



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO

KEILA CRISTINA CUNHA E SILVA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO
DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA COM
ÍONS METÁLICOS**

UBERLÂNDIA
2013

KEILA CRISTINA CUNHA E SILVA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA COM ÍONS
METÁLICOS**

Dissertação de mestrado apresentada à Coordenação do Curso de Pós Graduação em Química, como um dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Área de concentração: Físico-Química

Orientador: Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

UBERLÂNDIA
2013



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 175/COPGQ.

DATA: 31/07/2013

DISCENTE: Keila Cristina Cunha e Silva

MATRÍCULA: 11122QMI002

TÍTULO DO TRABALHO: Simulação computacional da interação de nanopartículas de quitosana com íons metálicos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Físico-Química de Macromoléculas e Coloides

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Caracterização molecular de produtos de interesse biotecnológico - nanopartículas de quitosana (para descontaminação ambiental e regeneração celular) e complexos metálicos (com potencial atividade antitumoral e antifungicida).

Às quatorze horas do dia trinta e um de julho do ano dois mil e treze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Roberto Dias Lins, da Universidade Federal de Pernambuco, Antonio Otavio de Toledo Patrocínio, do Instituto de Química da UFU e Eduardo de Faria Franca, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

O MESMO

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 45 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 00 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Roberto Dias Lins –UFPE

Prof. Dr. Antonio Otavio de Toledo
Patrocínio – IQUFU

Orientador(a): Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca – IQUFU

Universidade Federal de Uberlândia - Avenida João Naves de Ávila, nº 2121, Bairro Santa Mônica - 38.408-144 - Uberlândia - MG

+55 – 34 – 3239-4385

cpgquimica@ufu.br

<http://www.cpgquimica.iq.ufu.br>

“Quanto mais as ciências físicas progridem, mais elas tendem a entrar no domínio da Matemática, que é um tipo de centro para onde elas convergem. Nós podemos julgar o grau de perfeição que a ciência tem alcançado, pela facilidade com que ela pode ser submetida a cálculo.”

A. Quetelet (1828)

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Eduardo de Faria Franca pela orientação, dedicação e pelos ensinamentos.

À professora Dra. Silvana Guilardi pelo apoio, companhia e disponibilidade do laboratório para que este trabalho pudesse ser realizado.

Aos meus amigos que colaboraram na construção deste trabalho. Agradeço a eles pela amizade, paciência e pela companhia tão importante para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu namorado Roberto, pela colaboração tão importante na realização deste trabalho.

Às minhas irmãs pelo carinho e apoio de sempre.

Aos meus pais pelo alicerce, por me fornecerem condições para chegar até aqui, e pelo apoio incondicional.

A todos os meus familiares pelo incentivo e compreensão.

Ao CAPES pela bolsa.

A todos que de alguma forma estiveram presentes em minha jornada e contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A quitosana é um dos mais importantes derivados da quitina, um biopolímero natural e muito abundante. Dentre as diversas características da quitosana, destacamos sua capacidade em interagir com íons metálicos que são contaminantes ambientais. A contaminação da água por íons Cu^{2+} e Cd^{2+} apresenta efeitos nocivos à saúde humana. A quitosana tem se mostrado muito eficiente na remoção destes íons em solução aquosa. Entretanto, os mecanismos envolvidos nesta adsorção ainda não são totalmente conhecidos e as técnicas experimentais utilizadas não conseguem explicar completamente determinados fenômenos relativos à adsorção. Como alternativa, os métodos teóricos contribuem nas investigações acerca destas interações. O presente trabalho objetivou descrever as interações que ocorrem entre a quitosana e os íons divalentes cobre e cádmio, através de simulações por dinâmica molecular. As interações foram analisadas entre os íons e a quitosana em diferentes sistemas, os quais eram compostos por um filamento isolado de quitosana ou por um conjunto de filamentos finitos ou periódicos. Cada sistema foi avaliado a variados graus de acetilação: 0, 20 e 40% e em diferentes pHs, 3, 5,9 e 6,5. Os resultados obtidos demonstraram que as interações foram específicas para cada cátion. Os íons Cu^{2+} apresentaram interações íon-dipolo entre um grupo amino e uma hidroxila, enquanto que os íons Cd^{2+} interagiram preferencialmente com hidroxilas. O grau de acetilação e pH influenciaram significativamente na adsorção de cada íon. O aumento do grau de acetilação contribuiu para a melhor adsorção de íons Cd^{2+} . A adsorção de Cu^{2+} foi favorecida em grau acetilação 20% e em pH quase neutro. O efeito do pH na interação do Cd^{2+} foi distinto para cada sistema, não seguindo uma tendência clara. Vários fatores contribuíram para a estabilização das interações, como a atração eletrostática, a entropia do solvente e a flexibilidade da quitosana.

Palavras-chave: Quitosana, Intereração, Cobre, Cádmio, dinâmica molecular.

ABSTRACT

Chitosan is one of the most important chitin derivative, which is a second most abundant natural biopolymer after cellulose. Among the various chitosan properties, its ability to interact with environmental contaminants, such as metal ions, makes this polymer an attractive bioremediation agent. In particular, water contamination by Cu²⁺ and Cd²⁺ has hazardous effects to human health. Chitosan has been shown to be very efficient for the removal of these ions in aqueous solution. The mechanisms involved in this adsorption process are not yet fully understood, and the experimental techniques used cannot completely explain certain phenomena related to adsorption. Theoretical methods can contribute significantly in the investigations of these interactions. This study aimed to describe the intermolecular interactions between chitosan and divalent copper and cadmium ions through molecular dynamics simulations. The interactions were analyzed between ions and chitosan in different systems, which were composed of either a single chitosan's chain or an aggregate. Each system was evaluated as a function of degree of acetylation (0, 20 and 40%) and at different pH values (3, 5.9 and 6.5). The results showed that the intermolecular interactions were specific to each cation. The Cu²⁺ ions showed ion-dipole interactions between an amino group and a hydroxyl group, while the Cd²⁺ ions interact preferentially with hydroxyl groups. The degree of acetylation and pH significantly influenced the adsorption of each ion. The increase of acetylation degree contributed to better adsorption of Cd²⁺ ions. The adsorption of Cu²⁺ was better observed at an acetylation degree of 20% and circumneutral pH. The pH effect on the interaction of Cd²⁺ did not show a trend. Several factors contributed to the stabilization of the interactions, such as electrostatic attraction, solvation entropy and chitosan flexibility.

Key words: Chitosan, Interaction, Copper, Cadmium, Molecular Dynamics.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Representação esquemática das unidades monoméricas N-acetilglicosaminas da quitina, sendo n o grau de polimerização | 13 |
| Figura 2 – Representação esquemática das unidades monoméricas da quitosana, sendo n o grau de polimerização | 14 |
| Figura 3 – Representação geométrica do ângulo de torção | 23 |
| Figura 4. Condições periódicas de contorno em duas dimensões | 27 |
| Figura 5 – Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões | 28 |
| Figura 6 – Representação bidimensional do raio e dos elementos para o cálculo de $g(r)$. Os átomos azuis (claro e escuro) serão utilizados para calcular a densidade, sendo que os átomos $j_{(1-5)}$ contribuem para $g(r+\Delta r)$ | 29 |
| Figura 7 – Definição dos ângulos diedros ϕ e ψ formados ao redor da ligação glicosídica | 31 |
| Figura 8 – Estrutura inicial dos agregados de quitosana | 31 |
| Figura 9 – Imagem obtida após a aproximação dos íons Cu^{2+} (esferas verdes) e dos íons Cd^{2+} (esferas cinzas). Nesta figura o filamento está em grau de acetilação 20% e pH 6,5 | 33 |
| Figura 10 – Interação entre o íon Cd^{2+} e uma hidroxila do tipo O6-HO6; e o íon Cu^{2+} entre um grupo amino e uma hidroxila O3-HO3. Esta imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns), na simulação em pH 6,5 e grau de acetilação 20% | 36 |
| Figura 11 – Função de distribuição radial de pares entre os átomos da quitosana que interagem com a) um íon Cu^{2+} e b) com íons Cd^{2+} , considerando em ambos o filamento 20% acetilado | 37 |
| Figura 12 – Evolução temporal das distâncias entre Cd^{2+} e N2; e Cd^{2+} e O3, para o filamento 20% acetilado. As setas apontam para os valores médios e entre parênteses está o desvio padrão | 38 |
| Figura 13 – Evolução temporal das distâncias entre Cu^{2+} e N2; e Cu^{2+} e O3, para o filamento 20% acetilado. As setas apontam para os valores médios e entre parênteses está o desvio padrão | 39 |

| | |
|--|----|
| Figura 14 – Interação entre íons Cd ²⁺ e Cu ²⁺ e o filamento de quitosana. Esta imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns), na simulação em pH 6,5 e grau de acetilação 40% | 40 |
| Figura 15 – Função de distribuição radial de pares entre o íon Cd ²⁺ e os átomo O3 e O6 do filamento de quitosana em pH 3 | 41 |
| Figura 16 – Coordenação entre um íon a) Cd ²⁺ e b) Cu ²⁺ e dois filamentos de quitosana. As moléculas de águas e íons cloretos (esfera amarela) completaram a esfera de coordenação | 45 |
| Figura 17 – Coordenação entre um íon Cd ²⁺ e um hidroxila O6-HO6 dos agregados periódicos em GA 0% e pH 3. As moléculas de águas e íons cloretos (esferas amarelas) completam a esfera de coordenação | 46 |
| Figura 18 – Função de distribuição radial de pares entre a) o filamento b) os agregados finitos ou c) os agregados periódicos de quitosana à diferentes graus de acetilação e os íons Cd ²⁺ | 48 |
| Figura 19 – Superfície do potencial eletrostático do filamento de quitosana em grau de acetilação a) 0% e b) 40%. Os potenciais positivo (azul) e negativo (vermelho) correspondem à faixa de -30K _B T/e a +30 K _B T/e | 49 |
| Figura 20 – Distribuição do solvente ao redor do átomo O3, em função do cos(Θ), à diferentes GA. Onde Θ é o ângulo definido entre o vetor formado pelo oxigênio da água e o átomo O3, e o vetor formado pelo momento dipolo da água | 50 |
| Figura 21 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cu ²⁺ e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes graus de acetilação | 51 |
| Figura 22 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cu ²⁺ e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes pHs | 53 |
| Figura 23 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cd ²⁺ e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes pHs | 54 |
| Figura 24 – Raio de rotação do filamento em relação ao seu centro de massa (raio de giro) em função do tempo de simulação | 55 |
| Figura 25 – Agregados de filamentos periódicos de quitosana em a) pH = 3 e b) pH = 6,5. Nesta imagem há nove caixas de simulação, as quais foram obtidas por réplicas | |

| | |
|---|----|
| da caixa central ao longo dos eixos x e y. A imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns) | 56 |
| Figura 26 – Evolução temporal da força aplicada no afastamento dos íons Cu ²⁺ e Cd ²⁺ que interagiam com filamento desacetilado. O afastamento do íon Cd ²⁺ foi realizado com o sistema em pH 3, já o íon Cu ²⁺ em pH 6,5 | 57 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Propriedades dos elementos cobre e cádmio | 18 |
| Tabela 2 – Condições empregadas nas simulações por dinâmica molecular | 32 |
| Tabela 3 – Número médio de coordenação dos íons Cu ²⁺ e Cd ²⁺ com moléculas de água e íons cloreto | 42 |
| Tabela 4 – Parâmetros de Lennard-Jones entre os íons Cu ²⁺ , Cd ²⁺ e os átomos de oxigênio e nitrogênio da quitosana | 44 |
| Tabela 5 – Energia livre da interação, em kJ.mol ⁻¹ , entre os cátions Cu ²⁺ e Cd ²⁺ e os átomos da quitosana, à diferentes graus de acetilação | 47 |
| Tabela 6 – Energia livre de interação, em kJ.mol ⁻¹ , entre os íons Cu ²⁺ e Cd ²⁺ e o filamento desacetilado a diferentes pHs | 57 |

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AM1: Modelo Austin 1

DFT: Teoria do Funcional da Densidade

GA: Grau de acetilação

nm: Nanômetros (10^{-9} m)

NPT: isotérmico-isobárico

ns: Nanossegundos (10^{-9} s)

PM3: Método Paramétrico 3

fs: Femtossegundos (10^{-15} s)

PMF: Potencial de Força Média

ps: Picossegundos (10^{-12} s)

QM/MM: mecânica quântica/ mecânica molecular

SPC: Modelo de Carga Pontual

TIP3P: Potenciais Intermoleculares Transferíveis - 3 pontos

TIP4P: Potenciais Intermoleculares Transferíveis - 4 pontos

TIP5P: Potenciais Intermoleculares Transferíveis - 5 pontos

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 OS METAIS COBRE E CÁDMIO | 17 |
| 2 OBJETIVOS | 19 |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 19 |
| 3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS | 20 |
| 3.1 MECÂNICA MOLECULAR | 21 |
| 3.1.1 Potencial harmônico linear | 21 |
| 3.1.2 Potencial harmônico angular | 22 |
| 3.1.3 Potencial torsional (ou diedral) | 22 |
| 3.1.4 Potencial harmônico de Lennard-Jones (ou de van der Waals) | 23 |
| 3.1.5 Potencial de Coulomb | 23 |
| 3.2 DINÂMICA MOLECULAR | 24 |
| 3.2.1 Condições periódicas de contorno | 26 |
| 3.2.2 Raio de corte | 27 |
| 3.3 TRATAMENTO DE DADOS | 28 |
| 3.3.1 Função de Distribuição Radial de Pares | 28 |
| 3.3.2 Potencial de Força Média | 30 |
| 4 METODOLOGIA | 31 |
| 4.1 SISTEMAS SIMULADOS | 31 |
| 4.2 SIMULAÇÕES POR DINÂMICA MOLECULAR | 33 |
| 4.3 POTENCIAL DE FORÇA MÉDIA | 34 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 35 |
| 5.1 LOCALIZAÇÃO DE SÍTIOS DE INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu ²⁺ E Cd ²⁺ | 35 |
| 5.2 INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu ²⁺ E Cd ²⁺ À DIFERENTES GRAUS DE ACETILAÇÃO | 46 |
| 5.3 INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu ²⁺ E Cd ²⁺ À DIFERENTES PHS | 52 |
| 6 CONCLUSÕES | 59 |
| 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS | 60 |
| 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |

1 Introdução

A quitina é um polissacarídeo de função estrutural, sendo um dos principais componentes do exoesqueleto de crustáceos. Este carboidrato é considerado o segundo biopolímero de maior abundância, depois da celulose. Sua composição consiste de unidades monoméricas N-acetilglicosamina (2-acetamino-2-deoxi-D-glicopiranose) unidas por ligação beta-(1,4) (Figura 1) (MINCEA, NEGRULESCU, OSTAFE, 2012; DESCHAMPS, 2013).

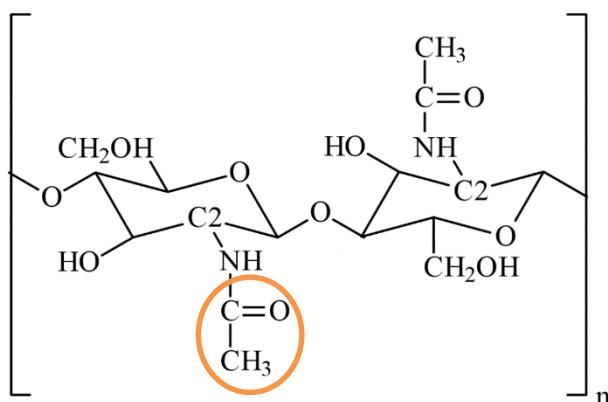


Figura 1 – Representação esquemática das unidades monoméricas N-acetilglicosaminas da quitina, sendo n o grau de polimerização.

Fonte: FRANCA, 2009.

A desacetilação total ou parcial da quitina, resulta na quitosana. Quando a quitina é desacetilada a ponto de se tornar solúvel em uma solução de ácido diluído, é então considerada quitosana, e isto acontece quando a porcentagem de grupos acetils está em torno de 40% ou superior. Desta forma, a quitosana é composta por unidades N-acetilglicosamina e glicosamina que variam em proporção (Figura 2). O percentual médio de unidades N-acetilglicosamina em um polímero de quitosana é chamado de grau de acetilação (GA), esta propriedade exerce influência sobre as características químicas, físicas e biológicas do biopolímero. Alguns dos parâmetros químicos influenciados pelo GA são: afinidade por água, capacidade de interação com determinadas espécies químicas, solubilidade e viscosidade de suas soluções (GONSALVES *et al.*, 2011). A quitosana é encontrada naturalmente na parede celular de alguns fungos (XU *et al.*, 1996). Sua obtenção comercial é feita, geralmente, pela hidrólise ácida da quitina (EINBU; VARUM, 2008).

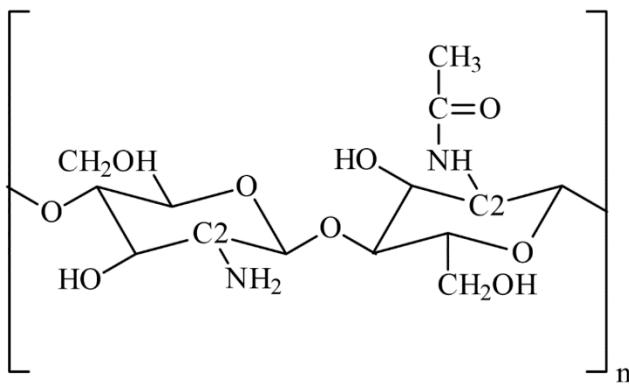


Figura 2 – Representação esquemática das unidades monoméricas da quitosana, sendo n o grau de polimerização.

Fonte: FRANCA, 2009.

Estes carboidratos apresentam características interessantes como atoxidade, biocompatibilidade com tecidos vivos, poder de cicatrização (JAYAKUMAR *et al.*, 2010), biodegradabilidade (XU *et al.*, 1996), atividade antibacteriana (KONG *et al.*, 2010) e capacidade de interagir com diversos contaminantes ambientais (ELWAKEEL, 2010). Dentre as principais aplicações destes biopolímeros, destacam-se sua utilização na engenharia de tecidos; curativos; transporte de fármacos; diagnóstico de câncer (JAYAKUMAR *et al.*, 2010) ; purificação de água (ROUSSY; VAN VOOREN; GUIBAL, 2005) e revestimento para conservação de alimentos (ALISHAHI; AIDER, 2012).

Em solução aquosa, a quitosana atua como uma base fraca devido à capacidade de protonação dos grupos aminos de unidades glicosaminas, os quais apresentam pK_a em torno de 6,5; dependendo do GA e da densidade de carga. As características singulares da quitosana são atribuídas à presença dos grupos aminos, que estão presentes em maior proporção quando comparada à quitina. Em relação aos polissacarídeos em geral, a quitosana apresenta um acentuado caráter catiônico. Tais fatores contribuem para sua versatilidade química (GONSALVES *et al.*, 2011).

Os grupos aminos são considerados como importantes sítios ativos da quitosana, possibilitando tanto modificações estruturais quanto o favorecimento da quelação de diversas espécies (WEBSTER; HALLING; GRANT, 2007). A quitosana tem se mostrado uma alternativa potencial para descontaminação de ambientes aquáticos devido à sua alta capacidade de adsorção. O poder quelante da quitosana para diversos cátions metálicos é muito superior ao da quitina (SERKAN, 2007). Em

comparação à outros adsorventes renováveis e de baixo custo, a quitosana, possui a maior capacidade de adsorção (DESHPANDE, 1986). Ela tem sido amplamente utilizada no tratamento de contaminantes orgânicos (LALOV *et al.*, 2000; EL-SAWY, ABU-AYANA, ABDEL-MOHDY, 2001), nitratos (JAAFARI *et al.*, 2001), clorofenóis (ZHENG *et al.*, 2004) e até radionuclídeos em águas residuais (ATIA, 2005).

A despoluição das águas é assunto de grande interesse, visto que este tema está diretamente relacionado à qualidade de vida dos seres vivos. A contaminação aquática por metais pesados é, geralmente, decorrente da ação humana. Este tipo de poluição, sem tratamento adequado, persiste por longos períodos no meio ambiente e pode apresentar efeitos nocivos à todos os seres vivos dependentes destes ambientes contaminados (KAMARI; PULFORD; HARGREAVES, 2011).

Os metais pesados são os elementos tais como Cu (Cobre), Cd (cádmio), Ni (níquel), Pb (chumbo), Zn (zinc), Ag (prata), Cr (cromo), Hg (mercúrio) e Fe (ferro). Há várias definições para o termo metal pesado, mas de forma geral, estas definições estão relacionadas à massa atômica ou massa específica do metal, também não existe um valor de massa definido como referência para o metal ser considerado pesado, porém é consenso que os metais de transição e os demais metais mais à direita na tabela periódica são considerados metais pesados. A ingestão desses metais pelos seres vivos ocorre através de alimentos, água potável e do ar. Quantidades traços de alguns metais pesados (por exemplo, cobre, selênio e zinco) são essenciais para manter o metabolismo do corpo humano. No entanto, concentrações mais elevadas podem levar a intoxicação. A intoxicação por metais pesados pode ser resultante, por exemplo, da ingestão de água contaminada (SERKAN, 2007).

Existem diversos estudos, tanto experimentais quanto teóricos, que relatam a interação entre a quitosana e diversos íons de metais pesados e comprovam a eficiência de adsorção deste biopolímero (DEBBAUDT *et al.*, 2001; FERREIRA, GSCHAIDER, 2001; DEBBAUDT, FERREIRA, GSCHAIDER, 2004; SERKAN, 2007). A capacidade de adsorção da quitosana varia de acordo com vários fatores como, afinidade por água, porcentagem de acetilação e pH do meio (LI, BAI, 2006; ZHOU, ZHANG, GUO, 2005). Há um grande interesse em entender as interações responsáveis pela adsorção, pois esta compreensão auxilia no entendimento das variáveis que interferem na adsorção das espécies de interesse.

Em relação à adsorção de íons metálicos pela quitosana, sabe-se que um conjunto de fenômenos está envolvido, como a complexação, coordenação, atração eletrostática, troca-iônica e micro-precipitação (JEON; HOLL, 2004). De forma geral, é consenso que grupos aminos e hidroxilas são os sítios de coordenação da quitosana. Todavia, devido à maior tendência de doação de par de elétrons do átomo de nitrogênio, considera-se o grupo amino como o principal responsável pela complexação de cátions metálicos (GHAEE *et al.*, 2012; JIN, BAI, 2002). Evidências experimentais apontam para uma reação de troca iônica que ocorre no grupo amino em meio ácido, como mostrado pela equação 1 (VOLD *et al.*, 2003):



No caso da competição entre dois cátions metálicos, a equação torna-se:



Apesar dos estudos já realizados, muitas questões envolvendo os mecanismos de adsorção de íons pela quitosana permanecem sem explicação e ainda existem diversas contradições. De acordo com a equação 2, a seletividade de determinado cátion em uma mistura de cátions é independente do pH. Estudos realizados por Vold et al. (2003) mostraram que a seletividade dos íons Cu^{2+} em uma solução aquosa contendo Cu^{2+} e Cd^{2+} é dependente do pH. Além disso, se considerarmos o grupo amino como o principal responsável pela quelação dos cátions, o grau de acetilação da quitosana deveria influenciar significativamente na formação do complexo com os íons metálicos, e seria esperado que um aumento na porcentagem de grupos aminos, diminuição do grau de acetilação, favoreceria a quelação dos cátions. Em alguns casos é observado que um aumento no GA favorece a adsorção (VOLD *et al.*, 2003; PAULINO *et al.*, 2007). As investigações experimentais, acerca dos mecanismos envolvidos na adsorção, apresentam algumas limitações na análise de interações que estão ocorrendo em escala microscópica (ZHOU, ZHANG, GUO, 2005; ZHOU *et al.*, 2009). Uma alternativa seria valer-se de métodos teóricos, como aporte na elaboração de um mecanismo que melhor explique as evidências experimentais.

Os métodos quânticos têm sido a principal metodologia de química teórica utilizada na investigação das interações entre quitosana e cátions metálicos. Estes métodos proporcionam boas estimativas para predizer ligações químicas envolvidas na coordenação de íons; e interações intermoleculares em sítios preestabelecidos (BRAIER, JISHI, 2000; LU, CAO, SHEN, 2008). Estas publicações também apontam

para formação de complexos preferencialmente com cátions ligados aos grupos aminos da quitosana. Todavia, estes estudos são restritos a caracterização de um pequeno número de átomos (um ou dois monômeros de quitosana) e não levam em conta a presença do solvente no meio reacional. As investigações sobre mecanismos de interação entre quitosana e cátions metálicos tem como foco principal a coordenação dos íons; e carecem de informações sobre a dinâmica do sistema e outros fatores envolvidos no mecanismo de adsorção.

Métodos teóricos clássicos têm proporcionado bons resultados na análise de sistemas contendo quitosana (FRANCA; FREITAS; LINS, 2011), apesar desta metodologia não fornecer informações com relação à estrutura eletrônica, apresenta-se como uma alternativa para investigações acerca de interações intermoleculares e dissolução de compostos em fase condensada, além da vantagem em permitir o estudo de sistemas com grande número de átomos.

1.1 OS METAIS COBRE E CÁDMIO

Os elementos cobre e cádmio são utilizados na indústria de produção de ligas metálicas e estão presentes em determinados pesticidas. O cobre também é utilizado em pigmentos, como catalisador na indústria química, na indústria eletroquímica é usado em fios, geradores e transformadores. Um dos principais problemas gerados pelo uso destes metais é o descarte indevido. Os metais cobre e cádmio estão entre os metais mais perigosos ao meio ambiente (SERKAN, 2007).

O cobre é um elemento essencial para o metabolismo dos animais. Ele está presente em algumas enzimas de mamíferos necessárias à saúde de nervos e tecidos. Em polvos e alguns artrópodes ele desempenha o papel de transportador do oxigênio através do sangue, mesmo papel desempenhado pelo ferro na hemoglobina de mamíferos (SHRIVER; ATKINS, 2008). Entretanto, mesmo em baixas concentrações em ambientes aquáticos, o cobre pode ser tóxico para a vida de peixes. Nos seres humanos, a ingestão de elevadas quantidades de Cu pode causar intoxicação e desencadear efeitos fisiológicos agudos, como elevação da pressão arterial, irritação da mucosa, dano capilar, anemia, dano hepático, alterações necróticas no rim e fígado (ZHOU *et al.*, 2009).

O Cobre forma compostos com número de oxidação +1 e +2. Entretanto, em solução aquosa, mesmo os sais de cobre(I) desproporcionam-se no metal cobre e íons Cu²⁺.

O Cádmio é um veneno letal mesmo em pequenas quantidades e pode causar danos aos rins, pulmão e ossos devido a substituição de metais essenciais como zinco e cálcio. Em seus compostos o cádmio apresenta número de oxidação +2 (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Na Tabela 1 estão listadas as principais propriedades destes dois elementos.

Tabela 1 – Propriedades dos elementos cobre e cádmio

| | Cobre | Cádmio |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Número atômico | 29 | 48 |
| Massa atômica (g.mol⁻¹) | 63,546 | 112,40 |
| Configuração eletrônica | [Ar]3d ¹⁰ 4s ¹ | [Kr]4d ¹⁰ 5s ² |
| Raio atômico (Å) | 1,28 | 1,54 |
| Raio iônico para M^{2+*} (Å) | 0,87 | 1,09 |

* os valores são referentes aos íons em complexos octaédricos.

Uma característica dos elementos do bloco d, tais como o cobre e cádmio, é a possibilidade de formação de complexos. Um complexo é formado por um íon ou átomo de metal central que se liga por ligações coordenadas a outros íons ou moléculas. O íon ou átomo central age como ácido de Lewis (receptor de um par de elétrons) e os ligantes agem como base de Lewis (doadores de par de elétrons). O número de pontos aos quais os ligantes se prendem ao átomo central é chamado de número de coordenação, os complexos formados por Cu tem, na maioria das vezes, número de Coordenação 6, constituindo geralmente complexos octaédricos, já o Cd normalmente é tetraédrico. Os íons Cu²⁺ e Cd²⁺, existem em solução aquosa na forma dos complexos, [M(H₂O)₆]²⁺, onde M pode representar tanto o Cu quanto Cd (SHRIVER; ATKINS, 2008).

2 OBJETIVOS

O trabalho aqui apresentado tem por objetivo geral, analisar as interações responsáveis pela adsorção dos íons metálicos Cu^{2+} e Cd^{2+} pela quitosana em solução aquosa, através de simulações teóricas clássicas de dinâmica molecular.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Localizar os sítios de interação da adsorção destes metais;
- Entender o efeito do pH na adsorção dos cátions metálicos Cu^{2+} e Cd^{2+} ;
- Avaliar o efeito do grau de acetilação da quitosana nas interações com os íons Cu^{2+} e Cd^{2+} .

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Em química computacional, a modelagem molecular consiste na criação de modelos teóricos, em escala atomística, que descrevam ou interpretem propriedades macroscópicas. Estes modelos teóricos podem utilizar-se de métodos da mecânica quântica ou da Mecânica Estatística Clássica (mecânica molecular) (FRANCA, 2009).

Os métodos quânticos baseiam-se no formalismo de orbitais moleculares, possibilitando a obtenção de informações sobre a estrutura eletrônica (LEVINE, 1991). Neste tipo de metodologia, as funções de onda são selecionadas e a resolução dos cálculos pode ser realizada sem simplificação, como em métodos *ab initio*; ou ajustadas com parâmetros experimentais, como nos métodos semi-empíricos (MORGON; COUTINHO, 2007). Algumas das técnicas quânticas mais utilizadas são: a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), método Hartree-Fock; e diversas aproximações semiempíricas destas técnicas, tais como as aproximações AM1 (DEWAR *et al.*, 1985) e PM3 (STEWART, 1989).

Os métodos de mecânica quântica apresentam ótima precisão nos resultados, entretanto podem demandar um elevado tempo e capacidade de memória computacional. Cada sistema molecular requer uma metodologia teórica que depende do tipo de informação a ser analisada, tamanho do sistema, escala de tempo, dentre outros detalhes.

Métodos baseados na mecânica molecular apresentam como principal vantagem, a rapidez na avaliação de sistemas complexos, pois considera os átomos como os elementos básicos. Desta forma, os métodos clássicos mostram-se como boas alternativas quando o interesse da investigação não envolve a transferência de elétrons; permitindo assim o entendimento das interações intermoleculares, do comportamento de moléculas em solução, ou a previsão das propriedades de líquidos, soluções e sólidos (FRANCA, 2009).

A mecânica molecular será descrita com maior detalhe, pois é a base da metodologia utilizada neste trabalho.

3.1 MECÂNICA MOLECULAR

A mecânica molecular descreve a dinâmica do sistema aplicando-se as leis da mecânica Newtoniana. Os átomos são tratados como sendo esferas indivisíveis e as ligações químicas como molas com constantes de força características. Os movimentos eletrônicos são ignorados e a energia do sistema é calculada somente em função das posições nucleares (LEVINE, 1991).

A obtenção da energia potencial do sistema é realizada levando-se em consideração o somatório de forças aplicado a cada átomo decorrente de sua interação com o restante do sistema. Este conjunto de parâmetros que representa a superfície de energia potencial, compõe o campo de força.

A expressão de energia potencial utiliza-se de parâmetros como, potenciais harmônicos lineares e angulares, aliados às interações entre átomos não ligados. Os potenciais relacionados às interações ligadas são: potenciais de ligação (V_d), angular (V_θ), e torcional (V_ϕ); e os compostos pelas interações não ligadas que são os potenciais de Lennard-Jones ou de Van der Waals (V_{LJ}), e o potencial de Coulomb (V_c) (LEACH, 2001).

Assim, o campo de força possui a forma descrita pelo potencial total (V_{total}):

$$V_{total} = V_d + V_\theta + V_\phi + V_{LJ} + V_c \quad (3)$$

As expressões de cada termo de energia potencial que define o campo de força são apresentadas a seguir.

3.1.1 Potencial harmônico linear

O potencial harmônico linear é também conhecido como potencial da ligação química, V_d . Este parâmetro descreve a energia associada ao estiramento entre dois átomos ligados como o desvio a uma distância de equilíbrio, d_0 :

$$V_d = \frac{1}{2} K_d (d - d_0)^2 \quad (4)$$

sendo d o comprimento da ligação entre dois átomos i e j , d_0 é o comprimento de equilíbrio e K_d é a constante elástica da força. Os parâmetros que compõem o campo de força são: a distância d_0 e a constante de força (RAPPÉ; CASEWIT, 1997).

3.1.2 Potencial harmônico angular

O potencial harmônico angular, V_θ , descreve o desvio de ângulos, formado entre três átomos covalentemente ligados, em relação ao seu valor de equilíbrio θ_0 :

$$V_\theta = \frac{1}{2} k_\theta (\theta_n - \theta_0)^2 \quad (5)$$

sendo θ o ângulo definido pela ligação, θ_0 é o ângulo de equilíbrio e k_θ é a constante elástica da força.

3.1.3 Potencial torcional (ou diedral)

O potencial torcional V_φ representa a variação no ângulo diedral entre os átomos i , j , k e l (Figura 3). A variação angular é devida à torção própria de ligações covalentes entre dois átomos (i e l) ao redor da ligação $j-k$, este parâmetro é definido pela equação:

$$V_\varphi = K_\varphi [1 + \cos(n\varphi + \delta)] \quad (6)$$

onde K_φ representa a constante que define a altura da barreira de rotação, n o número de mínimos para a torção de uma ligação química específica, φ o ângulo diedral para a ligação central em uma sequência de quatro átomos e δ a diferença de fase do ângulo diedral φ , que pode ser 0° e 180° , dependendo se este valor é um ponto de máximo ou de mínimo (VANGUNSTEREN; BERENDSEN, 1977).

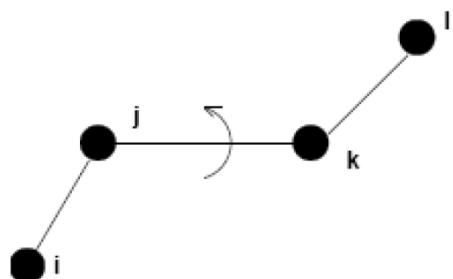


Figura 3 – Representação geométrica do ângulo de torção.

Fonte: FRANCA, 2009.

3.1.4 Potencial de Lennard-Jones (ou van der Waals)

A descrição da interação de van der Waals entre átomos não ligados é dada pelo potencial de Lennard-Jones. O campo de força GROMOS, utiliza a seguinte equação para a interação entre os átomos i e j:

$$V_{LJ} = \left[\frac{C_{12}(i,j)}{(r_{ij})^{12}} - \frac{C_6(i,j)}{(r_{ij})^6} \right] \quad (7)$$

sendo r_{ij} a distância entre os átomos i e j. Os parâmetros C_6 e C_{12} são dados em $\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^6$ e $\text{kJmol}^{-1}\text{nm}^{12}$, respectivamente. O potencial aqui representado é geralmente utilizado para descrever a interação de átomos separados por três ou mais ligações covalentes, bem como para interações intermoleculares. Nesta equação, o primeiro termo corresponde à repulsão entre dois átomos e o segundo à atração.

3.1.5 Potencial de Coulomb

A interação eletrostática entre dois átomos i e j é representada pelo potencial de Coulomb segundo a equação:

$$V_C = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon r_{ij}} \quad (8)$$

sendo r_{ij} a distância entre os átomos i e j, q_i e q_j são suas cargas parciais, ϵ_0 a permissividade no vácuo e ϵ a constante dielétrica do meio.

Os parâmetros empregados no campo de força são, geralmente, obtidos através de resultados de cálculos mecânicos quântico e/ou por ajustes a dados experimentais (cristalografia de raios-X, espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear, etc).

A correlação entre as propriedades microscópicas e macroscópicas é realizada extrapolando-se, convenientemente, a energia potencial obtida para um pequeno

conjunto de átomos, através da termodinâmica estatística. Esta técnica desenvolvida por Boltzmann e Gibbs, permite que métodos de simulação computacional sejam capazes de estudar os sistemas e prever suas propriedades através do uso de pequenas réplicas do sistema macroscópico (LEACH, 2001). O conjunto de grande número de réplicas do sistema é chamado de *ensemble*. Assim, a simulação pode gerar configurações representativas dessas pequenas réplicas, de tal forma que valores precisos de propriedades estruturais e termodinâmicos podem ser obtidos com pequena quantidade de cálculos computacionais (ATKINS, 1985).

Os métodos de Monte Carlo e de dinâmica molecular são as principais técnicas de simulação computacional utilizada para obter as médias termodinâmicas a partir de modelos moleculares. A dinâmica molecular fornece o comportamento dependente do tempo de sistemas atômicos e moleculares, fornecendo detalhes visuais de como um sistema muda de uma configuração para outra. A metodologia empregada no presente trabalho foi a dinâmica molecular, e portanto a mesma será descrita com maiores detalhes.

3.2 DINÂMICA MOLECULAR

Na dinâmica molecular, as configurações sucessivas do sistema são geradas a partir da integração da equação diferencial da segunda lei de Newton:

$$F_{x_i} = m_i \frac{d^2 x_i}{dt^2} \quad (9)$$

A equação (9) descreve o movimento da partícula de massa m_i ao longo da coordenada (x_i), sendo F_{x_i} , a força da partícula nesta direção. A posição de cada átomo é dependente do conjunto de forças aplicadas à ele, que podem ser descritas pelo gradiente de energia potencial total. Assim, o cálculo da energia potencial obtida através do campo de força, permite obter a força F_{x_i} . A equação 9, pode ser escrita da forma:

$$-\frac{dV}{dx_i} = m_i \frac{\partial^2 x_i}{\partial t^2} \quad (10)$$

É então realizada a integração numérica da equação 10 para cada partícula do sistema, em pequenos intervalos de tempo (Δt) que, geralmente, é da ordem de femtosegundos ($1\text{fs} = 10^{-15}$ segundos). O processo de integração se repete e a cada novo passo é incrementado um intervalo de tempo Δt . Como resultado, obtém-se um conjunto de trajetórias num tempo total dado pela multiplicação do número de passos pelo intervalo de tempo de integração. Esta trajetória especifica como as posições e as velocidades das partículas do sistema variam com o tempo (LEACH, 2001).

O intervalo de tempo da integração deve ser tão pequeno de forma a não suprimir eventos moleculares importantes, como vibrações moleculares, e não criar artificialidades no sistema. Em outras palavras, se o valor de Δt for muito grande, alguns eventos podem não ser descritos pela trajetória.

As propriedades macroscópicas obtidas por dinâmica molecular são extraídas do sistema no estado de equilíbrio termodinâmico. O conjunto de trajetórias em equilíbrio ocorre quando há convergência da energia total e consequente diminuição na variação estrutural (VAN DER SPOEL, D. et al., 2005).

Os principais algoritmos disponíveis para a realização de integrações numéricas das equações de movimento são: *Verlet*, *Velocity-Verlet* e *leap-frog*. O esquema geral seguido por estes algoritmos consiste em: gerar o potencial de interação dado pelas posições atômicas iniciais; calcular a força aplicada aos átomos devida às interações com os demais átomos e às condições externas (acoplamento de pressão e temperatura); obter a nova configuração pela integração da equação de movimento de Newton e registrar no disco rígido as informações atômicas de posição, velocidade, energia, pressão, temperatura e quaisquer outras. Dependendo do algoritmo escolhido pode haver pequenas variações na sequência das etapas seguidas ou adição de novas etapas. Os algoritmos supracitados são os mais utilizados devido ao menor consumo de memória RAM e processamento (VERLET, 1967).

Uma grande vantagem das simulações por métodos clássicos é a possibilidade de utilizar o modelo de solvatação explícita. A utilização deste tipo de modelo permite uma descrição mais precisa de várias propriedades que são diretamente dependentes da interação com solventes, no entanto aumenta o custo computacional das simulações. Conforme a dependência do sistema em interagir com o solvente, opta-se por um modelo mais ou menos preciso. Os modelos de solventes aquosos

explícitos mais utilizados são o SPC, TIP3P, TIP4P e TIP5P (MARK, NILSSON, 2001; LAWRENCE, SKINNER, 2003).

Descrições mais detalhadas sobre o método de simulação por dinâmica molecular podem ser encontradas facilmente em várias referências biográficas (ALLEN, TILDESLEY, 1987; LEACH, 2001; VAN GUNSTEREN *et al.*, 2001; MORGON, COUTINHO, 2007).

3.2.1 Condições periódicas de contorno

Nas simulações por dinâmica molecular, o sistema fica inserido numa caixa virtual, o qual resulta em dois principais problemas. O primeiro é o efeito de superfície criado nos átomos da margem da caixa, uma vez que estes presenciariam forças diferentes dos átomos no centro da caixa (HINCHLIFFE, 2003).

O segundo problema refere-se ao número de partículas na caixa, que é relativamente pequeno em comparação com um sistema macroscópico, que possui o número de átomos da ordem de Avogadro. Com o intuito de amenizar esses problemas, aplica-se a condição periódica de contorno que consiste em realizar cópias da caixa de simulação em todas as direções, resultando em um arranjo periódico tridimensional periódico.

A Figura 4 exemplifica bidimensionalmente as condições periódicas de contorno, e é possível perceber que cada caixa é recoberta por oito vizinhas, de forma que em três dimensões, cada caixa é recoberta por outras 26 caixas idênticas. As coordenadas das partículas nas caixas replicadas são obtidas pela soma ou subtração do comprimento da caixa nas integrais. Como consequência, o movimento dos átomos na caixa original é reproduzido em imagens periódicas. Desta maneira, há a conservação do número de átomos e da densidade do sistema, já que quando um átomo sai da caixa original, uma de suas imagens entra pela face oposta, com velocidade idêntica durante a simulação. Este fenômeno também está representado na Figura 4.

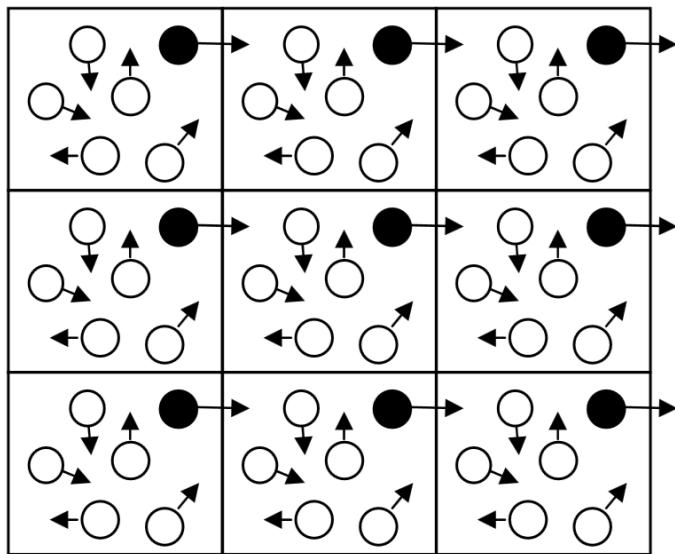


Figura 4. Condições periódicas de contorno em duas dimensões

Fonte: FRANCA, 2009.

3.2.2 Raio de corte

A utilização de condições periódicas de contorno pode ocasionar na interação de um átomo com sua própria imagem. Para evitar esse problema, e tratar as interações de curto alcance (potencial de Lennard-Jones), cujo potencial decai rapidamente com o aumento da distância entre as partículas ($V \approx r^{-6}$), uma região do espaço é delimitada por uma esfera de raio (R_c), truncando o potencial em um raio de corte esférico (Figura 5). Além disso, a utilização de um raio de corte reduz a tempo computacional da análise das interações não ligadas, cujos cálculos demandam maior tempo computacional (LEACH, 2001; HINCHLIFFE, 2003).

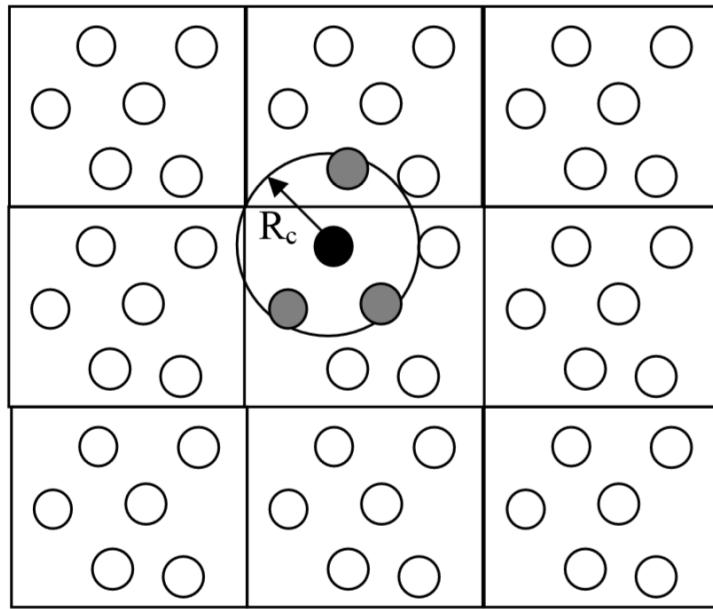


Figura 5 – Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões.

Fonte: FRANCA, 2009.

O raio de corte (R_c) deve ser da ordem de $L/2$ ($R_c \leq 1/2L$), sendo L o menor comprimento da célula de simulação, a fim de garantir a não interação das partículas com suas imagens (ALLEN; TILDESLEY, 1987).

3.3 TRATAMENTO DE DADOS

3.3.1 Função de Distribuição Radial de Pares

As características e a intensidade das interações entre dois grupos podem ser obtidas através da função de distribuição radial de pares, representada por $g(r)$. Esta função descreve a variação na distribuição dos átomos j a uma distância r do átomo i , em relação à densidade total do átomo j no sistema. A descrição desta função é dada pela equação:

$$g(r) = \frac{N_{ij}(r, r + \Delta r)}{4\pi r^2 \Delta r \rho_j} \quad (11)$$

sendo que r é a separação entre os átomos; $N_{ij}(r, r + \Delta r)$ é o número médio de átomos j encontrados na camada esférica entre r e $r + \Delta r$ centrada no átomo i ; $4\pi r^2 \Delta r$ é o

elemento de volume da camada esférica; e ρ_j é a densidade numérica de átomos j contidos na esfera de raio r_{max} . A Figura 6 representa bidimensionalmente como são definidas as variáveis descritas acima.

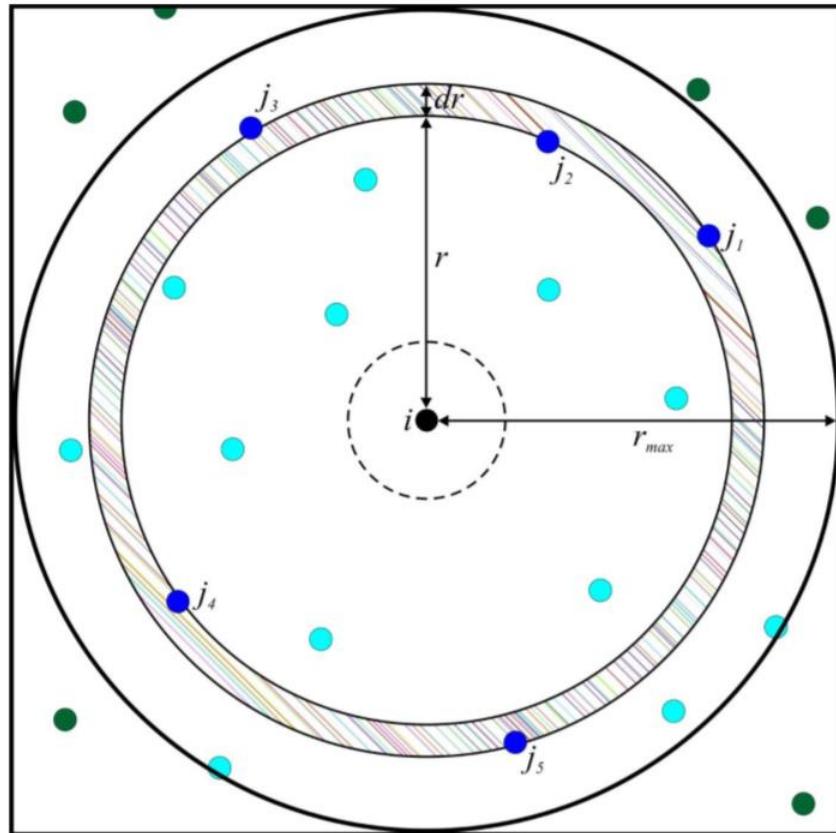


Figura 6 – Representação bidimensional do raio e dos elementos para o cálculo de $g(r)$. Os átomos azuis (claro e escuro) serão utilizados para calcular a densidade, sendo que os átomos $j_{(1-5)}$ contribuem para $g(r+\Delta r)$.

Fonte: CUNHA, 2013.

Se considerarmos que, ao longo do tempo, o número médio de átomos j ao redor de i seja praticamente constante e que distância r entre os átomos i e j apresenta variação mínima, o que caracterizaria uma forte interação; então a função $g(r)$ apresentará um pico bem definido, com valor máximo quando a distância r for mínima. Esta distância r varia de acordo com a distribuição dos átomos i e j no sistema analisado (BARLETTE; FREITAS, 1999).

No caso da aplicação computacional deste método, r_{max} vale metade do comprimento da caixa; e a densidade é calculada como a média das densidades do átomo j para todas as distâncias r ao redor de todos os átomos i . A função $g(r)$ obtida

é a média temporal de todos os valores extraídos passo a passo da trajetória da simulação. O número de vezes que ocorre o par de átomos em função de distância r é armazenado em um histograma. Esse histograma é incrementado ao longo da simulação, e por fim, é normalizado para o número N de moléculas envolvidas no cálculo de $g(r)$, bem como para o número de passos utilizados para o cálculo de $g(r)$. É possível utilizar como referência para o $g(r)$ o centro de massa de determinados grupos. Pode-se também calcular $g(r)$ condicionado a determinados ângulos, o que é muito útil na caracterização estrutural de sistemas muito dinâmicos, tais como misturas de líquidos.

3.3.2 Potencial de Força Média

A energia livre de interação entre os cátions metálicos e a quitosana foi calculada através do método do Potencial de Força Média (Potential of Mean Force, PMF). Este método calcula a energia livre relacionada à força de afastamento de determinada espécie do seu sítio de interação (KIRKWOOD, 1935). Neste método, uma força é aplicada à determinados átomos segundo um ou mais eixos cartesianos, geralmente, para manter a velocidade ou a força constante. A simulação é realizada por dinâmica molecular e a energia livre é obtida integrando-se a força média ao longo do caminho. Os cálculos de energia livre realizados através desse método são acoplados a um potencial de restrição ou harmônico, como no método *umbrella sampling*. O método de obtenção do PMF dependerá do tipo de sistema em estudo.

Durante uma simulação por dinâmica molecular com o PMF, a perturbação provocada pela força aplicada, pode gerar uma trajetória artificial e consequentemente o caminho do mecanismo não corresponder ao processo termodinâmico. Contudo, devido a energia livre ser uma função de estado, o valor da diferença entre os estados A e B independe do caminho da reação. Uma alternativa para a obtenção de valores de energia livre termodinamicamente aceitáveis seria através da utilização do método da metadinâmica (LAIO; PARRINELLO, 2002).

4 METODOLOGIA

4.1 SISTEMAS SIMULADOS

As simulações foram realizadas com filamentos contendo 10 monômeros de quitosana em uma configuração inicial linear, segundo uma geometria do tipo hélice 2, com ângulos $\varphi \sim -90^\circ$ e $\psi \sim +90^\circ$. Os ângulos φ e ψ são definidos pelos átomos O5–C1–O1–C4 e C1–O1–C4–C3, respectivamente (Figura 7).

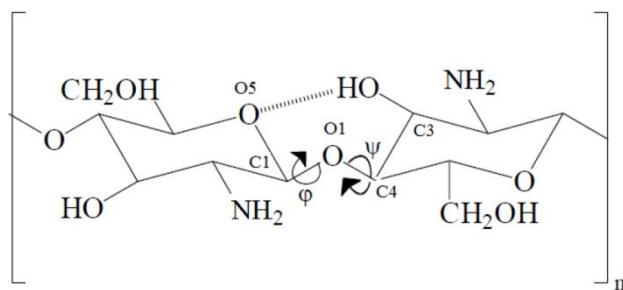


Figura 7 – Definição dos ângulos diedros ϕ e ψ formados ao redor da ligação glicosídica.

Fonte: FRANCA, 2009.

Os sistemas simulados consistiam de um único filamento, ou de agregados compostos por 9 filamentos dispostos em matriz 3x3 (Figura 8). Nos agregados, os filamentos eram finitos ou periódicos ao longo das coordenadas x, y e z.

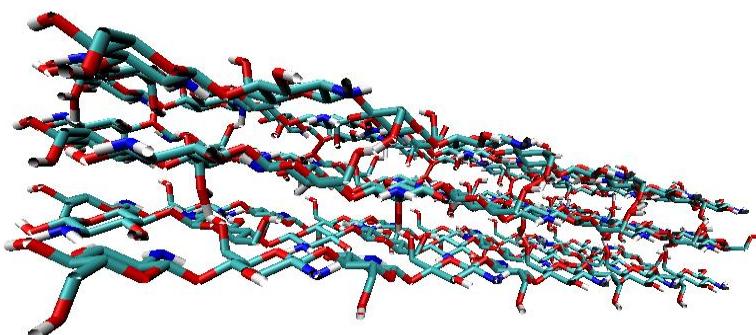


Figura 8 – Estrutura inicial dos agregados de quitosana.

Os íons Cu²⁺ e Cd²⁺, estavam presentes na concentração de 0,1 mol.L⁻¹ cada, com dois contra-íons cloretos. As simulações destes sistemas foram realizadas em diferentes graus de acetilação (0, 20 e 40%), mantendo-se o pH em torno de 6,5. Além disso, variou-se o percentual de grupos aminos protonados ao longo da cadeia polissacarídica totalmente desacetilada, visando reproduzir os valores de pH 3, 5,9 e 6,5. Em pH 3, o filamento continha apenas grupo aminos protonados. Em pH 5,9, 80% dos grupo aminos estavam protonados. Levando-se em consideração que o pK_a dos grupos aminos é igual a 6,5, para reproduzir os sistemas em pH 6,5; metade dos grupos aminos estavam protonados e a outra metade desprotonados. A Tabela 2 esquematiza as condições de pH e grau de acetilação empregadas nos sistemas simulados. Os valores de pH foram escolhidos de forma a garantir que a quitosana não sofresse hidrólise. Não foi conveniente realizar a análise de interação dos íons em meio básico, já que nestas condições os íons precipitam na forma de hidróxidos (PERELYGIN, RASHEVSKAYA, 2006; PANG *et al.*, 2009).

Tabela 2 – Condições empregadas nas simulações por dinâmica molecular.

| | GA (%) / pH | | | | |
|-------------------------------|-------------|--------|--------|---------|---------|
| Filamento de quitosana | 0/ 3 | 0/ 5,9 | 0/ 6,5 | 20/ 6,5 | 40/ 6,5 |
| Agregados finitos | 0/ 3 | 0/ 5,9 | 0/ 6,5 | 20/ 6,5 | 40/ 6,5 |
| Agregados periódicos | 0/ 3 | 0/ 5,9 | 0/ 6,5 | 20/ 6,5 | 40/ 6,5 |

Em todas as simulações, os filamentos de quitosana foram postos numa caixa de simulação retangular, construída há uma distância de 1,5 nm (nanômetros) da fibra de polissacarídeo. Todos os sistemas foram solvatados completando a caixa de simulação com moléculas de água, segundo o modelo de carga pontual (SPC) (BERENDSEN; GRIGERA; STRAATSMA, 1987).

As simulações mencionadas foram realizadas num tempo de 50 ns (nanosegundos) cada, a fim de atingir o equilíbrio termodinâmico. Em seguida, os cátions foram colocados próximos aos possíveis locais de interação (oxigênios e nitrogênios). Estes íons foram aproximados, há uma distância de cerca de 1 Å (angstrom), de todos os tipos de oxigênio existentes nos monômeros do filamento isolado de quitosana; e dos nitrogênios, tanto de grupos aminos quanto de grupos N-acetils, conforme está demonstrado na Figura 9. Nos sistemas que continham os

agregados, os cátions foram colocados aleatoriamente entre os filamentos. Após esta aproximação foi realizado mais 50 ns de simulação.

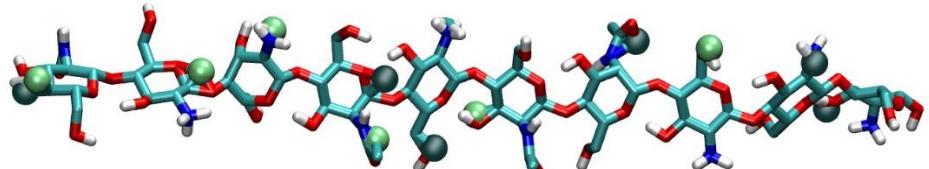


Figura 9 – Imagem obtida após a aproximação dos íons Cu²⁺ (esferas verdes) e dos íons Cd²⁺ (esferas cinzas). Nesta figura o filamento está em grau de acetilação 20% e pH 6,5.

4.2 SIMULAÇÕES POR DINÂMICA MOLECULAR

Todas as simulações e análises foram realizadas utilizando o pacote computacional GROMACS 4.5.x (VAN DER SPOEL, *et al.*, 2005; HESS, 2009). O campo de força utilizado é uma adaptação do GROMOS53a6 desenvolvido por Lins e colaboradores (LINS; HUNENBERGER, 2005; FRANCA *et al.*, 2008).

Inicialmente foi realizada a minimização de energia de cada sistema através de 10000 passos, utilizando o algoritmo *steepest descent*. Em seguida, a temperatura do sistema foi aumentada realizando-se sucessivas simulações por dinâmica molecular por 10 ps (picossegundos) à 50, 150, e 298 K; durante este processo, a posição dos átomos, com exceção dos hidrogênios, foram fixadas aplicando-se uma constante de força de 1,0. 10³ kJ.mol⁻¹.nm⁻². Finalmente foi realizada a dinâmica molecular do sistema, no intervalo de integração de 2 fs, totalizando o tempo de 50 ns. Todas as simulações foram realizadas em um *ensemble* isotérmico-isobárico (NPT) utilizando o algoritmo *leap-frog* (HOCKNEY, 1970). As coordenadas de todos os átomos do sistema foram coletadas a cada 2 ps para a realização das análises.

A temperatura foi mantida em 298 K acoplando os solutos e os solventes paralelamente aos termostatos de Berendsen (BERENDSEN *et al.*, 1984) com um tempo de relaxação de 0,1 ps. A pressão foi mantida em 1 bar pelo acoplamento do barostato de Berendsen (BERENDSEN *et al.*, 1984) com um tratamento isotrópico e tempo de relaxação de 0,1 ps e compressibilidade de 4,5 . 10⁻⁵ Bar⁻¹. Durante a

simulação por dinâmica molecular, a cada novo passo de integração, as velocidades em relação ao centro de massa eram removidas. O comprimento de ligação, bem como o movimento de estiramento linear e angular envolvendo os átomos de hidrogênio foi restringido utilizando o algoritmo LINCS (HESS *et al.*, 1997).

Na descrição das interações eletrostáticas e de van der Waals de curto alcance, foi utilizado um raio de corte de 1,4 nm, e as contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas por meio da aproximação do campo de reação (TIRONI *et al.*, 1995).

4.3 POTENCIAL DE FORÇA MÉDIA

Para obtenção da energia livre de interação entre os cátions metálicos e a quitosana cada íon foi afastado do centro de massa dos átomos com os quais interagiam. A velocidade de afastamento foi de 0,01 nm.ps⁻¹, aplicando-se uma constante de força de 367 kJ.mol⁻¹.nm⁻². Neste procedimento foi utilizado um potencial harmônico segundo a metodologia *umbrella sampling*.

A temperatura e pressão de referência foi de 298 K e 1 bar, respectivamente. Acoplamentos aos termostatos de Berendsen (BERENDSEN *et al.*, 1984) com um tempo de relaxação de 0,1 ps, foi utilizado para manter a temperatura do sistema constante, enquanto que a pressão foi mantida pelo acoplamento do barostato de Berendsen (BERENDSEN *et al.*, 1984) com um tratamento isotrópico e tempo de relaxação de 10 ps; e compressibilidade de $4,5 \cdot 10^{-5}$ Bar⁻¹. A dinâmica do sistema foi realizada em um *ensemble* isotérmico-isobárico (NPT) utilizando-se o algoritmo *leap-frog* (HOCKNEY, 1970).

O tempo de simulação variou de 0,8 a 2 ns, dependendo da força necessária para retirar cada cátion. O intervalo de integração utilizado foi de 1 fs. As coordenadas de todos os átomos do sistema foram descritas a cada 1 ps, para a realização das análises. As simulações foram realizadas fora do equilíbrio termodinâmico.

As contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas por meio da aproximação do campo de reação e as interações de Van der Waals calculadas até um raio de corte de 1,4 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente, todos os sistemas simulados por 50 ns atingiram o equilíbrio termodinâmico. Foi observado que os íons não se aproximaram a ponto de permanecerem interagindo com o filamento, sugerindo a necessidade de maior tempo de simulação ou da adição de forças externas. Neste estudo teórico, no intuito de ganhar tempo computacional e avaliar a interação com todos possíveis sítios de interação, os íons foram aproximados do filamento e colocados em cada possível sítio de interação, isto é, de todos os tipos de oxigênio e dos nitrogênios, tanto de grupos aminos quanto de grupos N-acetil (Figura 9). Esta aproximação foi realizada para os sistemas que continham apenas um filamento. Nos sistemas maiores, onde existiam os vários filamentos que compunham as agregados, os íons foram colocados aleatoriamente entre os filamentos ou nas proximidades dos mesmos. Após esta aproximação foram realizados mais 50 ns de simulação, a fim de novamente estabelecer-se o equilíbrio termodinâmico.

Foi observado que os cátions muito próximos ao filamento se afastaram bastante ou tenderam a se manter próximos a alguns grupos. Os resultados discutidos a seguir referem-se ao equilíbrio termodinâmico estabelecido após 50 ns da simulação em que os íons foram aproximados.

5.1 LOCALIZAÇÃO DE SÍTIOS DE INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu²⁺ E Cd²⁺

Os resultados obtidos por dinâmica molecular mostraram a ocorrência de interações íon-dipolo dos íons cobre(II) e cádmio(II) com a hidroxila e o grupo amino da quitosana.

As interações entre os íons Cu²⁺ e Cd²⁺ com a quitosana apresentaram-se em sítios específicos. Os íons Cu²⁺ interagiram entre um grupo amino desprotonado e uma hidroxila O3-HO3, já os íons Cd²⁺ apresentaram interações mais efetivas com hidroxilas HO3-O3 e/ou HO6-O6. A Figura 10 mostra o posicionamento dos íons Cu²⁺ e Cd²⁺ em determinado instante da trajetória, com a quitosana em grau de acetilação 20% e pH 6,5.

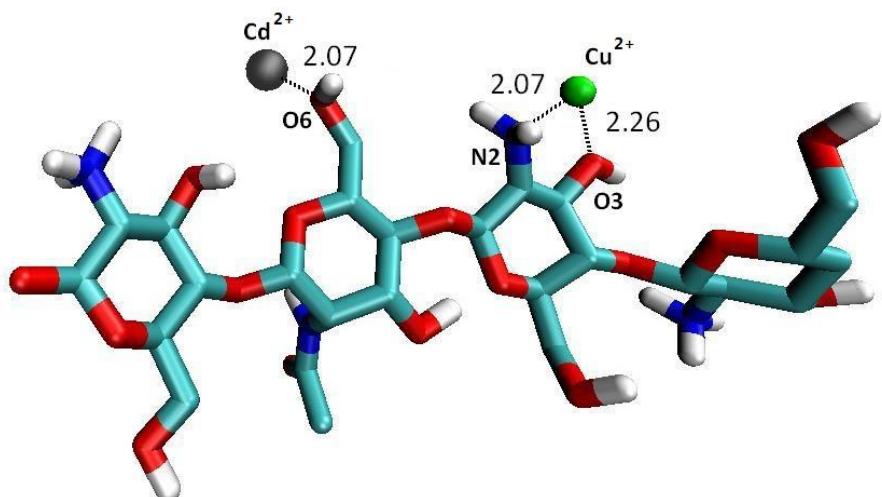


Figura 10 – Interação entre o íon Cd^{2+} e uma hidroxila do tipo O6-HO6; e o íon Cu^{2+} entre um grupo amino e uma hidroxila O3-HO3. Esta imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns), na simulação em pH 6,5 e grau de acetilação 20%.

Estes sítios de interações para os íons Cu^{2+} e Cd^{2+} foram observados em todas as simulações realizadas. A efetividade destas interações foi avaliada pela função de distribuição radial de pares, $g(r)$, para os cátions e os átomos com maior interação (Figura 11). Os resultados mostraram a ocorrência de interação entre um íon Cu^{2+} situado entre um grupo amino desprotonado e uma hidroxila do tipo HO3-O3; e de íons Cd^{2+} principalmente com hidroxilas. Estes dados foram obtidos para o filamento em grau de acetilação 20% e, picos praticamente idênticos, com pequenas diferenças de intensidade, foram observados para as diferentes condições de grau de acetilação e pH.

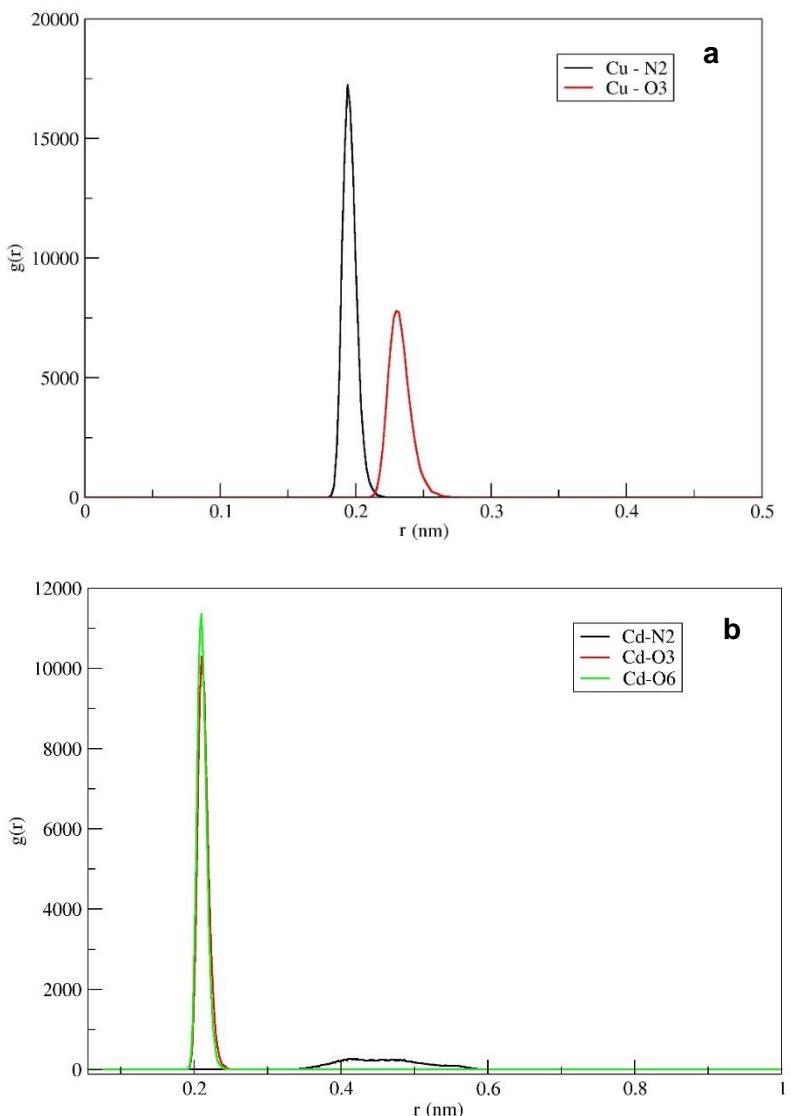


Figura 11 – Função de distribuição radial de pares entre os átomos da quitosana que interagem com a) um íon Cu^{2+} e b) com íons Cd^{2+} , considerando em ambos o filamento 20% acetilado.

A Figura 11a representa a interação de um único íon Cu^{2+} que interagiu entre um nitrogênio de um grupo amino desprotonado e um oxigênio de um hidroxila do tipo O_3-HO_3 . A Figura 11b representa a interação de dois íons Cd^{2+} : um íon que também interagia entre um nitrogênio de um grupo amino desprotonado e um oxigênio de uma hidroxila do tipo O_3-HO_3 ; e outro íon Cd^{2+} que interagia com uma hidroxila do tipo O_6-HO_6 . Os picos da função $g(r)$ maiores e mais estreitos denotam interações mais intensas e efetivas. Neste sentido, o íon cobre(II) apresentou interação mais efetiva

com o nitrogênio do que com o oxigênio (Figura 11a). Em relação aos íons cádmio(II), a interação com as hidroxilas foi bastante expressiva; já com o grupo amino desprotonado a interação foi mínima (Figura 11b). Em nenhum sistema simulado foi observada uma interação efetiva entre um íon Cd^{2+} e um grupo amino, da mesma forma os íons Cu^{2+} permaneceram interagindo efetivamente com a quitosana apenas no sítio mencionado.

A análise da evolução temporal da distância entre o íon Cd^{2+} e o oxigênio O3, comparada com a distância entre o íon Cd^{2+} e o nitrogênio N2 de um grupo amino desprotonado (Figura 12), confirmou os resultados anteriores. Nota-se, pela Figura 12, que a interação é mais eficaz entre Cd^{2+} e O3, o que refletiu numa menor distância de interação com pequena variação neste valor, ao contrário, a distância entre Cd^{2+} e nitrogênio é maior e oscila bastante com o tempo.

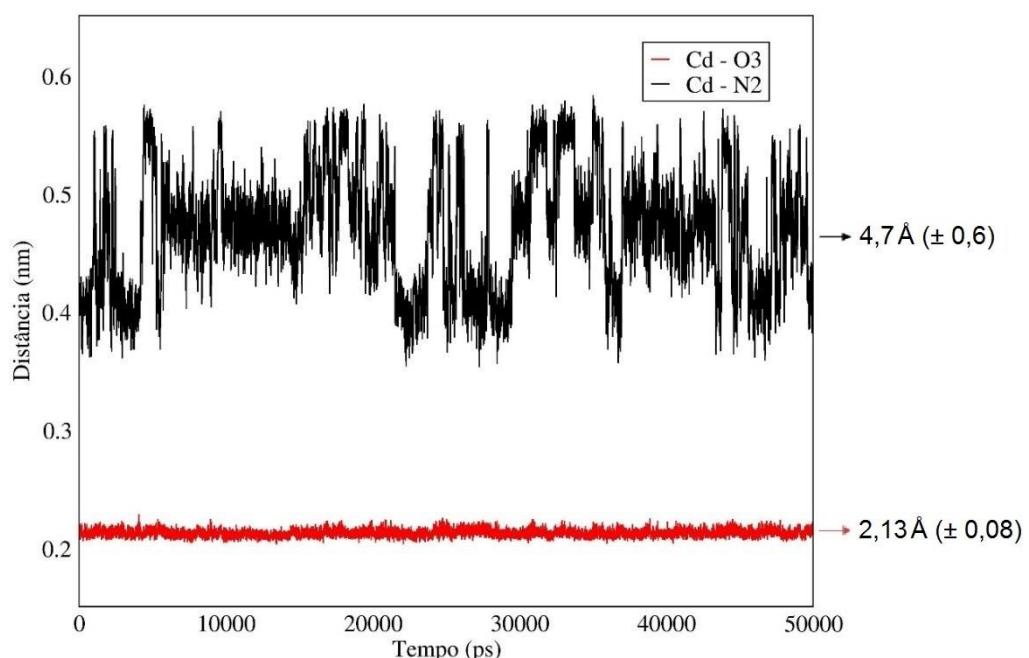


Figura 12 – Evolução temporal das distâncias entre Cd^{2+} e N2; e Cd^{2+} e O3, para o filamento 20% acetilado. As setas apontam para os valores médios e entre parênteses está o desvio padrão.

As menores distâncias entre os átomos da quitosana e os cátions variaram de 1,8 a 3 Å. As interações mais efetivas entre os íons e determinados átomos da quitosana, foram caracterizadas pela menor distância entre eles. Distâncias maiores

que 3,5 Å foram observadas entre o íon e átomos de grupos vizinhos aos grupos com melhor interação. Por exemplo, na Figura 12 o íon Cd^{2+} analisado encontrava-se entre um grupo amino e uma hidroxila O3-HO3, com a qual interagia fortemente e mantinha-se nas proximidades desta, já a interação entre o cátion e o nitrogênio não foi suficientemente forte para mantê-lo próximo no decorrer da simulação.

Em contrapartida, os íons Cu^{2+} que interagiram com a fibra do biopolímero, apresentaram interações efetivas tanto com o grupamento amino quanto com a hidroxila O3-HO3, conforme já foi mencionado anteriormente. A Figura 13 apresenta as variações de distância destas interações, as pequenas variações na distância entre o Cu^{2+} e o oxigênio; e entre Cu^{2+} e o nitrogênio, demonstraram que o íon permanece nas proximidades dos grupos amino e hidroxila. Mesmo assim, se compararmos estas distâncias, verifica-se a interação mais efetiva entre o íon Cu^{2+} e o nitrogênio.

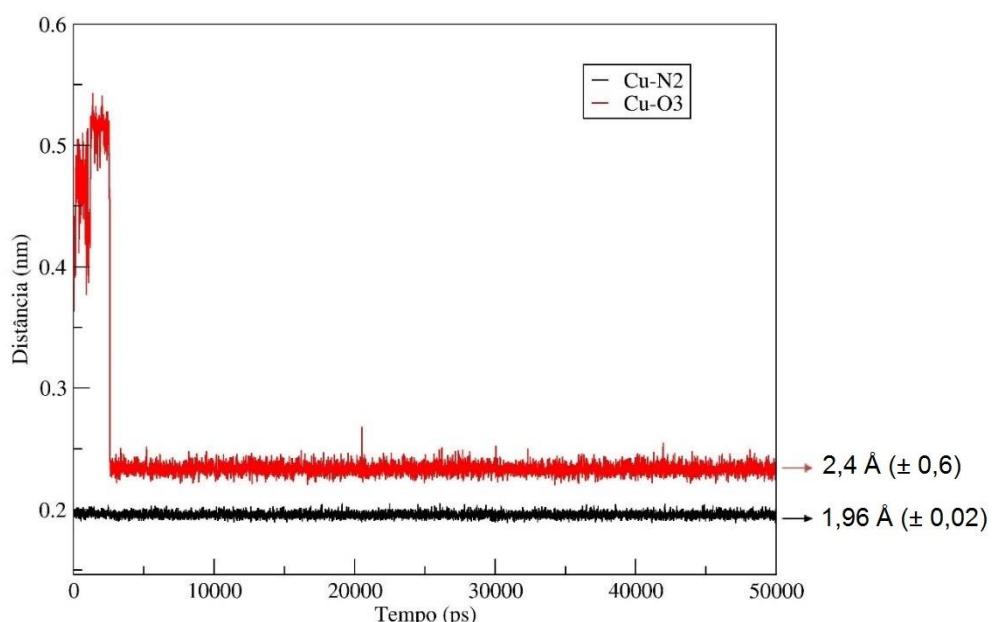


Figura 13 – Evolução temporal das distâncias entre Cu^{2+} e N2; e Cu^{2+} e O3, para o filamento 20% acetilado. As setas apontam para os valores médios e entre parênteses está o desvio padrão.

É possível perceber também, pela Figura 13, que o íon Cu^{2+} estava próximo ao grupo amino e mais distante da hidroxila, então o cátion tendeu a se deslocar para as proximidades dessa hidroxila e manter-se próximo aos dois grupos.

Em geral, o íon cádmio(II) se posicionou entre duas hidroxilas, podendo esta interação ser bastante intensa com os dois grupos ou, como foi notado na maioria dos casos, a interação com apenas uma hidroxila foi mais eficaz (com distâncias em torno de 2 Å), permanecendo mais distante da outra hidroxila, como pode ser observado na Figura 14, em que o átomo Cd²⁺ da ponta esquerda interagiu preferencialmente com o oxigênio O3 e o Cd²⁺ da direita interagiu efetivamente com as duas hidroxilas. Note que esta interação com duas hidroxilas foi favorecida pela cavidade formada pelos grupos acetis. A Figura 14 mostra o último instante da trajetória do filamento 40% acetilado. Nesta imagem é possível perceber também a localização do cobre(II) entre um grupo amino e uma hidroxila.

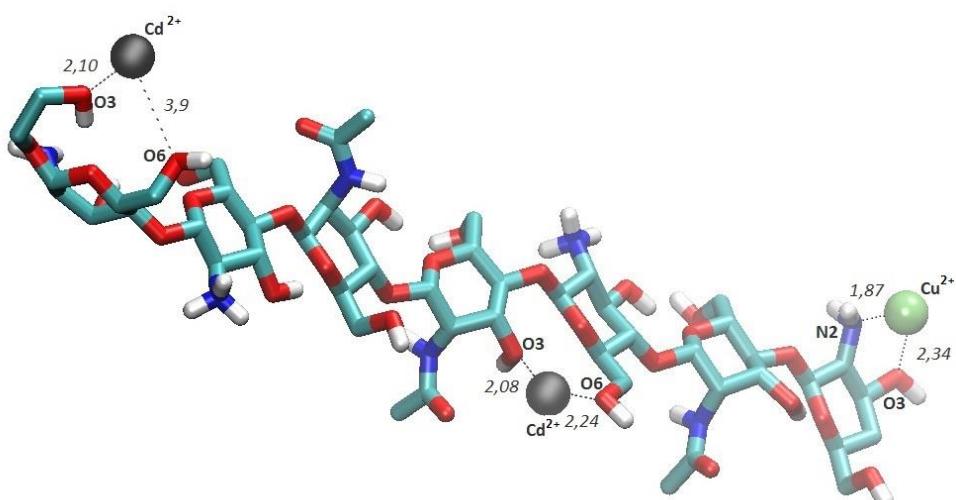


Figura 14 – Interação entre íons Cd²⁺ e Cu²⁺ e o filamento de quitosana. Esta imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns), na simulação em pH 6,5 e grau de acetilação 40%.

A Figura 14 exemplifica uma interação preferencial entre o íon Cd²⁺ e o oxigênio O3 comparada com a interação do mesmo íon com o oxigênio O6, mas este resultado não é uma tendência geral. Em vários casos, a interação entre o íon Cd²⁺ e o átomo O6 pode ter sido preferida em relação à interação com o átomo O3. De fato as interações entre os íons Cd²⁺ e o oxigênio O3 foram tão efetivas quanto às interações deste cátion com o oxigênio O6, conforme mostrado anteriormente na Figura 11b. Alguns fatores contribuíram para a preferência do Cd²⁺ por hidroxilas O6, esta

preferência foi notada sempre que a hidroxila O3-HO3 estava adjacente à um grupo amino protonado e pode ser entendida em termos de repulsão eletrostática. Nestes casos a interação do íon Cd²⁺ se deu entre os átomos O3 e O6 da quitosana, sendo mais eficaz com o oxigênio O6 do que com o oxigênio O3, como pode ser comprovada pela Figura 15, que apresenta a função de distribuição radial de pares entre um íon Cd²⁺ e os oxigênios O6 e O3 (adjacente a um grupo amino protonado). O pico bem definido observado na Figura 15 sugere uma interação bastante efetiva com a hidroxila O6-HO6.

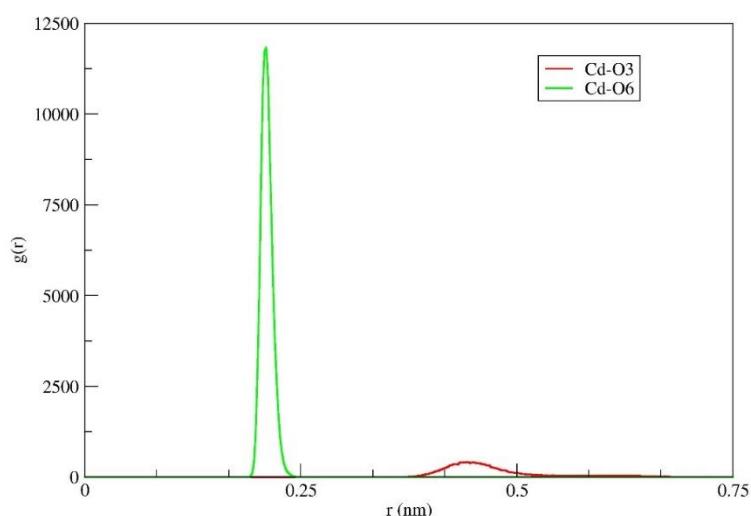


Figura 15 – Função de distribuição radial de pares entre o íon Cd²⁺ e os átomos O3 e O6 do filamento de quitosana em pH 3.

O entendimento das interações destes íons nos complexos formados entre eles e a quitosana requer avaliar a coordenação com moléculas de água ou íons cloreto. Conforme já mencionado anteriormente, evidências experimentais mostram que os íons Cu²⁺ e Cd²⁺ em solução aquosa existem na forma dos complexos [Cu(H₂O)₆]²⁺ e [Cd(H₂O)₆]²⁺. Na Tabela 3 está apresentado o número médio de moléculas de água e íons cloreto na esfera de coordenação de cada íon. Estes valores foram obtidos para os cátions que estavam em solução e não foram adsorvidos pelo filamento de quitosana.

Tabela 3 – Número médio de coordenação dos íons Cu^{2+} e Cd^{2+} com moléculas de água e íons cloreto.

| | H_2O | Cl^- |
|------------------|----------------------|---------------|
| Cu^{2+} | 6,98 | 0,10 |
| Cd^{2+} | 5,90 | 0,15 |

De acordo com a Tabela 3, os íons Cd^{2+} em solução estavam hexacoordenados, conforme o previsto. O maior número de coordenação para os íons Cu^{2+} pode ser entendido pelo seu menor raio. A energia de interação íon-dipolo é maior para menores distâncias entre as cargas, logo os cátions menores atraem mais fortemente as moléculas de água, sendo mais extensamente hidratados. A coordenação dos cátions completou-se tanto com moléculas de água quanto com íons cloreto; entretanto, a interação com estes ânions foi bem menos expressiva. Em todas as interações com a quitosana, as moléculas de água ou íons cloretos completaram a esfera de coordenação dos cátions, seguindo a tendência observada na Tabela 3, onde o número médio de coordenação do Cd^{2+} foi 6 e do Cu^{2+} foi de 7.

As interações dos ácidos e bases de Lewis podem ser tratadas considerando-se duas classes de compostos os “duros” e os “moles”. Estas classes foram identificadas empiricamente e a classificação como duros ou moles, está relacionada à estabilidade termodinâmica dos complexos formados. De forma geral, esta classificação pode ser relacionada à razão carga/raio da espécie química, onde os átomos ou íons de menor relação carga/raio são classificados como moles e íons menores e de carga elevada como duros. Uma implicação desta classificação é a tendência dos ácidos duros se ligarem às bases duras e dos ácidos moles às bases moles. De acordo com essa definição, o íon Cu^{2+} apresenta caráter de íon “duro” e o íon Cd^{2+} de “mole”, entretanto essa diferença não é tão significativa, já que estes íons são considerados de fronteiras. Este teoria ajuda a explicar a melhor interação do Cu^{2+} com água (ambos são duros), se comparado com o Cd^{2+} que devido ao seu caráter mais mole, apresentou uma interação um pouco melhor com íons cloreto.

Em relação ao caráter das bases da quitosana que interagem com esses íons, tanto o grupo hidroxila quanto o grupo amino são considerados bases duras, mas comparando-se ambos, o amino é considerado uma base mais mole que a hidroxila

(SHRIVER; ATKINS, 2008). Os resultados obtidos nas simulações realizadas parecem contradizer a teoria dos ácidos e bases duro e mole; entretanto, deve-se tomar um certo cuidado na aplicação desta para o presente estudo e, alguns fatores devem ser levados em consideração. A primeira consideração se refere ao caráter das ligações químicas, se tratando de ácidos e bases de Lewis, pela própria definição, há a doação e recepção de par de elétrons, e as simulações realizadas não tratam explicitamente a estrutura eletrônica do sistema como realizado na mecânica quântica, mas somente de forma implícita, com cargas parciais, usualmente realizados nas metodologias de simulação clássica. Entretanto é sabido que as ligações químicas apresentam certo caráter de interação iônica, ou íon dipolo e caráter covalente. O presente estudo faz o tratamento da “ligação química” apenas no seu caráter íon dipolo. As interações entre ácidos e bases duros podem ser descrita aproximadamente em termos de interações iônicas ou íon-dipolo, já os ácidos e bases “moles” são mais polarizáveis e apresentam caráter covalente mais pronunciado. O íon Cu²⁺ é considerado duro e as bases interagentes (hidroxila e amino) também apresentam essa característica, reforçando que esta teoria pode ser usada para aproximar melhor na descrição destas interações, e as discrepâncias observadas podem, além de outros fatores, ser devida ao caráter covalente da ligação que não está sendo levado em consideração.

Além das considerações acima, não podemos esquecer que há vários tipos de contribuição para a estabilidade dos complexos, como a repulsão estérica entre os grupos interagentes e a competição com o solvente (SHRIVER; ATKINS, 2008). Estes fatores compõe a justificativa para o sítio de interação do Cu²⁺ ser diferente do Cd²⁺, o íon Cu²⁺ é menor e então é possível que haja interação entre uma hidroxila e um grupo amino. Note pela Figura 9, que há forte restrição na posição e distância entre o oxigênio O3 e o nitrogênio N2 do grupo amino, e a pequena distância entre eles não permitiu que o íon Cd²⁺ se coordenasse entre eles. As distâncias médias observadas entre estes átomos foi de 3,8 Å, distância muito semelhante há observada entre o oxigênio O6 e o nitrogênio N2 do grupo amino, 3,32 Å. Desta forma, o maior raio do íon Cd²⁺ desfavoreceu sua interação entre estes dois grupos. Além disso, o posicionamento do Cu²⁺ em seu sítio ativo implica na desestabilização da ligação de hidrogênio intramolecular entre a hidroxila O3-HO3 e o grupo amino vizinho; para compensar esta desestabilização, a interação entre os grupos interagentes e o íon

deve ser forte e, um cátion mais duro, como é caso do Cu^{2+} , repercute numa interação mais forte.

Somado à estes fatores, as interações de van der Waals contribuíram para a melhor interação entre o íon Cu^{2+} e o átomo de nitrogênio e entre o íon Cd^{2+} e o átomo de oxigênio das hidroxilas. Conforme mencionado anteriormente, o parâmetro C_6 compõe o termo atrativo do potencial de Lennard-Jones e o parâmetro C_{12} compõe o termo repulsivo. Assim sendo, é possível perceber, a partir dos dados da Tabela 4, a maior atração entre o íon Cu^{2+} e o átomo de nitrogênio do grupo amino frente aos átomos de oxigênio das hidroxilas. Em relação ao íon Cd^{2+} , o termo atrativo é ligeiramente maior para com o átomo de nitrogênio, entretanto a contribuição do termo repulsivo desfavorece tal interação quando comparada às interações com os átomos de oxigênio.

Tabela 4 – Parâmetros de Lennard-Jones entre os íons Cu^{2+} , Cd^{2+} e os átomos de oxigênio e nitrogênio da quitosana.

| Tipo de interação | $C_6 / \text{kJmol}^{-1}\text{nm}^6$ | $C_{12} / \text{kJmol}^{-1}\text{nm}^{12}$ |
|--|--------------------------------------|--|
| $\text{Cu}^{2+} \dots \text{O}_3 \text{ ou } \text{O}_6$ | $9,72602 \cdot 10^{-4}$ | $5,01966 \cdot 10^{-7}$ |
| $\text{Cu}^{2+} \dots \text{N}_2 \text{ (amino)}^*$ | $1,00941 \cdot 10^{-3}$ | $1,09031 \cdot 10^{-7}$ |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O}_3 \text{ ou } \text{O}_6$ | $2,96028 \cdot 10^{-4}$ | $1,50324 \cdot 10^{-7}$ |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{N}_2 \text{ (amino)}^*$ | $3,07232 \cdot 10^{-4}$ | $2,75655 \cdot 10^{-7}$ |

*Nitrogênio pertencente à um grupo amino desprotonado

Nos sistemas formados pelos agregados de quitosana, os vários filamentos do biopolímero possibilitaram a coordenação de um íon com filamentos distintos. Tantos íons Cu^{2+} quanto Cd^{2+} apresentaram este tipo de interação, cuja ocorrência foi observada para os filamentos finitos e periódicos. Nestes casos, os íons mantiveram filamentos distintos próximos, como se fossem uma espécie de “cola”, sugerindo que a interação entre o íon e a quitosana é bastante intensa. Os sítios de interação nestes casos foram os mesmos descritos acima, todavia a ocorrência de coordenação entre o cátion Cd^{2+} e dois filamentos só foi observada quando o íon interagia com uma hidroxila $\text{O}_6\text{-HO}_6$ de cada filamento. Nestes casos os íons apresentaram número de coordenação 6, a esfera de coordenação dos íons Cu^{2+} foi completada por 2 moléculas de água e dos íons Cd^{2+} por moléculas de água ou íons cloreto (Figura 16).

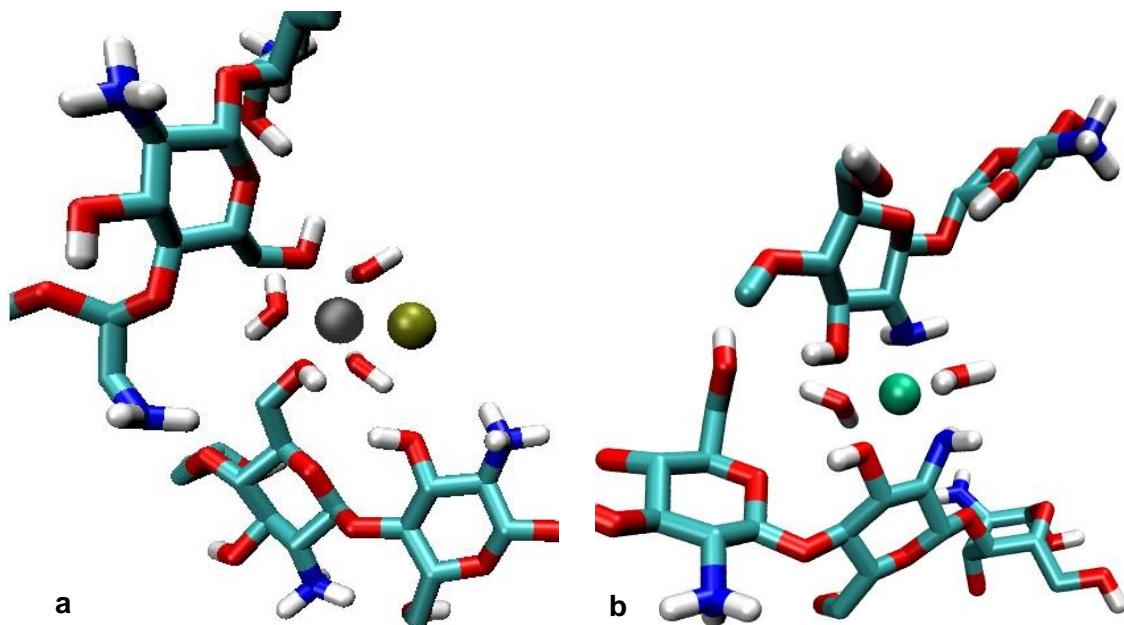


Figura 16 – Coordenação entre um íon a) Cd^{2+} e b) Cu^{2+} e dois filamentos de quitosana. As moléculas de águas e íons cloreto (esfera amarela) completaram a esfera de coordenação.

Outra característica interessante observada foi que estes íons provocaram uma grande mobilidade nos filamentos. Estudos anteriormente realizados mostram que os filamentos tanto finitos, quanto periódicos apresentaram uma mobilidade muito menor em solução aquosa na ausência destes íons (FRANCA, 2009). Esta alta mobilidade pode ser entendida como um aumento de entropia do sistema. Um exemplo que ilustra como um íon interfere na estrutura do filamento, é o que ocorreu entre um íon Cd^{2+} e os agregados de filamentos periódicos em GA 0% e pH 3, onde nesta condição, o filamento de quitosana se curvou para que várias hidroxilas O6 se aproximasse do íon Cd^{2+} . A Figura 17 ilustra essa deformação estrutural que resultou em uma coordenação do Cd^{2+} com uma hidroxila O6-HO6 (a coordenação do cátion foi completada por moléculas de água e íons cloreto).

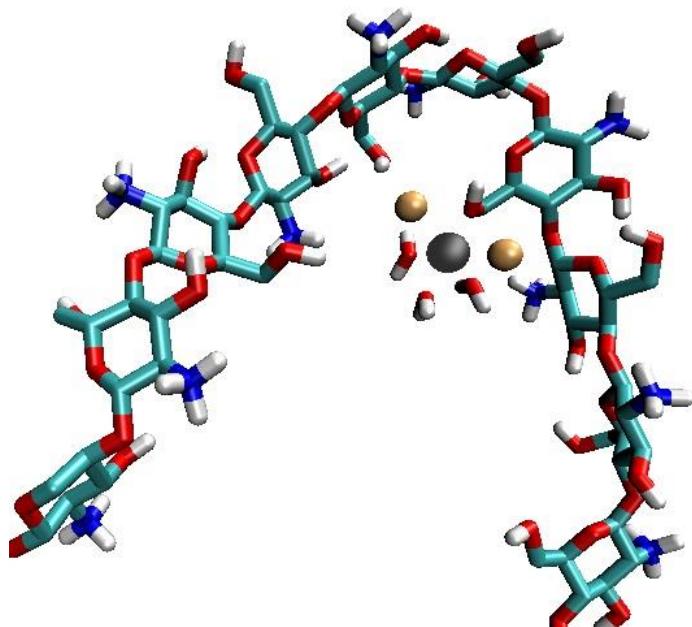


Figura 17 – Coordenação entre um íon Cd^{2+} e uma hidroxila $\text{O}_6\text{-HO}_6$ dos agregados periódicos em GA 0% e pH 3. As moléculas de águas e íons cloreto (esferas amarelas) completam a esfera de coordenação.

5.2 EFEITO DO GRAU DE ACETILAÇÃO NA INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu^{2+} E Cd^{2+}

A influência do grau de acetilação na interação dos cátions com o filamento foi avaliada em meio neutro. A metodologia da dinâmica molecular combinada com o método do potencial de força média (PMF) possibilitou a obtenção da energia livre de interação entre os íons e o filamento de quitosana. Estes valores de energia constam na Tabela 5. A notação adotada na composição da tabela consiste no nome do cátion, seguido por reticências e o átomo da quitosana com o qual se coordenava, ou seja, cuja distância média durante a simulação permaneceu próxima à 2 Å. Entre parênteses está especificado o grupo vizinho a esta interação; e foi denominado como vizinho, grupos cujas distâncias em relação aos íons Cd^{2+} apresentaram grandes variações em torno de 5 Å. Para um mesmo sistema, quando os vizinhos à interação eram os mesmos, o valor da energia de interação não apresentou variações expressivas. Da mesma forma, as interações envolvendo os íons Cu^{2+} , para um

mesmo sistema, não apresentaram valores de energia muito diferentes e por este motivo não foram especificados os grupos vizinhos.

Tabela 5 – Energia livre da interação, em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, entre os cátions Cu^{2+} e Cd^{2+} e os átomos da quitosana, à diferentes graus de acetilação.

| | GA 0% | GA 20% | GA 40% |
|---|--------------|---------------|---------------|
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O3 (viz. amino e O6)*}$ | - | -57,8 | -161,0 |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O3 (viz. acetil e O6)}$ | - | -74,8 | -109,5 |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O6 (viz. acetil e O3)}$ | - | -99,0 | - |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O3 + O6 (viz. acetil)}$ | - | - | -269 |
| $\text{Cu}^{2+} \dots \text{N2 + O3}$ | -296 | -251 | -175 |

*amino significa um grupo amino desprotonado.

Pela análise da Tabela 5, pode-se perceber que os valores mais negativos de energia livre ocorrem devido ao efeito quelato, observado para os íons Cu^{2+} e para o íon Cd^{2+} quando este se coordenava a duas hidroxilas. Os valores de energia livre de interação foram influenciados pelos grupos vizinhos, sugerindo que eles também contribuíram para a interação. De forma geral, o aumento do grau de acetilação, favoreceu a interação entre o cátion Cd^{2+} e o filamento de quitosana, como foi constatado pelos menores valores de energia de interação (Tabela 5). A Figura 18 representa a função de distribuição radial de pares entre todos os íons Cd^{2+} e a quitosana nos diferentes sistemas. De forma geral, foi possível perceber uma maior quantidade e intensidade dos picos com o aumento da presença de grupos acetils. Além disso, não ocorreu interação efetiva entre íons Cd^{2+} e o filamento isolado de quitosana em grau de acetilação 0%.

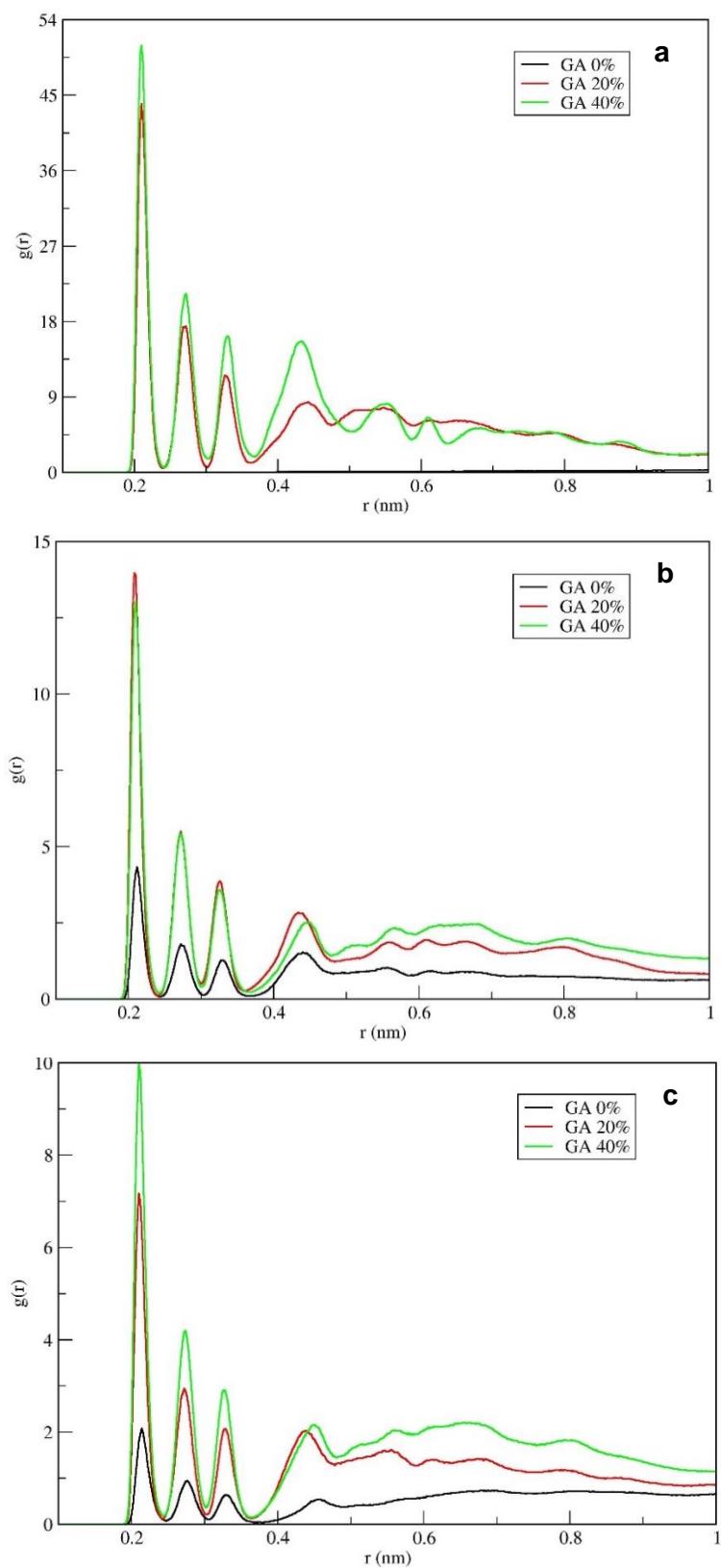


Figura 18 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cd^{2+} e a) o filamento isolado b) os agregados finitos ou c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes graus de acetilação.

A maior estabilização das interações com o Cd²⁺, devido à presença dos grupos acetis, pode ser justificada em razão de vários fatores, um deles é a maior atração eletrostática, pois à medida que o grau de acetilação aumenta, aumenta também a densidade de carga negativa do filamento, que pode ser visualizada pela superfície do potencial eletrostático representada na Figura 19. As maiores regiões com densidade de carga negativa formaram importantes sítios de interação entre o cátion Cd²⁺ e o filamento, estabilizando as interações. Os aspectos estéricos também contribuíram, pois a presença de grupos N-acetis formaram cavidades que auxiliaram na fixação e blindagem dos íons que interagiam. Somados a esses fatores, a menor mobilidade dos filamentos em maiores graus de acetilação favoreceu a estabilização da interação dos íons Cd²⁺.

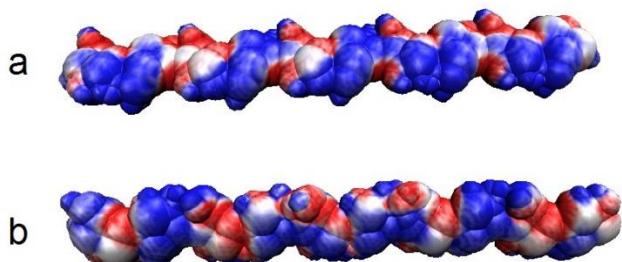


Figura 19 – Superfície do potencial eletrostático do filamento de quitosana em grau de acetilação a) 0% e b) 40%. Os potenciais positivo (azul) e negativo (vermelho) correspondem à faixa de -30K_BT/e a +30 K_BT/e.

Para o sistema que continha o filamento isolado de quitosana, a entropia do sistema também contribuiu significativamente, justificando a ausência de interação em grau de acetilação 0%. A Figura 20 representa a distribuição das moléculas de água ao redor do átomo O3 da quitosana em função do cos Θ; onde Θ é o ângulo definido entre o vetor formado pelo oxigênio da água e o átomo O3, e o vetor formado pelo momento dipolo da água. O aumento no grau de acetilação promove uma maior distribuição de moléculas de água com orientações definidas, em outras palavras, isto corresponde a uma diminuição na entropia do sistema, como consequência da maior organização das moléculas de água. Este aumento na organização do solvente

acarretou na diminuição do seu fluxo ao redor do filamento, o que facilitou a permanência dos íons Cd^{2+} . Já em GA 0%, o maior fluxo das moléculas de água impediu a adsorção do íon devido ao aumento na competição entre as interações da quitosana com a água. Nos sistemas contendo os agregados de quitosana, a diferença na organização das moléculas de água ao redor do filamento não foi tão pronunciada.

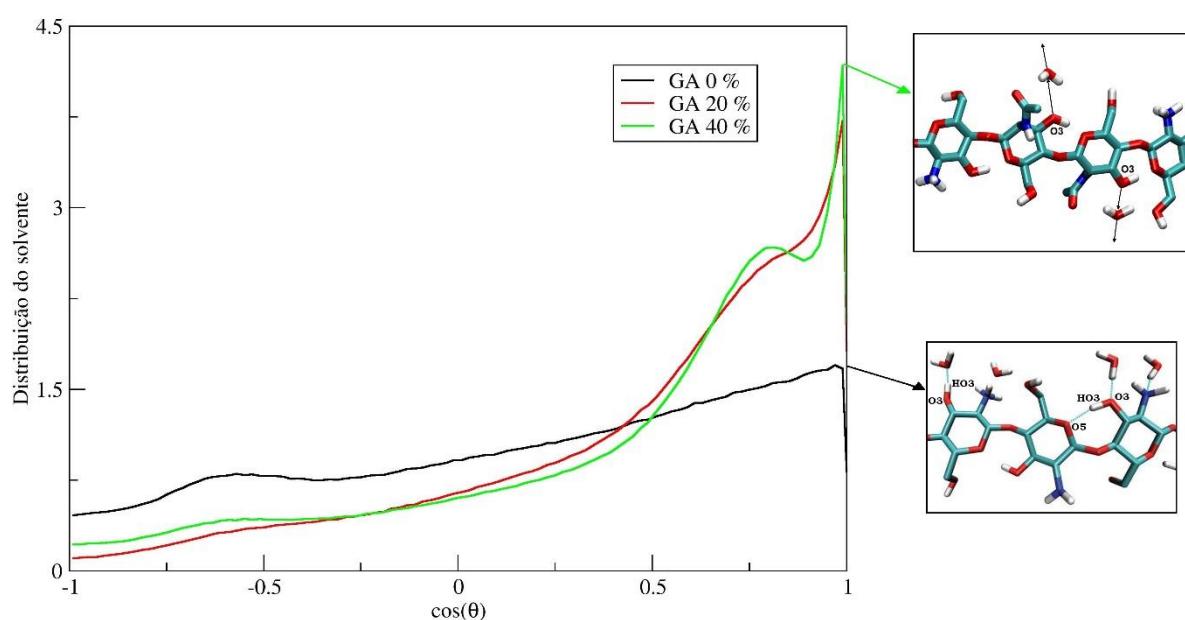


Figura 20 – Distribuição do solvente ao redor do átomo O3, em função do $\cos(\Theta)$, à diferentes GA. Onde Θ é o ângulo definido entre o vetor formado pelo oxigênio da água e o átomo O3, e o vetor formado pelo momento dipolo da água.

O efeito do grau de acetilação na adsorção dos íons Cu^{2+} para os diferentes sistemas simulados pode ser observado na Figura 21. É possível perceber que em grau de acetilação 20% há maior interação de íons Cu^{2+} com a quitosana. Entende-se este resultado como consequência de um conjunto de fatores que estabilizam as interações, apesar do aumento do grau de acetilação diminuir as possibilidades de sítios de interação entre o íon Cu^{2+} e a quitosana, a menor mobilidade e maior densidade de carga negativa em maiores graus de acetilação (Figura 19) estabilizam as interações.

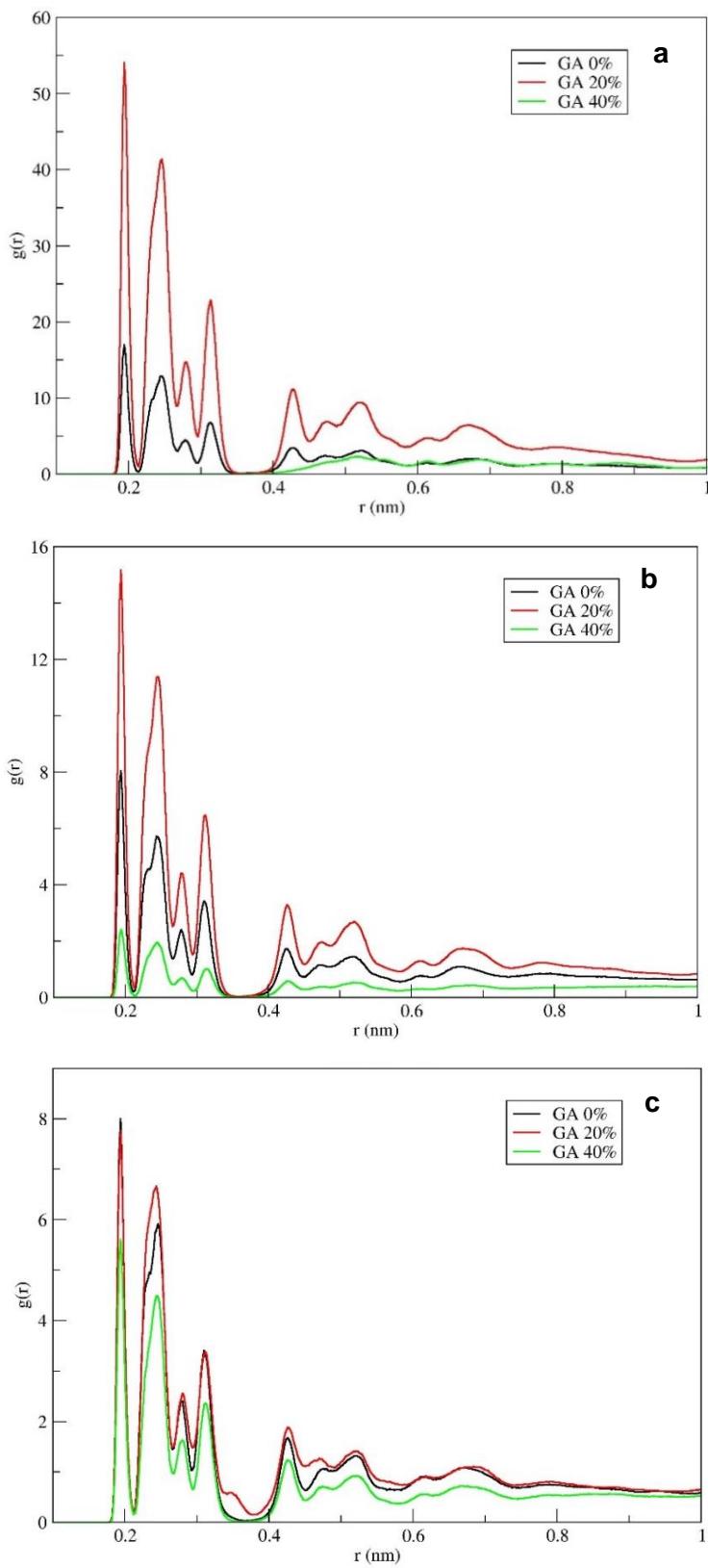
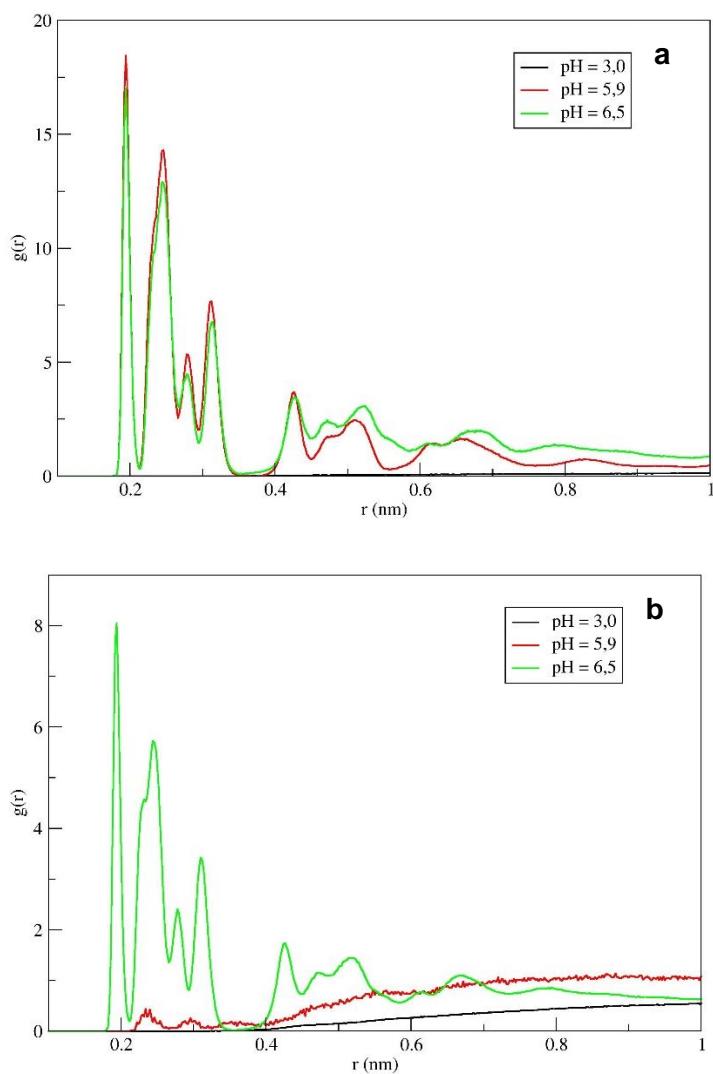


Figura 21 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cu^{2+} e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes graus de acetilação.

5.3 EFEITO DO pH NA INTERAÇÃO ENTRE A QUITOSANA E OS ÍONS Cu²⁺ E Cd²⁺

Em relação à variação do pH do meio; mantendo-se os filamentos desacetilados, foi possível verificar que o aumento do pH favoreceu a adsorção de íons Cu²⁺ (Figura 22). Este resultado reforça a hipótese de que sua interação ocorre preferencialmente com grupo aminos desprotonados. Repulsões eletrostáticas entre o cátion e o filamento protonado foram as principais responsáveis pela desestabilização da interação entre o cobre e a quitosana.



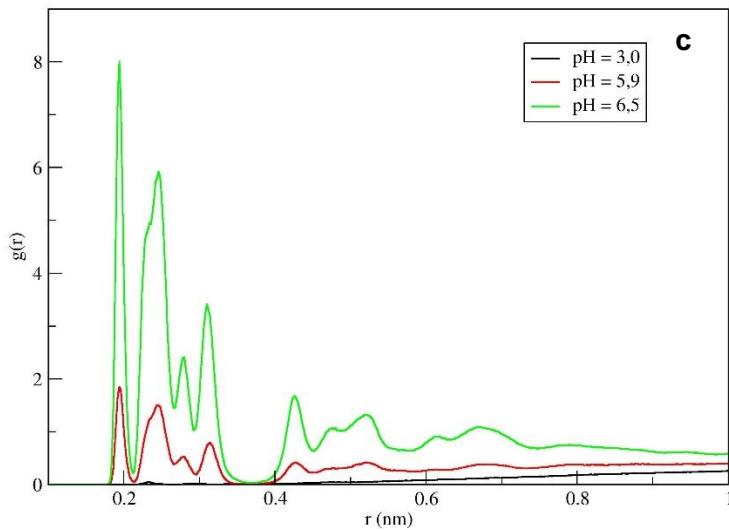


Figura 22 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cu^{2+} e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes pHs.

Entretanto, em relação ao íon Cd^{2+} , ao contrário das análises anteriores, não foi possível perceber uma tendência em relação à adsorção nos diferentes sistemas, como pode ser percebido pela Figura 23. Em cada sistema o pH influenciou de uma maneira, no entanto foi possível notar que a mobilidade do sistema pode ter contribuído de maneira significativa para esse resultado. Para o sistema contendo um filamento isolado de quitosana, o íon Cd^{2+} apresentou melhor interação com a quitosana em meio de acidez mais elevada. Nestas condições, a repulsão entre os grupos aminos protonados da cadeia polissacarídica, resultou num filamento mais linear, com maior área superficial de contato, e uma consequente maior disponibilidade de hidroxilas. Além disso, a quitosana em pH 3 e 5,9 apresentou uma menor mobilidade por rotação (raio de giro), como pode ser observado pela Figura 24. Diante da alta mobilidade apresentada em pH 6,5, as interações com o íon Cd^{2+} não foram fortes o suficiente para manter os íons nas proximidades do filamento.

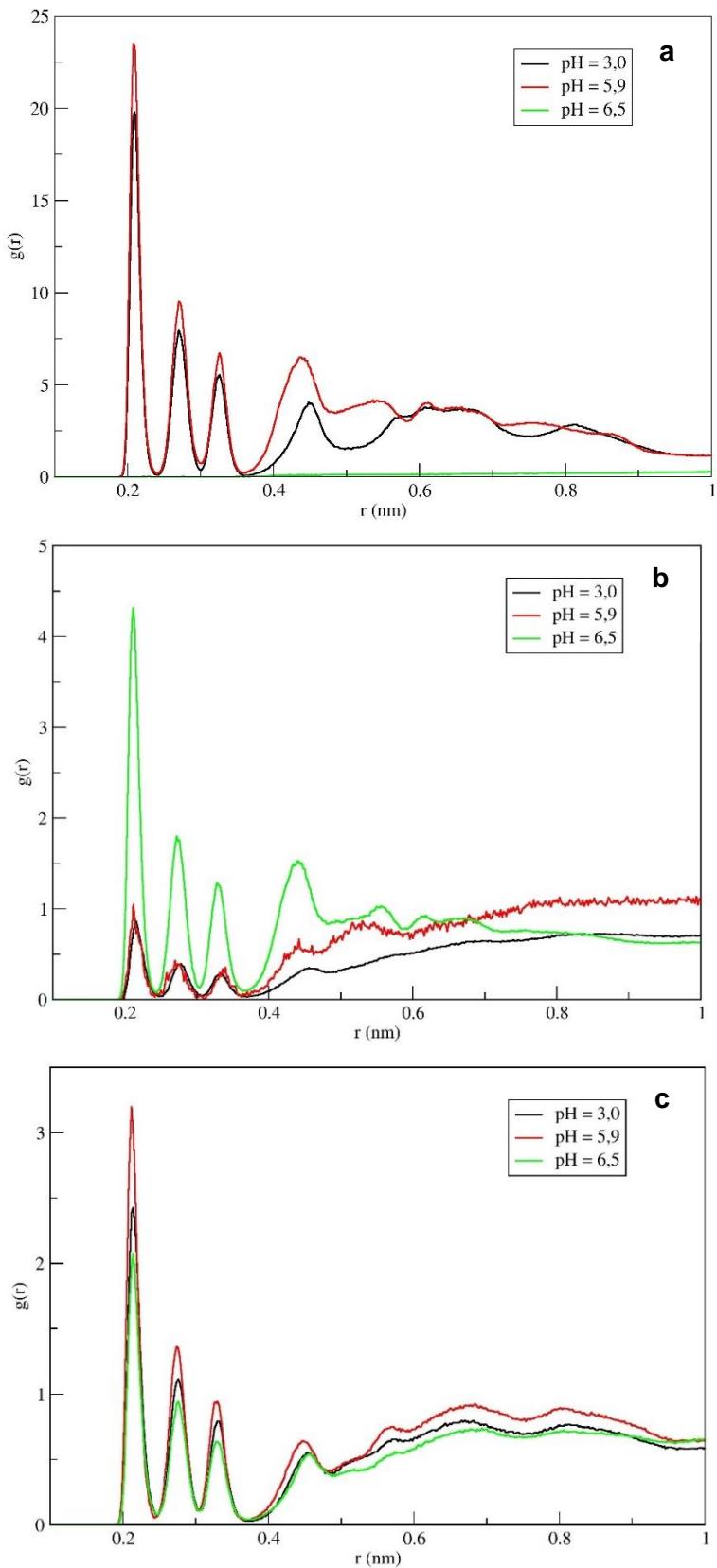


Figura 23 – Função de distribuição radial de pares entre os íons Cd^{2+} e a) o filamento; b) os agregados finitos e c) os agregados periódicos de quitosana em diferentes pHs.

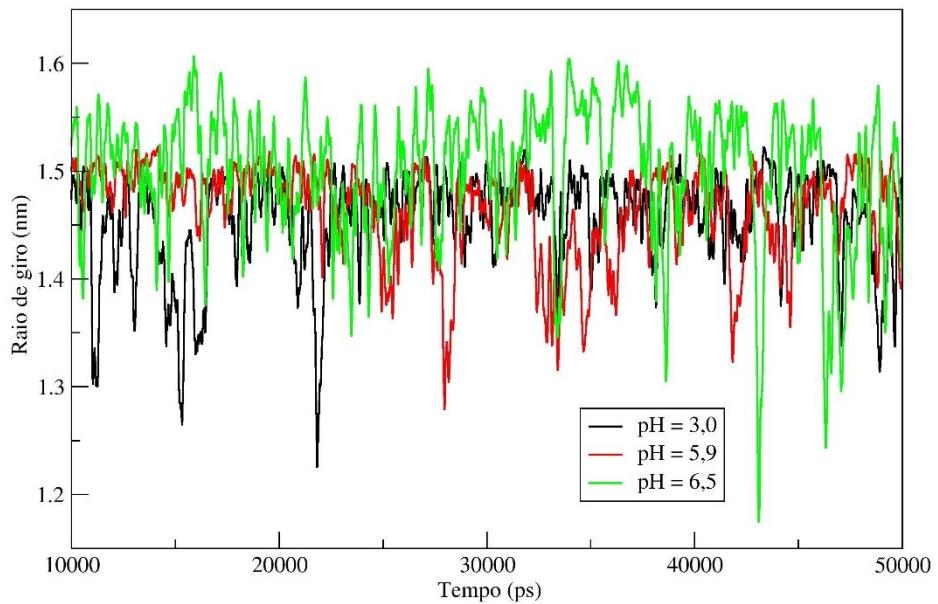


Figura 24 – Raio de rotação do filamento em relação ao seu centro de massa (raio de giro) em função do tempo de simulação.

Um comportamento diferente foi observado para os sistemas contendo vários filamentos finitos, onde a repulsão eletrostática entre os grupos aminos protonados de filamentos distintos aumentou muito a mobilidade destes em valores mais baixos de pH, o que repercutiu numa menor interação com íons Cd^{2+} . Além disso, os filamentos dos agregados em pHs mais elevados mantiveram maior proximidade, o que favoreceu a coordenação tanto de íons Cd^{2+} quanto Cu^{2+} com dois filamentos (Figura 25). Nos sistemas que continham os filamentos periódicos, a menor mobilidade destes, devido à ausência de pontas, refletiu em interações mais semelhantes a diferentes pHs.

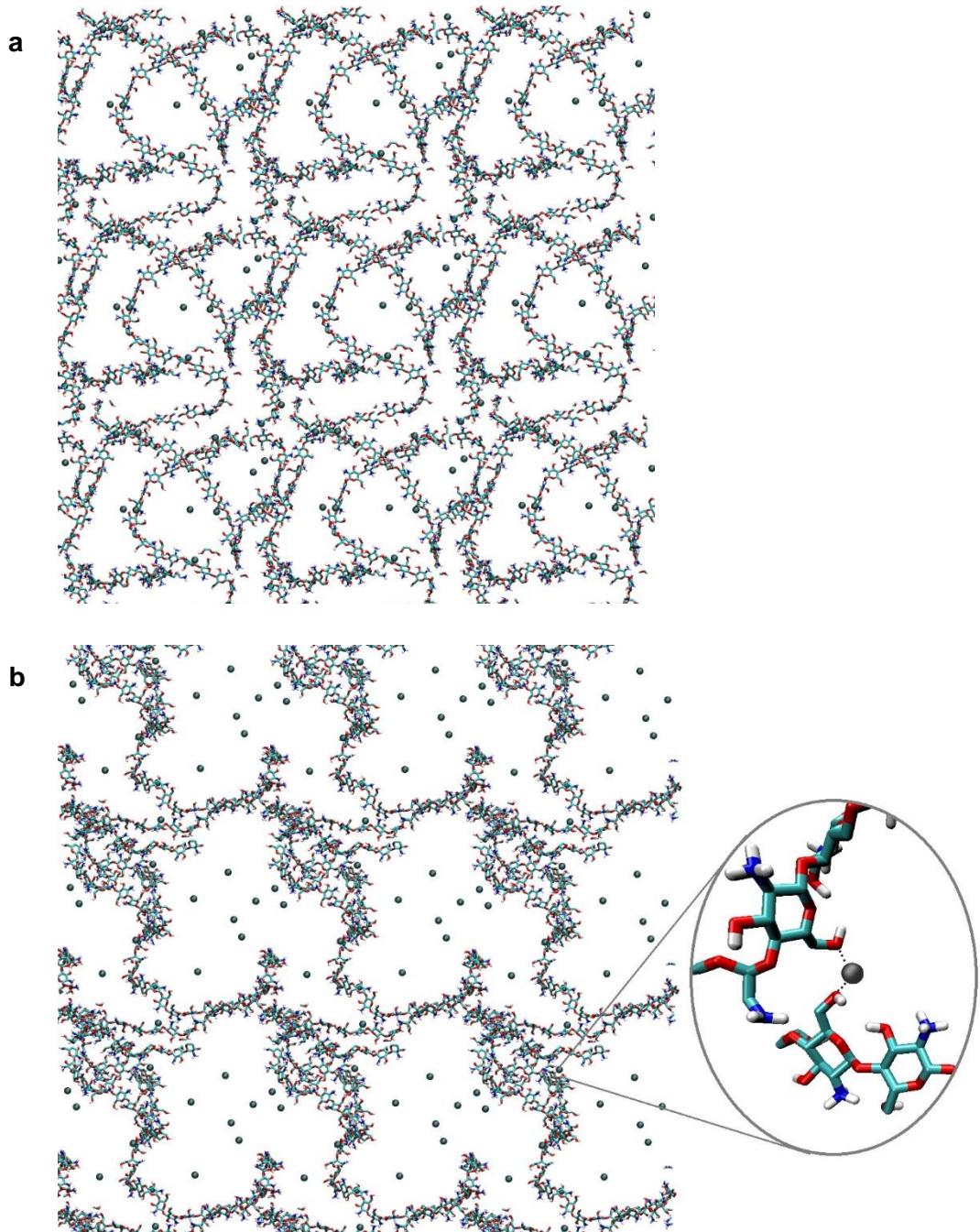


Figura 25 – Agregados de filamentos periódicos de quitosana em a) pH = 3 e b) pH = 6,5. Nesta imagem há nove caixas de simulação, as quais foram obtidas por réplicas da caixa central ao longo dos eixos x e y. A imagem foi obtida da última estrutura da trajetória (em 50 ns).

Os valores de energia livre obtidos por PMF encontram-se na Tabela 6. Pela análise gráfica da força de afastamento das espécies catiônicas dos seus respectivos

sítios (Figura 26), foi possível perceber a maior resistência ao afastamento para o íon Cu^{2+} , devido à sua interação mais efetiva com a quitosana. O aumento da força é observado enquanto a interação é eficaz, seguido de uma queda brusca no valor da força, onde se caracteriza ausência de interação. No caso do íon Cu^{2+} , foram observadas duas quedas no valor da força, a primeira, e mais amena, deve-se à interação mais fraca com o átomo de oxigênio O3; já o decaimento mais abrupto no valor da força pode ser atribuído à interação mais forte com o átomo N2.

Tabela 6 – Energia livre de interação, em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, entre os íons Cu^{2+} e Cd^{2+} e o filamento desacetilado a diferentes pHs.

| | pH 3 | pH 5,9 | pH 6,5 |
|--|--------|--------|--------|
| $\text{Cu}^{2+} \dots \text{N}2 + \text{O}3$ | - | -115 | -204 |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O}6$ | -151,5 | -141 | - |
| $\text{Cd}^{2+} \dots \text{O}3$ (viz. amino desprotonado) | - | -64,5 | - |

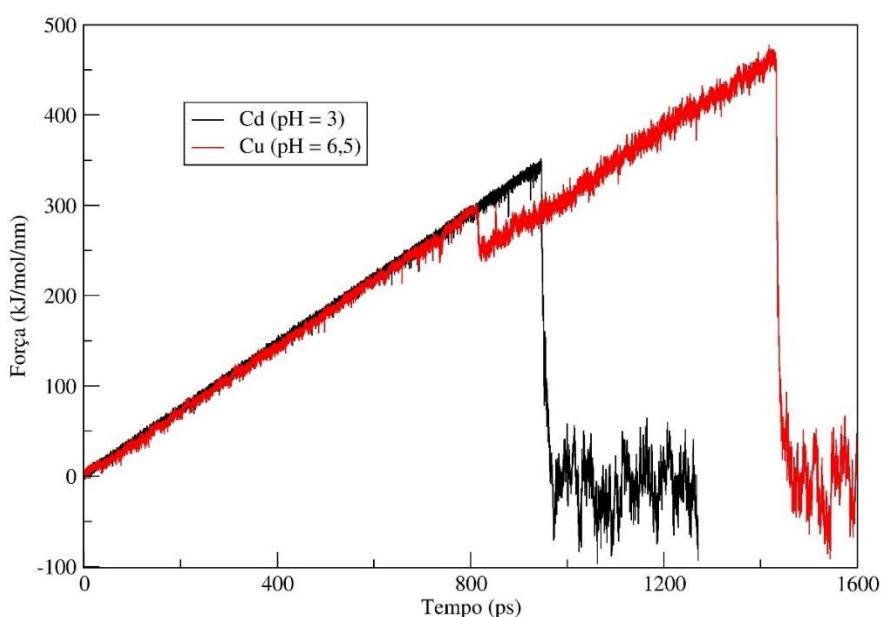


Figura 26 – Evolução temporal da força aplicada no afastamento dos íons Cu^{2+} e Cd^{2+} que interagiam com filamento desacetilado. O afastamento do íon Cd^{2+} foi realizado com o sistema em pH 3, já o íon Cu^{2+} em pH 6,5.

Os dados apresentados sobre a interação dos íons Cu²⁺ e Cd²⁺ com a quitosana a diferentes pHs, demonstraram que estes íons apresentam interações íon-dipolo em sítios específicos; e que estas interações são dependentes do pH. Esta observação pode compor a justificativa para as observações experimentais de Vold et. al (2003) em relação a seletividade do íon Cu²⁺ depender do pH. As interações intermoleculares íon-dipolo representam uma importante contribuição à adsorção, e estas favorecem mais o Cu²⁺ que o Cd²⁺ em pH mais elevados, o que corrobora com os dados experimentais de Vold et. al (2003); onde foi mostrado que a seletividade de íons Cu²⁺ em relação ao Cd²⁺ aumenta com o aumento do pH. Desta forma, torna-se possível perceber que a seletividade dos íons não pode ser justificada apenas pela reação química apresentada na equação 2, sendo também necessário levar em consideração a contribuição das interações íon-dipolo.

6 CONCLUSÕES

Os íons Cu²⁺ e Cd²⁺ apresentaram-se hepta e hexacoordenados em solução aquosa, respectivamente. As interações íon-dipolo responsáveis pela adsorção dos cátions ocorrem em sítios específicos para cada íon. O íon Cu²⁺ coordenou-se com a quitosana entre um grupo amino desprotonado e uma hidroxila HO3-O3. Apesar do aumento do grau de acetilação diminuir a disponibilidade de sítios de interação, a maior densidade de carga negativa e menor mobilidade, repercutiram na melhor interação do Cu²⁺ em grau de acetilação 20%. Em relação ao pH, meios mais ácidos desfavoreceram as interações por consequência da repulsão eletrostática entre o íon Cu²⁺ e os grupos aminos protonados.

As interações mais efetivas entre os íons Cd²⁺ e o filamento de quitosana, ocorrem quando os cátions se situaram mais próximos às hidroxilas, sendo que os grupos vizinhos também contribuíram para a estabilização das interações. O aumento da presença de grupos acetils estabilizou a interação devido à formação de cavidades e a fatores eletrostáticos e entrópicos.

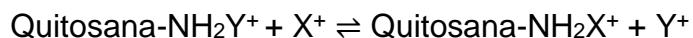
O efeito do pH na adsorção do Cd²⁺ foi diferente para cada sistema caracterizado. A maior acidez do meio sugere aumentar a estabilização das interações devido a sua relação com a mobilidade dos filamentos.

A metodologia da dinâmica molecular auxiliou no entendimento de algumas observações experimentais, como a dependência da seletividade em relação ao pH. Além disso, foi possível demonstrar que, tanto grupos aminos quanto hidroxilas são importantes sítios de interações íon-dipolo, as quais dependem também dos grupos próximos ao seu redor e da dinâmica estrutural de todo o sistema.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Neste trabalho os valores de energia livre foram obtidos fora do equilíbrio termodinâmico. Uma alternativa para melhorar a descrição da energia livre seria através do método de metadinâmica (LAIO; PARRINELLO, 2002). Esta metodologia permite a reconstrução da superfície de energia livre através da modificação do potencial de superfície por adição de funções de energia Gaussiana histórico-dependente sobre as variáveis configuracionais ao longo da amostragem. Este viés melhora a amostragem do espaço configuracional uma vez que impede a exploração de regiões já visitadas. Deste modo, uma proposta para trabalhos futuros seria a obtenção da energia livre utilizando o método de metadinâmica entre os íons Cu²⁺, Cd²⁺ e cada um dos sítios de interação descritos na presente dissertação.

A fim de se obter uma análise mais completa sobre os mecanismos de adsorção, sugere-se um tratamento por metodologias de mecânica quântica (DFT ou métodos semi-empíricos), pois a utilização da dinâmica molecular apresenta limitações quanto às interações eletrônicas. Neste sentido, esta etapa objetivará investigar os possíveis sítios de ligação química e as possíveis reações de troca-iônica que podem ocorrer, inclusive a reação química proposta experimentalmente:



A execução das sugestões acima mencionadas permitirão um entendimento mais detalhado sobre o processo de adsorção dos íons.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALISHAHI, A.; AIDER, M. Applications of Chitosan in the Seafood Industry and Aquaculture: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 817-830, abr 2012.

ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. Computer Simulation of Liquids. Oxford: Oxford University Press, 1987.

ATIA, A. A. Studies on the interaction of mercury(II) and uranyl(II) with modified chitosan resins. **Hydrometallurgy**, v. 80, n. 1-2, p. 13-22, nov 2005.

ATKINS, E. Conformations in polysaccharides and complex carbohydrates. **Journal of Biosciences**, v. 8, n. 1-2, p. 375-387, 1985.

BARLETTE, V.; FREITAS, L. Statistical thermodynamics of liquids using the Monte Carlo method. I. Methodology. **Química Nova**, v. 22, n. 2, p. 254-262, mar 1999.

BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P. The Missing Term in Effective Pair Potentials. **Journal of Physical Chemistry**, v. 91, n. 24, p. 6269-6271, nov 1987.

BERENDSEN, H. J. C. et al. Molecular-Dynamics with Coupling to an External Bath. **Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 8, p. 3684-3690, 1984.

BRAIER, N.; JISHI, R. Density functional studies of Cu²⁺ and Ni²⁺ binding to chitosan. **Journal of Molecular Structure-Theochem**, v. 499, p. 51-55, mar 17 2000.

CUNHA, R. A. Caracterização molecular do mecanismo de interação de quitosanas com bicamadas lipídicas compostas de dipalmitoilfosfatidilcolina. 165 (Dissertação de Mestrado). Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG. 2013.

DEBBAUDT, A.; FERREIRA, M.; GSCHAIDER, M. Theoretical and experimental study of M²⁺ adsorption on biopolymers. III. Comparative kinetic pattern of Pb, Hg and Cd. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 3, p. 321-332, jul 8 2004.

DEBBAUDT, A. et al. Theoretical and experimental study of Pb²⁺ and Hg²⁺ adsorption on biopolymers, 2 Experimental part. **Macromolecular Bioscience**, v. 1, n. 6, p. 249-257, ago 2001.

DESCHAMPS, J. Characterization of chitin preparations using powder and film X-ray diffraction methods. **Powder Diffraction**, v. 28, n. 1, p. 44-48, mar 2013.

DESHPANDE, M. V. Enzymatic Degradation of Chitin and Its Biological Applications. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 45, n. 6, p. 273-281, jun 1986.

DEWAR, M. J. S. et al. The Development and Use of Quantum-Mechanical Molecular-Models .76. Am1 - a New General-Purpose Quantum-Mechanical Molecular-Model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 13, p. 3902-3909, 1985.

EINBU, A.; VARUM, K. Characterization of chitin and its hydrolysis to GlcNAc and GlcN. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 7, p. 1870-1875, jul 2008.

EL-SAWY, S. M.; ABU-AYANA, Y. M.; ABDEL-MOHDY, F. A. Some chitin/chitosan derivatives for corrosion protection and waste water treatments. **Anti-Corrosion Methods and Materials**, v. 48, n. 4, p. 227-234, 2001.

ELWAKEEL, K. Environmental Application of Chitosan Resins for the Treatment of Water and Wastewater: A Review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 273-288, 2010.

FERREIRA, M.; GSCHAIDER, M. Theoretical and experimental study of Pb^{2+} and Hg^{2+} adsorption on biopolymers, 1 Theoretical study. **Macromolecular Bioscience**, v. 1, n. 6, p. 233-248, ago 30 2001.

FRANCA, E.; FREITAS, L.; LINS, R. Chitosan Molecular Structure as a Function of N-Acetylation. **Biopolymers**, v. 95, n. 7, p. 448-460, jul 2011.

FRANCA, E. et al. Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure in Aqueous Solution. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 12, p. 2141-2149, dez 2008.

FRANCA, E. F. **Caracterização molecular de biopolímeros em solução utilizando simulação computacional.** 181 (Tese de doutorado). Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos SP. 2009.

GHAEE, A. et al. Adsorption of copper and nickel ions on macroporous chitosan membrane: Equilibrium study. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 19, p. 7732-7743, jul 15 2012.

GONSALVES, A. et al. Different strategies for crosslinking of chitosan. **Quimica Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.

HINCHLIFFE, A. Molecular Modeling for Beginners. Chichester, John Wiley & Sons Ltd. 2003.

HESS, B. GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 237, mar 2009.

HESS, B. et al. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463-1472, 1997.

HOCKNEY, R. W. The potential calculation and some applications. **Methods Comput Phys**, v. 9, p. 136-211, 1970.

JAAFARI, K. et al. Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross-linked chitosan. **Water Sa**, v. 27, n. 1, p. 9-13, jan 2001.

JAYAKUMAR, R. et al. Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials- A short review. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 227-232, set 2010.

JEON, C.; HOLL, W. Application of the surface complexation model to heavy metal sorption equilibria onto aminated chitosan. **Hydrometallurgy**, v. 71, n. 3-4, p. 421-428, jan 2004.

JIN, L.; BAI, R. Mechanisms of lead adsorption on chitosan/PVA hydrogel beads. **Langmuir**, v. 18, n. 25, p. 9765-9770, dec 2002,

KAMARI, A.; PULFORD, I.; HARGREAVES, J. Binding of heavy metal contaminants onto chitosans - An evaluation for remediation of metal contaminated soil and water. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 10, p. 2675-2682, out 2011.

KIRKWOOD, J. G. Statistical Mechanics of Fluid Mixtures. **Journal of Chemical Physics**, v. 3, n. 5, p. 14, 1935.

KONG, M. et al. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51-63, nov 15 2010.

LAIO, A.; PARRINELLO, M. Escaping free-energy minima. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n.20, out 2002

LALOV, I. G. et al. Treatment of waste water from distilleries with chitosan. **Water Research**, v. 34, n. 5, p. 1503-1506, abr 2000.

LAWRENCE, C.; SKINNER, J. Flexible TIP4P model for molecular dynamics simulation of liquid water. **Chemical Physics Letters**, v. 372, n. 5-6, p. 842-847, mai 2003.

LEACH, A. R. Molecular Modelling: Principles and Applications. **2nd. Addison Wesley Longman Limited**, 2001.

LEVINE, I. N. Quantum Chemistry. 4. New York: Prentice-Hall, 1991.

LI, N.; BAI, R. Development of chitosan-based granular adsorbents for enhanced and selective adsorption performance on in heavy metal removal. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 10, p. 103-113, 2006.

LINS, R. D.; HUNENBERGER, P. H. A new GROMOS force field for hexopyranose-based carbohydrates. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 13, p. 1400-1412, out 2005.

LU, R.; CAO, Z.; SHEN, G. Comparative study on interaction between copper(II) and chitin/chitosan by density functional calculation. **Journal of Molecular Structure-Theochem**, v. 860, n. 1-3, p. 80-85, jul 2008.

MARK, P.; NILSSON, L. Structure and dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E water models at 298 K. **Journal of Physical Chemistry**, v. 105, n. 43, p. 9954-9960, nov 2001.

MINCEA, M.; NEGRULESCU, A.; OSTAFE, V. Preparation, modification, and applications of chitin nanowhiskers: a review. **Reviews on Advanced Materials Science**, v. 30, n. 3, p. 225-242, jun 2012.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular. São Paulo: 2007.

PANG, F. et al. Heavy Metals Removal by Hydroxide Precipitation and Coagulation-Flocculation Methods from Aqueous Solutions. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 44, n. 2, p. 174-182, 2009.

PAULINO, A. et al. Capacity of adsorption of Pb^{2+} and Ni^{2+} from aqueous solutions by chitosan produced from silkworm chrysalides in different degrees of deacetylation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, n. 1-2, p. 139-147, ago 2007.

PERELYGIN, Y.; RASHEVSKAYA, I. On the term "pH of the precipitation onset of heavy metal hydroxides". **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 492-493, mar 2006.

ROUSSY, J.; VAN VOOREN, M.; GUIBAL, E. Influence of chitosan characteristics on coagulation and flocculation of organic suspensions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 98, n. 5, p. 2070-2079, dez 2005.

SERKAN, K. **Comparative adsorption studies of heavy metal ions on chitin and chitosan biopolymers.** (Master of science in Chemistry). School of Engineering and Science, IZMIR. 2007.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica.** 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

STEWART, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods .1. Method. **Journal of Computational Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 209-220, mar 1989.

TIRONI, I. et al. A generalized reaction field method for molecular-dynamics simulations. **Journal of Chemical Physics**, v. 102, n. 13, p. 5451-5459, abr 1995.

VAN DER SPOEL, D. et al. Gromacs: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701-1718, dez 2005.

VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E.; HESS, B.; GROENHOF, G.; MARK, A. E. & BERENDSEN, H. J. C. GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701-1718, 2005.

VAN GUNSTEREN, W. F. et al. Molecular dynamics simulation of biomolecular systems. **Chimia**, v. 55, n. 10, p. 856-860, 2001.

VERLET, L. Computer experiments on classical fluids I: Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. **Physical Review**, v. 159, n. 1, p. 98-&, 1967.

VOLD, I. et al. Binding of ions to chitosan - selectivity studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, n. 4, p. 471-477, dez 2003.

WEBSTER, A.; HALLING, M.; GRANT, D. Metal complexation of chitosan and its glutaraldehyde cross-linked derivative. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 9, p. 1189-1201, jul 2007.

XU, J. et al. Chitosan film acylation and effects on biodegradability. **Macromolecules**, v. 29, n. 10, p. 3436-3440, mai 1996.

ZHENG, S. K. et al. Removal of chlorophenols from groundwater by chitosan sorption. **Water Research**, v. 38, n. 9, p. 2315-2322, mai 2004.

ZHOU, D.; ZHANG, L.; GUO, S. Mechanisms of lead biosorption on cellulose/chitin beads. **Water Research**, v. 39, n. 16, p. 3755-3762, out 2005.

ZHOU, Y. et al. Adsorption mechanism of Cu²⁺ from aqueous solution by chitosan-coated magnetic nanoparticles modified with alpha-ketoglutaric acid. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, v. 74, n. 1, p. 244-252, nov 2009.