo. O potencial elétrico é o trabalho (positivo) por unidade de carga necessário para mover a carga teste desde o infinito até uma posição dentro de um campo elétrico gerado por *Q*(POPOVIC, Z.; POPOVIC, B., 2000).

O gradiente do potencial eletrostáticode uma carga puntiforme de magnitude *Q*a uma distância *R* da carga teste unitária é definido como:

$$\nabla\psi = -k_e Q \frac{\hat{R}}{\vec{R}^2} \tag{A.18}$$

Considerando apenas a variação na direção radial, tem-se:

$$\frac{d\psi}{dr} = -\frac{k_e Q}{R^2} = -\frac{Q}{4\pi\varepsilon_0 R^2} \tag{A.19}$$

Integrando, tem-se:

$$\psi = \psi_1 + \frac{Q}{4\pi\varepsilon_0}\left(\frac{1}{R} - \frac{1}{R_1}\right) \tag{A 20}$$

em que $_1$ em . Considerando como um valor de referência do potencial eletrostático a uma distância radial e levando essa referência para *I*, tem-se que $_1$. Obtém-se:

$$\psi = \frac{Q}{4\pi\varepsilon_0 R} \tag{A.21}$$

De acordo com o princípio da superposição, para um sistema homogêneo, o campo e o potencial eletrostáticos são aditivos. O potencial em devido às cargas em no vácuo é:

$$\psi(\vec{R}) = \sum_i \psi_i(\vec{R}) = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\sum_i \frac{Q_i}{|R_A - R_i} \tag{A.22}$$

A forma diferencial para o potencial elétrico pode ser facilmente derivada através da combinação das Equações (A.16) e(A.17):

$$\nabla \cdot (\nabla\psi) = \nabla^2\psi = -\frac{\rho}{\varepsilon_0} \tag{A.23}$$

Essa equação refere-se à equação de Poisson no vácuo. Nos casos no qual a densidade de carga elétrica dentro de um corpo é ausente, isto é, , a equação de Poisson se transforma na equação de Laplace:

$$\nabla^2\psi = 0 \tag{A.24}$$

A Lei de Gauss pode ser estendida para campos eletrostáticos para meios dielétricos. Uma molécula de um material dielétrico constitui dipolos quando na presença de campo elétrico. Um dipolo compreende duas cargas iguais e opostas, e separadas por uma distância *d*. O momento dipolo é definido como , sendo o vetor de orientação entre as duas cargas. Para seios de fases, o vetor de polarização ou momento dipolo de polarização ou campo de polarização é definido por (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006; POPOVIC, Z.; POPOVIC, B., 2000):

$$\vec{P} = NQ\vec{d} \tag{A.25}$$

Sendo $N$ é o número de dipolos por volume. Para a maior parte dos materiais dielétricos, quando o campo elétrico não é muito forte, a polarização é diretamente proporcional ao campo elétrico aplicado e pode ser escrito como:

$$\vec{P} = \chi \varepsilon_0 \vec{E} \tag{A.26}$$

A constante  refere-se à suscetibilidade elétrica do meio dielétrico. Se essa constante é igual em todos os pontos, o dielétrico é homogêneo, caso contrário, o dielétrico é não homogêneo. Materiais dielétricos que respeitam a Equação (A.26)são ditos lineares.

Através de argumentos de média complexidade, pode-se escrever:

$$\nabla \cdot \vec{P} = -\rho_p \tag{A.27}$$

em que  é densidade de carga volumétrica de polarização. Dentro de um material dielétrico, a densidade de carga volumétrica total é constituída de dois tipos de densidades de cargas: a densidade de carga livre (  ) e outra de polarização:

$$\rho = \rho_p + \rho_l \tag{A.28}$$

Essa densidade de carga livre pode ser constituída de eletrólitos em solução, elétrons em um condutor ou íons na superfície de um material dielétrico.

Inserindo a Equação (A.28) na Equação (A.16), tem-se:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{1}{\varepsilon_0}(\rho_p + \rho_l) \tag{A.29}$$

Substituindo a carga de polarização proveniente da Equação (A.27), obtém-se:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{1}{\varepsilon_0}\left(-\nabla \cdot \vec{P} + \rho_l\right) \tag{A.30}$$

$$\nabla \cdot \left(\varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P}\right) = \rho_l \tag{A.31}$$

O termo $(\varepsilon_0$ é usualmente designado como vetor de deslocamento elétrico, . No sistema internacional, a unidade de é C/m².

Com a utilização dessa definição, obtém-se a lei de Gauss generalizada:

$$\oiint \vec{D} \cdot d\vec{S} = Q_l \tag{A.32}$$

em que é a carga livre total englobada pela superfície *S*.

Combinando as Equações (A.26) e(A.31), tem-se:

$$\nabla \cdot \left[\varepsilon_0(1+\chi)\vec{E}\right] = \rho_l \tag{A.33}$$

em que, para dielétricos lineares, a constante dielétrica do material ( ) é igual à:

$$\varepsilon = (1+\chi) \tag{A.34}$$

Combinando as Equações (A.31), (A.33) e(A.34), tem-se:

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \varepsilon \vec{E} \tag{A.35}$$

No vácuo, não há material para ser polarizado, logo, é igual a zero. Nesse caso, a permissividade do meio se reduz à permissividade do vácuo. Consequentemente, essa definição de é consistente (MASLIYAH; BHATTACHARJEE, 2006).

Combinando as Equações (A.33) e(A.34), chega-se a equação de Maxwell para materiais dielétricos:

$$\nabla \cdot \left(\varepsilon_0 \varepsilon \vec{E}\right) = \rho_l \tag{A.36}$$

$$\varepsilon_0 \nabla \cdot \left(\varepsilon \vec{E}\right) = \rho_l \tag{A.37}$$

Combinando a Equação (A.17) com as Equações(A.36) e (A.37), tem-se:

$$\nabla \cdot (\varepsilon_0 \varepsilon \nabla \psi) = -\rho_l \tag{A.38}$$

$$\varepsilon_0 \nabla \cdot (\varepsilon \nabla \psi) = -\rho_l \tag{A.39}$$

A Equação (A.39) refere-se à equação de Poisson para meios dielétricos.

**APÊNDICE B** – Distribuição de Boltzmann de acordo com a termodinâmica estatística

Vamos considerar um sistema composto por *N* partículas iguais, independentes e distinguíveis. As seguintes suposições foram consideradas: somente níveis discretos de energia $E_1$, são acessíveis para cada partícula, sendo o nível mais baixo de energia designado por , e depois, e assim sucessivamente; energia pode ser trocada entre as partículas, o que significa que o número de partículas em cada estado de energia pode mudar continuamente. Assume-se que o sistema é fechado e isolado, sendo necessário satisfazer as seguintes condições (GUPTA, 1999; TIEN; LIENHARD, 1979):

$$E = n_1 E_1 + n_2 E_2 + \cdots + n_i E_i = n'_1 E + n'_2 E_2 + \cdots + n'_i E_i \tag{B.1}$$

$$E = \sum_i n_i E_i = \sum_i n'_i E_i \tag{B.2}$$

$$N = n_1 + n_2 + \cdots + n_i = n'_1 + n'_2 + \cdots + n'_i \tag{B.3}$$

$$N = \sum_i n_i = \sum_i n'_i \tag{B.4}$$

em que é o número de partículas no nível de energia *i* em um determinado momento e é o número de partículas no nível de energia *i* em outro momento ( ).

Cada conjunto em determinado momento resulta em configurações diferentes do sistema; uma vez que as partículas são distinguíveis por suas posições, então, cada configuração pode ser alcançada através de muitas distribuições, dependendo de quais partículas estão em cada estado de energia. O número total de configurações acessíveis para o sistema pode ser representado como a soma de todas as configurações que podem ser alcançadas através de todas as distribuições.

O número total de maneiras que*N* partículas independentes e distinguíveis em um sistema podem ser distribuídas em um grupo de é dada pela expressão (GUPTA, 1999; TIEN; LIENHARD, 1979):

$$W(n) = \frac{N!}{\prod_i n_i!} \tag{B.5}$$

Assim, o número total de formas de distribuições sujeito às condições será então:

$$W = W(n) + W(n') + W(n'') + \cdots = \frac{N!}{\prod_i n_i!} + \frac{N!}{\prod_i n'_i!} + \cdots \tag{B.6}$$

A avaliação exata da equação acima não é possível. Contudo, considerando que cada termo desta equação refere-se a uma configuração diferente, sabe-se que para um sistema macroscópico, quando , o sistema sempre se comporta como se estivesse no estado mais provável. Isso significa que o estado mais provável de distribuição pode ser considerado como o equilíbrio da distribuição. A distribuição mais provável será aquela com valor máximo de *W*. Contudo, devido as termos fatoriais em *W*, é mais fácil utilizar ao invés de *W*. Pode-se substituir por l:

$$\ln W \cong \ln W_{máx} = \ln \frac{N!}{\prod_i n_i^*!} \tag{B.7}$$

$$\ln W = \ln N! - \sum_i \ln n_i^*! \tag{B.8}$$

em que é o número da população que fornece a distribuição mais provável ou que fornece o maior valor de *W*.

A condição de valor máximo de *W* corresponde à equação:

$$\delta W = \frac{\partial W}{\partial n_1}\delta n_1 + \frac{\partial W}{\partial n_2}\delta n_2 + \cdots + \frac{\partial W}{\partial n_i}\delta n_i = 0 \tag{B.9}$$

Considerando , tem-se:

$$\delta \ln W = \frac{\partial \ln W}{\partial n_1}\delta n_1 + \frac{\partial \ln W}{\partial n_2}\delta n_2 + \cdots + \frac{\partial \ln W}{\partial n_i}\delta n_i = 0 \tag{B.10}$$

Contudo, a distribuição $W$ é governada pelas condições (B.1), (B.2), (B.3) e (B.4) que no presente contexto pode ser escrita na forma:

$$\delta E = E_1\delta n_1 + E_2\delta n_2 + \cdots + E_i\delta n_i = 0 \tag{B.11}$$

$$\delta N = \delta n_1 + \delta n_2 + \cdots + \delta n_i = 0 \tag{B.12}$$

A fim de determinar , combinam-se as Equações (B.10), (B.11) e (B.12). Para a adição das equações, utiliza-se o método de Lagrange, multiplicando a Equação (B.12) por um parâmetro adimensional e a Equação (B.11)por um parâmetro , de dimensão igual ao inverso da unidade de energia. Obtém-se:

$$\left(\frac{\partial \ln W}{\partial n_1} + \alpha - \beta E_1\right)\delta n_1 + \left(\frac{\partial \ln W}{\partial n_2} + \alpha - \beta E_2\right)\delta n_2 + \cdots + \left(\frac{\partial \ln W}{\partial n_i} + \alpha - \beta E_i\right)\delta n_i = 0 \tag{B.13}$$

Se todos os incrementos $\delta n_1$, fossem independentes, a Equação (B.13)poderia ser satisfeita colocando o conteúdo de cada termo entre parênteses igual a zero. Mas esses incrementos não são independentes, eles são relacionados pelas equações condicionais. Porém escolhendo quaisquer dois incrementos como dependentes, escolhe-se o valor de e de , de tal forma que satisfaça às condições:

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_1} + \alpha - \beta E_1 = 0 \tag{B.14}$$

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_2} + \alpha - \beta E_2 = 0 \tag{B.15}$$

Tal fato faz todos os outros incrementos independentes e agora cada termo entre parênteses é igual a zero. Essa condição é satisfeita se for substituído por ; então:

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_1^*} + \alpha - \beta E_1 = 0 \tag{B.16}$$

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_2^*} + \alpha - \beta E_2 = 0 \tag{B.17}$$

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_i^*} + \alpha - \beta E_i = 0 \tag{B.18}$$

Considerando que o valor de é grande o suficiente para permitir o uso da aproximação de Stirling, pode-se substituir o fatorial da Equação (B.8)por:

$$\ln W = \mathrm{N} \ln N - N - \sum_i (n_i^* \ln n_i^* - n_i^*) \tag{B.19}$$

A partir desta equação, segue-se que:

$$\frac{\partial \ln W}{\partial n_i^*} = \frac{\partial}{\partial n_i^*}\left[-\sum_i (n_i^* \ln n_i^* - n_i^*)\right] = -\ln n_i^* \tag{B.20}$$

Substituindo na Equação (B.18), tem-se:

$$-\ln n_i^* + \alpha - \beta E_i = 0 \tag{B.21}$$

$$n_i^* = e^{\alpha} e^{-\beta E_i} \tag{B.22}$$

O termo é avaliado através da condição:

$$N = \sum_i n_i^* = e^{\alpha} \sum_i e^{-\beta E_i} \tag{B.23}$$

$$e^{\alpha} = \frac{N}{\sum_i e^{-\beta E_i}} \tag{B.24}$$

Substituindo na Equação (B.22):

$$\frac{n_i^*}{N} = \frac{e^{-\beta E_i}}{\sum_i e^{-\beta E_i}} \tag{B.25}$$

Essa é uma das formas em que a lei de distribuição de Boltzmann pode ser expressa. Esta equação depende claramente do pressuposto de que o estado de cada partícula é determinado unicamente pela energia que possui. Na linguagem de mecânica quântica, segue que todos os níveis de energia são não-degenerados, essa suposição é incorreta. Quase todos os níveis de energia acessíveis para partículas reais são degenerados. Na mecânica quântica, se diferentes estados quânticos $g_i$ acessíveis a uma partícula são caracterizados pela mesma energia $U_i$, esse nível de energia é dito $g$ vezes degenerado. Esta é uma das limitações da distribuição de Boltzmann (GUPTA, 1999; TIEN; LIENHARD, 1979).

De acordo com a equação de Boltzmann para entropia, tem-se que:

$$S = k_B \ln W \cong k_B \ln W_{máx} \tag{B.26}$$

em que é a constante de Boltzmann. Substituindo o valor de l, obtém-se:

$$\frac{S}{k_B} = \mathrm{N} \ln N - N - \sum_i (n_i^* \ln n_i^* - n_i^*) = \mathrm{N} \ln N - \sum_i (n_i^* \ln n_i^*) \tag{B.27}$$

Substituindo o termo da equação acima pelo termo proveniente da Equação (B.25):

$$\frac{S}{k_B} = \mathrm{N} \ln N - \sum_i \left[ n_i^* \ln \left( \frac{N e^{-\beta E_i}}{\sum_i e^{-\beta E_i}} \right) \right] \tag{B.28}$$

$$\frac{S}{k_B} = \beta E + N \ln \sum_i e^{-\beta E_i} \tag{B.29}$$

A derivada parcial da Equação (B.29)em função da energia $E$ a volume constante em um sistema fechado pode ser expressa como:

$$\left(\frac{\partial S}{\partial E}\right)_{V,N} = \beta k_B + k_B \frac{\partial}{\partial \beta}\left(N \ln \sum_i e^{-\beta E_i} + \beta E\right)\left(\frac{\partial \beta}{\partial E}\right)_{V,N} \tag{B.30}$$

Porém:

$$\frac{\partial}{\partial \beta}\left(N \ln \sum_i e^{-\beta E_i} + \beta E\right) = -N \frac{\sum_i E_i e^{-\beta E_i}}{\sum_i e^{-\beta E_i}} + E \tag{B.31}$$

Substituindo o valor de proveniente da Equação (B.25), tem-se:

$$\frac{\partial}{\partial \beta}\left(N \ln \sum_i e^{-\beta E_i} + \beta E\right) = -N \frac{\sum_i n_i^* E_i}{\sum_i n_i^*} + E = -E + E = 0 \tag{B.32}$$

Dessa forma, substituindo a Equação (B.32) na Equação (B.30), obtém-se:

$$\left(\frac{\partial S}{\partial E}\right)_{V,N} = \beta k_B \tag{B.33}$$

Sabe-se que das relações termodinâmicas em sistemas fechados a volume constante, $\left(\frac{\partial S}{\partial E}\right)$, então:

$$\beta = \frac{1}{k_B T} \tag{B.34}$$

Através da Equação (B.25) e (B.34), pode-se calcular a razão entre o número de partículas em um estado em relação a um estado :

$$\frac{n_j}{n_i} = e^{-\left(\frac{\Delta E_{ji}}{k_B T}\right)} \tag{B.35}$$

Sendo $\Delta E_{ji} =$ .

A energia potencial de um íon pode ser representada por:

$$\Delta E_{ji} = ze\psi \tag{B.36}$$

Dessa forma:

$$\frac{n_j}{n_i} = e^{-\left(\frac{ze\psi}{k_B T}\right)} \tag{B.37}$$

A Equação (B.37) refere-se à distribuição de Boltzmann para sistemas eletrolíticos.

**APÊNDICE C** – Resolução de Sistemas Algébricos Lineares Heptadiagonais

O algoritmo em questão se assemelha ao algoritmo de Thomas, porém é utilizado para resolução de sistemas heptadiagonaiscom equações e variáveis (Figura 47).

Figura 47 – Esquema do sistema algébrico linear heptadiagonal

$$\begin{pmatrix}
a_1 & b_1 & d_1 & f_1 & & & & & & & \\
c_2 & a_2 & b_2 & d_2 & f_2 & & & & & & \\
e_3 & c_3 & a_3 & b_3 & d_3 & f_3 & & & & & \\
g_4 & e_4 & c_4 & a_4 & b_4 & d_4 & f_4 & & & & \\
 & g_5 & e_5 & c_5 & a_5 & b_5 & d_5 & f_5 & & & \\
 & & g_6 & e_6 & c_6 & a_6 & b_6 & d_6 & f_6 & & \\
 & & & . & . & . & . & . & . & . & \\
 & & & & . & . & . & . & . & . & f_{n-3} \\
 & & & & & . & . & . & . & . & d_{n-2} \\
 & & & & & & g_{n-1} & e_{n-1} & c_{n-1} & a_{n-1} & b_{n-1} \\
 & & & & & & & g_n & e_n & c_n & a_n
\end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \\ x_5 \\ x_6 \\ . \\ . \\ . \\ x_{n-1} \\ x_n \end{pmatrix} := \begin{pmatrix} h_1 \\ h_2 \\ h_3 \\ h_4 \\ h_5 \\ h_6 \\ . \\ . \\ . \\ h_{n-1} \\ h_n \end{pmatrix}$$

A equação geral do sistema representado na (Figura 47) pode ser dado por:

$$a_i x_i + b_i x_{i+1} + c_i x_{i-1} + d_i x_{i+2} + e_i x_{i-2} + f_i x_{i+3} + g_i x_{i-3} = h_i \qquad \text{(C.1)}$$

O valor de pode ser determinado em função de , e :

$$x_i = S_i x_{i+3} + R_i x_{i+2} + P_i x_{i+1} + Q_i \qquad \text{(C.2)}$$

Reescrevendo a equação (C.2) para , e , obtém-se:

$$x_{i-1} = S_{i-1}x_{i+2} + R_{i-1}x_{i+1} + P_{i-1}x_i + Q_{i-1} \tag{C.3}$$

$$x_{i-2} = S_{i-2}x_{i+1} + R_{i-2}x_i + P_{i-2}x_{i-1} + Q_{i-2} \tag{C.4}$$

$$x_{i-3} = S_{i-3}x_i + R_{i-3}x_{i-1} + P_{i-3}x_{i-2} + Q_{i-3} \tag{C.5}$$

Substituindo as Equações(C.3), (C.4) e (C.5) na equação (C.1), obtém-se:

$$\begin{aligned} x_i\big(a_i + c_iP_{i-1} + e_i(R_{i-2} + P_{i-2}P_{i-1}) + g_i(S_{i-3} + R_{i-3}P_{i-1} + P_{i-3}R_{i-2} + P_{i-} \\ = x_{i+1}\big(-b_i - c_iR_{i-1} - e_i(S_{i-2} + P_{i-2}R_{i-1}) \\ - g_i(R_{i-3}R_{i-1} + P_{i-3}S_{i-2} + P_{i-3}P_{i-2}R_{i-1})\big) \\ + x_{i+2}\big(-d_i - c_iS_{i-1} - e_iP_{i-2}S_{i-1} - g_i(R_{i-3}S_{i-1} + P_{i-3}P_{i-2}S_i \\ - c_iQ_{i-1} - e_i(P_{i-2}Q_{i-1} + Q_{i-2}) \\ - g_i(Q_{i-3} + R_{i-3}Q_{i-1} + P_{i-3}Q_{i-2} + P_{i-3}P_{i-2}Q_{i-1}) + h_i \end{aligned} \tag{C.6}$$

Comparando a equação (C.6) com a equação (C.2), verifica-se que:

$$S_i = \frac{-f_i}{T} \tag{C.7}$$

$$R_i = \frac{-d_i - c_iS_{i-1} - e_iP_{i-2}S_{i-1} - g_i(R_{i-3}S_{i-1} + P_{i-3}P_{i-2}S_{i-1})}{T} \tag{C.8}$$

$$P_i = \frac{-b_i - c_iR_{i-1} - e_i(S_{i-2} + P_{i-2}R_{i-1}) - g_i(R_{i-3}R_{i-1} + P_{i-3}S_{i-2} + P_{i-3}P_{i-2}R_{i-1})}{T} \tag{C.9}$$

$$Q_i = \frac{-c_iQ_{i-1} - e_i(P_{i-2}Q_{i-1} + Q_{i-2}) + h_i}{T} - \frac{g_i(Q_{i-3} + R_{i-3}Q_{i-1} + P_{i-3}Q_{i-2} + P_{i-3}}{T} \tag{C.10}$$

Sendo:

$$T = a_i + c_iP_{i-1} + e_i(R_{i-2} + P_{i-2}P_{i-1}) + g_i(S_{i-3} + R_{i-3}P_{i-1} + P_{i-3}R_{i-2} + \tag{C.11}$$

Considerando que $c_1 = e_1 = g_1 = e_2 = g_2 = g_3 = f_{n-2} = d_{n-1} = f_{n-1} = b_n = d_n =$, os coeficientes são inicializados da seguinte forma:

a) Para :

$$S_1 = \frac{-f_1}{a_1} \tag{C.12}$$

$$R_1 = \frac{-d_1}{a_1} \tag{C.13}$$

$$P_1 = \frac{-b_1}{a_1} \tag{C.14}$$

$$P_1 = \frac{h_1}{a_1} \tag{C.15}$$

b) Para :

$$S_2 = \frac{-f_2}{a_2 + c_2 P_1} \tag{C.16}$$

$$R_2 = \frac{-d_2 - c_2 S_1}{a_2 + c_2 P_1} \tag{C.17}$$

$$P_2 = \frac{-b_2 - c_2 R_1}{a_2 + c_2 P_1} \tag{C.18}$$

$$Q_2 = \frac{-c_2 Q_1 + h_i}{a_2 + c_2 P_1} \tag{C.19}$$

c) Para :

$$S_3 = \frac{-f_3}{a_3 + c_3 P_2 + e_3(R_1 + P_1 P_2)} \tag{C.20}$$

$$R_3 = \frac{-d_3 - c_3 S_2 - e_3 P_1 S_2}{a_3 + c_3 P_2 + e_3(R_1 + P_1 P_2)} \tag{C.21}$$

$$P_3 = \frac{-b_3 - c_3 R_2 - e_3(S_1 + P_1 R_2)}{a_3 + c_3 P_2 + e_3(R_1 + P_1 P_2)} \tag{C.22}$$

$$Q_3 = \frac{-c_3 Q_2 - e_3(P_1 Q_2 + Q_1) + h_3}{a_3 + c_3 P_2 + e_3(R_1 + P_1 P_2)} \tag{C.23}$$

Para valore de , utilizam-se as Equações (C.7), (C.8), (C.9) e (C.10).

Logo, os três últimos valores de podem ser determinados por:

$$x_n = Q_n \tag{C.24}$$

$$x_{n-1} = P_{n-1} x_n + Q_{n-1} \tag{C.25}$$

$$x_{n-2} = R_{n-2} x_n + P_{n-2} x_{n-1} + Q_{n-2} \tag{C.26}$$

A partir de , o valor de pode ser calculado pela equação (C.2).

Na situação analisada nesta dissertação, a diagonal possui somente elementos nulos. Logo os valores de das equações acima são anulados.