



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

ROBERTO RIBEIRO FARIA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO DE
QUITOSANA COM O HERBICIDA GLIFOSATO PARA
DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL**

UBERLÂNDIA
2015

ROBERTO RIBEIRO FARIA

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO DE
QUITOSANA COM O HERBICIDA GLIFOSATO PARA
DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL**

Exame de Dissertação de Mestrado
Apresentado ao Programa do Curso de Pós
Graduação em Química, como Requisito
Parcial para a Obtenção do Título de Mestre
em Química.

Área de concentração: Físico-Química

Orientador: Prof. Dr. Eduardo de Faria
Franca

UBERLÂNDIA
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F224s
2015 Faria, Roberto Ribeiro, 1990-
Simulação computacional da interação de quitosana com o herbicida
glifosato para descontaminação ambiental / Roberto Ribeiro Faria. -
2015.
108 f. : il.

Orientador: Eduardo de Faria Franca.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Quitosana - Teses. 3. Glifosato - Teses. 4.
Dinâmica molecular - Teses. I. Franca, Eduardo de Faria. II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Química. III. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais por todo o apoio que sempre me deram.



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 212/PPQUI.

DATA: 20/2/2015

DISCENTE: Roberto Ribeiro Faria

MATRÍCULA: 11312QMI007

TÍTULO DO TRABALHO: Simulação computacional da interação de quitosana com o herbicida glifosato para descontaminação ambiental.

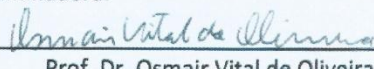
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Físico-Química de macromoléculas e coloides.

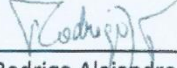
PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Caracterização molecular de produtos de interesse biotecnológico – nanopartículas de quitosana (para descontaminação ambiental e regeneração celular) e complexos metálicos (com potencial atividade antitumoral e antifungicida).

Às quatorze horas e trinta minutos do dia vinte de fevereiro do ano dois mil e quinze, no Auditório A, Bloco 50, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Osmair Vital de Oliveira, do Instituto Federal do Espírito Santo, Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e Eduardo de Faria Franca, do Instituto de Química da UFU, 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 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) 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 A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será _____

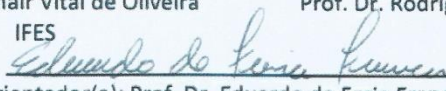
Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 50 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Osmair Vital de Oliveira

IFES


Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza

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

cpqquimica@ufu.br

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



*“Quando uma criatura humana desperta para um sonho e sobre ele lança toda a força
de sua fé, todo o universo conspira a favor!”*

Alquimistas na idade média

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Eduardo de Faria Franca por ter sido um excelente orientador, um exemplo a ser seguido, um homem com profissionalismo, dedicação, responsabilidade e, acima de tudo, respeito ao próximo. Sabe lidar com qualquer tipo de pessoa, tem a capacidade de atribuir funções aos subordinados com reconhecimento de sua autoridade, sabe escutar muito bem as pessoas e tem uma paciência invejável. Ele me permitiu seguir a pós-graduação com autonomia, deixando fluir espontaneamente o processo de aprendizagem, aperfeiçoamento e encorajamento. Ensinou-me tanto a ponto de eu poder assumir que realmente o que eu sei é praticamente nada, como ele sempre diz: “nosso conhecimento tende a zero”.

Ao professor Dr. Luiz Frederico Motta por todo o apoio que me forneceu, desde o empréstimo de bibliografias até sua atenção para discutirmos vários assuntos relacionados ao trabalho, principalmente por sua amizade e pelos inúmeros ensinamentos. Esta é uma pessoa humanitária, idealista e missionária, que reconhece estar no mundo para fazer a diferença na sociedade. Muito obrigado pelo seu exemplo de dedicação e esforço, por ficar várias madrugadas no laboratório comigo, e me mostrar que não existe sacrifício quando identificamos o trabalho como um processo prazeroso e emocionante de pesquisar, aprender e ensinar.

Aos professores Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e Dr. Osmair Vital de Oliveira por contribuírem de forma significativa na banca de defesa do mestrado e apoiarem a realização deste trabalho.

À professora Dra. Silvana Guillard por disponibilizar o laboratório de pesquisas e propor correções valiosas através do exame de qualificação deste trabalho.

Aos meus pais, por terem me colocado no mundo e por serem pacientes comigo em todos os momentos dessa jornada acadêmica, por tentarem fornecer sempre o melhor pra mim, mesmo quando eu não sabia que o melhor não era exatamente o que eu queria. Obrigado por acreditarem que eu sempre serei capaz de conquistar os meus objetivos, e que caso eu não consiga, vocês sempre me mostram, com muito carinho e amor, que eu devo me esforçar para tentar novamente, até que tudo aconteça naturalmente. Vocês me criaram para conseguir transformar todos os obstáculos imensos em pequenos degraus e conseguir vencer sempre de maneira espontânea. Por isso, eu serei eternamente grato a vocês.

Às minhas irmãs pelo carinho e apoio, por sempre se preocuparem comigo, independente da situação. Por saberem a minha capacidade e por me incentivar de várias maneiras, até mesmo com simples gestos que fazem uma enorme diferença.

À Keila por ter me despertado o interesse em química teórica, me guiado nos primeiros passos com paciência, participado de várias experiências essenciais e necessárias, por

ser uma excelente pessoa e ter sido uma ótima companheira durante grande parte do mestrado. Por me mostrar que o crescimento profissional é apenas uma consequência quando se busca aperfeiçoamento pessoal e vice-versa.

Aos meus familiares por desejarem sempre o melhor pra mim e por emitir energias positivas.

Aos amigos do Instituto de Química da UFU que são pessoas muito especiais, eles me mostram o quanto vale a pena nos esforçarmos para nos tornarmos pessoas melhores. E aumentam a minha percepção de que obstáculos não existem, são apenas desvios criados pela mente.

Aos meus amigos não acadêmicos, pelas poucas vezes que compreenderam o fato de eu me ausentar para poder pesquisar, aprender, escrever e me aperfeiçoar.

A todos que de alguma forma contribuíram com a concretização deste trabalho e aos que me desejam sempre o melhor.

À FAPEMIG pelo auxílio computacional e financeiro que possibilitaram a concretização deste trabalho.

Resumo

A qualidade e a limpidez da água consistem em uma problemática interessante, uma vez que se relacionam à manutenção da biosfera, já que a água está entre os fatores essenciais para a existência de vida no planeta. Contudo, as ações humanas causam vários tipos de desgastes ambientais, como a contaminação por herbicidas, uma consequência antrópica que pode causar a intoxicação dos seres vivos com severas complicações. O Brasil, por ser o maior exportador mundial agrícola, se tornou o maior “consumidor” de agrotóxicos do mundo, com 1/3 dos alimentos brasileiros contaminados por herbicidas. A possibilidade de amenizar os impactos ambientais causados pelos herbicidas pode ser realizada através de um tratamento adequado das águas contaminadas. O presente trabalho refere-se ao estudo da interação entre o herbicida mais comercializado do mundo, glifosato, e os biopolímeros extremamente abundantes na natureza, quitina e seu derivado quitosana, estes apresentam considerável utilização na adsorção de vários contaminantes ambientais. A utilização de simulações por Dinâmica Molecular na análise de interações químicas entre as duas espécies em nível atômico foi de grande valia, para isso os parâmetros físico-químicos experimentais atuaram na tentativa de “aproximar” os cálculos computacionais teóricos dos procedimentos reais/experimentais. As simulações por Dinâmica Molecular permitiram a descrição do comportamento microscópico dos filamentos de α - e β - quitina e quitosana em solução aquosa, assim como a identificação das formas polimórficas mais estáveis, a identificação dos grupos funcionais destes biopolímeros responsáveis pelo processo de adsorção do herbicida glifosato, bem como a interação de maior representatividade, o cálculo da intensidade das forças de interação herbicida-polissacarídeo, a importância das interações de hidrogênio no processo de adsorção do herbicida. Desta forma, o presente trabalho serviu como pioneiro na utilização de quitosana para descontaminação ambiental do herbicida glifosato.

Palavras-chave: Quitosana, Quitina, Interação, Glifosato, Dinâmica Molecular.

Abstract

The quality and clarity of water consist of an attractive problematic, since they relate to the maintenance of the biosphere, as water is one of the essential factors for the existence of life on earth. However, human actions cause several types of environmental depletion, as contamination by herbicides, which is an anthropogenic result which can cause poisoning of living beings with severe complications such as neurological problems, cancer, birth defects and endocrine disorders. Brazil, the largest exporter of coffee, sugar cane, orange juice and soy, has become the largest consumer of world's pesticides, with 1/3 of Brazilian food contaminated by these substances. The possibility of mitigate environmental impacts of herbicides is very important and can be accomplished through appropriate treatment in contaminated water. Thus, the present work relates to the study of the interaction between the most commercialized herbicide over the world, glyphosate, and very abundant biopolymer in nature, chitin and chitosan derivative thereof, which have use in the adsorption of various environmental contaminants. Using molecular dynamics simulations for the analysis of chemical interactions between the two species at atomic level was of great value, in such a way that experimental physical-chemical parameters acted in an attempt to "approximate" the theoretical computations of actual / experimental procedures. The molecular dynamics simulations allowed the description of the microscopic behavior of α - and β - filaments chitin and chitosan in aqueous solution as well as the identification of the more stable polymorphic forms, identification of the functional groups responsible for these biopolymers herbicide adsorption process glyphosate, as well as the interaction of most representative one, the calculation of the intensity of herbicide-polysaccharide interaction forces, the importance of the hydrogen interactions of the herbicide adsorption process. Thus, this study served as a pioneer in the use of chitosan for environmental decontamination of the herbicide glyphosate.

Keywords: Chitosan, Chitin, Interaction, Glyphosate, Molecular Dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural do herbicida glifosato à esquerda e sua representação tridimensional com a respectiva superfície de van der Waals à direita.....	13
Figura 2 – Esquema com as especiações químicas do glifosato em função do pH. Sendo $pK_b < 2$; $pK_{a1} = 2,27$; $pK_{a2} = 5,57$; $pK_{a3} = 10,86$	15
Figura 3 – Representação estrutural da degradação do glifosato no solo, produzindo os metabólitos Sarcosina e AMPA.....	16
Figura 4 – Representação dos monômeros da quitina, destacando os grupos acetato presentes nos grupamentos N-acetilglicosamina. Sendo n o grau de polimerização da biomacromolécula.....	18
Figura 5 – Representação tridimensional de 10 monômeros da quitina unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1-4)$	19
Figura 6 – Representação dos monômeros que compõem a quitina e a quitosana, respectivamente, destacando em vermelho os grupamentos GlcNAc e GlcN. Sendo n o grau de polimerização de ambas.....	20
Figura 7 – Representação tridimensional dos dímeros da quitina e quitosana e suas respectivas superfícies de van der Waals, com a nomenclatura dos átomos de carbono das cadeias glicosídicas, sendo n o grau de polimerização de ambas.	21
Figura 8 – Representação esquemática das estruturas polimórficas de quitina e quitosana com arranjos em: a) α (antiparalelo) b) β (paralelo) e c) γ (invertido).....	25
Figura 9 – Escala de tempo das moléculas com as possíveis análises feitas em Dinâmica Molecular para cada intervalo.....	28
Figura 10 – Representação geométrica do ângulo diedral entre átomos i, j, k e l	38
Figura 11 – Gráfico que descreve o potencial de Lennard-Jones, através da Energia Potencial (V) em função da distância de separação atômica r_{ij}	40
Figura 12 – Condições periódicas de contorno em duas dimensões.....	42
Figura 13 – Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões.....	43

Figura 14 – Representação das variáveis para o cálculo de $g(r)$ em duas dimensões. Os átomos azuis (claro e escuro) são utilizados para realizar o cálculo da densidade.	46
Figura 15 – Nomenclatura dos átomos de quitosana passíveis de interação.....	47
Figura 16 – Estrutura da forma zwitteriônica do herbicida glifosato em pH = 6,5. Sendo o grupo PO_3^{2-} destacado em amarelo, o grupo NH_2^+ destacado em azul e o grupo CO_2^- destacado em vermelho.....	48
Figura 17 – Nanopartículas de a) α -quitina e b) β -quitina.....	49
Figura 18 – Nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana.....	50
Figura 19 – Quinto sistema simulado, contendo um filamento de quitosana e uma molécula de glifosato.....	52
Figura 20 - Sexto sistema simulado, contendo um filamento de quitosana circundado por 19 moléculas de glifosato.....	53
Figura 21 - Sistema com o momento da interação entre um filamento de quitosana e uma molécula de glifosato.....	54
Figura 22 – Nanopartículas de a) α -quitina e b) β -quitina após DM e antes de se adicionar 42 moléculas de glifosato.....	55
Figura 23 - Sistema molecular contendo as nanopartículas a) α -quitina e b) β -quitina circundadas por 42 moléculas de glifosato.....	55
Figura 24 - Nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana em 1000 ps de DM e antes de se adicionar 42 moléculas de glifosato.....	56
Figura 25 - Sistema contendo as nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana circundadas por 42 moléculas de glifosato.....	56
Figura 26 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitina e β -quitina.....	58
Figura 27 - Representação molecular dos filamentos de: a) α -quitina e b) β -quitina, após 35 ns de simulação.....	60
Figura 28 - Evolução temporal do desvio quadrático médio (RMSD) de todos os átomos em relação à estrutura inicial.....	61
Figura 29 - Representação molecular dos filamentos de: a) α -quitosana e b) β -quitosana, em um determinado instante da simulação.....	64

Figura 30 - Números médios de interações de Hidrogênio por grupos da quitosana e do glifosato para análise qualitativa do sistema molecular.....	65
Figura 31 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo CO_2^- do glifosato e os principais grupos doadores de hidrogênio da quitosana.....	66
Figura 32 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e os principais grupos doadores de hidrogênio da quitosana.....	67
Figura 33 - Representação molecular tridimensional dos grupos nitrogenados da quitosana (NH_2 em vermelho, N-Acetil em preto e NH_3^+ em verde).....	67
Figura 34 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos O7, O5 e O1 aceptores de hidrogênio da quitosana.....	68
Figura 35 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.....	69
Figura 36 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.....	70
Figura 37 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e os átomos de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.....	71
Figura 38 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da quitosana.....	73
Figura 39 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana.....	74
Figura 40 - Função de distribuição radial de pares entre o átomo O3 e o átomo O5 da quitosana.....	75
Figura 41 - Imagem representativa da quitosana com destaque na interação intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila O3 e o átomo O5.....	75
Figura 42 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.....	76

Figura 43 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{-2} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.....	77
Figura 44 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{-2} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.....	78
Figura 45 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{-2} do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária da quitosana.....	79
Figura 46 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{-2} do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana.....	80
Figura 47 – Função de distribuição radial de pares entre o átomo de nitrogênio do grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos de oxigênio O7, O6 e O3 da quitosana.	81
Figura 48 – Afastamento entre o herbicida glifosato e a quitosana: a) após 1000 ps; b) após 1600 ps; c) após 1990 ps.	83
Figura 49 – Gráfico com a força média exercida no herbicida glifosato para afastá-lo da quitosana em função do tempo em ps.....	85
Figura 50 - Sistema contendo as nanopartículas circundadas por moléculas de glifosato: a) α -quitina após 17.570 ps de simulação computacional; b) β -quitina após 18.545 ps de simulação computacional.....	86
Figura 51 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitina e β -quitina.....	87
Figura 52 - Sistema contendo as nanopartículas circundadas por moléculas de glifosato: a) α -quitosana após 17.570 ps de simulação computacional; b) β -quitosana após 19.495 ps de simulação computacional.....	88
Figura 53 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitosana e β -quitosana.	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades da quitosana.....	23
Tabela 2 – Parâmetros energéticos e estruturais calculados para os sistemas de α - e β -quitina com seus respectivos desvios padrão.....	57
Tabela 3 – Número médio das possíveis interações de hidrogênio ao longo da trajetória para α -quitina e β -quitina, e seus respectivos desvios padrão.....	59
Tabela 4 – Número médio com os desvios padrão das interações de hidrogênio mais significantes para a α -quitosana e β -quitosana, e seus respectivos tempos de vida ao longo da trajetória.....	62
Tabela 5 – Valores médios de energia, calculados após os 5 ns iniciais, associados às interações de Coulomb e de van der Waals (Lennard-Jones) com seus respectivos desvios padrão.....	63
Tabela 6: Distância das ligações entre o átomo de fósforo do grupo PO3-2 do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH3+ da quitosana, e entre o átomo de fósforo do grupo PO3-2 do glifosato e o átomo O6 da hidroxila secundária da quitosana, com os respectivos intervalos de tempo ao longo da trajetória.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac: Grupo Acetil
GA: Grau de Acetilação
GlcNAc: Grupo N-Acetil-Glicosamina
GlcN: Grupo Glicosamina
nm: Nanômetros (10^{-9} m)
ns: Nanossegundos (10^{-9} s)
ps: Picossegundos (10^{-12} s)
fs: Fentossegundos (10^{-15} s)
DFT: Teoria do Funcional da Densidade
DM: Dinâmica Molecular
E_T: Energia Total do Sistema
EAM: Embedded-Atom Method
K: Kelvin
K_B: Constante de Boltzmann
MM: Mecânica Molecular
NPT: Ensemble Isotérmico-Isobárico
μVT: Ensemble Grand-Canônico
NVE: Ensemble Micro-Canônico
NVT: Ensemble Canônico
OH's: Hidroxilas
PDB: Banco de dados de proteína (Protein Data Bank)
QM: Mecânica Quântica
QM/MM: Mecânica Quântica / Mecânica Molecular
RDF: Distribuição Radial de Pares
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
SPC: Modelo De Carga Pontual Para Solvente Explícito (Single Point Charge)
VMD: Visual Molecular Dynamics (Visualização de Dinâmica Molecular)
V: Volume
T: Temperatura

SUMÁRIO

1. Introdução e Justificativas.....	13
1.1. O Herbicida Glifosato.....	13
1.1.1. Classificação.....	15
1.1.2. Degradação.....	16
1.1.3. Contaminação.....	17
1.2. Quitina.....	18
1.3. Quitosana.....	19
1.3.1. Aplicações da Quitosana.....	21
1.3.2. Propriedades da Quitosana.....	23
1.3.3. Estruturas Polimórficas de Quitina e Quitosana.....	24
2. Objetivos.....	26
2.1. Objetivos Específicos.....	26
3. Fundamentos Teóricos e Revisão da Literatura.....	27
3.1. Química Teórica.....	27
3.2. Metodologia Experimental e Teórica para Análise Atomística.....	27
3.3. Mecânica Estatística.....	29
3.4. Dinâmica Molecular.....	29
3.5. Potenciais Clássicos.....	31
3.6. Ensembles.....	33
3.6.1. Ensemble Micro Canônico (NVE).....	33
3.6.2. Ensemble Canônico (NVT).....	34
3.6.3. Ensemble Grand Canônico (μVT).....	34
3.6.4. Ensemble Isotérmico Isobárico (NPT).....	34
3.7. Parâmetros do Campo de Força.....	35
3.7.1. Potencial Harmônico de Ligação (ou Linear).....	37
3.7.2. Potencial Harmônico Angular.....	37
3.7.3. Potencial de Torção (ou Diedral).....	38
3.7.4. Potencial de Lennard-Jones (ou Van Der Waals).....	39
3.7.5. Potencial de Coulomb.....	40

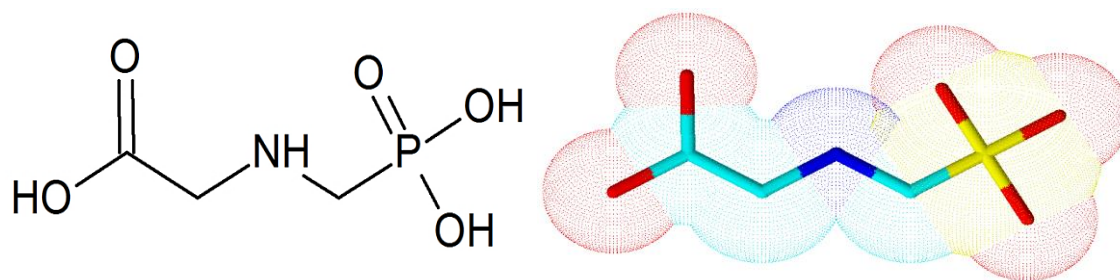
3.8. Condições Periódicas De Contorno.....	41
3.9. Imagem Mínima.....	42
3.10. O Algoritmo de Integração Leap-Frog.....	44
3.11. O Algoritmo de Condições LINCS.....	44
4. Ferramentas de Análise dos Dados.....	45
4.1. Função de Distribuição Radial de Pares (RDF).....	45
4.2. Potencial de Força Média.....	46
5. Metodologia.....	47
5.1. Particularidades de Cada Sistema.....	51
6. Resultados e Discussões.....	57
6.1. Análises das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitina.....	57
6.2. Análises das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitosana.....	61
6.3. Análise prévia da interação de um filamento de quitosana com uma molécula do herbicida glifosato.....	64
6.4. Análise quantitativa da interação de um filamento de quitosana com 19 moléculas do herbicida glifosato.....	65
6.5. Cálculo da força de interação entre um filamento de quitosana e o herbicida glifosato.....	82
6.6. Análise das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitina com 42 moléculas de glifosato.....	86
6.7. Análise das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitosana com 42 moléculas de glifosato.....	88
7. Conclusões.....	90
8. Trabalhos Futuros.....	92
9. Trabalhos Apresentados em Congressos, Premiações e Artigos.....	93
9.1. Trabalhos Apresentados em Congressos.....	93
9.2. Premiações.....	94
9.3. Artigos.....	94
10. Referências Bibliográficas.....	95

1. Introdução e Justificativas

1.1. O Herbicida Glifosato

O glifosato é um sólido branco, de fórmula empírica $C_3H_8NO_5P$ que corresponde ao herbicida mais comercializado no mundo, com nomenclatura convencional “gli” indicando glicina e “fosato” relacionando ao grupo fosfonato, pois possui um substituinte fosfonometila ligado ao nitrogênio, denominado N-(fosfonometil)-glicina com fórmula estrutural apresentada na Figura 1 ^{1; 2; 3}.

Figura 1 – Fórmula estrutural do herbicida glifosato à esquerda e sua representação tridimensional sem hidrogênios com a respectiva superfície de van der Waals à direita.



Fonte: Autor, com o modelo de Franz, 1986 ⁴; através do programa ACD/ChemSketch (<http://www.acdlabs.com/>) ^{5; 6}.

O herbicida é Pós-emergente (POS), pois sua aplicação ocorre após o plantio das plantas daninhas e também após a emergência. Seu destaque advém da inibição das atividades enzimáticas das plantas, com absorção nas folhas e espalhamento por toda a sua extensão, conduzindo à morte ^{7; 8}. Sua eficiência possui tanta relevância que desde 1974, quando introduzido no mercado pela empresa Monsanto, até 2014 não foi sintetizado um herbicida capaz de superá-lo em vendas ⁹, embora Carvalho afirme que “o descobrimento e o desenvolvimento de novas moléculas herbicidas seja lento” ⁹.

O seu sucesso pode ser justificado por pertencer ao grupo dos organofosforados (derivados do ácido fosfórico, tiofosfórico ou ditiofosfórico), compostos orgânicos de fácil degradação, diferentes de algumas classes de herbicidas como os organoclorados e os carbamatos, os primeiros com difícil degradação bioquímica e utilização proibida em várias nações, e os segundos com elevada toxicidade em mamíferos e insetos ¹⁰.

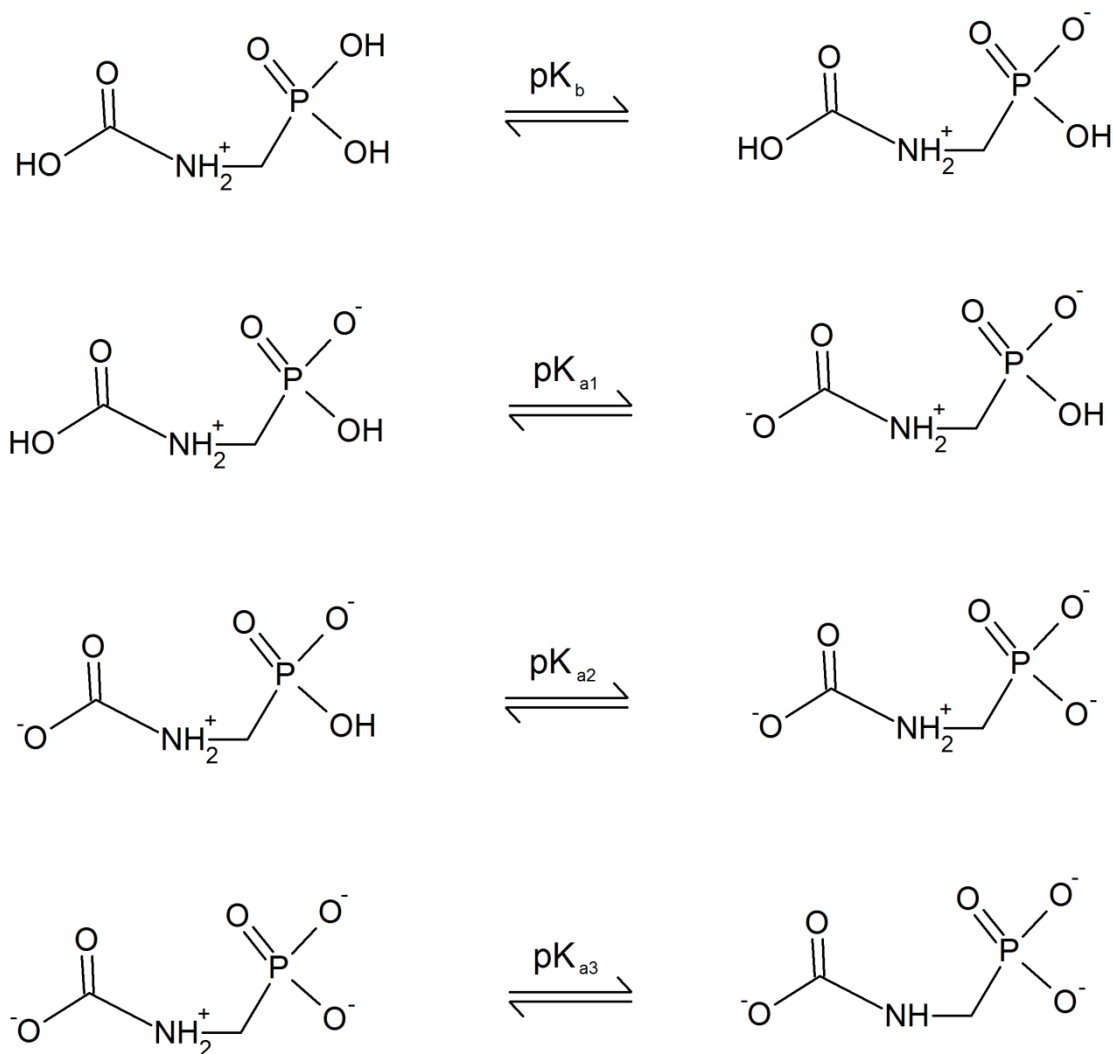
Este herbicida combate ervas daninhas anuais e perenes, uma de suas maiores vantagens é a força para este combate, devido à rápida translocação das folhas para as raízes, rizomas e meristemas apicais, através do floema ¹⁰. Outra vantagem é sua baixa toxicidade aguda, ou seja, não há efeitos adversos para pouco tempo de contato com o herbicida em baixas concentrações.

Em contrapartida, foi descoberto que o herbicida se torna prejudicial em contato prolongado (toxicidade crônica), ocorrendo clorose (anteriormente chamado de "doença verde") e necrose nos seres humanos, sendo que os primeiros efeitos são desordens digestivas e sanguíneas. Os principais sintomas sucedem nos órgãos de coordenação e regulação das funções corporais (sistema neurológico e endócrino), além de possuir efeito carcinogênico e a possibilidade de causar má formação congênita ¹⁰.

O glifosato prejudica o meio animal e também o meio vegetal, uma vez que intensifica a resistência das espécies de ervas, por isso o herbicida pode ser considerado um agente contaminante ambiental ^{11; 12}. O controle de contaminantes e resíduos é uma preocupação internacional, sendo o Brasil, o maior consumidor de agrotóxicos do mundo ¹³, com consumo de aproximadamente 100 mil toneladas de glifosato por ano ¹⁴.

A interação do herbicida com a água é favorável devido a sua elevada polaridade, possui pH = 3 em concentração de 1.10^{-3} mol/L, solubilidade de 20 g/L a 20°C, pressão de vapor praticamente nula e capacidade de atuar como ácido e base fraca ao mesmo tempo, o que o caracteriza como um zwitterion. As especiações químicas do glifosato em função do pH são apresentadas na Figura 2.

Figura 2 – Esquema com as especiações químicas do glifosato em função do pH. Sendo $pK_b < 2$; $pK_{a1} = 2,27$; $pK_{a2} = 5,57$; $pK_{a3} = 10,86$.



Fonte: Autor, com as informações da patente de Franz, 1986⁴; através do programa ACD/ChemSketch (<http://www.acdlabs.com/>)^{5,6}.

1.1.1. **Classificação**

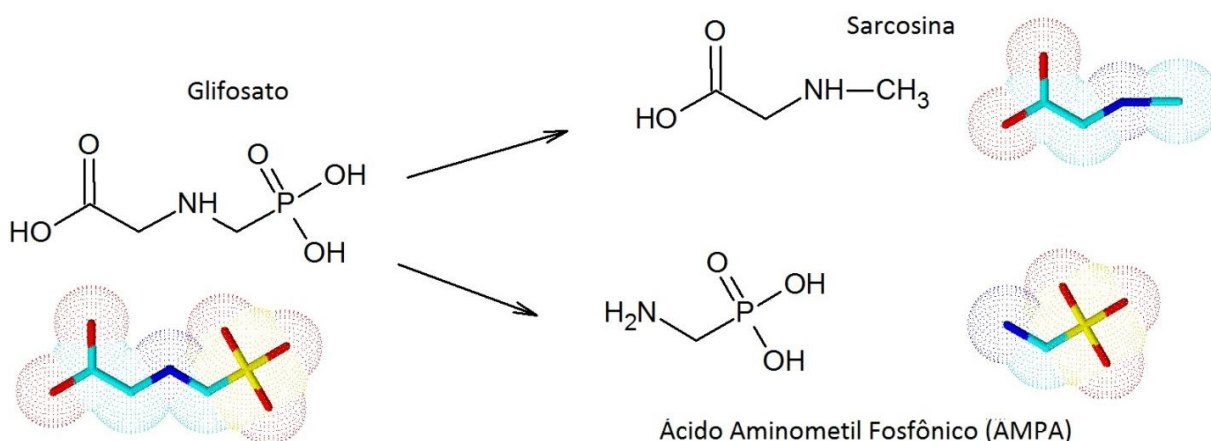
O herbicida em estudo é classificado como não seletivo por possuir amplo espectro de atividade, ou seja, afeta não somente a planta alvo, mas também as demais em seu entorno, inclusive alguns animais. Isto ocorre em função da planta não metabolizar o herbicida em metabólitos de menor

toxicidade ¹⁵. Porém, para as culturas geneticamente modificadas, o glifosato apresenta seletividade adquirida. Esta classificação do glifosato como não seletivo não é satisfatória para o meio ambiente, pois de acordo com Carvalho, o herbicida gera “efeitos deletérios drásticos, podendo causar a morte da cultura agrícola que está sendo cultivadas” ⁹.

1.1.2. **Degradação**

O glifosato pode destruir várias plantas distintas, porém sua degradação no solo por microorganismos acontece rapidamente, por permanecer imobilizado no solo, formando o Ácido Aminometilfosfônico (AMPA) e o metabólito intermediário Sarcosina (Figura 3); o primeiro se biodegrada de forma um pouco mais lenta em CO_2 , PO_4^{3-} e NH_3 ^{1; 2; 3; 8}. Esta informação sugere que não deveria ocorrer desgaste ambiental se a sua utilização fosse adequada, principalmente por ser um herbicida de fácil decomposição. Entretanto, o dano ocorre nas águas superficiais ¹⁰ devido ao uso inadequado e excessivo do herbicida, ocasionando graves repressões e críticas a respeito de seus efeitos nocivos ¹².

Figura 3 - Representação estrutural da degradação do glifosato no solo, produzindo os metabólitos Sarcosina e AMPA.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch

(<http://www.acdlabs.com/>) ^{5; 6}; com informações bibliográficas ^{1; 2; 16; 17}.

As formas de degradação do herbicida em questão podem ser através de fotodegradação e transformações químicas, naturais ou bióticas com processos extras e intracelulares por intermédio de enzimas de microorganismos ¹⁶. A degradação do herbicida ocorre de maneira relativamente rápida, num prazo de 7-14 dias ¹⁸, mas, em função das condições ambientais, este tempo se prolonga a um nível de segurança estabelecido para aproximadamente 120 dias ¹, uma quantidade de tempo ecologicamente preocupante.

1.1.3. **Contaminação**

A quantidade mais elevada de glifosato na natureza está no solo, sendo mínimo o número de glifosato lixiviado do solo para poluir as águas subterrâneas quando comparado às outras formas de contaminação. São essas: as excessivas aplicações e dispersões do poluente por pulverizações aéreas e terrestres; o despejo de restos de caldas; o descarte de embalagens gerando resíduos; os esgotos; as fezes de animais já contaminados e a lavagem inadequada de tanques de pulverização contaminados ¹².

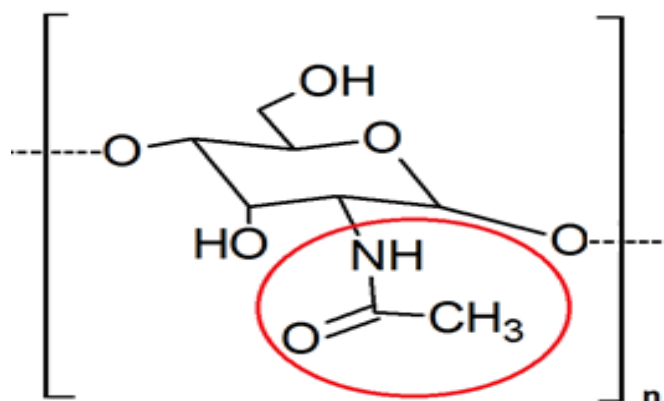
Com tantas formas de contaminação, surge a necessidade de uma boa alternativa para amenizar a poluição dos herbicidas. Esta pode ocorrer através do monitoramento da lei estabelecendo os limites do herbicida a serem utilizadas por área, conscientização das pessoas que trabalham com este tipo de produto e, principalmente, de recursos que permitam a descontaminação ambiental. Os procedimentos experimentais conhecidos para diminuir as concentrações de glifosato em águas residuais são inviáveis economicamente e considerados ineficientes, podem ser por processos físicos, como a utilização de carbono ativado como adsorvente, e por processos químicos, como reações de oxidação, ozonização e degradação por fotocatalise ¹⁶. Assim, a utilização de biopolímeros com elevada capacidade de quelação ou adsorvidade, como a quitosana, uma fonte derivada da quitina, e, portanto renovável, atóxica e de baixo custo, pode ser uma alternativa ambiental eficaz para a adsorção do herbicida glifosato, uma vez que existem vários trabalhos experimentais

relacionados à adsorção do biopolímero com diversos herbicidas, como Paraquat^{19; 20; 21}, Clopyralid²², Clomazone^{23; 24}, Dichlorprop²⁵ e outros organofosforados^{26; 27}.

1.2. Quitina

A quitina é um hidrato de carbono, ou carboidrato, formado por uma série de monossacarídeos através de ligações glicosídicas, portanto classificada como um polissacarídeo. Ela pode ser encontrada na parede celular de alguns fungos, mas a sua abundância natural está no fato de participar de 20 - 58%²⁸ do peso seco dos componentes estruturais (proteínas, lipídeos, pigmentos e carbonato de cálcio) dos exoesqueletos de crustáceos e animais marinhos^{29; 30; 31}. Este biopolímero é muito abundante na natureza e só não existe em maior quantidade do que a celulose; mas em compensação a sua taxa de reposição é duas vezes maior, o que justifica a sua conveniência^{32; 33}. A composição do polissacarídeo compreende átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, presentes nas funções orgânicas álcool, éter e amida (ou acetilamina), a partir de monômeros N-acetilglicosamina (2-acetamino-2-deoxi-D-glicopirranose) unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1-4)$ (Figura 4)^{30; 31; 33; 34; 35}.

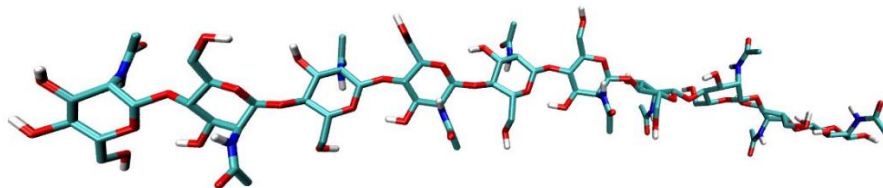
Figura 4 – Representação dos monômeros da quitina, destacando os grupos acetato presentes nos grupamentos N-acetilglicosamina, sendo n o grau de polimerização da biomacromolécula.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch^{5; 6}.

Uma representação molecular tridimensional do biopolímero contendo 10 monômeros de quitina é mostrada na Figura 5.

Figura 5 – Representação tridimensional de 10 monômeros da quitina unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1-4)$ apenas com hidrogênios polares.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

1.3. Quitosana

A biomacromolécula de quitosana, assim como a quitina, possui biocompatibilidade e biodegradabilidade, mas se distingue desta última por não ser encontrada em grandes proporções na natureza. A constituição química da parede celular de alguns fungos consiste na principal forma de encontrar a macromolécula ³⁷. A forma mais adequada de obtê-la é através da desacetilação da quitina, o que permite considerar a quitosana como um material proveniente de uma fonte renovável.

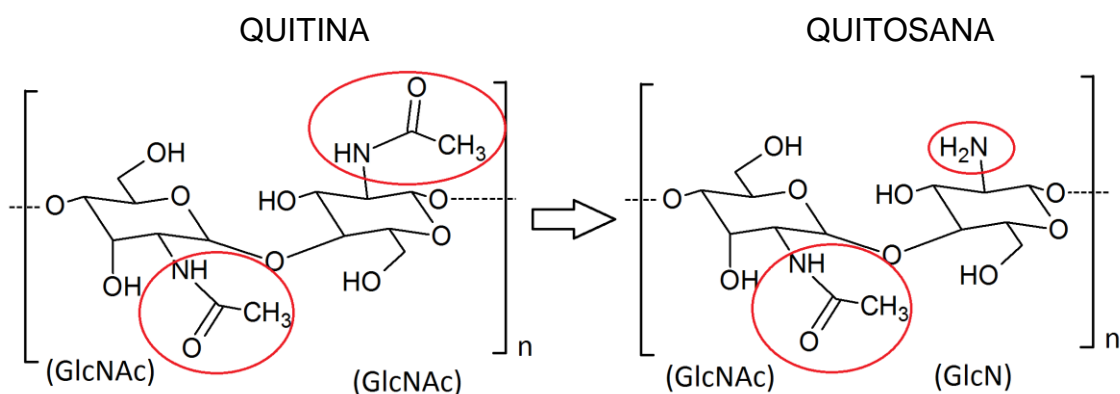
O processo de obtenção da quitosana, pela desacetilação da quitina, pode ocorrer de forma parcial ou total, e advém da retirada do grupo acetil (Ac) do monômero contendo N-acetilglicosamina (GlcNAc), transformando-o no grupo glicosamina (GlcN). Ao retirar grupos Ac do polissacarídeo, diminui-se o grau de acetilação (GA), aumentando gradativamente a solubilidade em solução de ácido diluído. Desta forma, o biopolímero pode ser considerado solúvel caso possua grupos Ac inferior a 50%, ou seja, possuir maior quantidade de GlcN em relação a GlcNAc, Figura 6 ^{38; 39; 40; 41}.

O procedimento experimental consiste num tratamento químico da quitina por hidrólise alcalina, começando pela extração da quitina, por exemplo,

dos exoesqueletos de artrópodes, seguida de desproteínização, desmineralização e lavagem para que finalmente possa ser realizada a desacetilação por hidrólise na presença de hidróxido de sódio $[\text{NaOH}_{(\text{aq})}]$ ^{42; 43}.

A composição do copolímero de quitosana consiste em monômeros GlcNAc provenientes da quitina e GlcN derivados da desacetilação (Figura 6), sendo ambas distribuídas aleatoriamente nas cadeias do polissacarídeo, uma vez que este procedimento, de diminuição do GA, consiste num processo experimental não homogêneo⁴⁴

Figura 6 – Representação dos monômeros que compõem a quitina e a quitosana, respectivamente, destacando em vermelho os grupamentos GlcNAc e GlcN, sendo n o grau de polimerização de ambas.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch

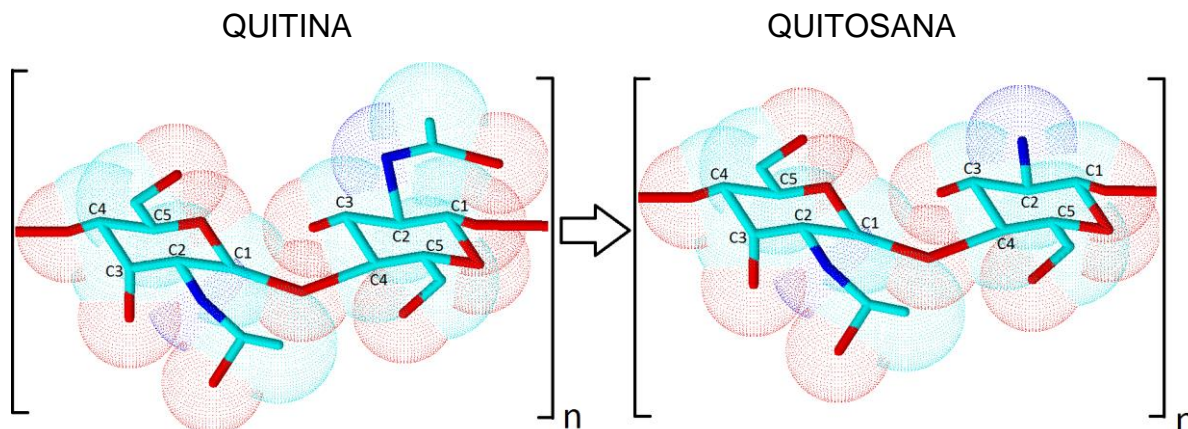
(<http://www.acdlabs.com/>)^{5; 6}.

A quitosana possui nomenclatura $\beta(1-4)$ -2-acetamino-2-deoxi-D-glicopirranose e $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose, por ser um copolímero com os 2 tipos diferentes de monômeros glicosamina, o primeiro acetilado (GlcNAc) e o segundo desacetilado (GlcN)⁴⁵.

Os monômeros da Figura 6 (GlcN e GlcNAc) se distinguem pelos substituintes na posição C2 do anel glicosídico (Figura 7) e as suas quantidades no biopolímero são utilizadas para diferenciar a quitina da quitosana, sendo a segunda identificada quando a porcentagem de grupos GlcN ocorre em maior quantidade do que GlcNAc (menor grau de acetilação), o

que garante a hidrossolubilidade do composto. Por outro lado, o termo quitina indica produtos de maior grau de acetilação (quantidade superior de grupos GlcNAc), que segundo Sergio P. Campana Filho ⁴³, são predominantemente insolúveis, pelo fato dessa propriedade estar relacionada à quantidade de grupos amino na estrutura do biopolímero. A Figura 7 ilustra a quitina e a quitosana com a nomenclatura de cada carbono da cadeia glicosídica ^{34; 41; 46}.

Figura 7 – Representação tridimensional dos dímeros da quitina e quitosana e suas respectivas superfícies de van der Waals, com a nomenclatura dos átomos de carbono das cadeias glicosídicas, sendo n o grau de polimerização de ambas.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch
(<http://www.acdlabs.com/>) ^{5; 6}.

1.3.1. **Aplicações da Quitosana**

O hidrato de carbono pode permanecer sob o aspecto de esferas, micropartículas, nanopartículas, géis, nanofibras, membranas, suportes tridimensionais e esponjas ⁴⁷, sendo cada aspecto adotado para uma própria utilidade e aplicação. As aplicações da quitosana são diversas, pois suas características são aprazíveis com o meio ambiente, principalmente por ser atóxica e possuir biocompatibilidade ³⁷, sendo usada na obtenção de produtos cosméticos, na indústria médica e farmacêutica ⁴⁸. Pode ser utilizada na

bandagem para tratamento e regeneração de ferimentos (hemostáticos) ⁴⁹ por apresentar propriedade patológica cicatrizante ⁵⁰ e também na proteção contra infecções como, por exemplo, o *Staphylococcus* ⁵¹. O polímero possui aplicação também, no diagnóstico de câncer ⁵⁰, produção de membranas renais, lentes de contato ⁵² e biomateriais ^{53; 54}.

O uso da quitosana na agricultura se faz pela proteção de sementes, atuando como bactericida, e fungicida ⁵⁵, retendo nutrientes e água ⁴⁸. Nos alimentos, ela atua como aditivo, evita a deterioração e atua no revestimento de embalagens biodegradáveis ⁵⁶, contribuindo com o meio ambiente, já que grande parte das embalagens disponíveis é produzida a partir de poluentes derivados do petróleo ⁵⁷.

O polissacarídeo pode agir nas frutas como um filtro semipermeável ou na alteração do ambiente interno das células para retardar o envelhecimento tecidual (efeito antioxidante) ^{58; 59}. Há também a possibilidade de usar a quitosana para clarear e reduzir a acidez de sucos de frutas ⁴⁸, além de atuar como agente emagrecedor por “capturar” as gorduras dos alimentos ⁴⁹. Na cinematografia, a quitosana participa na fabricação de filmes fotográficos por apresentar propriedades ópticas e resistir à raspagem ⁶⁰. Na indústria de papéis, ela aumenta a impermeabilidade e a resistência mecânica do papel. Na produção de artefatos de couro, a quitosana atua na curtição e no acabamento ⁴⁹. A biomacromolécula possui inúmeras maneiras de ser utilizada, mas a sua interação com contaminantes em meio aquoso merece uma atenção especial ^{61; 62}. O uso de quitosana com dosagem superior a 10mg/L para purificação de água potável foi aprovada desde 1984 pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) ⁶³.

No tratamento de efluentes industriais, a quitosana age como agente quelante na remoção de metais pesados, por possuir como grupos reativos funcionais, um grupo amino, uma hidroxila primária e uma hidroxila secundária ^{64; 65; 66; 67}, que aumentam a eficiência da remoção de íon metálico e possui a habilidade de formar ligações coordenadas covalentes com o respectivo íon metálico ⁶³. A quitosana atua como agente floculante, removendo substâncias prejudiciais aos seres vivos, como alguns pesticidas, produtos industriais ^{68; 69}.

^{70; 71} e até microorganismos patogênicos como o *Vibrio cholerae* (vibrião colérico) ⁴⁹.

1.3.2. **Propriedades da Quitosana**

As propriedades intrínsecas da biomacromolécula de quitosana são responsáveis pelo amplo interesse das suas diversas aplicações. Algumas das propriedades químicas, físicas e biológicas estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1: Propriedades da quitosana.

Propriedades Físicas e Químicas	<ul style="list-style-type: none"> • Aminopolissacarídeo linear com elevada taxa de nitrogênio. • Estrutura D-glicosamina; baixa cristalinidade e hidrofilicidade. • Capacidade para formar interações de hidrogênio intermoleculares e elevada viscosidade. • Base fraca; grupo amino protonado atua como forte agente nucléofilo (pKa = 6,3). • Pouco solúvel em água e solventes orgânicos, muito solúvel em soluções aquosas ácidas diluídas. • Grupos reativos com possibilidades de modificações químicas e ligações cruzadas (crosslinking). • Formação de sais com ácidos orgânicos e inorgânicos. • Propriedades quelantes, complexantes e condutividade iônica.
Propriedades Polieletrólíticas	<ul style="list-style-type: none"> • Biopolímero catiônico com elevada densidade de carga. • Agente flocculante; interage com moléculas “carregadas” negativamente. • Propriedades de sorção e filtração e separação. • Habilidade em formar filmes e adesividade. • Materiais para isolamento de biomoléculas.
Propriedades Biológicas	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade <ul style="list-style-type: none"> ◦ Baixa toxicidade aguda; ◦ Biodegradabilidade ambiental e Sorvível. • Bioatividade <ul style="list-style-type: none"> ◦ Atividade antimicrobiana (fungos, bactérias, vírus); ◦ Antiácido, antiúlcera e propriedades antitumorais; ◦ Antiagregante plaquetário. • Bioadesividade

Fonte: Bibliografias ^{27; 29; 38; 48; 54; 58; 59; 72; 73}.

As características físico-químicas influenciadas pelo GA são a solubilidade, hidrofiliabilidade, adsorvidade, e a viscosidade em soluções ^{44; 45}.

O GA da quitosana é inferior ao da quitina e, por isso, sua capacidade de quelação é maior ⁷⁴, em função da maior quantidade de grupos amino (ou GlcN) atuando como base de Lewis, quando comparada com os grupos GlcNAc ⁴², por apresentar tendência eminente em fornecer par eletrônico, permitindo a versatilidade química, ou seja, a realização de modificações estruturais do biopolímero e o favorecimento da sorção de diversas espécies químicas. Estes grupos são os principais responsáveis pela complexação de cátions metálicos ⁷⁴ e são consensualmente considerados, em parceria com as hidroxilas, os sítios de coordenação da quitosana. Desta forma, em função da elevada capacidade de adsorção da quitosana frente a outros adsorventes renováveis e baratos ⁷⁵, aparece à possibilidade de utilizá-la como descontaminante em ambientes aquáticos.

A proposta de utilização da quitosana com intuito de interagir com herbicidas se fomenta após diversas análises, entre as quais, o seu caráter catiônico, por apresentar pKa próximo de 6,5 em solução aquosa, em função da densidade de carga e do GA ⁷⁶, evidenciando a sua atuação como adsorvente de vários poluentes e fundamentando a sua utilização no tratamento de contaminantes orgânicos ⁷⁷, clorofenóis ^{78; 79}, nitratos ⁸⁰, radionuclídeos em águas residuais e íons de metais pesados ^{64; 65; 66; 74}. A adsorvidade da biomacromolécula depende principalmente de propriedades como hidrofiliabilidade, GA e pH do meio ^{67; 81}.

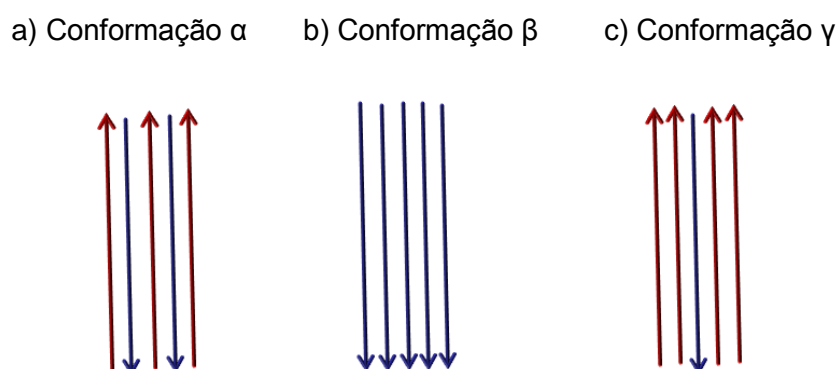
1.3.3. **Estruturas Polimórficas de Quitina e Quitosana**

As estruturas polimórficas de nanopartículas de quitina e quitosana assumem diferentes arranjos que influem na flexibilidade, durabilidade, estabilidade e outras propriedades mecânicas. Elas podem assumir estruturas

polimórficas organizadas em antiparalelo (α), paralelo (β) e antiparalelo invertido (γ).

A conformação α consiste no empacotamento mais denso, pois seu arranjo antiparalelo favorece a formação de interações intramoleculares e intermoleculares de hidrogênio. Na conformação β , as cadeias em antiparalelo não favorecem a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias de lamelas adjacentes, resultando num material menos denso. A conformação γ descreve uma combinação das formas α e β , são cadeias de duas lamelas em paralelo alternadas por uma lamela em antiparalelo, Figura 8.

Figura 8. Representação esquemática das estruturas polimórficas de quitina e quitosana com arranjos em: a) α (antiparalelo) b) β (paralelo) e c) γ (invertido).



Fonte: Modelo modificado de Campana, 2007 ³².

O arranjo γ existe em quantidade mínima na natureza, por isso trabalhos envolvendo estas estruturas polimórficas são muito raros.

2. Objetivos

Realizar simulações computacionais por Dinâmica Molecular, visando entender as interações específicas entre o biopolímero de quitosana e o herbicida glifosato, para analisar a possibilidade de aplicação deste biopolímero no processo de descontaminação ambiental.

2.1. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do empacotamento das cadeias de quitina e quitosana nas propriedades estruturais desse biopolímero em solução.
- Identificar as interações específicas entre o glifosato e a quitosana.
- Calcular a força de interação entre a quitosana e o glifosato.
- Avaliar a influência do herbicida glifosato no estado de agregação das nanopartículas de quitina e quitosana em solução.

3. Fundamentos Teóricos e Revisão da Literatura

3.1. Química Teórica

O conhecimento comportamental dos sistemas atômicos deixa de ser um projeto futuro para a comunidade científica, visto que vários trabalhos interessantes surgiram com as inovações tecnológicas computacionais; conseqüentemente, boas propostas para melhorar as técnicas de compreensão dos sistemas moleculares. A química teórica computacional fornece detalhes específicos importantes para o entendimento de diversas propriedades de um sistema, normalmente com maior facilidade e custo-benefício quando comparado aos procedimentos experimentais^{82; 83; 84}.

3.2. Metodologia Experimental e Teórica para Análise Atomística

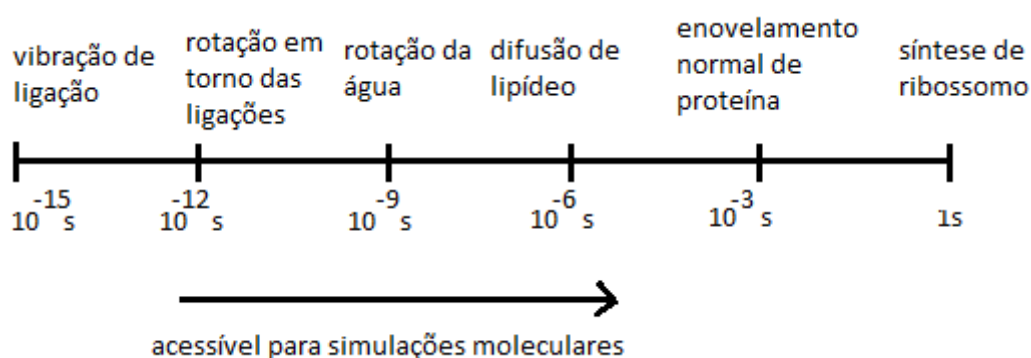
A obtenção de informações em elevada resolução espacial, com mobilidades e modificações da estrutura química das moléculas, pode ser feita por metodologias experimentais como cristalografia de raios X e ressonância magnética nuclear (RMN).

No entanto, existe uma metodologia computacional na área de química teórica, mais precisamente na Mecânica Molecular (MM), que revela informações atomísticas com resolução de tempo na ordem de femto (10^{-15}) segundos. Trata-se da simulação computacional por Dinâmica Molecular (DM), um método que define a trajetória com todos os movimentos dos átomos, seus domínios, a causa destes movimentos através de parâmetros descritores teóricos e experimentais com todas as forças atuantes e as energias de interação entre as partículas atômicas do sistema.

A Dinâmica Molecular oferece um elevado nível de detalhamento, precisão e quantidade de informações nas descrições atômicas, de coordenadas de cada átomo em um sistema molecular e da variação de suas posições em

função do tempo. A Figura 9 mostra a escala de tempo molecular possível de ser analisada por DM. O fator primordial responsável pela motivação e estudos de DM reside na poderosa vantagem da concordância com estudos experimentais.

Figura 9 – Escala de tempo das moléculas com as possíveis análises realizadas em Dinâmica Molecular para cada intervalo.



Fonte: Bibliografias ^{85; 86; 87; 88; 89; 90; 91}.

A DM é a ferramenta principal deste trabalho, baseia-se em métodos da Mecânica Estatística (Mecânica Clássica) e compreende estudos da geometria molecular de sistemas com muitos átomos. A DM considera os átomos como esferas rígidas, com massa, carga e parâmetros eletrostáticos, se fundamentando principalmente nas leis de movimento de Newton e nas leis elásticas de Robert Hook.

As técnicas de Dinâmica Molecular são apropriadas para analisar grandes sistemas moleculares. Reações químicas ou quaisquer processos que envolvam transições eletrônicas necessitariam da utilização de métodos quânticos, com maior detalhamento atômico, utilizando níveis discretos de energia, escalas reduzidas e precisão elevada. A Mecânica Quântica (QM) “fornece” a densidade de probabilidade da partícula para cada estado através do quadrado do módulo da função de onda complexa. A QM pode explicar alguns efeitos atômicos, como por exemplo, o diagrama da curva do calor específico de metais em função da temperatura, por se tratar da análise de estruturas químicas moleculares e transições eletrônicas.

3.3. *Mecânica Estatística*

A Mecânica Estatística fundamenta-se no modelo de esferas rígidas, com as partículas atômicas possuindo cargas e sendo “unidas” por molas calibradas de acordo com o tipo de ligação de cada átomo. Esta aproximação respeita as leis elásticas do físico inglês Robert Hook, com a descrição de vibrações de ligações químicas e barreiras energéticas diedrais e angulares. Desta forma, a Mecânica Estatística descreve o dinamismo de um sistema de acordo com as leis mecânicas de Newton para um conjunto molecular, devendo obedecer às regras de um campo de força, por respeitar os limites de validação da parametrização dos potenciais utilizados ^{91; 92}.

3.4. *Dinâmica Molecular*

A Dinâmica Molecular participa das principais ferramentas computacionais para estudar grandes conjuntos de moléculas e/ou macromoléculas. Ela considera efeitos térmicos nos sistemas físicos, químicos e biológicos para uma quantidade aproximada de 10^{23} partículas, com processos energéticos, administrando propriedades através da constante de Boltzmann (K_B) e da temperatura (T) dos sistemas, em Kelvin ($K_B.T$) ^{93; 94}.

A termodinâmica estatística permite que as propriedades microscópicas e macroscópicas se correlacionem através da extrapolação da energia potencial para um pequeno conjunto de átomos. Esta técnica, desenvolvida por Ludwig Boltzmann e Josiah Willard Gibbs, permite o estudo dos sistemas e a previsibilidade das propriedades através do uso de pequenas réplicas do sistema macroscópico ^{91; 92; 93}.

Esta ferramenta emprega a mecânica estatística para determinar todos os movimentos atômicos de um sistema termodinâmico, com escala térmica de aproximadamente -173 °C a 527 °C, e admite os potenciais de interação intramoleculares e intermoleculares entre todas as partículas em conjunto com as equações de movimento no sistema ^{94; 95}.

Os princípios fundamentais de mecânica estatística permitem a análise da evolução temporal das configurações de todos os constituintes do sistema, o que admite à DM determinar as propriedades macroscópicas a partir das médias termodinâmicas para os modelos moleculares. Esta análise é possível através do conhecimento das posições iniciais de todas as partículas. Em seguida, basta calcular a força resultante que atua em cada partícula, computando as posições e velocidades para os instantes seguintes através das integrações das equações de movimento de Newton ^{92; 96}.

A soma de todos os processos de variação de posições e velocidades para cada átomo gera a trajetória do sistema molecular em função do tempo. As informações das partículas obtidas na simulação dependem da capacidade computacional disponível, das propriedades a serem analisadas e da natureza do sistema, devendo se aproximar ao máximo do que acontece no real macroscópico (experimental) ^{93; 95}.

A capacidade computacional atual (2015) pode comportar sistemas com cerca de 10 milhões de átomos. O intervalo de tempo simulado abrange de picossegundos (ps) até centenas de nanossegundos (ns) de tempo real, dependendo do que se deseja investigar e da convergência estatística das propriedades de interesse. A energia de interação e a função de distribuição radial de pares (RDF), por exemplo, não necessitam de elevada quantidade de tempo. Mas, por outro lado, a pressão, a tensão superficial e o coeficiente de transporte exigem uma trajetória mais extensa ^{91; 92; 96}.

A Dinâmica Molecular fornece informações de fenômenos observados experimentalmente com riqueza de detalhes, em nível microscópico, nos quais ferramentas experimentais seriam incapazes de analisar atualmente (2015). Ela admite, por exemplo, o avanço e recuo da evolução temporal para a realização de análises, a pausa nos intervalos de tempo da simulação para observação visual (em 3 dimensões) e ainda fornece dados essenciais como quantidades de interações intermoleculares, distância média entre átomos, energias potenciais, energias de interações, entre outros ^{92; 94}.

Os sistemas que podem ser tratados por Dinâmica Molecular são diversos, de acordo com Morgon e Coutinho ⁹⁶ são: “desde sistemas

homogêneos como gases, fluidos supercríticos, líquidos, soluções e misturas até sistemas heterogêneos como interfaces, filmes de Langmuir, biomembranas, polímeros orgânicos e inorgânicos, polissacarídeos, lipídios, proteínas, ácidos e seus complexos, passando por zeólitos, argilas, sólidos cristalinos, vítreos e nano materiais” ^{91; 95; 96}.

O primeiro trabalho utilizando dinâmica molecular foi publicado em 1957 por Alder e Wainwright ⁹⁷, com curto potencial de interação intermolecular, o que levou a efeitos de colisões instantâneas. Este potencial foi denominado posteriormente como “potencial de caroço duro”. Dez anos depois, Loup Verlet ⁹⁸ foi capaz de calcular o diagrama de fase do argônio através do potencial de Lennard-Jones (ou Van de Waals). Portanto, ele desenvolveu o algoritmo de integração de Verlet, entre os mais utilizados em Dinâmica Molecular.

3.5. *Potenciais Clássicos*

A mecânica molecular é utilizada para descrever movimentos em baixa frequência, pois caso contrário, seria necessário um formalismo quântico para o modelo potencial que representa as partículas, sendo dispendioso em termos de custo e tempo computacional. A seguir serão apresentados alguns potenciais utilizados em simulação computacional ^{91; 92; 95; 96; 99}.

A Dinâmica Molecular utiliza-se de aproximações ou representações clássicas de potenciais quânticos e de potenciais empíricos na construção dos modelos para interações atômicas. Alguns modelos devem ser mais sofisticados para modelar semicondutores, metais, ligas metálicas, entre outros. Para metais, os potenciais ajustados para reproduzir as propriedades do material volumétrico são o potencial de Morse e o Embedded-Atom Method (EAM) ^{100; 101}, já para semicondutores o potencial de Tersoff ¹⁰².

Existem potenciais próprios para tratar problemas na estrutura química das redes cristalinas, defeitos, medidas de estresse, adsorção de substâncias em superfície e etc. Estes atuam no ajuste direto da modelagem das ligações químicas moleculares, tais como: comprimento e ângulo de ligação, constante de torção, entre outras propriedades físicas.

A DM pode dar excelentes resultados quando utilizada em sistemas que estejam no regime clássico ou semi-clássico, normalmente volumétricos e em elevadas temperaturas (aproximadamente 300 K). Mas, essas condições de altas temperaturas e grandes volumes não são suficientes para satisfazer a aproximação clássica, sendo que uma das condições a ser satisfeita para validar o modelo clássico, por exemplo, é o comprimento de onda térmico.

Os sistemas devem manter a temperatura constante durante toda a simulação, necessitando de uma metodologia que impeça a oscilação de temperatura, como o método de Nosé-Hoover^{85; 103}. Nele, acrescenta-se um grau de liberdade na hamiltoniana do sistema, a fim de representar um reservatório externo. O sistema então troca calor com o reservatório mantendo a temperatura constante. Uma das vantagens desta metodologia proposta inicialmente por Nosé e depois melhorada por Hoover refere-se à concordância do ensemble canônico com a circunstância das flutuações estatísticas^{85; 103}.

Uma forma mais simples de manter a temperatura fixa durante todo o curso da simulação é o método do termostato de Berendsen, utilizado neste trabalho, que consiste na conversão progressiva para a temperatura desejada em cada passo de simulação ou em intervalos regulares⁹⁶. O termostato de Berendsen, conjuntamente ao potencial de interação e a integração das equações de movimento permitem a obtenção do ensemble estatístico de interesse.

O ensemble consiste no conjunto de configurações e propriedades mantidas constantes durante a integração das equações de Newton e que representam o estado do sistema macroscópico, possibilitando a obtenção de propriedades estruturais e termodinâmicas com pouca quantidade de cálculos computacionais^{104; 105}.

3.6. *Ensembles*

As informações geradas pela simulação computacional são microscópicas, sendo que, a mecânica estatística praticamente realiza a

conversão para o nível macroscópico (pressão, energia interna, etc.). O momento e as posições de todas as partículas do sistema macroscópico são considerados como coordenadas em um espaço de fase (multidimensional). Portanto, pode-se calcular o valor de qualquer propriedade, para cada ponto no espaço, utilizando uma função que varia de acordo com a evolução temporal. Experimentalmente, as propriedades observadas em escala macroscópica correspondem à média temporal desta função, em um longo intervalo de tempo¹⁰⁶.

Pelo fato da evolução temporal da função ser muito complexa, Gibbs substituiu a extensa média temporal por uma média de ensembles, sendo que cada ponto representa o sistema com variáveis de estado fixadas para um determinado instante, o que permite a substituição da média temporal por uma média de todos os membros do ensemble paralisado em um determinado tempo¹⁰⁷.

Os principais tipos de ensembles são o micro-canônico (NVE), canônico (NVT), grand-canônico (μ VT) e isotérmico-isobárico (NPT). O último foi utilizado neste trabalho, com intuito de analisar o sistema polimérico a pressão e temperatura constantes.

3.6.1. ***Ensemble Micro-Canônico (NVE)***

O ensemble micro-canônico natural possui a sigla NVE, por possuir a quantidade de matéria ou número de mols de moléculas (N), o volume (V) e a energia total do sistema (E_T) constantes. Sua utilização é ampla para sistemas livres de qualquer campo externo e as equações newtonianas podem ser aplicadas de forma simples para a obtenção da trajetória. No conjunto NVE, ocorre flutuação da temperatura, pressão e do potencial químico, sendo necessário que a energia total do sistema (E_T) corresponda ao estado termodinâmico considerada. Esta aproximação exige a realização de simulações preliminares, denominadas de etapas de termalização ou equilibração, com controle de temperatura (ensemble NVT) ou de temperatura e pressão (ensemble NPT)⁹⁶.

3.6.2. **Ensemble Canônico (NVT)**

O ensemble canônico (NVT), método que recebe o nome de escalonamento de velocidades, utiliza como variante os termostatos de Berendsen e Nosé-Hoover, vistos anteriormente para manter a temperatura fixa (T), permanecendo também constantes o volume (V) e o número de mols de moléculas (N) ⁹⁶. O ensemble NVT mantém as dimensões da caixa de simulação fixas e a energia total não é conservada. Este ensemble é interessante para etapas de termalização do sistema e etapas posteriores para reequilibrar o sistema no estado termodinâmico desejado. Ele é utilizado em tratamentos térmicos como *annealing* (enovelamento/desenovelamento) de fases sólidas amorfas e estudos de desnaturação térmica de proteínas ⁸⁵.

3.6.3. **Ensemble Grand-Canônico (μ VT)**

O ensemble grand-canônico (μ VT) é utilizado para sistemas não homogêneos para variar a composição de uma ou mais fases dos sistemas, como por exemplo, analisar os comportamentos de alguns fenômenos específicos de adsorção, ele mantém constantes o potencial químico da substância (μ), o volume (V) e a temperatura do sistema (T) ⁹⁶.

3.6.4. **Ensemble Isotérmico-Isobárico (NPT)**

O ensemble isotérmico-isobárico (NPT) ocorre com flutuações no volume do sistema mantendo a pressão e a temperatura constantes. O volume é controladamente alterado através do escalonamento das dimensões da caixa de simulação por um fator $\gamma = \sqrt[3]{p(t)/p}$, sendo $p(t)$ a pressão num dado instante e p a pressão desejada, ocorrendo analogamente ao escalonamento de temperatura ou por acoplar o sistema a graus de liberdade externos, atuando como um êmbolo modificador de volume similar aos banhos térmicos de Nosé-Hoover conforme mencionado anteriormente ^{85; 96; 103}.

A pressão pode ser simulada em um dado instante com o auxílio do teorema do Virial:

$$p(t) = \frac{(N \cdot k_B \cdot T)}{V} - \frac{1}{3V} \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N r_{ij}(t) \cdot F_{ij}(t) \quad (1)$$

Sendo que $r_{ij}(t) = r_j(t) - r_i(t)$ corresponde ao vetor posição que liga moléculas i e j , e $F_{ij}(t)$ consiste na força intermolecular total entre o par de moléculas, ambos em relação ao instante t da simulação.

A temperatura pode ser mantida constante através do controle da velocidade das partículas do sistema, com isso, o ensemble isotérmico-isobárico pode ser empregado no estudo de transições de fases estruturais em sólidos cristalinos, em fluidos supercríticos, fluidos superfrios e transições vítreas nas quais as variáveis de controle são a pressão e a temperatura. Esta aproximação pode ser utilizada também para situações experimentais variadas, tais como na preparação e termalização de soluções iônicas, nas soluções de sacarídeos, peptídeos e polipeptídeos, bem como em misturas e blends poliméricas sem o conhecimento da densidade experimental exata do sistema. O ensemble NPT é utilizado neste trabalho, principalmente por poder simular condições apropriadas de temperatura e pressão, ele tem utilidade no teste da reprodução dos parâmetros de um campo de força de acordo com a densidade experimental desejada ⁹⁶.

3.7. *Parâmetros do Campo de Força*

As forças atuantes nas partículas atômicas são determinadas pelo campo de força do sistema através de potenciais harmônicos e não harmônicos combinados:

$$V_{\text{Total}} = \sum V_{\text{ligados}} + \sum V_{\text{não ligados}} \quad (2)$$

O potencial total está correlacionado tanto para átomos ligados (*bonded*) como para átomos não ligados (*non-bonded*), sendo os primeiros descritos pelo potencial harmônico linear (V_d), potencial harmônico angular (V_θ) e potencial harmônico torcional (V_ϕ), reproduzindo as interações simuladas para átomos unidos por ligações químicas covalentes. Os potenciais para átomos não ligados ocorrem com interações intramoleculares ou intermoleculares, descritas pelo potencial de Lennard-Jones (V_{LJ}), ou de van der Waals, e pelas interações eletrostáticas descritas por intermédio do potencial de Coulomb (V_C). A somatória de todos os potenciais consiste na expressão do campo de força, ou da energia potencial total do sistema (V_{Total}):

$$V_{Total} = V_d + V_\theta + V_\phi + V_{LJ} + V_C \quad (3)$$

A força consiste na derivada negativa do potencial em relação à posição. E, de acordo com a segunda lei de Newton na qual a força resultante é igual à massa multiplicada pela aceleração, a equação da força em função do tempo pode ser representada da seguinte maneira:

$$\frac{\partial V}{\partial r_i} = m \cdot \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} \quad (4)$$

Sendo que a aceleração descrita na equação acima, como a derivada segunda da posição em função do tempo ($\frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2}$).

As expressões para cada potencial, ligado e não ligado, serão apresentadas nos próximos tópicos, e estas são responsáveis pela obtenção das propriedades moleculares que definem o campo de força. Os parâmetros de cada equação são responsáveis pela descrição das forças que atuam em cada partícula, estes são fornecidos por cálculos de mecânica quântica e/ou por ajustes experimentais (ressonância magnética nuclear, espectroscopia de infravermelho, cristalografia de raios - X, entre outros) e determinarão como o sistema irá evoluir no tempo para gerar as trajetórias a serem analisadas.

3.7.1. *Potencial Harmônico de Ligação (ou Linear)*

O potencial harmônico linear, V_d , reproduz uma ligação covalente, descrevendo a energia associada ao estiramento entre dois átomos ligados, como se estivessem unidos por molas, de acordo com a equação elástica de Robert Hook:

$$E = -K \cdot x \quad (5)$$

Sendo K , a constante elástica da mola e x , o deslocamento da mola.

O potencial V_d permite a vibração dos átomos em torno de uma posição de equilíbrio, assim como em uma ligação química. Corresponde, portanto, ao potencial energético que descreve a ligação química:

$$V_d = \frac{1}{2} K_d (d - d_0)^2 \quad (6)$$

Na equação acima, d corresponde à distância da ligação entre dois átomos i e j , d_0 representa o comprimento de equilíbrio entre os dois átomos e K_d refere-se à constante elástica da força. Os parâmetros, ou variáveis, do campo de força são: d_0 e K_d ^{108; 109}.

3.7.2. *Potencial Harmônico Angular*

O potencial harmônico linear, V_d , visualizado anteriormente, descreve a energia associada entre dois átomos ligados. Já o potencial harmônico angular, V_θ , descreve a energia entre três átomos ligados, ou seja, o desvio entre os ângulos em relação ao ângulo de equilíbrio θ_0 :

$$V_\theta = \frac{1}{2} k_\theta (\theta_n - \theta_0)^2 \quad (7)$$

Na equação acima, θ corresponde ao ângulo definido pela ligação, θ_0 ao ângulo de equilíbrio e k_θ à constante elástica da força.

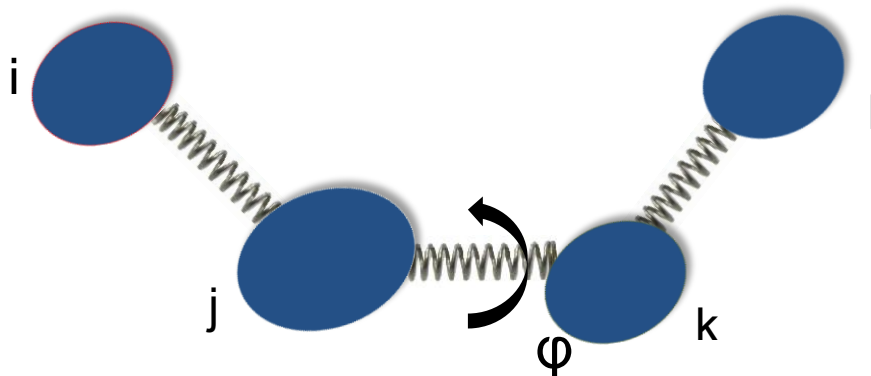
3.7.3. **Potencial de Torção (ou Diedral)**

O potencial do diedro, V_φ , descreve a energia associada à variação do ângulo diedral entre quatro átomos ligados: i, j, k e l (Figura 10). Ocorre uma torção própria entre as ligações covalentes dos átomos (i e l) ao redor da ligação j-k:

$$V_\varphi = K_\varphi [1 + \cos(n\varphi + \delta)] \quad (8)$$

Na equação acima, φ consiste no ângulo de torção para a ligação central, K_φ é a constante para definir a altura da barreira de rotação, n representa o número de mínimos para a torção da ligação química e δ refere-se à diferença de fase do ângulo diedral φ , podendo ser 0° ou 180° , dependendo do valor ser um ponto de máximo ou de mínimo da curva de energia potencial⁸⁶.

Figura 10 – Representação geométrica do ângulo diedral entre átomos i, j, k e l.



Fonte: Autor, através do modelo de Franca, 2008¹¹⁰.

3.7.4. **Potencial de Lennard-Jones (ou van der Waals)**

Os potenciais vistos anteriormente são exclusivamente intramoleculares, descritos para átomos ligados. Para descrever átomos não ligados, por interações intramoleculares e/ou intermoleculares, tem-se o potencial de Lennard-Jones, V_{LJ} , este parâmetro muito simples e efetivo corresponde às interações de van der Waals e possui capacidade de modelar adequadamente os gases nobres.

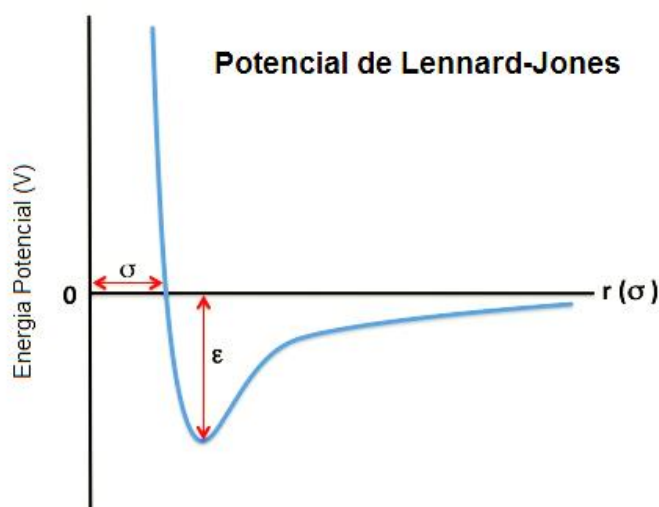
O V_{LJ} intramolecular descreve a interação entre átomos separados por no mínimo três ligações covalentes.

O campo de força GROMOS (Groningen Molecular Simulation) ^{111; 112}, utilizado neste trabalho, emprega a seguinte equação:

$$V_{LJ} = 4\varepsilon \left[\frac{\sigma^{12}}{(r_{ij})^{12}} - \frac{\sigma^6}{(r_{ij})^6} \right] \quad (9)$$

Na equação acima, o primeiro termo (σ^{12}) corresponde à repulsão para curtas distâncias entre dois átomos i e j , o segundo termo (σ^6) descreve a contribuição de suas atrações. ε corresponde à profundidade do poço de energia potencial, quanto maior o valor de ε , maior a interação entre duas partículas. O parâmetro σ indica o diâmetro de Lennard-Jones. E a distância entre os dois átomos é representada por r_{ij} (Figura 11). Quando a energia potencial de ligação for igual a zero, a distância de separação atômica, r_{ij} , será igual ao diâmetro de Lennard-Jones, σ .

Figura 11 – Gráfico que descreve o potencial de Lennard-Jones, através da Energia Potencial (V) em função da distância de separação atômica r_{ij} .



Fonte: [ChemWiki: The Dynamic Chemistry - E-textbook](http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Intermolecular_Forces/Lennard-Jones_Potential) - http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Intermolecular_Forces/Lennard-Jones_Potential.

3.7.5. *Potencial de Coulomb*

O potencial de Coulomb, V_C , define a interação de cargas, ou Coulômbicas, entre dois átomos não ligados i e j , de acordo com a equação:

$$V_C = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon r_{ij}} \quad (10)$$

Na equação acima, r_{ij} corresponde à distância entre os átomos i e j , q_i e q_j representam as cargas parciais, ϵ_0 a permissividade no vácuo ($\epsilon_0 = 8,8541878176 \times 10^{-12}$ F/m) e ϵ a constante dielétrica do meio, para água como solvente seria $\epsilon = 78$.

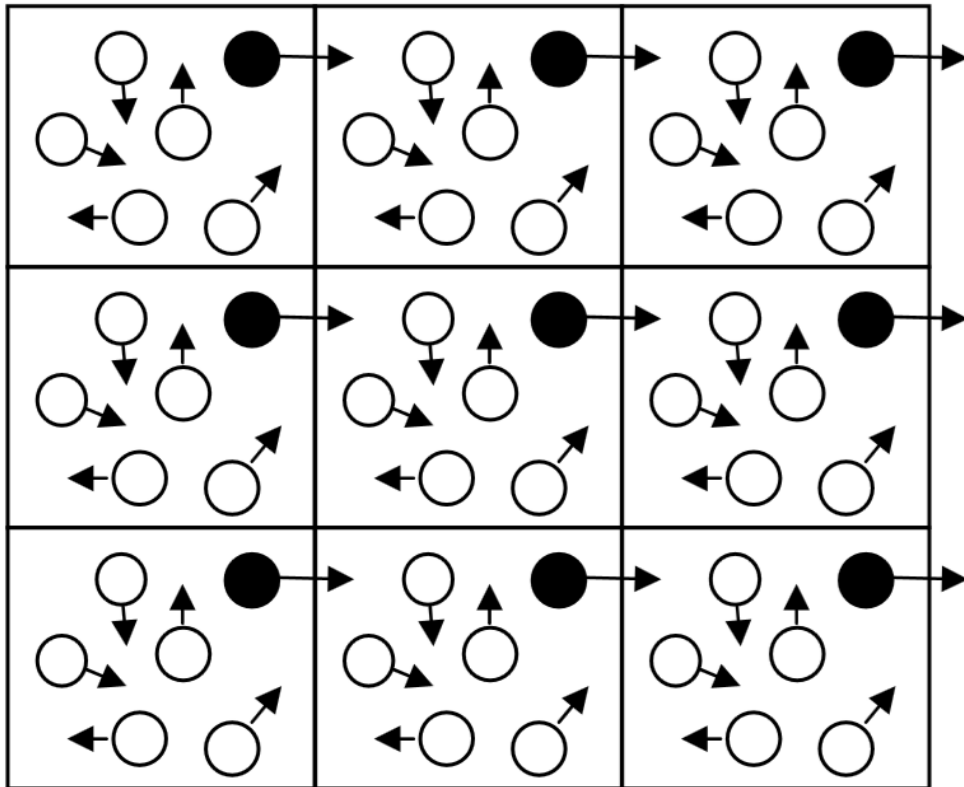
3.8. *Condições Periódicas de Contorno*

Os cálculos do sistema molecular, em solução aquosa, realizados na simulação computacional são para uma amostragem com reduzido número de moléculas (normalmente na ordem de 10^2 e 10^3), ocorrendo dentro de uma região cúbica, que recebe o nome de caixa de simulação. Uma adversidade, além do número de partículas na caixa de simulação ser pequeno, é que aproximadamente metade dessas 1000 moléculas do sistema estaria em contato ou próximas da superfície da caixa, estes presenciariam o efeito de superfície, ou seja, atuariam forças diferentes das forças que atuariam nos átomos no centro da caixa ¹¹³. Desta forma, ao estudar as propriedades de soluções aquosas, os efeitos de superfície devem ser eliminados, e uma excelente maneira seria aplicar as condições periódicas de contorno.

As condições periódicas de contorno tratam da criação de infinitas réplicas idênticas da caixa de simulação em torno dos 3 eixos da caixa inicial (x, y e z), as réplicas são criadas de forma virtual permitindo que o sistema atinja o limite termodinâmico. Nas condições periódicas de contorno não existe mais a limitação das paredes, os movimentos das partículas na caixa de simulação e de suas imagens virtuais são idênticas. Caso uma molécula saia do limite da caixa, uma das suas imagens entra pela parede oposta, o que permite manter constante o número de moléculas e a densidade do sistema (Figura 12) ¹¹⁴.

O número de moléculas a serem usadas na caixa de simulação depende das propriedades de interesse na investigação do sistema. Para saber a quantidade mínima de partículas a se utilizar em um sistema, basta analisar o comportamento de uma propriedade em simulações com quantidades crescentes de moléculas. Quando não houver mais variação da propriedade ao aumentar o número de moléculas, ou seja, quando tornar-se independente do tamanho do sistema, estará determinado o número mínimo de moléculas.

Figura 12 - Condições periódicas de contorno em duas dimensões.



Fonte: Franca, 2009.

3.9. Imagem Mínima

As influências que as partículas sofrem umas das outras no sistema com condições periódicas de contorno são consideradas infinitas. Porém, existe uma ótima forma de resumir essas influências, através da convenção de imagem mínima, que permite truncar a partícula de interesse no centro da caixa de simulação sob a influência apenas de seus vizinhos, que se encontram dentro de uma esfera denominada de raio de corte, o que garante que sua imagem e seus vizinhos não sejam considerados simultaneamente.

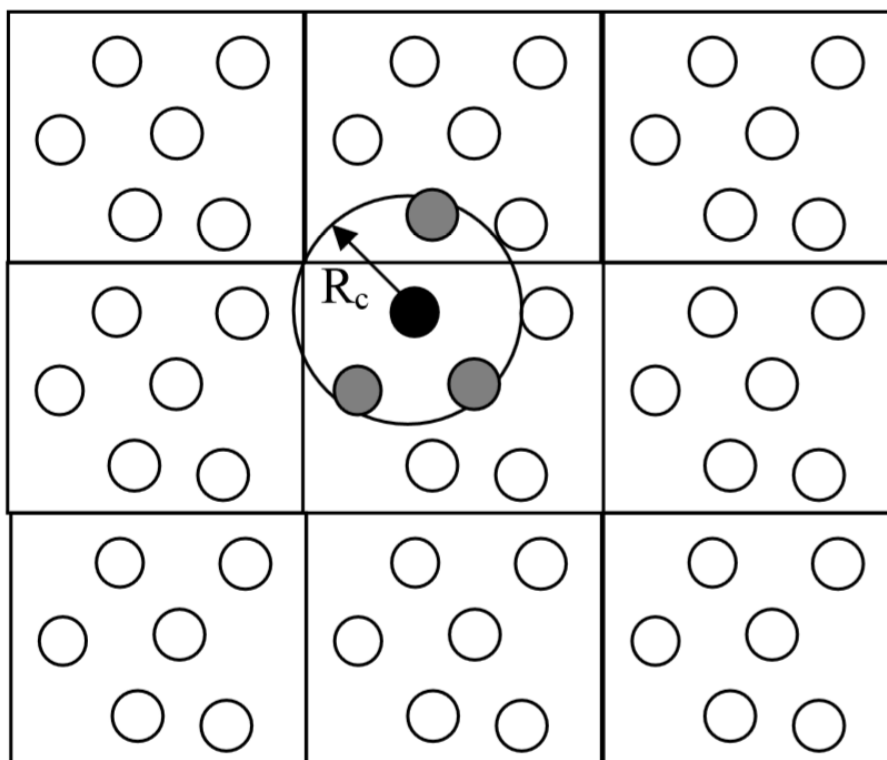
O uso do raio de corte também é vantajoso por encurtar o tempo computacional para analisar as interações não ligadas, cujos cálculos exigem elevado tempo computacional ¹¹⁵.

O raio de corte deve ser igual ou menor à metade da caixa de simulação para evitar que a partícula interaja com sua própria imagem virtual (Figura 13)

116

As partículas das extremidades da caixa de simulação original são influenciadas pela vizinhança das caixas imagens criadas pelas condições periódicas de contorno, porém as fronteiras não as influenciam.

Figura 13 - Representação do raio de corte esférico para um sistema periódico em duas dimensões.



Fonte: Franca, 2009.

A interação entre todas as partículas restritas no raio de corte são denominadas de curto alcance. As demais partículas, na influência das interações de longo alcance, recebem um tratamento especial, através de um campo de reação (Reaction Field) para não ficarem restritas ao raio de corte

117

3.10. O Algoritmo de Integração *Leap-Frog*

Uma simulação de Dinâmica Molecular necessita de um integrador para as equações diferenciais, o algoritmo *leap-frog* consiste num método numérico simples de resolver as equações de movimento de Newton^{118; 119}. O algoritmo calcula os valores das posições e velocidades alternadamente, um valor dependendo do outro, os valores de posições e velocidades são lançados ao longo do tempo t por:

$$v\left(t + \frac{1}{2} \Delta t\right) = v\left(t - \frac{1}{2} \Delta t\right) + \frac{\Delta t}{m} F(t) \quad (11)$$

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \Delta t \, v\left(t + \frac{1}{2} \Delta t\right) \quad (12)$$

$F(t)$ é a soma de todas as forças aplicadas ao sistema, m é a massa de cada átomo, r é a posição atômica, v é a velocidade dos átomos.

3.11. O Algoritmo de Condições *LINCS*

Os sistemas moleculares das simulações computacionais por DM podem se tornar instáveis quando as vibrações das ligações são muito elevadas, por causa da intensidade das forças externas. Uma maneira de evitar tal instabilidade seria manter as ligações e os ângulos entre os átomos restringidos, eliminando os modos vibracionais de maior frequência, o algoritmo LINCS permite esta possibilidade.

O algoritmo LINCS restringe o movimento dos átomos, ao nível das ligações e ângulos, aplicando multiplicadores de Lagrange às forças de restrição, o que permite integrar as equações de Newton com $\Delta t > 1$. Esses multiplicadores são resolvidos aproximando o inverso do Jacobiano a cada

iteração. Desta forma, o algoritmo opera sempre que o sistema se torna instável.

4. Ferramentas de Análise dos Dados

4.1. Função de Distribuição Radial de Pares (RDF)

A função de distribuição radial de pares (RDF), representada por $g(r)$ pode fornecer características e a intensidade de interações entre dois grupos atômicos. Considerando uma distância r do átomo i , a RDF descreve a variação na distribuição dos átomos j a esta distância em relação à densidade total de átomos j (Figura 14). A equação a seguir descreve esta função:

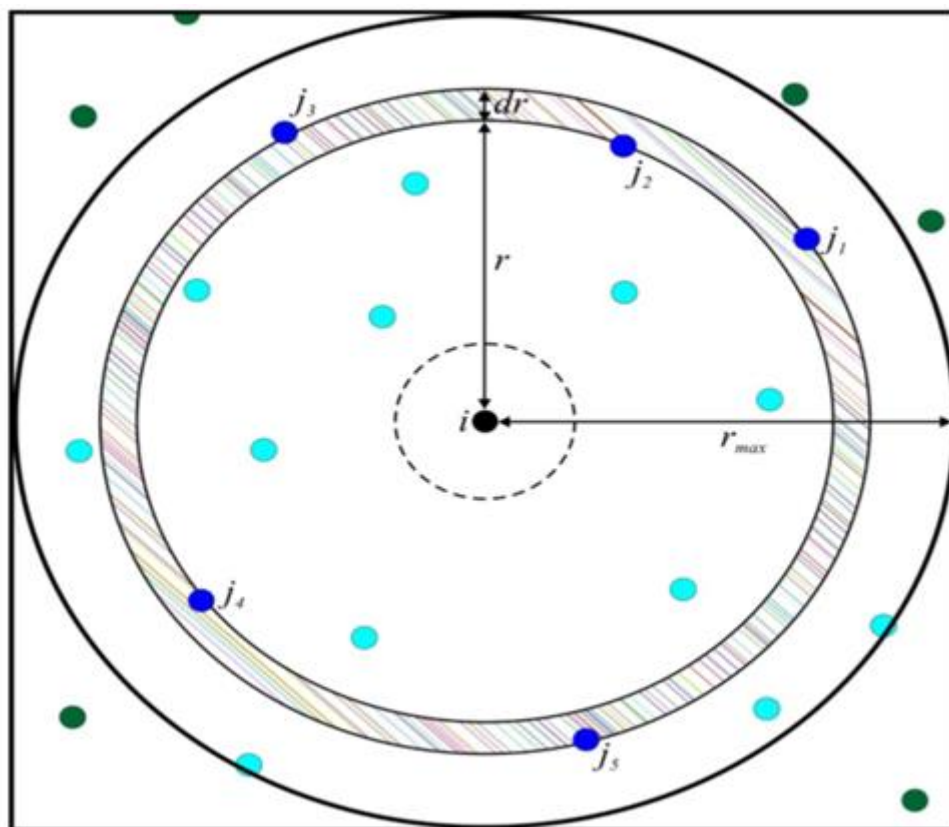
$$g(r) = \frac{N_{ij}(r, r + \Delta r)}{4\pi r^2 \Delta r \rho_j} \quad (13)$$

A Figura 14 representa a definição bidimensional das variáveis desta equação. Onde $N_{ij}(r, r + \Delta r)$ corresponde ao número médio de átomos j entre r e $r + \Delta r$ centrada no átomo i ; r indica a separação entre os átomos; $4\pi r^2 \Delta r$ descreve o elemento de volume da camada esférica; ρ_j se trata da densidade de átomos j .

A função $g(r)$ apresenta um pico bem definido quando a distância r for mínima e o valor for máximo. Basta considerar constante o número médio de átomos j ao redor de i para uma mínima variação da distância r entre os átomos i e j , mostrando forte interação entre o par atômico¹²⁰.

A função $g(r)$ consiste na média temporal dos valores extraídos em todos os intervalos da simulação. Cada ocorrência do par de átomos em função da distância r é armazenada em um histograma, que é normalizado para o número de moléculas e o número de passos para o cálculo de $g(r)$. O centro de massa de alguns grupos pode ser tomado como referência para o $g(r)$.

Figura 14 – Representação das variáveis para o cálculo de $g(r)$ em duas dimensões. Os átomos azuis (claro e escuro) são utilizados para realizar o cálculo da densidade.



Fonte: Cunha, 2013 ¹²¹.

4.2. **Potencial de Força Média**

A metodologia do Potencial de Força Média (PMF) calcula a força aplicada ao afastamento de determinada partícula em relação ao seu sítio de interação ¹²². Neste método, uma força é aplicada aos átomos específicos de acordo com um ou mais eixos cartesianos, mantendo a velocidade ou a força constante. A simulação é realizada por DM e a energia livre pode ser obtida através da integral da força média ao longo da trajetória.

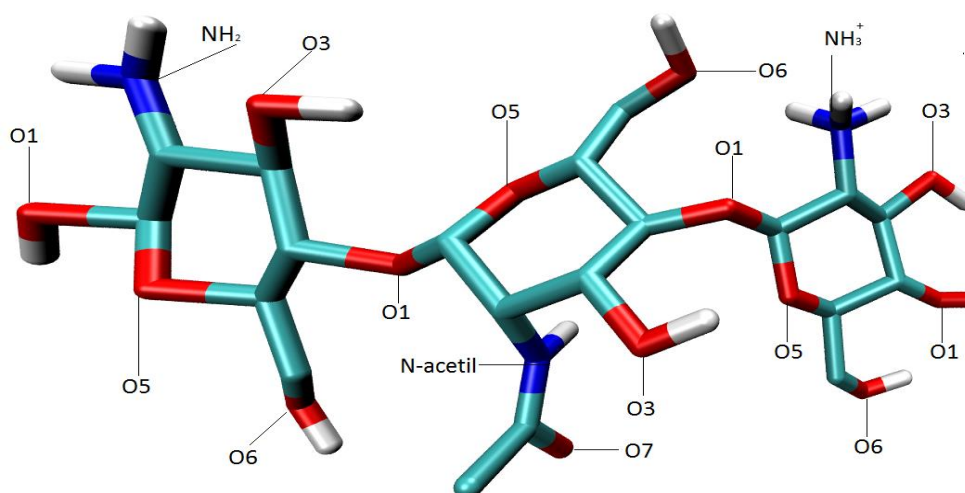
O método de obtenção do PMF depende do tipo de sistema molecular em estudo, de forma que o cálculo da energia livre realizado através desse método possa ser acoplado a um potencial de restrição ou harmônico, como o método *umbrella sampling* ¹²².

5. Metodologia

O programa computacional GROMACS 4.5.4 (Groningen Machine for Chemical Simulations) ^{118; 119; 123; 124; 125} foi utilizado em todas as simulações teóricas com o campo de força GROMOS53a6 ^{111; 112}, uma atualização do campo de força GROMOS com adaptações para utilização de parâmetros físico químicos experimentais e quânticos apropriados que melhor reproduzem polissacarídeos ^{110; 112; 124; 126}.

O primeiro passo da realização da Dinâmica Molecular ocorreu através do desenho da geometria das moléculas de quitina (Figura 5) e quitosana (Figura 15) através do programa computacional HyperChem ¹²⁷, utilizando os modelos de estrutura molecular de Ogawa, 2004 ¹²⁸.

Figura 15 – Nomenclatura dos átomos de quitosana passíveis de interação.

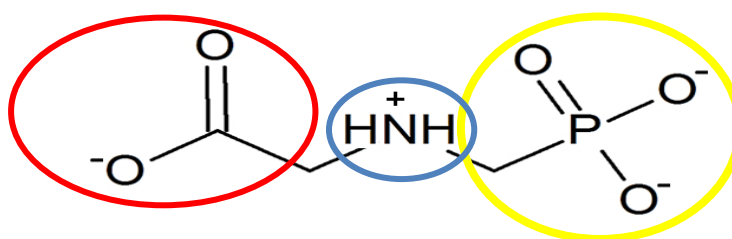


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

Os biopolímeros de quitina e quitosana dos sistemas simulados são compostos por 10 monômeros, sendo o grau de acetilação (GA) da quitosana igual a 20% e da quitina igual a 100%. A quitosana é composta por 10 monômeros, sendo 2 monômeros com grupos aminos acetilados, 4 com grupos aminos protonados e 4 desprotonados. A Figura 15 facilita as análises realizadas na observação dos grupos e átomos do biopolímero.

Em seguida, a molécula de glifosato foi obtida (Figura 16) através do banco de dados Protein Data Bank (PDB) com identificação "DB04539"^{129; 130}. O pH dos sistemas foram mantidos em torno de 6,5 através do controle dos grupos funcionais hidrogenados na estrutura do herbicida e do polissacarídeo, nestas condições de pH não ocorre hidrólise da quitosana em condições experimentais. Sendo que o glifosato pode ser utilizado em sua forma zwitteriônica, visto que em pH = 6,5, o herbicida já sofreu três desprotonações. Neste caso, o glifosato possui o grupo fosfato com dois átomos de oxigênio desprotonados e o grupo carboxilato com um átomo de oxigênio desprotonado, sendo assim, apenas os grupos aminos do glifosato se encontram hidrogenados, Figura 16.

Figura 16 – Estrutura da forma zwitteriônica do herbicida glifosato em pH = 6,5. Sendo o grupo PO_3^{2-} destacado em amarelo, o grupo NH_2^+ destacado em azul e o grupo CO_2^- destacado em vermelho.



Fonte: Autor, através do programa ACD/ChemSketch
(<http://www.acdlabs.com/>)^{5; 6}.

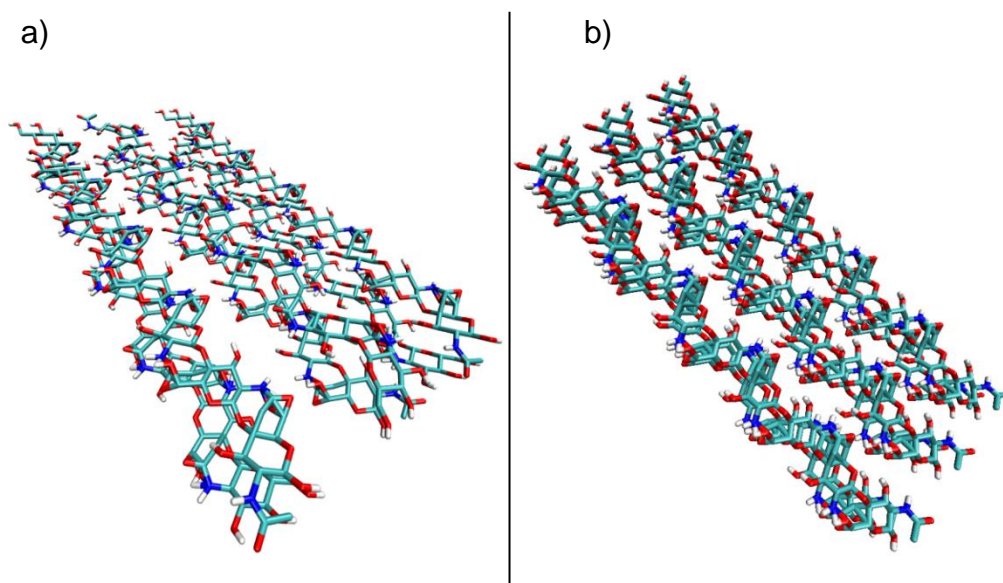
Depois da obtenção das moléculas de interesse, os sistemas foram montados. O campo de força foi parametrizado através de dados

cristalográficos e cada sistema molecular é explicado em detalhes no Tópico 4.1 deste trabalho.

As moléculas de cada sistema foram otimizadas geometricamente e a energia dos sistemas foram minimizadas, utilizando 10.000 passos do algoritmo *Steepest Descent*. Esta etapa foi realizada para que a estrutura das moléculas fosse a mais semelhante possível da estrutura de moléculas reais. Isto foi feito dentro de uma caixa de simulação retangular construída a uma distância de 1,5 nm (nanômetros) das moléculas.

O segundo passo incidiu na construção das nanopartículas de α - e β -quitina (Figura 17) e α - e β -quitosana (Figura 18) através do programa computacional HyperChem, dispondo de seis filamentos em uma matriz 3x2 ¹²⁷.

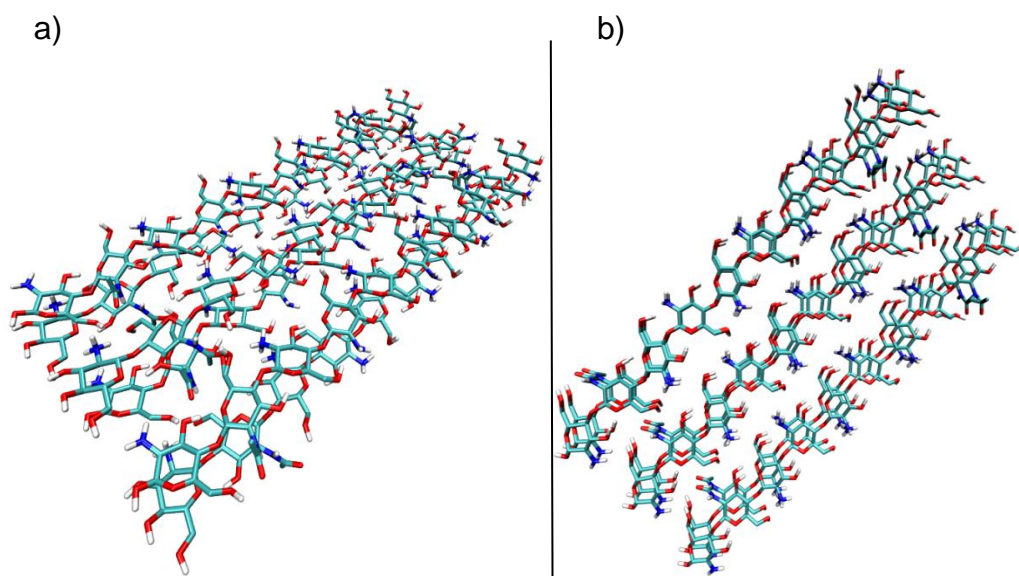
Figura 17 – Nanopartículas de a) α -quitina e b) β -quitina.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

A Figura 17 evidencia a diferença entre as estruturas polimórficas de α -quitina e β -quitina, onde a primeira possui arranjo antiparalelo e a segunda possui cadeias em paralelo, de acordo com a Figura 8. As nanopartículas de quitosana, Figura 18, também foram arranjadas nesta conformação.

Figura 18 – Nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

As nanopartículas de α - e β - quitina e quitosana, depois de formadas, também foram submetidas aos processos de otimização geométrica e minimização energética em 10.000 passos com o algoritmo *Steepest Descent*, dentro de uma caixa de simulação retangular construída a uma distância de 1,5 nm das nanopartículas.

Cada sistema molecular passou pelo processo de termalização, este processo consiste no aumento gradual da temperatura através de sucessivas simulações por Dinâmica Molecular em 10 ps (picossegundos) cada, considerando primeiramente as estruturas moleculares em 0K (Kelvin) e aquecendo-as até 50K, em seguida aumentou-se a temperatura para 150K e por fim foi alcançada a temperatura de interesse, 298K. As coordenadas de cada átomo do sistema permaneceram fixas durante a termalização, com uma força constante de $1,0 \cdot 10^3 \text{ KJ.mol}^{-1}.\text{nm}^{-2}$, as moléculas foram restringidas nesta etapa para se manterem nas mesmas posições após a otimização geométrica.

Os sistemas aquosos foram solvatados com moléculas explícitas de água através do modelo de polarizabilidade simples de carga pontual: *Simple Point Charge* (SPC) ¹³¹.

Os processos anteriores foram essenciais para iniciar os cálculos de Dinâmica Molecular. Os intervalos de integração para todas as simulações foram de 2 fs (fentossegundos), no ensemble isotérmico-isobárico (NPT), utilizando o algoritmo *Leap-Frog*¹³². A pressão e a temperatura se mantiveram constantes em 1 bar e 298 K através dos métodos de acoplamento do barostato de Berendsen e termostato de Berendsen⁸⁷ com compressibilidade de $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ Bar}^{-1}$ e tempo de relaxação de 10 ps, acoplando-se paralelamente os solutos e os solventes⁸⁷.

As restrições do movimento de estiramento linear e angular envolvendo os átomos de hidrogênio, bem como os comprimentos de ligação foram realizadas utilizando o algoritmo *LINCS*. Sendo as velocidades das partículas removidas para cada novo passo de integração em relação ao centro de massa¹³³.

As contribuições eletrostáticas de longo alcance foram tratadas por meio do Campo de Reação (Reaction Field), um método mais simples que o método PME (Particle-Mesh Ewald) e suficiente para a realização das simulações, uma vez que não induziu o aparecimento de artefatos por possuir pouca quantidade de cargas nos sistemas. Já as interações eletrostáticas e de van der Waals para tratar as interações de curto alcance ocorreram dentro de um raio de corte de 1,4 nm, evitando a ocorrência de interações entre os átomos e suas próprias imagens virtuais replicadas tridimensionalmente pelas Condições Periódicas de Contorno^{116; 117}.

5.1. **Particularidades de Cada Sistema**

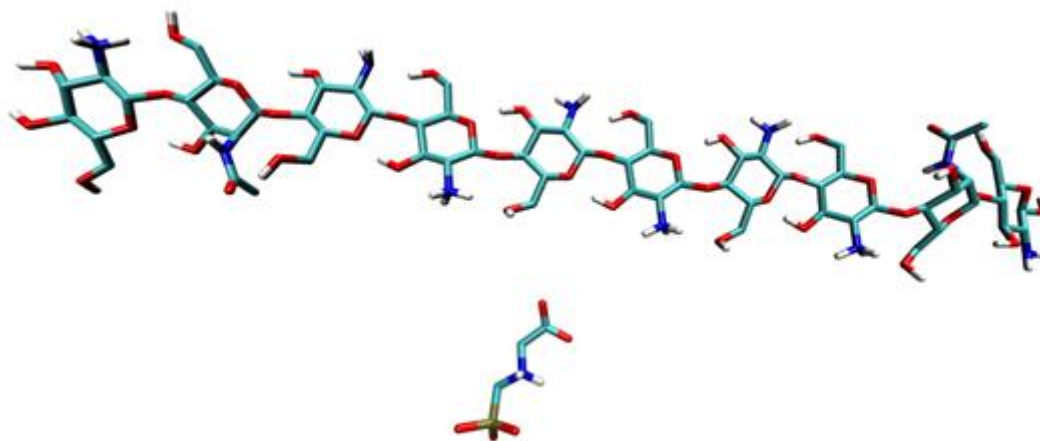
As nanopartículas finitas de todos os sistemas simulados foram montadas com seis filamentos em matriz 3x2. O primeiro sistema possui uma nanopartícula de α -quitina (Figura 17a) e o segundo sistema possui uma nanopartícula de β -quitina (Figura 17b). A simulação foi realizada num tempo de 40 ns com a finalidade de estudar o comportamento das estruturas polimórficas de α -quitina e β -quitina em solução aquosa, ambos os sistemas

com a mesma quantidade de moléculas de água, para que os sistemas tenham a mesma massa, não interferindo o cálculo energético dos sistemas.

O terceiro sistema possui uma nanopartícula de α -quitosana (Figura 18a). E o quarto sistema possui uma nanopartícula de β -quitosana (Figura 18b). A simulação foi realizada num tempo de 35 ns com a mesma finalidade dos dois primeiros sistemas, estudar o comportamento das duas estruturas polimórficas em solução aquosa, uma vez que os dois primeiros sistemas convergiram a energia em menos de 30 ns de simulação, assim foi possível diminuir o tempo computacional para realização da simulação.

O quinto sistema simulado possui um único filamento de quitosana com 10 monômeros e uma molécula do herbicida glifosato, com distância inicial entre as moléculas de aproximadamente 2Å. A simulação foi realizada num tempo de 9,0 ns com a finalidade de investigar a possibilidade da ocorrência de interações entre as duas partículas, Figura 19.

Figura 19 – Sistema contendo um filamento de quitosana e uma molécula de glifosato.

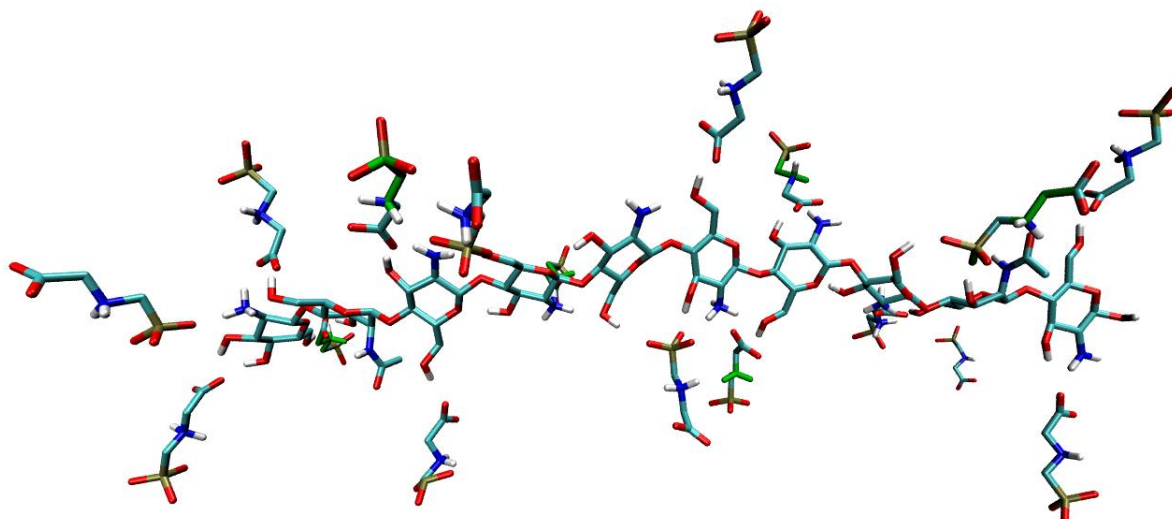


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

O sexto sistema simulado, em 25 ns, possui um único filamento com 10 monômeros de quitosana e 19 moléculas do herbicida glifosato inseridas aleatoriamente e distantes em aproximadamente 2Å, esta quantidade de

moléculas do herbicida foi suficiente para envolver todo o filamento de quitosana, com a principal finalidade de analisar as interações específicas entre o biopolímero de quitosana e o herbicida glifosato, Figura 20.

Figura 20 - Sistema simulado, contendo um filamento de quitosana circundado por 19 moléculas de glifosato.

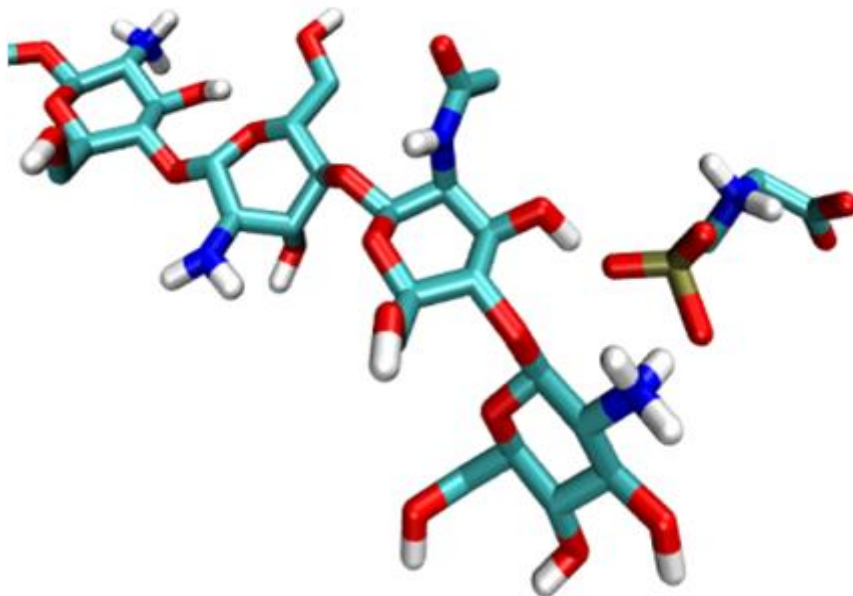


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

O sétimo sistema simulado busca, em 4 ns de simulação computacional por DM, calcular a força de interação entre o herbicida glifosato e o biopolímero de quitosana, por meio do método *Umbrella Sampling* da ferramenta PMF (Potencial De Força Media), também no campo de força GROMOS 53a6 do programa GROMACS 4.5.4 ¹¹⁹.

Este sistema parte da captura do momento de interação entre o herbicida e o biopolímero do quinto sistema, Figura 21, para iniciar o processo de puxamento do herbicida, até que a interação com a quitosana seja rompida. A força aplicada para “puxar” o herbicida aumenta gradativamente, sendo possível a identificação da força necessária para que ocorra o rompimento da interação, esta consiste na força de interação entre os átomos das duas espécies.

Figura 21 - Sistema com o momento da interação entre um filamento de quitosana e uma molécula de glifosato.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

Os dois próximos sistemas foram realizados após o cálculo de DM dos dois primeiros sistemas (Figura 18). Nestes novos sistemas moleculares, foram acrescentadas 42 moléculas do herbicida glifosato no entorno das nanopartículas de α -quitina e β -quitina, respectivamente, com a finalidade de investigar a influência do herbicida na conformação das nanopartículas em 20 ns, Figura 22.

A Figura 22 apresenta as estruturas dos sistemas moleculares de α -quitina e β -quitina após o cálculo de DM e a Figura 23 apresenta as estruturas após a adição de 42 moléculas do herbicida glifosato para análise na presença do herbicida.

Figura 22 – Nanopartículas de a) α -quitina e b) β -quitina após DM e antes de se adicionar 42 moléculas de glifosato.

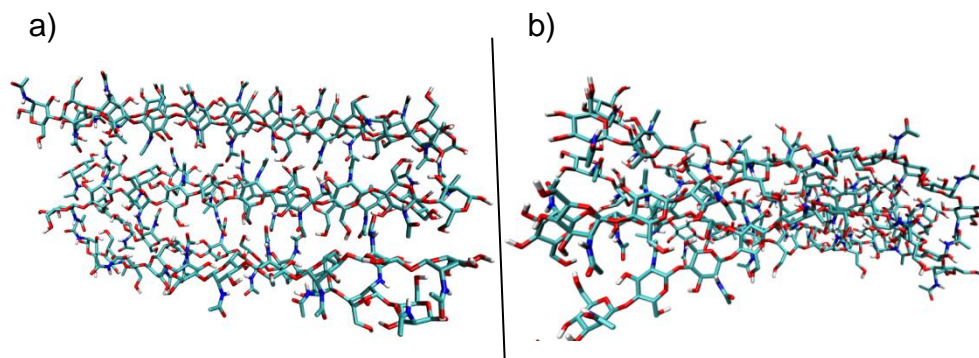
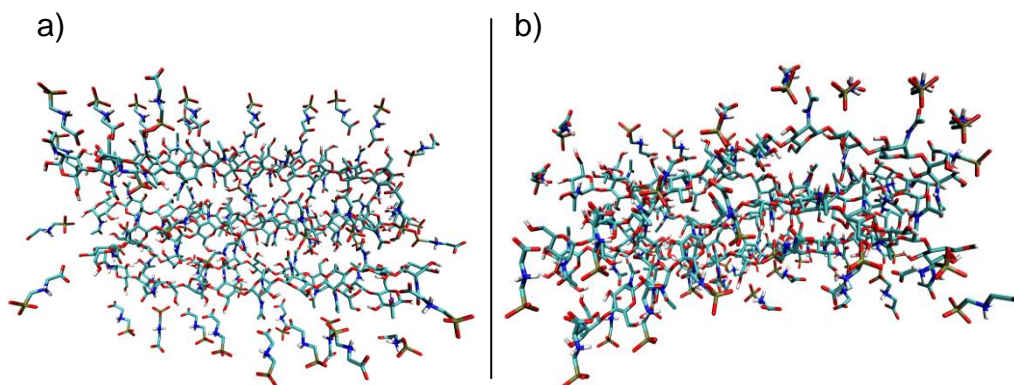


Figura 23 - Sistema molecular contendo as nanopartículas a) α -quitina e b) β -quitina circundadas por 42 moléculas de glifosato.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

Os dois últimos sistemas também possuem a finalidade de investigar a influência do herbicida glifosato, porém na conformação das nanopartículas de α -quitosana (Figura 24a) e β -quitosana (Figura 24b).

A simulação foi realizada num tempo de 35 ns. A Figura 24 apresenta as estruturas dos sistemas de α -quitosana e β -quitosana após o cálculo de DM e a Figura 25 apresenta as estruturas após a adição de 42 moléculas do herbicida glifosato.

Figura 24 – Nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana em 1000 ps de DM e antes de se adicionar 42 moléculas de glifosato.

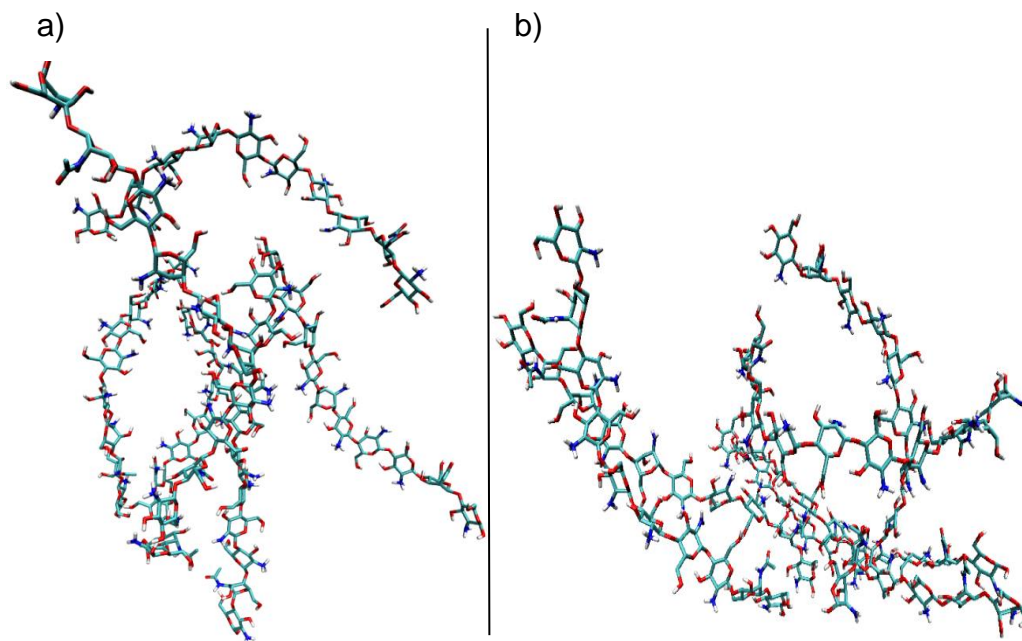
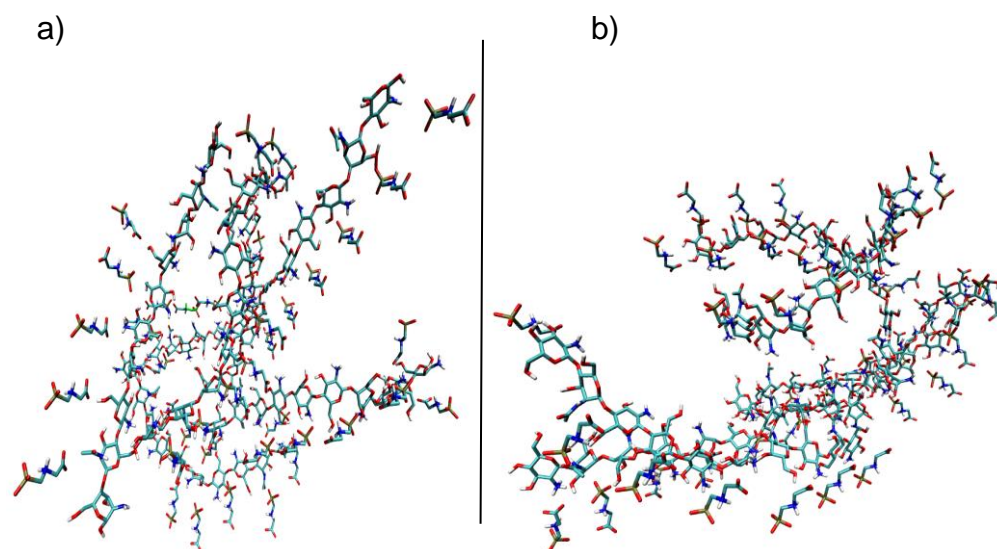


Figura 25 - Sistema contendo as nanopartículas de a) α -quitosana e b) β -quitosana circundadas por 42 moléculas de glifosato.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

6. Resultados e Discussões

6.1. **Análises das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitina**

A análise apresentada nesta seção permitiu um conhecimento detalhado do comportamento de ambas as estruturas em solução aquosa, uma vez que, segundo a literatura, as duas formas polimórficas são insolúveis em água devido principalmente ao elevado grau de acetilação da quitina ⁴¹.

A análise das trajetórias dos dois sistemas, α -quitina e β -quitina, permitiu verificar que em aproximadamente 10 ns os sistemas atingiram o equilíbrio termodinâmico, de tal modo que o baixo desvio padrão para os valores médios de energia justifica a manutenção do equilíbrio (Tabela 2).

De acordo com a Tabela 2, a raiz quadrada da flutuação quadrática média (RMSF) apresentou menor valor para a α -quitina, mostrando a menor flexibilidade desta fibra macromolecular, uma vez que suas flutuações ocorreram em menor proporção em solução aquosa quando comparada com as flutuações da β -quitina. Esta informação indica maior rigidez da α -quitina em comparação com a estrutura polimórfica de β -quitina.

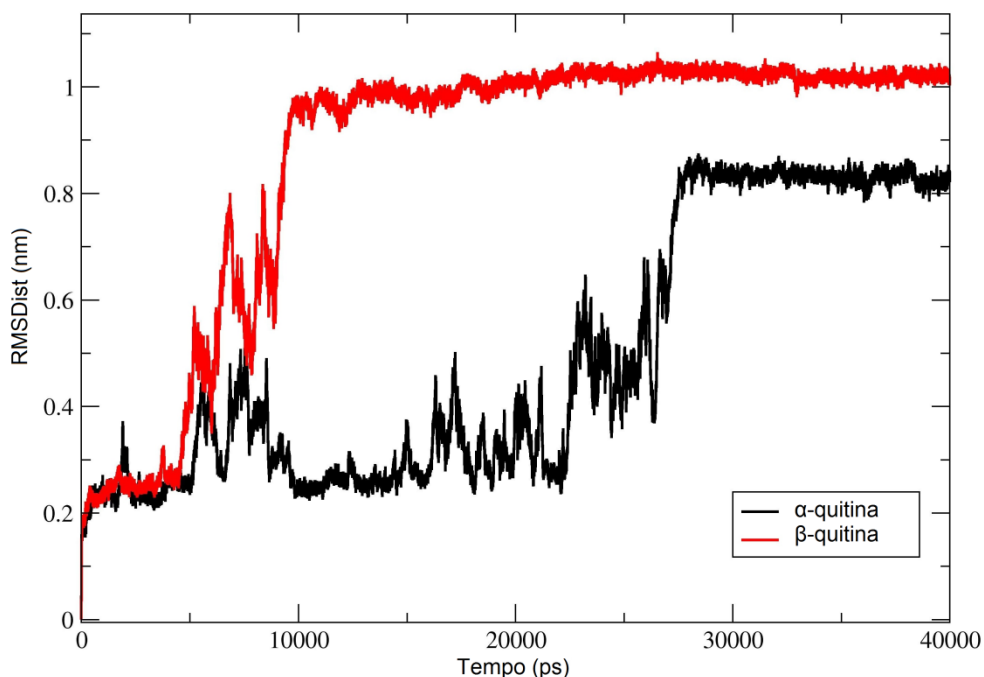
Tabela 2 – Parâmetros energéticos e estruturais calculados para os sistemas de α - e β -quitina com seus respectivos desvios padrão.

Nanopartícula	Energia Total / 10^3KJ.mol^{-1}	Raio de Giro / nm	Difusão Lateral / nm	RMSD / nm	RMSF / nm
α -Quitina	- 308,0 \pm 0,7	2,5 \pm 0,5	15,9 \pm 9,0	1,7 \pm 0,9	1,5 \pm 0,1
β -Quitina	- 314,7 \pm 1,2	2,7 \pm 1,0	21,9 \pm 16,0	1,9 \pm 1,4	2,0 \pm 0,4

A variação da raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas (RMSDist) em função do tempo mostrou similaridade das duas estruturas (Figura 26), predominando menor valor para a α -quitina, o que

mostra menor variação de suas posições atômicas em relação às posições iniciais, ou seja, menor mobilidade da estrutura.

Figura 26 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitina e β -quitina.



Fonte: Autor, através do programa GROMACS 4.5.4 ¹¹⁹.

Na Tabela 2, o termo Raio de Giro se refere à rotação do polissacarídeo em torno do seu centro de massa, desta forma, quanto maior o valor do Raio de Giro mais o polissacarídeo se movimenta / rotaciona em torno do seu próprio eixo, já o termo Difusão Lateral se refere ao movimento mais frequente das moléculas, ocorre quando as mesmas se difundem lateralmente dentro do mesmo ambiente, assim sendo, um maior valor de Difusão Lateral indica maior quantidade de movimentações moleculares.

Os cálculos da Tabela 2 (raio de giro, difusão lateral, raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD) e raiz quadrada da flutuação quadrática média (RMSF) em função das posições iniciais) apresentaram todos os valores inferiores para a α -quitina, e, junto com a Figura 26, mostraram que a estrutura polimórfica de α -quitina possui maior estabilidade conformacional, indicando maior rigidez, menores flutuações e menores mobilidades em solução.

A fim de verificar a maior estabilidade estrutural da α -quitina em comparação com a β -quitina, analisou-se a média do número de possíveis ligações de hidrogênio (Tabela 3). De acordo com Gallagher et al., 1997 e Ogawa et al., 2004, essas interações intermoleculares são sugeridas como responsáveis pela estabilidade do empacotamento cristalino de estruturas polimórficas, tais como a quitina^{89; 128}.

Tabela 3 – Quantidade estatística média de interações de hidrogênio ao longo da trajetória para α -quitina e β -quitina, e seus respectivos desvios padrão.

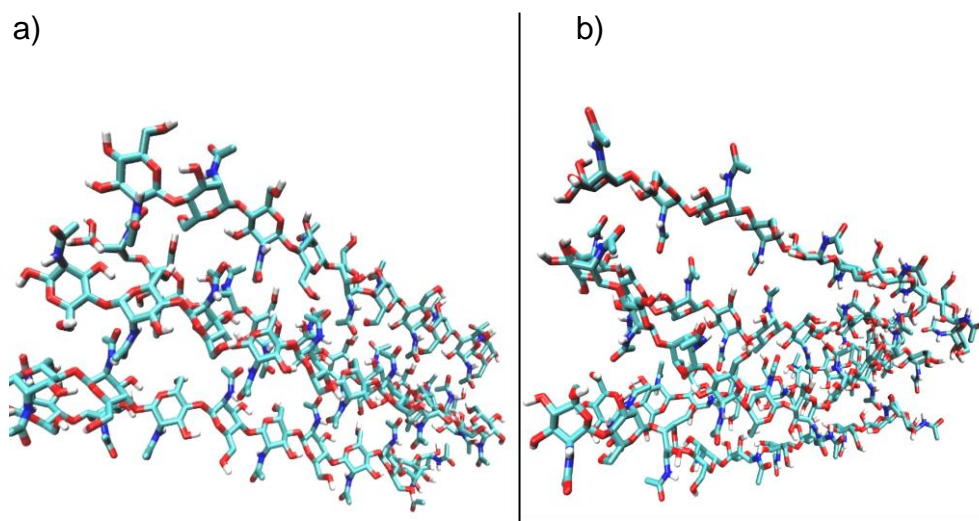
Interação de Hidrogênio	α -quitina	β -quitina
CHT ... CHT	65 \pm 4	52 \pm 3
CHT ... H ₂ O	226 \pm 10	237 \pm 11
O5 ... HO3	39 \pm 4	27 \pm 2

A Tabela 3 mostra a representação CHT ... CHT como a interação intramolecular quitina-quitina; CHT ... H₂O a interação intermolecular entre o polissacarídeo e o solvente (água); O5 ... HO3 a interação intramolecular do átomo O5 do polissacarídeo e a hidroxila secundária HO3 do polissacarídeo. Pode-se notar a maior quantidade de ocorrências de ligações de hidrogênio entre a estrutura polimórfica de β -quitina com o solvente, o que confirma a sua maior flutuação ao longo da trajetória (RMSF da Tabela 2).

A maior estabilidade dos filamentos de α -quitina em comparação com a β -quitina é evidenciada pela maior quantidade de interações de hidrogênio intramoleculares (CHT ... CHT e O5 ... HO3), que consiste na principal força responsável pela estabilidade da conformação linear e regular, ocorrendo com o mínimo de torções nas cadeias do polissacarídeo⁴¹. A Figura 27 mostra a representação molecular das nanopartículas após 35 ns de simulação, na qual a estrutura da α -quitina (esquerda) apresenta maior linearidade e organização que a β -quitina (direita).

As nanopartículas, durante a trajetória, mostraram-se totalmente insolúveis em solução e permaneceram totalmente agregadas, muito semelhantes às configurações iniciais. Isso pode ser explicado pelo elevado grau de acetilação da estrutura das fibras polissacarídicas (GA = 100 %), uma vez que o biopolímero pode ser considerado solúvel apenas se possuir grupos Ac inferior a 50%, ou seja, possuir maior quantidade de GlcN em relação a GlcNAc, o que não é o caso destas fibras de quitina, pois possuem todos os grupos aminos acetilados (100% de grupos GlcNAc).

Figura 27 - Representação molecular dos filamentos de: a) α -quitina e b) β -quitina, após 35 ns de simulação.



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

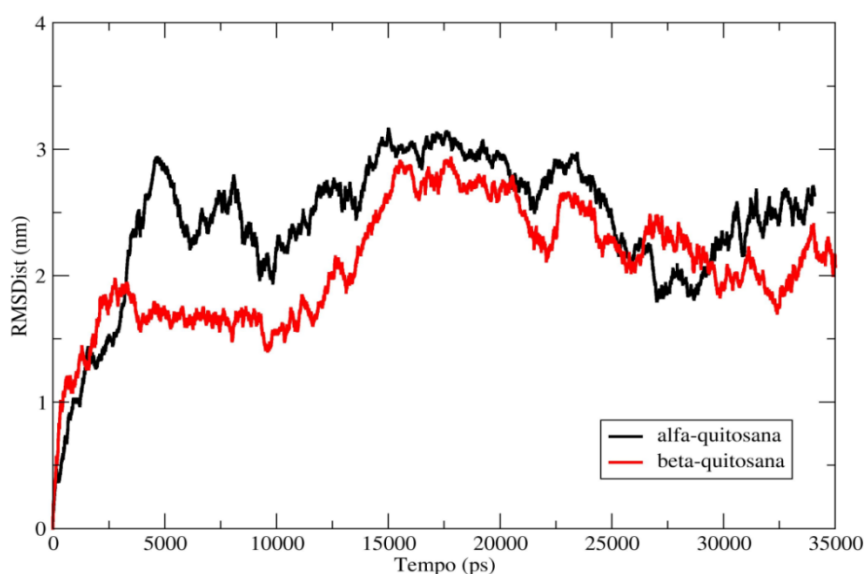
Em polissacarídeos insolúveis como, por exemplo, celulose, amido e quitina, é comum a ocorrência de processos de inchamento (também denominado entumescimento). Este processo foi observado em ambas as estruturas polimórficas, ocorrendo com a sorção de moléculas de água para o interior das nanopartículas. Tal fenômeno é favorecido pela presença de grupos hidroxila nas cadeias dos polissacarídeos, uma vez que as ligações de hidrogênio que estabilizam as interações entre cadeias paralelas de quitina formam uma barreira para o livre fluxo de moléculas de água, evitando que as moléculas de solvente escapem do arranjo supramolecular (dessolvatação), causando o entumescimento das fibras.

Cálculos similares foram realizados para analisar as diferenças entre as estruturas polimórficas dos polissacarídeos de α - e β -quitosana, os principais derivados da quitina.

6.2. Análises das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitosana

A energia total dos sistemas de α - e β -quitosana foi minimizada nos primeiros 2 ns de simulação, com os respectivos valores médios de -1102,7 e -1113,7 $\times 10^3$ kJ.mol⁻¹. Com base nestas semelhanças energéticas, o RMSD foi calculado e revelou que as formas polimórficas de α - e β -quitosana possuem certa similaridade no comportamento estrutural ao longo de suas trajetórias (Figura 28). Neste caso, ambas as nanopartículas se solubilizam facilmente, perdendo parcialmente suas estruturas para o solvente. Esta propriedade é afetada principalmente por dois fatores: 1) O grau de acetilação (GA), pois filamentos com GA < 50% tendem a se solubilizar com facilidade em meio aquoso; 2) A distribuição dos grupos acetilados ao longo da cadeia, dependendo das ligações de hidrogênio e do carácter hidrofóbico do grupo -CH₃ pertencente ao grupo acetil³⁴.

Figura 28 - Evolução temporal do desvio quadrático médio (RMSD) de todos os átomos em relação à estrutura inicial.



O baixo grau de acetilação dos filamentos simulados (GA = 20%) e a randomização dos grupos N-acetil (nas extremidades dos filamentos), sem formação de blocos, justificam a solubilização da quitosana, esses fatores apoiam os dados apresentados por Franca, 2008¹¹⁰, que associou a diminuição do GA à maior mobilidade dos filamentos, justificada pela atração eletrostática entre os grupos amino protonados e desprotonados distribuídos de maneira uniforme, no presente caso alternadamente, ao longo da fibra polissacarídica.

Os picos das curvas no diagrama da Figura 28 mostram o momento de solubilização das nanopartículas. Embora este evento seja semelhante para ambas as estruturas, a β -quitosana mostrou maior estabilidade em solução aquosa; e conseqüentemente, necessitou de mais tempo para solubilizar.

Cálculos da quantidade de ligações de hidrogênio e tempo de vida foram realizados para analisar a agregação das nanopartículas de quitosana, ou seja, a relação entre o comportamento e a orientação das cadeias do biopolímero (Tabela 4).

Tabela 4 – Número médio com os desvios padrão das interações de hidrogênio mais significantes para a α -quitosana e β -quitosana, e seus respectivos tempos de vida ao longo da trajetória.

Tipo de Ligação de Hidrogênio	Número Médio de Ligações	Tempo de vida / ps
α -quitosana		
CHS ... CHS	23 \pm 1	28,24
CHS ... H ₂ O	334 \pm 3	10,29
β -quitosana		
CHS ... CHS	23 \pm 1	28,41
CHS ... H ₂ O	334 \pm 3	10,86

A Tabela 4 mostra a representação CHS ... CHS como a interação intramolecular quitosana-quitosana e CHS ... H₂O a interação intermolecular entre o polissacarídeo e o solvente (água). Neste caso, percebe-se claramente

que as ligações de hidrogênio não são as principais responsáveis pelas diferenças observadas e pela desorganização dos sistemas, uma vez que os valores e os tempos de vida são praticamente idênticos.

De acordo com Franca, 2011 ⁴¹, a estabilidade das cadeias dos polissacarídeos não é afetada pela mobilidade e orientação das moléculas de água. Desta forma, os dados mostram que as duas estruturas polimórficas não diferem pelas interações com o solvente, sugerindo que as interações de Van der Waals (Lennard-Jones), e / ou de Coulomb pudessem ser responsáveis pelas diferenças observadas. Portanto, para esclarecer esta questão, foram realizados cálculos das energias associadas com estas interações, Tabela 5.

Tabela 5 – Valores médios de energia, calculados após os 5 ns iniciais, associados às interações de Coulomb e de van der Waals (Lennard-Jones) com seus respectivos desvios padrão.

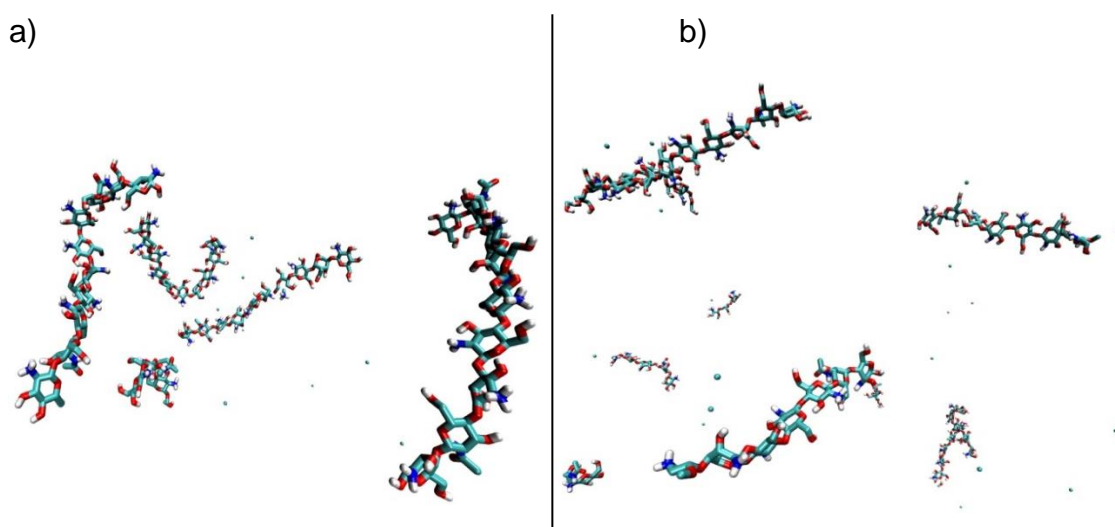
Nanopartícula	<i>Energia de Coulomb /</i> <i>x 10³ KJ.mol⁻¹</i>	<i>Energia de Lennard-</i> <i>Jones /</i> <i>x 10³ KJ.mol⁻¹</i>
α-quitosana	- 1595,18 ± 0,26	226,92 ± 0,07
β-quitosana	- 1610,90 ± 0,23	229,17 ± 0,07

De acordo com a Tabela 5, o comportamento estrutural da quitosana em solução aquosa se deve principalmente pelas interações eletrostáticas. A estrutura da β-quitosana se mantém por haver valores maiores (mais negativos) de energia coulombica, indicando maior estabilidade do sistema. As diferenças de energia associadas às interações de van der Waals são mínimas, podendo ser consideradas insignificantes em comparação com as interações eletrostáticas.

A explicação para isso se deve principalmente à pequena atração hidrofóbica entre os grupos metila do grupo N-Acetil. Estas interações, apesar de serem pouco significativas, são maiores na β-quitosana por apresentarem esses grupos mais próximos devido à distribuição paralela das cadeias poliméricas.

A Figura 29 foi feita a partir de estruturas extraídas em determinado instante das trajetórias, e representam uma tendência geral no comportamento molecular do sistema, visto que as interações ocorrem de maneira altamente dinâmica, principalmente em relação ao solvente. As cadeias de α - e β - quitosana estão dispersas, isso ilustra o processo de solubilização das nanopartículas.

Figura 29 - Representação molecular dos filamentos de: a) α -quitosana e b) β -quitosana, em um determinado instante da simulação.

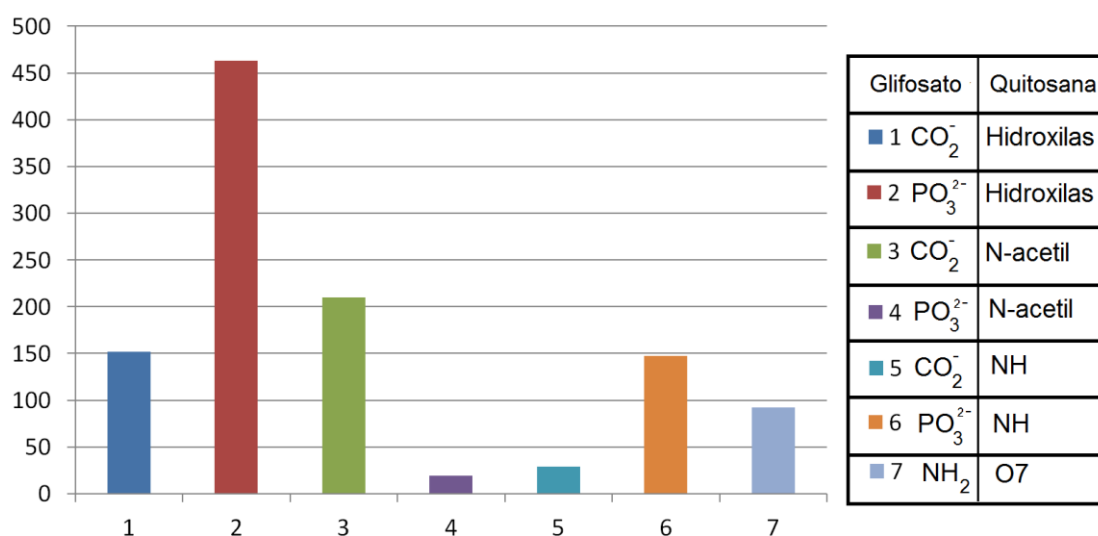


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

6.3. *Análise prévia da interação de um filamento de quitosana com uma molécula do herbicida glifosato*

O presente sistema molecular foi criado para realizar uma análise prévia da ocorrência de interações químicas entre um filamento de quitosana e uma molécula do herbicida glifosato, a Figura 30 representa uma informação qualitativa a respeito das interações intermoleculares de hidrogênio entre as duas espécies químicas.

Figura 30 – Número total de interações de Hidrogênio por grupos da quitosana e do glifosato para análise qualitativa do sistema molecular



Fonte: Autor

A Figura 30 apresenta a ocorrência de interações efetivas entre o polissacarídeo e o herbicida glifosato, porém, pelo fato de oferecer apenas uma molécula de cada interagente, os dados mencionados não fornecem informações sólidas a respeito das interações entre todos os grupos funcionais de cada espécie química.

Assim, para obter informações conclusivas a respeito das interações mais/menos efetivas, foi realizada uma abordagem quantitativa, utilizando o próximo sistema, composto por um filamento de quitosana e 19 moléculas do herbicida glifosato em meio aquoso.

6.4. *Análise quantitativa da interação de um filamento de quitosana com 19 moléculas do herbicida glifosato*

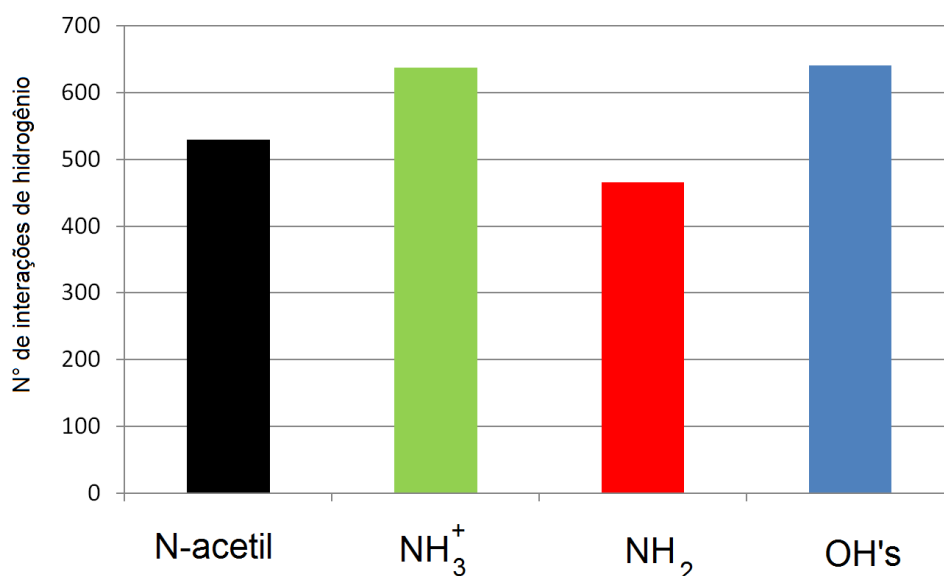
Uma análise quantitativa para o estudo das interações entre os grupos específicos do biopolímero com o herbicida é de suma importância para o conhecimento dos grupos com maior capacidade de interações, por isso esse

sistema foi preparado com a aproximação de 19 moléculas do herbicida no entorno do filamento de quitosana (Figura 20).

Com a finalidade de analisar as interações intermoleculares de hidrogênio do sistema, as Figuras 31 e 32 apresentam diagramas com a quantidade de ocorrências de interações de hidrogênio dos grupos aceptores de hidrogênio do glifosato (CO_2^- e PO_3^{2-}) e os grupos doadores de hidrogênio da quitosana (N-Acetil, NH_3^+ , NH_2 e OH's).

A análise da Figura 31 indica que o grupo CO_2^- do glifosato interagiu de forma similar com os grupos doadores de hidrogênio da quitosana, sendo a maior ocorrência de interações com os grupos NH_3^+ e OH's da quitosana.

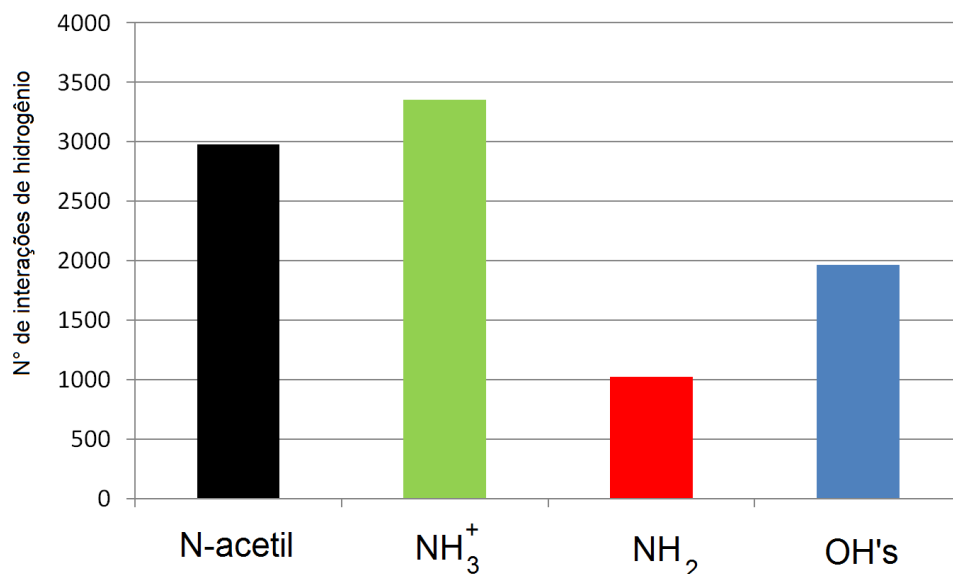
Figura 31 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo CO_2^- do glifosato e dos principais grupos doadores de hidrogênio da quitosana.



Fonte: Autor

A Figura 32 apresenta um diagrama com a quantidade de ocorrências de interações de hidrogênio entre o outro grupo aceptor de hidrogênio do glifosato, o grupo PO_3^{2-} , e os grupos doadores de hidrogênio da quitosana.

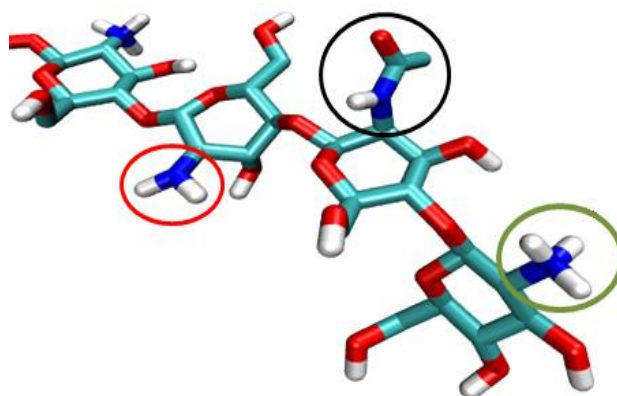
Figura 32 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e os principais grupos doadores de hidrogênio da quitosana.



Fonte: Autor

O grupo PO_3^{2-} do glifosato interagiu em maior proporção com a quitosana, a Figura 33 ilustra estes grupos. Sendo as interações de maior ocorrência com os grupos NH_3^+ e N-Acetil da quitosana, ambas com quantidades de interações próximas e cerca de três vezes maiores que as interações com o grupo amino desprotonado da quitosana (NH_2). Isto pode ser explicado pela interação eletrostática entre esses grupos.

Figura 33 - Representação molecular tridimensional dos grupos nitrogenados da quitosana (NH_2 em vermelho, N-Acetil em preto e NH_3^+ em verde).



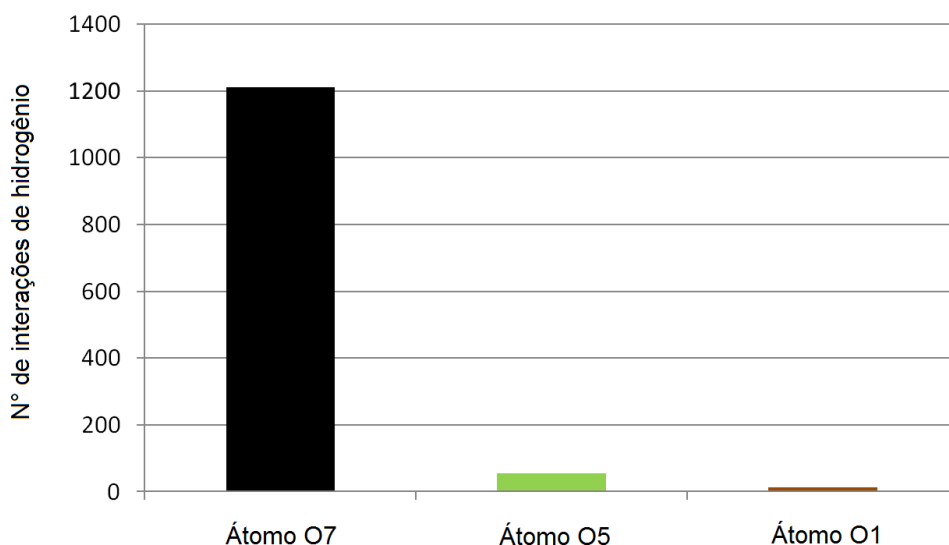
Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

As interações do grupo PO_3^{2-} com as hidroxilas da quitosana ($\text{OH}'\text{s}$) foram também superiores às interações com os grupos NH_2 da quitosana, ocorrendo, neste caso, o dobro de interações.

O número de ocorrências de interações de hidrogênio dos grupos aceptores do glifosato (Figura 31 e Figura 32) apresentou, de forma geral, predomínio de interações do grupo PO_3^{2-} em comparação com o grupo CO_2^- .

A fim de analisar a ocorrência de interações do único grupo doador de hidrogênio do glifosato, o grupo NH_2^+ , a Figura 34 apresenta um diagrama com a quantidade de interações de hidrogênio com alguns possíveis átomos aceptores de hidrogênio da quitosana (O7, O5, O1).

Figura 34 - Quantidade de interações de hidrogênio entre o grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos O7, O5 e O1 aceptores de hidrogênio da quitosana.



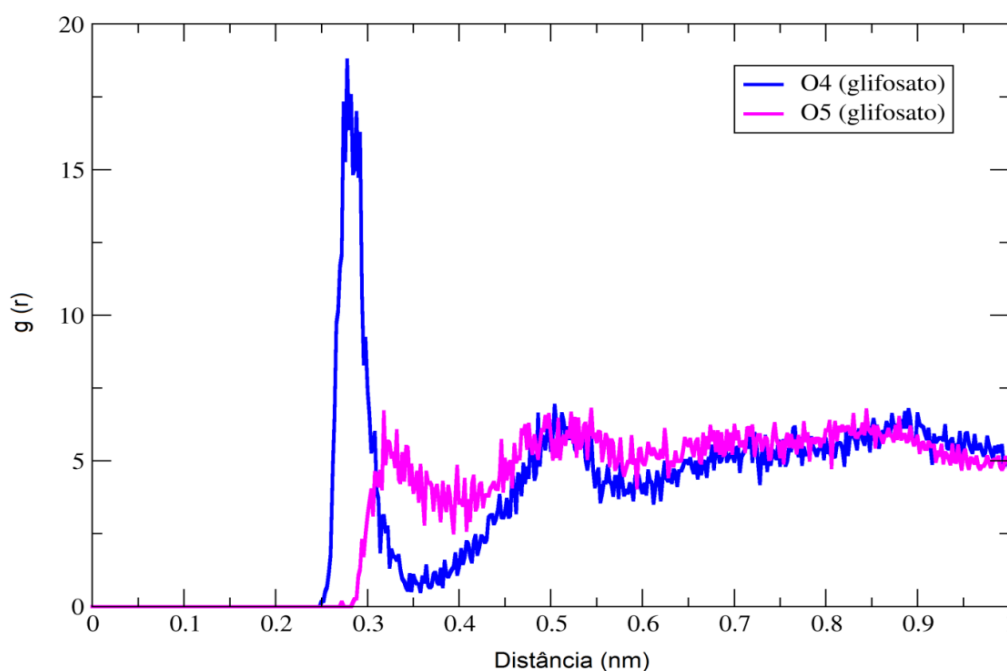
Fonte: Autor

Os dados obtidos na Figura 34, com interações entre o grupo NH_2^+ do glifosato e os oxigênios O1, O5 e O7 da quitosana, indicam a capacidade deste grupo em atuar como grupo doador de hidrogênio para interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio. É evidente a sua atuação como doador de hidrogênio para o átomo de oxigênio O7 pertencente ao grupo N-acetil da quitosana.

Informações mais concretas se tornam necessárias para a análise da efetividade das interações deste sistema, para isso foram realizados cálculos com a função de distribuição radial de pares atômicos (RDF). Onde se avalia as distâncias médias entre as partículas atômicas ao longo da trajetória.

Um pico inicial bem definido nos diagramas de RDF demonstra a intensa interação de curto alcance entre os átomos, indicando uma baixa mobilidade entre os átomos interagentes. A Figura 35 apresenta um diagrama com a média das distâncias entre os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.

Figura 35 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio do CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.



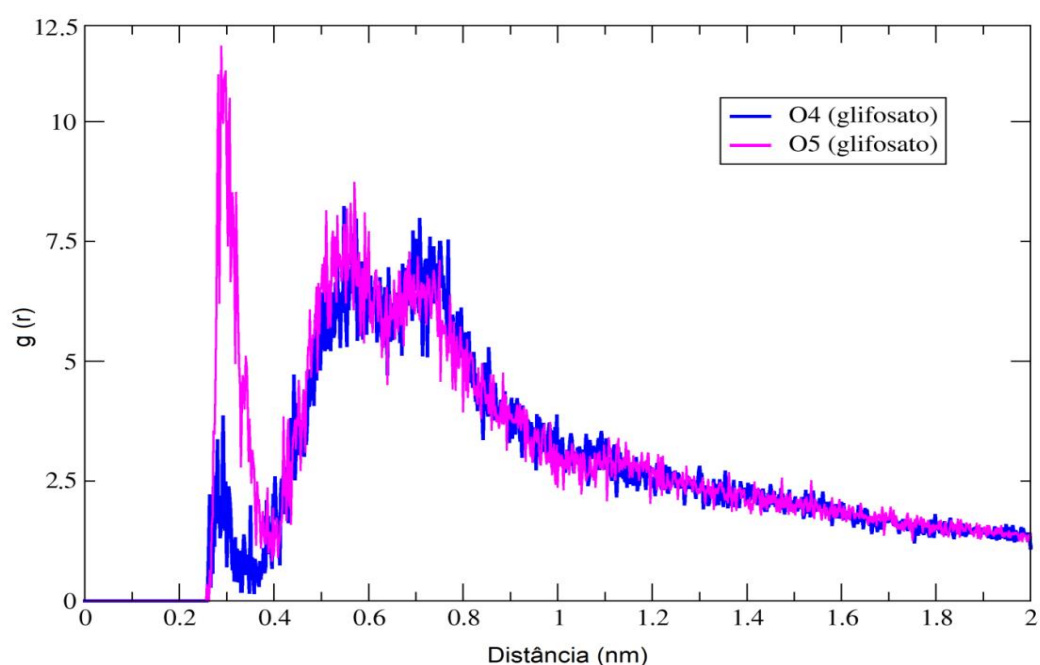
Fonte: Autor

O diagrama da Figura 35 indica uma interação efetiva entre o grupo CO_2^- do glifosato e o grupo NH_3^+ da quitosana, através do primeiro pico azul bem definido, mostrando a predominância da distância média entre o átomo de

oxigênio O4 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.

A Figura 36 apresenta um diagrama com a média das distâncias entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.

Figura 36 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.

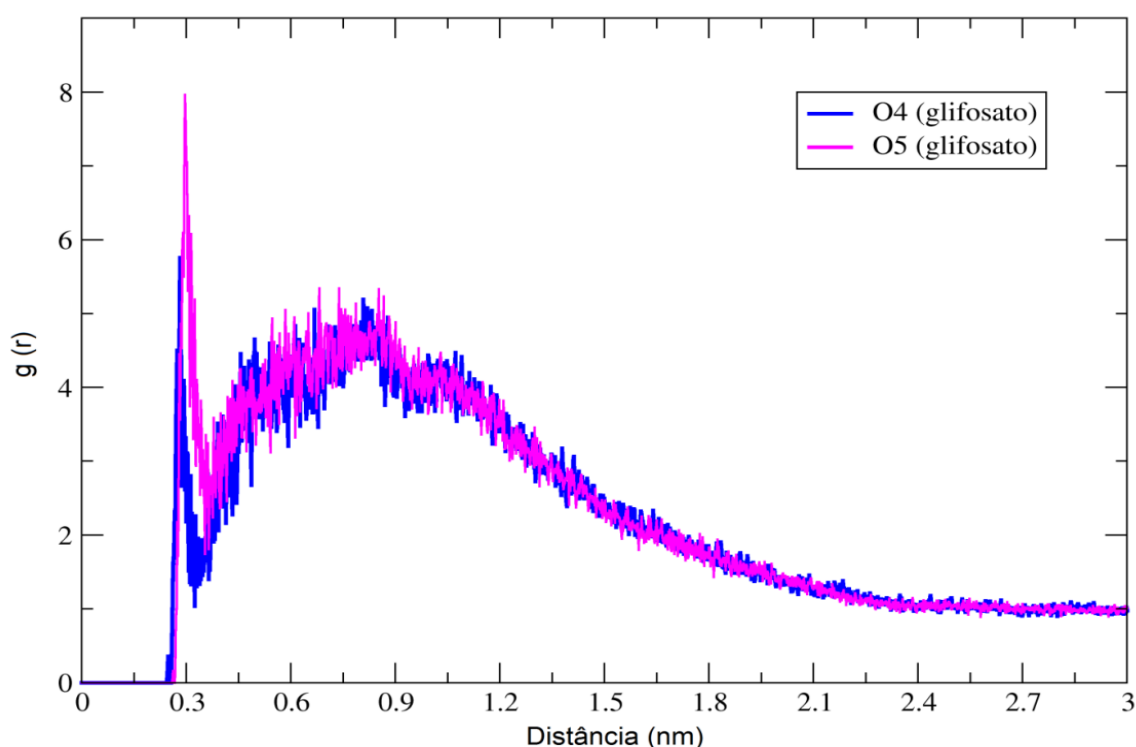


Fonte: Autor

A Figura 36 apresenta a ocorrência de maior efetividade da interação entre o átomo de oxigênio O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana. Porém a interação ocorre em menor quantidade quando comparada ao grupo NH_3^+ da quitosana (Figura 34), o que já era esperado, de acordo com a informação obtida no diagrama da Figura 31, onde ocorre maior número de interações de hidrogênio do grupo CO_2^- do glifosato com os grupos NH_3^+ da quitosana em relação aos grupos N-acetil da quitosana.

Com a finalidade de confirmar a tendência das interações do grupo CO_2^- do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana da Figura 31, a Figura 37 mostra a RDF entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.

Figura 37 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e os átomos de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.



Fonte: Autor

Conforme esperado, a Figura 37 apresentou número inferior de interações com os grupos NH_2 da quitosana em relação ao número de interações com os grupos NH_3^+ e N-acetil da quitosana.

As RDFs visualizadas nas Figuras 35, 36 e 37 concordam com os valores das ocorrências de interações de hidrogênio entre o grupo CO_2^- do glifosato e os grupos nitrogenados doadores de hidrogênio da quitosana (Figura 31).

O grupo CO_2^- do glifosato interage intensamente com o átomo de hidrogênio do grupo N-acetil da quitosana, principalmente por haver menor possibilidade de ocorrer impedimento estérico pelo grupo N-acetil (Figura 15). Porém, é importante ressaltar que o grupo NH_3^+ possui interação eletrostática ainda mais intensa, uma vez que possui carga parcial positiva, em função da protonação do grupo amina.

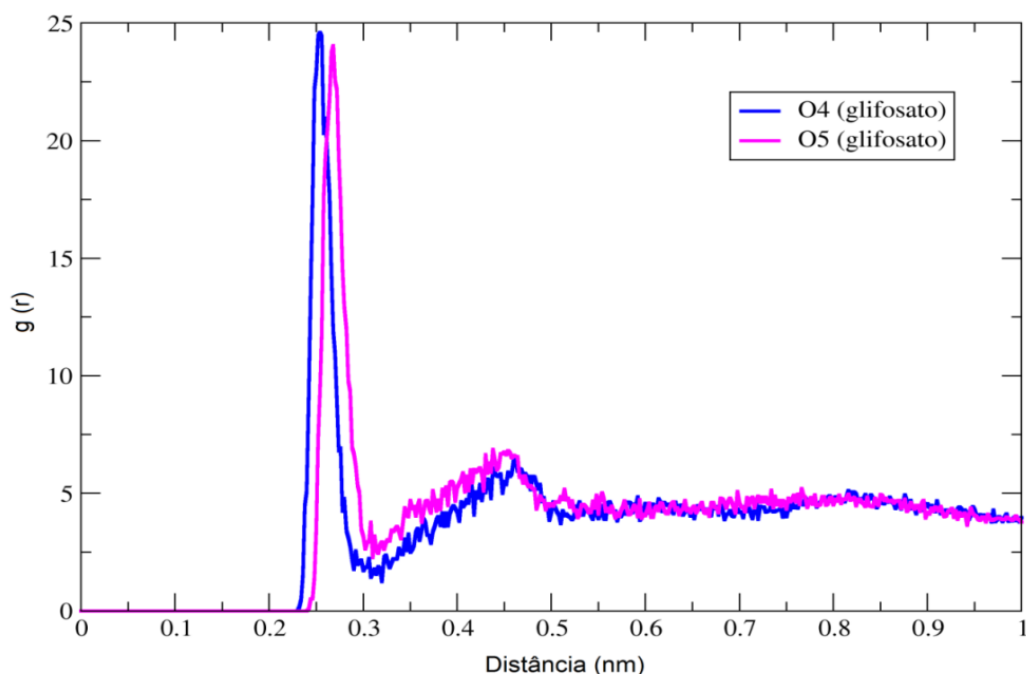
Desta forma, o átomo de hidrogênio do grupo doador NH_3^+ apresenta carga parcial superior ao átomo de hidrogênio doador do grupo N-acetil, e este por sua vez, também apresenta carga parcial superior ao átomo de hidrogênio do grupo NH_2 . Além disso, os grupos N-acetil estão mais disponíveis estericamente. A carga parcial do átomo de hidrogênio do grupo N-acetil da quitosana é intensificada pelo grupo C=O , que atrai os elétrons para si.

Porém, o grupo NH_3^+ possui hidrogênio com maior carga parcial por se encontrar protonado e estes valores eletrostáticos mencionados estão relacionados aos efeitos indutivos quânticos presentes no campo de força.

A fim de analisar as interações do grupo CO_2^- do glifosato com as hidroxilas ($\text{OH}'\text{s}$) da quitosana, as Figuras 38 e 39 mostram as RDFs entre o grupo CO_2^- do glifosato e as hidroxilas primárias (O6) e secundárias (O3) da quitosana, respectivamente.

A Figura 38 apresenta a média das distâncias específicas entre os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária da quitosana, e, portanto, mais disponível estericamente.

Figura 38 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da quitosana.

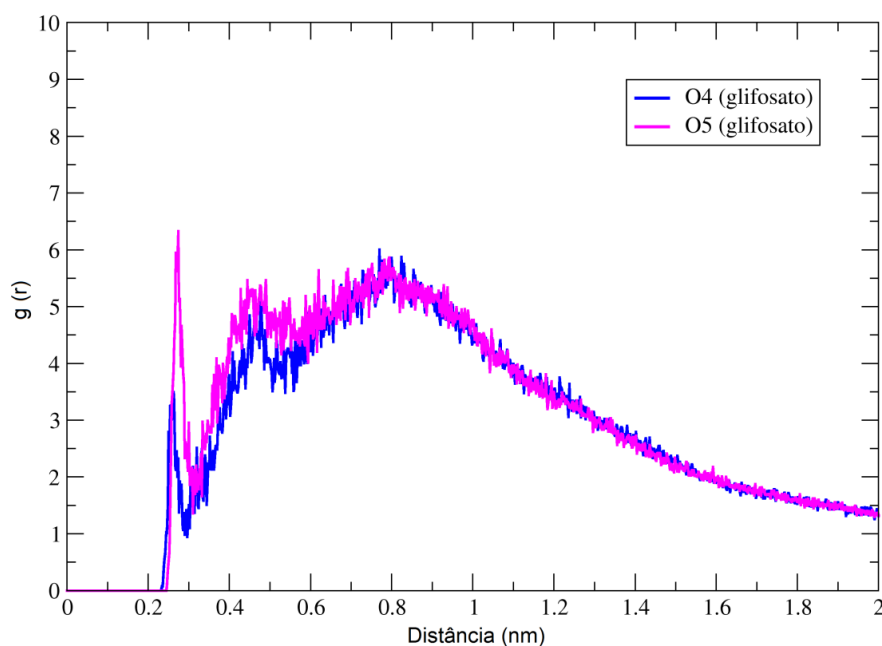


Fonte: Autor

O diagrama da Figura 38 indica uma forte interação entre o grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária da quitosana. Os dois picos similares e bem definidos mostram que os dois átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato interagem na mesma proporção com a hidroxila primária da quitosana.

O átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária apresenta maior disponibilidade espacial em comparação com as outras hidroxilas da quitosana (Figura 15), uma vez que se trata da hidroxila mais afastada do filamento. A Figura 39 apresenta a média das distâncias entre os átomos de oxigênio do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana.

Figura 39 – Função de distribuição radial de pares (RDF) entre os átomos de oxigênio O4 e O5 do grupo CO_2^- do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana.

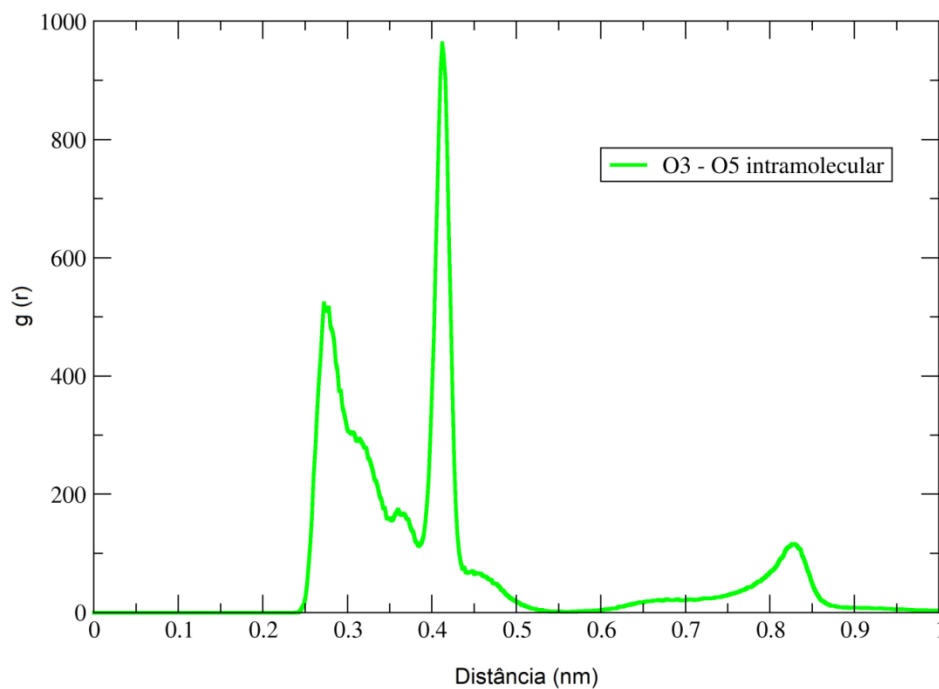


Fonte: Autor

O oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana possui fraca interação com o glifosato, provavelmente devido a impedimentos estereoquímicos, e devido ao fato deste oxigênio realizar interação intramolecular com o átomo de oxigênio O5, do tipo $\text{O3-HO3}\cdots\text{O5}$, conforme evidenciado por Franca, 2008 ¹¹⁰. O cálculo da função de distribuição radial de pares entre os átomos O5 e O3 da quitosana justifica a ocorrência da interação intramolecular entre os dois átomos (Figura 40).

A Figura 40 mostra a ocorrência das interações intramoleculares do tipo $\text{O3-HO3}\cdots\text{O5}$ na quitosana, uma vez que predominam duas distâncias entre os dois átomos, aproximadamente 0,28 nm e 0,41 nm. O primeiro valor indica a ocorrência da interação intramolecular de hidrogênio, o segundo indica a periodicidade desses grupos ao longo da cadeia polimérica. Isto acontece porque a interação intramolecular do tipo $\text{O3-HO3}\cdots\text{O5}$ está equidistante de outras duas ligações paralelas, Figura 41 ¹¹⁰.

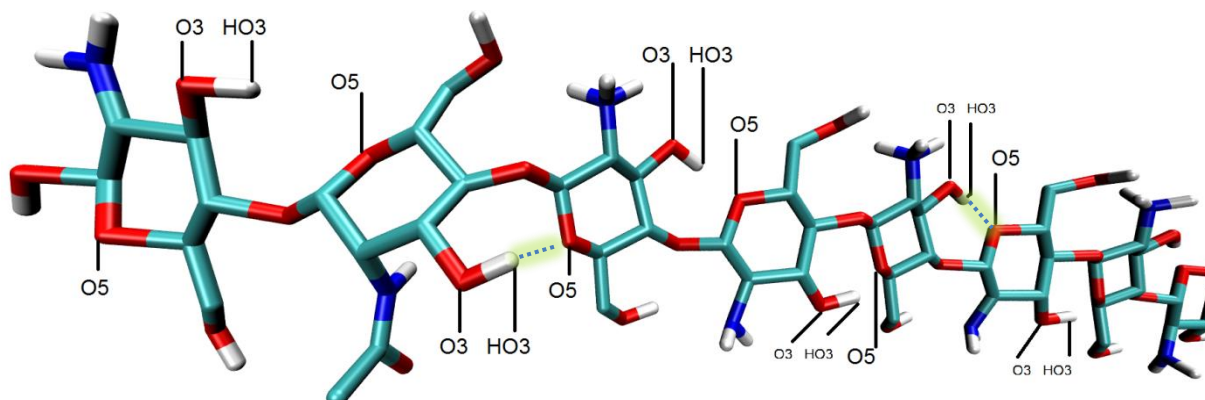
Figura 40 - Função de distribuição radial de pares entre o átomo O3 e o átomo O5 da quitosana.



Fonte: Autor

A ocorrência das interações intramoleculares do tipo O3–HO3...O5 na quitosana está ilustrada na Figura 41.

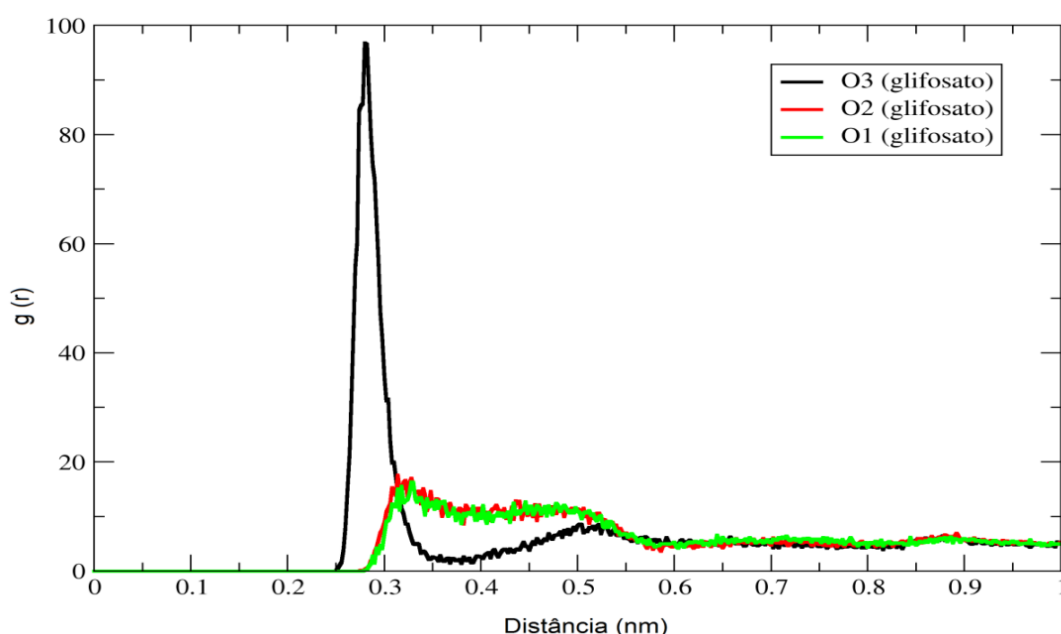
Figura 41 - Imagem representativa da quitosana com destaque na interação intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila O3 e o átomo O5.



Fonte: Autor, através do programa Visual Molecular Dynamics (VMD) ³⁶.

Para a análise da efetividade das interações do grupo PO_3^{2-} do glifosato com os grupos doadores de hidrogênio da quitosana, foram também realizados cálculos com a função de distribuição radial de pares atômicos, avaliando assim, as distâncias médias entre as partículas interagentes ao longo da trajetória. A Figura 42 apresenta o diagrama com a média das distâncias entre os átomos de oxigênio do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.

Figura 42 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana.

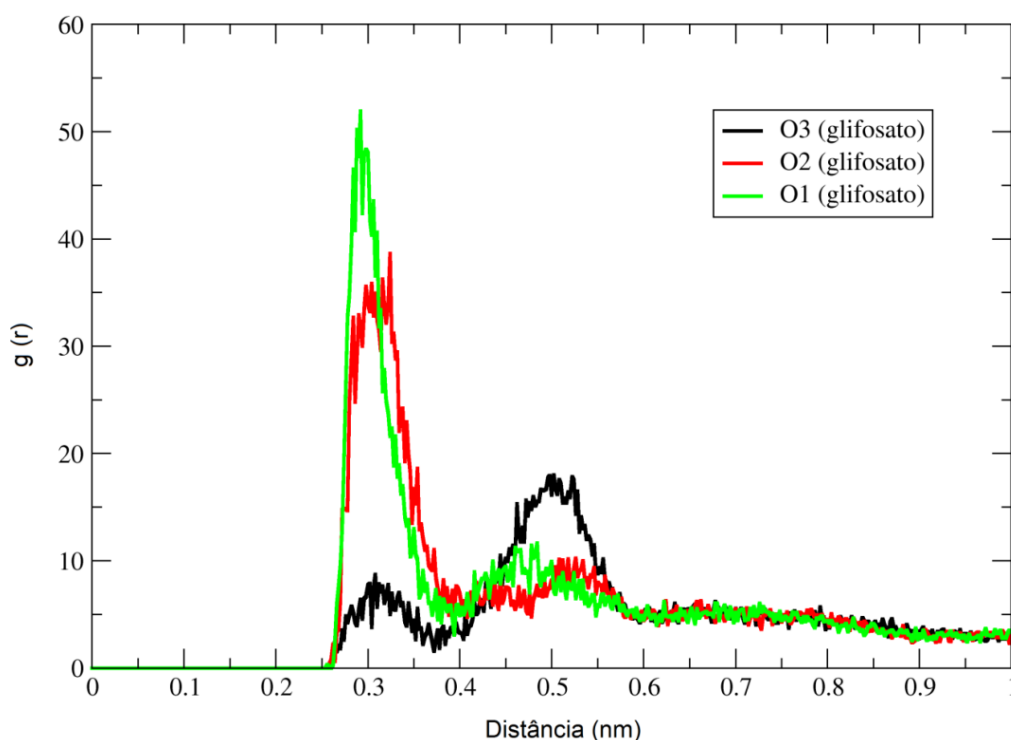


Fonte: Autor

A Figura 42 apresenta intensa efetividade da interação entre o átomo de oxigênio O3 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana. O grupo NH_3^+ interagiu mais efetivamente com o grupo PO_3^{2-} do que com o grupo CO_2^- do glifosato, o que pode ser explicado em termos eletrostáticos, uma vez que o grupo PO_3^{2-} possui um oxigênio a mais, o que avulta sua eletronegatividade e, além disso, possui dois átomos de oxigênio desprotonados, enquanto o outro grupo possui apenas um átomo de oxigênio desprotonado.

Para analisar a condição das interações dos grupos nitrogenados da quitosana seguirem a mesma tendência com o grupo CO_2^- e PO_3^{2-} do glifosato, a Figura 43 mostra a distância média entre os átomos de oxigênio do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.

Figura 43 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo N-acetil da quitosana.



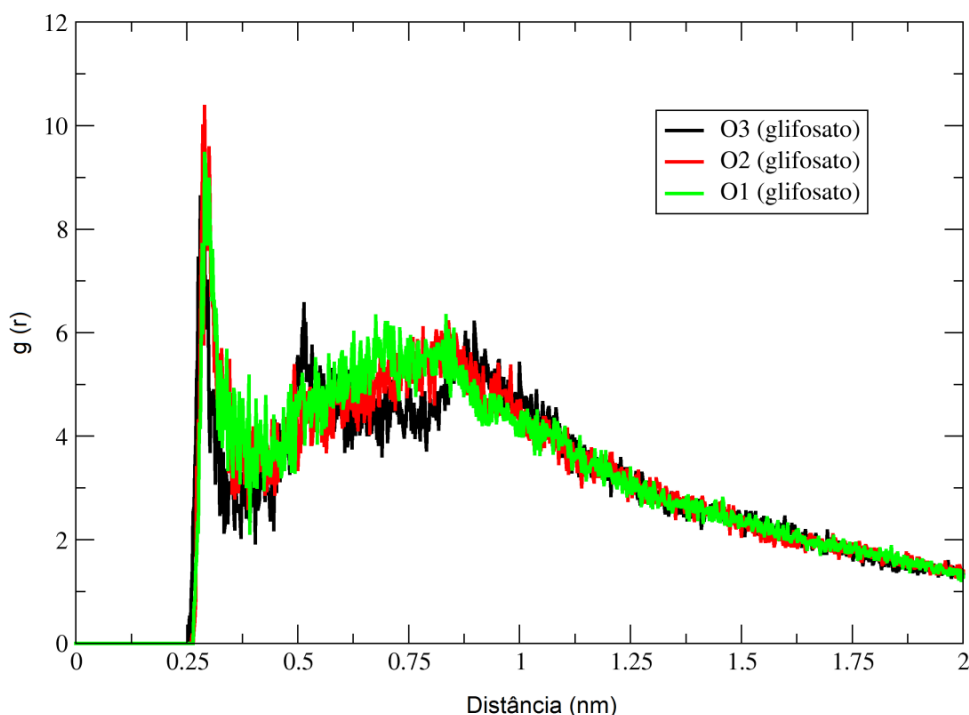
Fonte: Autor

A análise das Figuras 42 e 43 permitem a afirmação de que o grupo NH_3^+ interage mais fortemente com o grupo PO_3^{2-} , isto ocorre devido à interação eletrostática entre os grupos, mesmo que o grupo N-acetil se encontre “mais livre”, espacialmente, para interagir com o glifosato.

O grupo NH_3^+ da quitosana, assim como observado na interação com o outro grupo aceptor do glifosato, CO_2^- , corresponde ao melhor grupo doador de hidrogênio do biopolímero.

A Figura 44 mostra a distância entre os átomos de oxigênio do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.

Figura 44 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_2 da quitosana.



Fonte: Autor

As interações do grupo PO_3^{2-} do glifosato com o grupo NH_2 da quitosana foram pouco significativas em comparação com os demais grupos nitrogenados. Isto pode ser explicado pela maior condição eletrostática do grupo NH_3^+ e pela melhor disponibilidade estérica do grupo N-acetil em comparação ao grupo NH_2 do biopolímero.

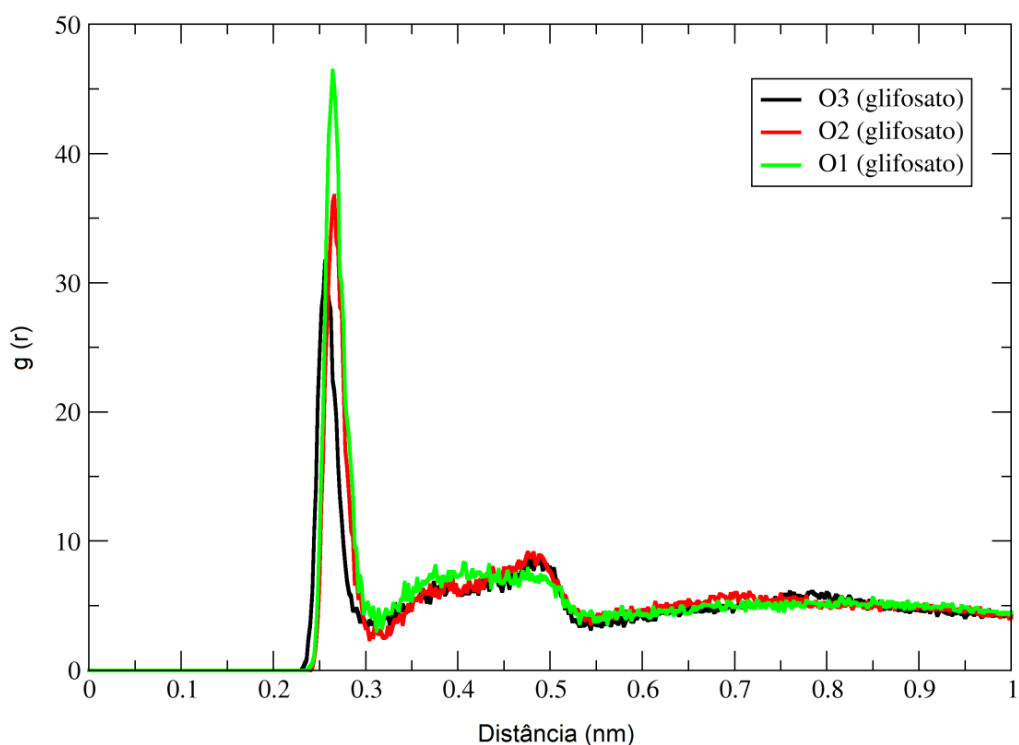
A quantidade de ocorrências de interações de hidrogênio apresentadas na Figura 32 concorda de forma exata com as interações do grupo PO_3^{2-} do glifosato com os grupos nitrogenados da quitosana.

Para analisar as interações do grupo PO_3^{2-} do glifosato com as hidroxilas (OH's) da quitosana, as Figuras 45 e 46 mostram as distâncias entre os grupos

PO_3^{2-} do glifosato e os átomos O6, das hidroxilas primárias, e O3, das hidroxilas secundárias da quitosana, ao longo da trajetória.

O gráfico da distribuição radial de pares da Figura 45 mostra a média das distâncias específicas entre os átomos de oxigênio do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária da quitosana.

Figura 45 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de oxigênio O6 da hidroxila primária da quitosana.

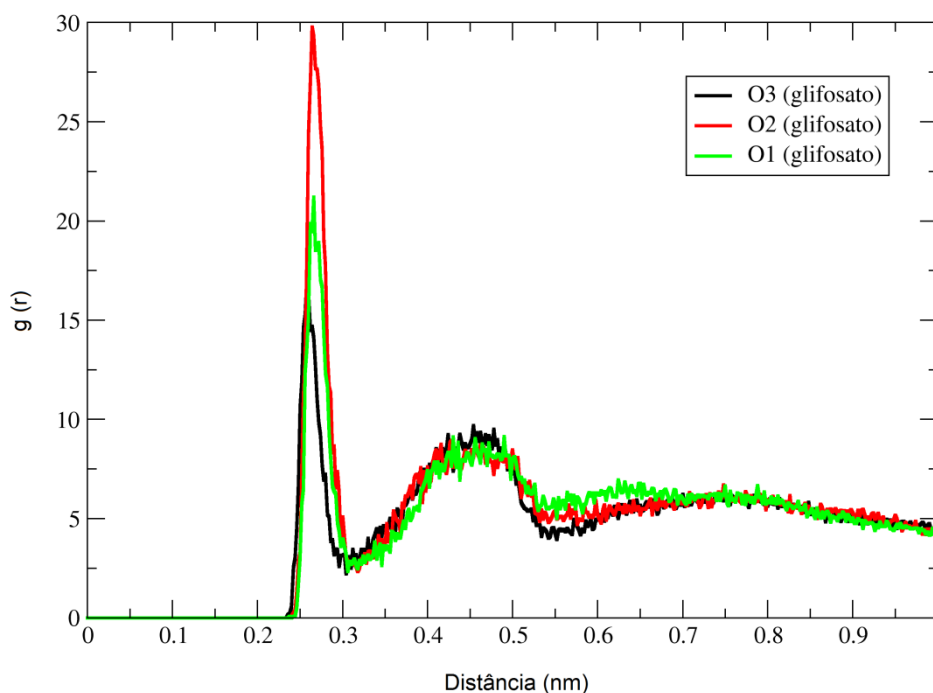


Fonte: Autor

Conforme esperado, o grupo PO_3^{2-} do glifosato segue a mesma tendência que o grupo CO_2^- ao interagir com a hidroxila mais disponível da quitosana, Figura 15. Sendo esta interação mais efetiva com o grupo PO_3^{2-} do que com o grupo CO_2^- .

O gráfico da distribuição radial de pares da Figura 46 mostra a interação do grupo PO_3^{2-} do glifosato com o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana (Figura 15).

Figura 46 - Função de distribuição radial de pares entre os átomos de oxigênio O3, O2 e O1 do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da hidroxila secundária da quitosana.



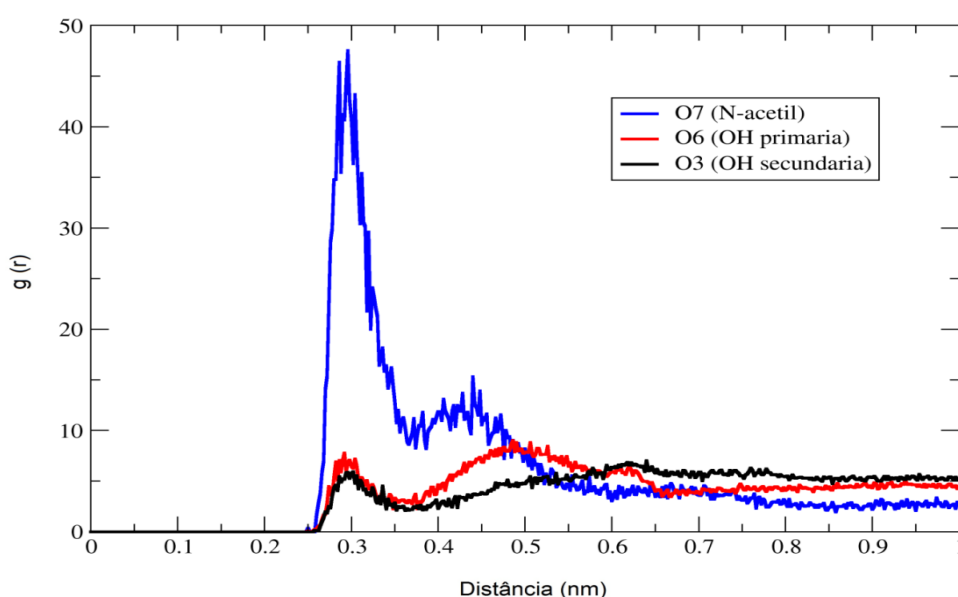
Fonte: Autor

A interação do grupo PO_3^{2-} do glifosato com a hidroxila secundária da quitosana foi tão significativa que acena a ocorrência do rompimento da interação intramolecular do tipo $\text{O3-HO3}\cdots\text{O5}$ (Figura 41). Por isso, o átomo de oxigênio O5 se manteve na cadeia glicosídica sem interagir de forma intramolecular com o átomo O3 do monômero vicinal e de forma intermolecular com o herbicida glifosato. A hidroxila secundária da quitosana (O3) não é tão disponível para interagir com o herbicida quanto a hidroxila primária do átomo O6, conforme já analisado com o grupo CO_2^- do glifosato (Figura 39). A Figura 46 comprova este fato, por haver menor distância média entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de oxigênio O3 da quitosana. Porém, a distribuição espacial do oxigênio O3 ao redor do PO_3^{2-} foi expressiva, sugerindo a maior capacidade

do grupo PO_3^{2-} em atuar como acceptor de hidrogênio em relação ao grupo CO_2^- . Portanto, conforme esperado, o grupo PO_3^{2-} do glifosato segue a mesma tendência que o grupo CO_2^- ao interagir com a quitosana, prioritariamente com a hidroxila mais disponível (hidroxila primária do átomo O6), Figura 15. Assim sendo, o grupo PO_3^{2-} possui maior capacidade de interações que o grupo CO_2^- , isto pode ser justificado pela maior força eletrostática do grupo PO_3^{2-} .

O grupo NH_2^+ do glifosato corresponde ao único grupo doador de hidrogênio para interação intermolecular. Este grupo não interage efetivamente com os grupos nitrogenados da quitosana, uma vez que os grupos nitrogenados da quitosana (NH_3^+ , N-acetil e NH_2) também atuam como grupos doadores de hidrogênio, e possuem carga parcial positiva, resultando em repulsão eletrostática. Sendo assim, o grupo NH_2^+ do glifosato interage preferencialmente com os átomos de oxigênio da quitosana. Para isso, o gráfico da distribuição radial de pares da Figura 47 apresenta a média das distâncias específicas entre o átomo de nitrogênio do grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos de oxigênio O7, O6 e O3 (do grupo N-acetil, da hidroxila primária e da hidroxila secundária da quitosana, respectivamente).

Figura 47 – Função de distribuição radial de pares entre o átomo de nitrogênio do grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos O7, O6 e O3 da quitosana.



Fonte: Autor

A análise com a média das distâncias entre o grupo NH_2^+ do glifosato e os átomos de oxigênio ao longo da trajetória, Figura 47, apresentou um dado interessante que já podia ser esperado de acordo com o cálculo das interações de hidrogênio visualizado na Figura 34. A interação efetiva com o átomo de oxigênio O7 do grupo N-acetil ocorreu de forma bastante evidente em comparação aos grupos hidroxilas da quitosana. O átomo de oxigênio O7 possui elevada disponibilidade em realizar interações com o glifosato por estar mais afastado da cadeia do biopolímero e, portanto, possui o mínimo de impedimento estereoquímico causado por átomos vicinais, e com isso, possui uma área acessível considerável, atuando como o grupo aceptor mais disponível para a realização de interações de hidrogênio com o solvente e/ou glifosato.

As interações do grupo NH_2^+ do glifosato com as hidroxilas O6 e O3 (vermelho e preto, respectivamente) são muito próximas, seguindo o previsto, já que ambas as hidroxilas são semelhantes em relação às cargas atômicas parciais, porém a hidroxila do oxigênio O3 apresenta um pico menor, o que é esperado, por ser uma hidroxila secundária e revelar condição estérica menos privilegiada em relação à hidroxila primária, além de realizar interação intramolecular do tipo $\text{O3-HO3}\cdots\text{O5}$ (Figura 41).

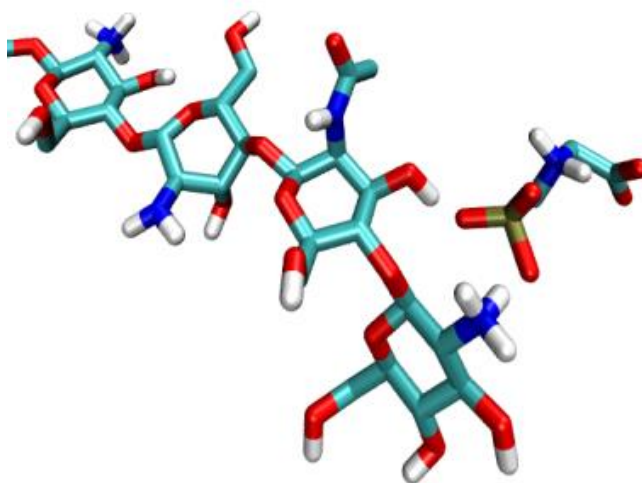
6.5. Cálculo da força de interação entre um filamento de quitosana e o herbicida glifosato

O cálculo da força de interação entre as duas espécies químicas foi realizado através da aplicação de uma força aos átomos do herbicida glifosato. A trajetória mostrada através do programa VMD, Figura 48, apresenta claramente as interações das moléculas, através da força provocada no glifosato para afastá-lo da quitosana (pulling).

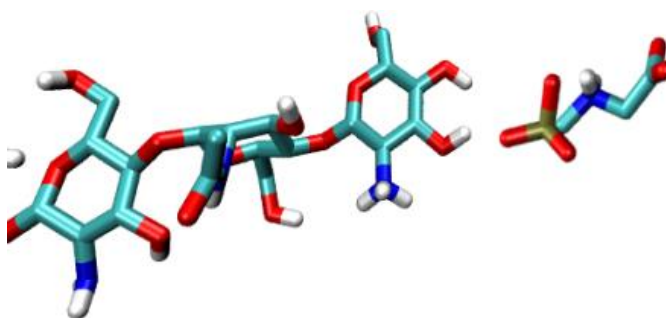
Os resultados do item 5.4 mostraram que a interação de maior ocorrência está entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e o grupo NH_3^+ da quitosana, por isso, a realização do afastamento do herbicida no momento da ocorrência desta interação intermolecular.

Figura 48 – Afastamento entre o herbicida glifosato e a quitosana: a) após 1000 ps; b) após 1600 ps; c) após 1990 ps.

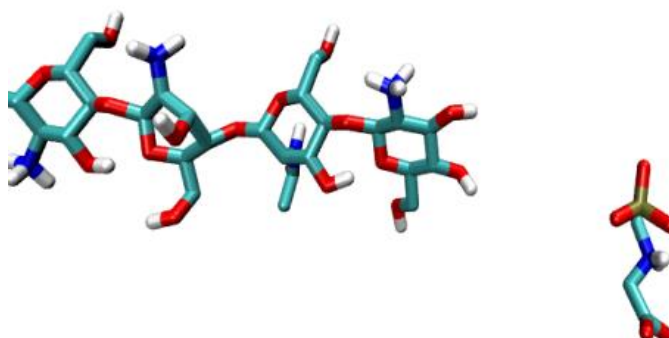
a)



b)



c)



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

A Figura 48 apresenta 3 instantes do afastamento entre o herbicida glifosato e o filamento de quitosana. Uma força atua sobre o herbicida desde o

início da simulação, porém, em 1000 ps de simulação, como visto no item “a”, ainda não houve a ocorrência do afastamento entre as duas moléculas.

O rompimento da interação amino-fosfato pode ser percebido no item “b”, em 1600 ps, em seguida, pode-se visualizar a ocorrência de uma possível formação de interação entre o glifosato e uma hidroxila secundária da quitosana. Já no item “c”, após 1990 ps, o herbicida se encontra totalmente afastado do biopolímero, uma vez que não ocorre mais interação entre ambos, com distância de 8,09 Å entre o átomo de fósforo do glifosato e o átomo de oxigênio da hidroxila da quitosana (Tabela 6).

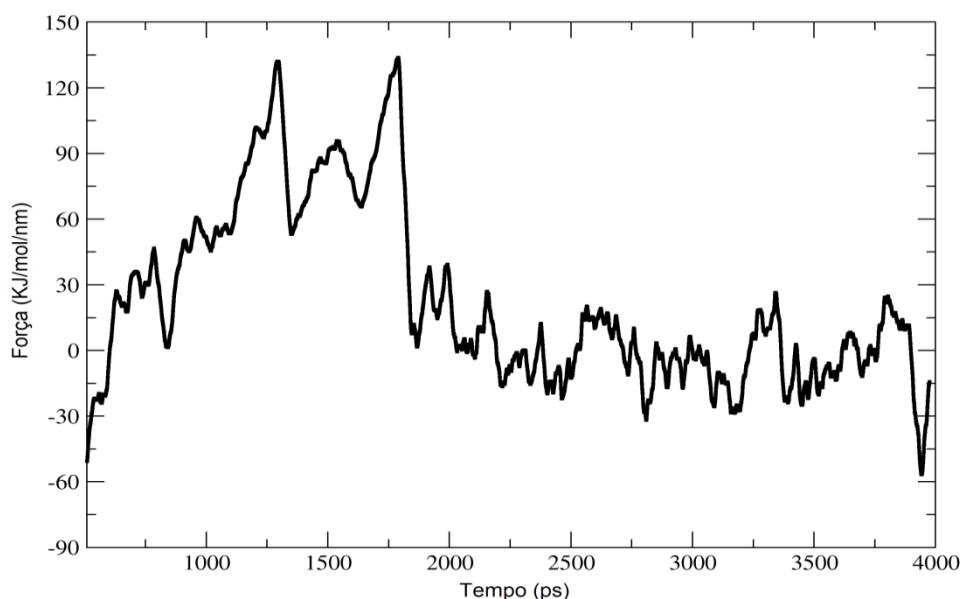
Tabela 6: Distância das ligações entre o átomo de fósforo do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo de nitrogênio do grupo NH_3^+ da quitosana, e entre o átomo de fósforo do grupo PO_3^{2-} do glifosato e o átomo O6 da hidroxila secundária da quitosana, com os respectivos intervalos de tempo ao longo da trajetória.

Distância:	P→N	P→OH
$t_a = 1000 \text{ ps}$	0,371 nm	0,543 nm
$t_b = 1600 \text{ ps}$	0,650 nm	0,381 nm
$t_c = 1990 \text{ ps}$	1,180 nm	0,890 nm

A Tabela 6 evidencia a ocorrência da interação efetiva entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e a hidroxila secundária da quitosana, após o rompimento da interação com o grupo NH_3^+ da quitosana, uma vez que a distância entre o átomo de fósforo do glifosato diminui para 3,81 Å em 1600 ps de simulação, sendo que a interação ocorre entre o átomo de oxigênio ligado ao fósforo e o átomo de hidrogênio do grupo NH_3^+ .

O diagrama com o aumento gradual da força aplicada para afastar o herbicida do filamento de quitosana, Figura 49, indica os momentos que ocorrem os rompimentos das interações intermoleculares.

Figura 49 – Gráfico com a força média exercida no herbicida glifosato para afastá-lo da quitosana em função do tempo em ps.



A Figura 49 mostra a força inicial insuficiente para afastar o herbicida da quitosana, sendo necessário o aumento gradativo da força, até que no tempo de 1300 ps de simulação o grupo PO_3^{2-} do herbicida se desprende do grupo NH_3^+ do biopolímero, com uma força média de afastamento igual a 132,142 kJ/mol.nm.

A formação da interação intermolecular entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e a hidroxila secundária identificada na Figura 48 é então confirmada na Figura 49, pois após o rompimento da interação intermolecular identificada no primeiro pico do diagrama, percebe-se o aumento gradativo da força para afastar o herbicida, até ocorrer a 2ª queda no gráfico em 1783 ps de simulação, indicando o rompimento de mais uma interação intermolecular efetiva, com força média aplicada de 133,959 kJ/mol.nm para separar a hidroxila do fosfato.

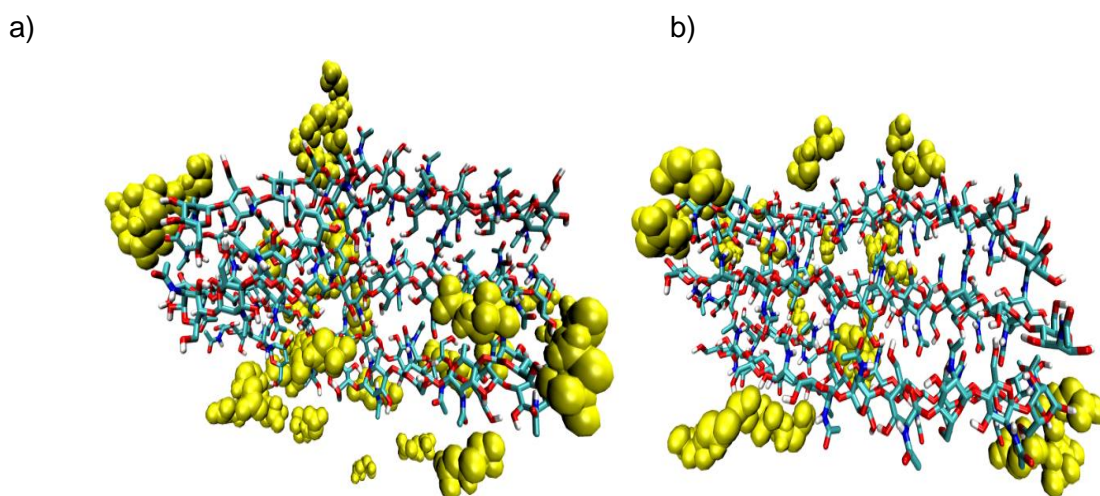
Desta forma, a intensidade da força de interação entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e o grupo NH_3^+ da quitosana foi análoga à força de interação entre o grupo PO_3^{2-} do glifosato e as 2 hidroxilas secundárias da quitosana.

6.6. *Análise das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitina com 42 moléculas de glifosato*

A análise das trajetórias dos dois sistemas, α -quitina e β -quitina, permitiu um conhecimento detalhado da influência do herbicida glifosato no comportamento das estruturas em solução aquosa.

Nesta sessão, foi possível verificar que as nanopartículas mantiveram suas estruturas iniciais por um tempo expressivo, sugerindo que a interação entre as fibras de quitina e o herbicida glifosato é significativa. A Figura 50 mostra os sistemas de α -quitina e β -quitina após certo tempo de simulação por dinâmica molecular.

Figura 50 - Sistema contendo as nanopartículas circundadas por moléculas de glifosato: a) α -quitina após 17.570 ps de simulação computacional; b) β -quitina após 18.545 ps de simulação computacional.

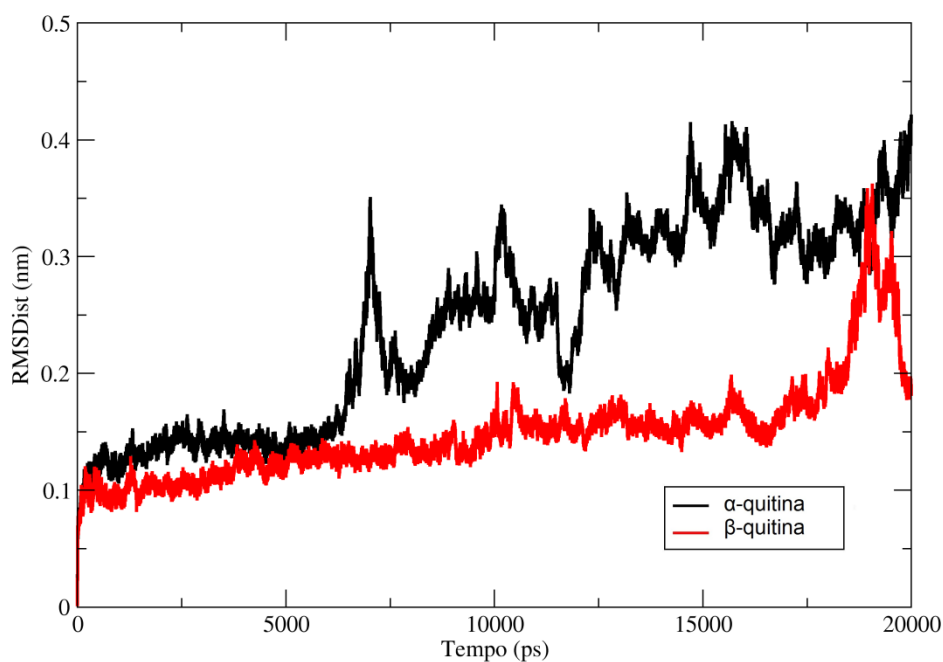


Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

A variação da raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas (RMSDist) em função do tempo, Figura 51, mostra a ocorrência de menor variação das posições de todos os átomos das nanopartículas de quitina em relação às posições iniciais, ou seja, houve menor mobilidade das

estruturas polimórficas de quitina, quando comparada às estruturas analisadas na Figura 26 da seção 6.1, quando não havia moléculas de glifosato.

Figura 51 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitina e β -quitina.



Fonte: Autor, através do programa GROMACS 4.5.4 ¹¹⁹.

O herbicida glifosato operou, portanto, na permanência da estrutura polimórfica das nanopartículas de quitina, o que certifica a efetiva ocorrência de quelação entre as moléculas do herbicida e as nanopartículas de α - e β -quitina.

Uma análise similar, a respeito da influência do herbicida glifosato na conformação das nanopartículas de α - e β -quitosana também foi realizada.

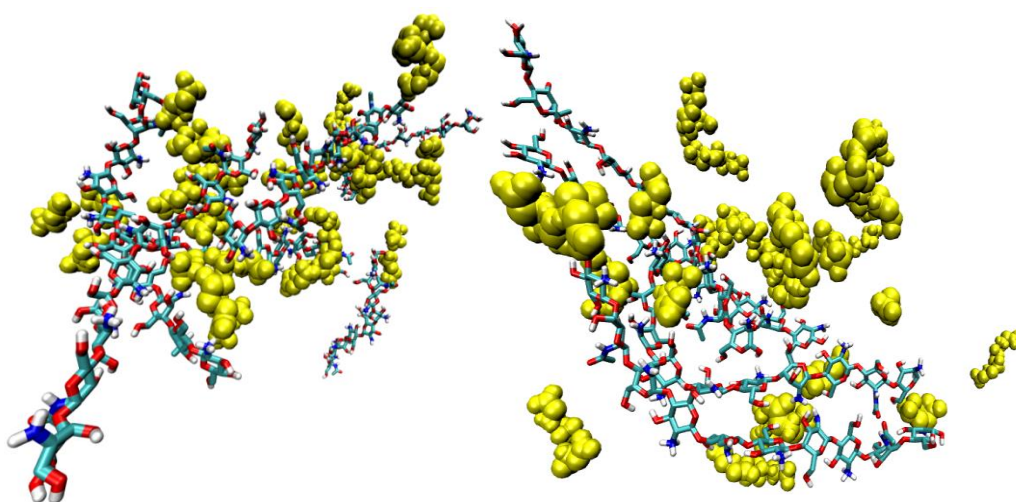
6.7. *Análise das estruturas polimórficas das nanopartículas α - e β -quitosana com 42 moléculas de glifosato*

A Figura 52 mostra o resultado da interação entre as nanopartículas de quitosana e 42 moléculas de glifosato, com o intuito de evidenciar a ocorrência de agregação do biopolímero na presença do herbicida.

Figura 52 - Sistema contendo as nanopartículas circundadas por moléculas de glifosato: a) α -quitosana após 17.570 ps de simulação computacional; b) β -quitosana após 19.495 ps de simulação computacional.

a)

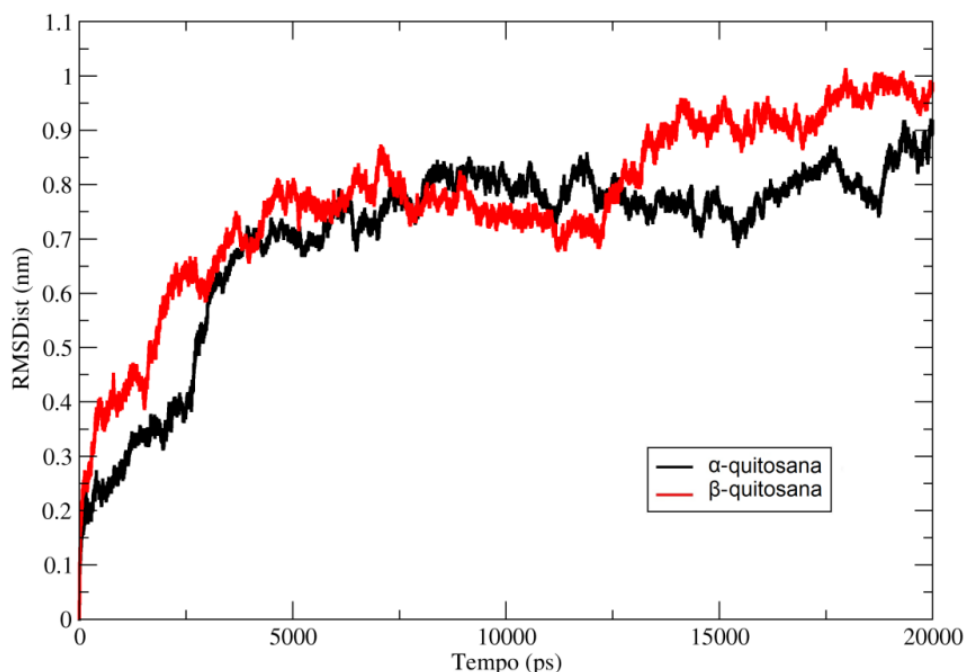
b)



Fonte: Autor, através do programa VMD (Visual Molecular Dynamics) ³⁶.

A análise das trajetórias dos dois sistemas, α -quitosana e β -quitosana, permitiu verificar que as nanopartículas mantiveram suas estruturas próximas e agregadas por mais tempo, ou seja, o herbicida glifosato influenciou na permanência da estrutura polimórfica inicial das nanopartículas. O cálculo da variação das posições atômicas em relação às coordenadas iniciais, Figura 53, confirma a manutenção da estrutura das nanopartículas.

Figura 53 - Evolução temporal da variação das posições atômicas relativas às posições iniciais de todos os átomos de α -quitosana e β -quitosana.



Fonte: Autor, através do programa GROMACS 4.5.4 ¹¹⁹.

A variação da raiz quadrada do desvio quadrático médio das distâncias atômicas em função do tempo (RMSDist), Figura 53, mostrou menor variação das posições atômicas das nanopartículas em relação às coordenadas iniciais quando comparada às estruturas analisadas sem as moléculas de glifosato na seção 6.2, Figura 28, ocorrendo menor mobilidade das estruturas polimórficas e retardando o processo de solubilização da nanopartícula na presença do herbicida. Portanto, o glifosato possui influência na conformação das fibras do polissacarídeo.

7. Conclusões

As simulações por Dinâmica Molecular permitiram a descrição do comportamento microscópico dos filamentos de α - e β - quitina e quitosana, das formas polimórficas de suas nanopartículas em solução aquosa e da influência do herbicida glifosato nas formas polimórficas.

As diferenças estruturais entre as formas polimórficas de quitina e quitosana são significativas, uma vez que o arranjo das cadeias afeta a interação das fibras do polissacarídeo com as moléculas de solvente, especialmente por meio de interações de hidrogênio, influenciando na estabilidade, no processo de entumescimento e na solubilidade dos filamentos.

A α -quitina possui maior estabilidade no seu arranjo linear em comparação com a β -quitina em solução aquosa, o que reflete no processo de entumescimento da fibra, e não na sua perda estrutural, uma vez que a fibra é insolúvel.

As cadeias de quitosana com GA = 20% e pH = 6,5 se tornam solúveis em meio aquoso, perdendo sua estrutura linear e organizada. Desta forma, a solubilidade é mais acentuada para a α -quitosana quando comparada com a β -quitosana.

As simulações por Dinâmica Molecular permitiram a identificação dos grupos funcionais da quitosana responsáveis pelo processo de adsorção do herbicida glifosato. As interações de hidrogênio possuem papel fundamental no processo de adsorção da quitosana com o herbicida glifosato, tão importante quanto as interações eletrostáticas.

O grupo N-acetil da quitosana interagiu significativamente com o herbicida, sugerindo que a quitina pode também interagir com o glifosato na proposta de descontaminação ambiental, por ela possuir maior quantidade de grupos N-acetil.

As aminas protonadas da quitosana apresentaram desempenho adsorptivo considerável quando comparadas às aminas desprotonadas, em função do efeito eletrostático atrativo.

A interação de maior representatividade ocorreu entre os grupos PO_3^{2-} do glifosato e NH_3^+ da quitosana.

O PMF realizado através de DM permitiu o cálculo da intensidade das forças de interação do grupo PO_3^{2-} do glifosato com os grupos NH_3^+ e hidroxila secundária da quitosana.

O herbicida glifosato influencia no arranjo das cadeias polimórficas das nanopartículas de quitina e quitosana. A espécie química é responsável por agregar as cadeias de quitosana, diminuindo a mobilidade e o processo de solubilização das nanopartículas de quitosana. Isto sugere que quitosanas solúveis podem precipitar na presença do herbicida.

As simulações computacionais, utilizando Dinâmica Molecular, realizadas neste trabalho projetam a possibilidade de realizar ações experimentais para a descontaminação ambiental do herbicida glifosato através de quitina/quitosana.

8. Trabalhos Futuros

As sugestões para trabalhos futuros são:

- Estudo quântico das interações entre quitosana e o herbicida;
- Caracterização molecular da adsorção de outros herbicidas como, por exemplo, haloxifop e diclofop, e a descrição do processo adsorptivo por nanopartículas de quitosana;
- Avaliação do efeito da temperatura no empacotamento e orientação das cadeias polissacarídicas e adsorção de herbicidas em nanopartículas de quitina e quitosana;
- Avaliação de outras configurações de protonação/desprotonação dos monômeros ao longo dos filamentos de quitosana;
- Avaliação do efeito do grau de acetilação no empacotamento e orientação das cadeias polissacarídicas e adsorção de herbicidas em nanopartículas de quitina e quitosana;
- Realizar o cálculo PMF para calcular a energia e as forças de interação entre os demais grupos da quitosana/quitina e do glifosato;
- Avaliação do efeito do pH no empacotamento, orientação das cadeias polissacarídicas e adsorção de herbicidas em nanopartículas de quitina e quitosana;

9. Trabalhos Apresentados em Congressos, Premiações e Artigo Submetido

9.1. Trabalhos Apresentados em Congressos

- 2014 - Study of the interaction between chitosan and the glyphosate herbicide using Molecular Dynamics simulation. In: VI SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA (SINPOSPq), 2014, Ribeirão Preto – SP.
- 2014 - Avaliação teórica do efeito do solvente no biossensoramento do herbicida glifosato. In: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (ERSBQ), 2014, Poços de Caldas - MG.
- 2014 - Estudo teórico da força de adsorção do herbicida glifosato por quitosana. In: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (ERSBQ), 2014, Poços de Caldas - MG.
- 2014 – Estudo teórico das estruturas de α - e β -quitosana por dinâmica molecular. In: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (ERSBQ), 2014, Poços de Caldas - MG.
- 2013 - Avaliação do efeito do grau de acetilação na adsorção dos íons Cu^{2+} e Cd^{2+} por quitosana via simulações por Dinâmica Molecular. In: 17º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE QUÍMICA TEÓRICA, 2013, 2013, Angra dos Reis - RJ
- 2013 - Avaliação do efeito do pH na adsorção dos cátions metálicos Cu^{2+} e Cd^{2+} por quitosana via simulações por dinâmica Molecular. In: 17º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE QUÍMICA TEÓRICA, 2013, 2013, Angra dos Reis – RJ.
- 2013 - Estudo teórico do efeito solvente na seletividade de nanobiossensores detectores de herbicidas. In: XXVII Encontro Regional

da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais (ERSBQ-MG), 2013, São João Del Rei - MG.

- 2013 - Estudo das estruturas polimórficas de fibras de quitina em solução aquosa. In: XXVII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais (ERSBQ-MG), 2013, São João Del Rei- MG.

9.2. **Premiações**

2014 - Vencedor do melhor trabalho na área de Ciências Exatas e da Terra do IV Encontro de Iniciação Científica da UFU, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC).

2013 - Menção Honrosa pela apresentação oral do trabalho: "FQT037 - Estudo teórico do efeito do solvente na seletividade de nanobiossensores detectores de herbicidas". Sociedade Brasileira de Química.

9.3. **Artigo Submetido**

2014 - Computational study of polymorphic structures of α - and β - Chitin and Chitosan in aqueous solution. **Computational and Theoretical Chemistry**, Elsevier.

10. Referências Bibliográficas

- 1 MATTOS, M. L. T. et al. Monitoramento ambiental do glyphosate e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. 12: 145 a 154 p. 2002.
- 2 PRATA, F. et al. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003-02.
- 3 DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once in a century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 325, Apr 2008.
- 4 FRANZ, J. E. Discovery, development and chemistry of glyphosate. The Herbicide Glyphosate. **British Library**, n. Grossbard, E.; Atkinson, D., p. 3-17, 1986.
- 5 SPESSARD, G. O. ACD Labs LogP dB 3.5 and ChemSketch 3.5. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 38, n. 6, p. 1250-1253, Nov-Dec 1998.
- 6 OSTERBERG, T.; NORINDER, U. Prediction of drug transport processes using simple parameters and PLS statistics - The use of ACD/logP and ACD/ChemSketch descriptors. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 3, p. 327-337, Jan 2001.
- 7 CARLISLE, S. M.; TREVORS, J. T. Glyphosate In The Environment. **Water Air and Soil Pollution**, v. 39, n. 3-4, p. 409-420, Jun 1988.
- 8 COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H. Metallic complexes with glyphosate: a review. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1038-1045, Nov-Dec 2005.
- 9 CARVALHO, L. B. D. Herbicidas. 1ª ed. Lages, SC: <http://leonardobcarvalho.files.wordpress.com/2013/02/livroherbicidas.pdf> - Internet. Acesso em: 09 Jul. 2014.
- 10 DE AMARANTE, O. P. et al. Glyphosate: Properties, toxicity, use and legislation. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, Jul-Aug 2002.

- 11 HU, Y. S.; ZHAO, Y. Q.; SOROHAN, B. Removal of glyphosate from aqueous environment by adsorption using water industrial residual. **Desalination**, v. 271, n. 1-3, p. 150-156, Apr 15 2011.
- 12 BARREIRA, L. P.; JUNIOR, A. P. **A problemática dos resíduos de embalagens de agrotóxicos no Brasil**. Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, XXVIII. Cancun. p. 1-9, 2002.
- 13 AUGUSTO, L. G. S. et al. Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **Dossiê ABRASCO**, 2012.
- 14 CRUZ, P. Importação de Glifosato "trava" no país. <http://www.paginarural.com.br/noticia/116401/importacao-de-glifosato-quottravaquot-no-pais.>, p. **Reportagem sobre a dificuldade de importação de Glifosato no Brasil**, 2009. Acesso em: 02/12/2014.
- 15 ZACHARIA, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. **Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis** In: University of Dar es Salaam, 2011.
- 16 GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura. **Monsanto do Brasil** p. 66 , São Paulo, 2005.
- 17 DICK, R. E.; QUINN, J. P. Glyphosate-Degrading Isolates From Environmental-Samples - Occurrence And Pathways Of Degradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 545-550, Jul 1995.
- 18 GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup (R) Herbicide. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 167**, v. 167, p. 35-120, 200.
- 19 COCENZA, D. S. et al. Use of Biopolymeric Membranes for Adsorption of Paraquat Herbicide from Water. **Water Air and Soil Pollution**, v. 223, n. 6, p. 3093-3104, Jul 2012.
- 20 GRILLO, R. et al. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: An environmentally safer alternative for weed control. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p. 163-171, Aug 15 2014.

- 21 SILVA, M. D. S. et al. Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, n. 1-3, p. 366-374, Jun 15 2011.
- 22 CELIS, R. et al. Montmorillonite-chitosan bionanocomposites as adsorbents of the herbicide clopyralid in aqueous solution and soil/water suspensions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 209, p. 67-76, Mar 30 2012.
- 23 DE MORAES, M. A. et al. Chitosan and alginate biopolymer membranes for remediation of contaminated water with herbicides. **Journal of Environmental Management**, v. 131, p. 222-227, Dec 15 2013.
- 24 SILVA, M. D. S. et al. EFFECT OF THE ASSOCIATION OF CLOMAZONE IN ALGINATE/CHITOSAN NANOPARTICLES UNDER SOIL SORPTION. **Quimica Nova**, v. 35, n. 1, p. 102-107, 2012.
- 25 WEN, Y. et al. Enantioselective ecotoxicity of the herbicide dichlorprop and complexes formed with chitosan in two fresh water green algae. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 4, p. 879-885.
- 26 CONSTANTINE, C. A. et al. Layer-by-layer self-assembled chitosan/poly(thiophene-3-acetic acid) and organophosphorus hydrolase multilayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 7, p. 1805-1809, Feb 19 2003.
- 27 JAISWAL, M.; CHAUHAN, D.; SANKARARAMAKRISHNAN, N. Copper chitosan nanocomposite: synthesis, characterization, and application in removal of organophosphorous pesticide from agricultural runoff. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 6, p. 2055-2062, Jul 2012.
- 28 CHEN, J. P.; LEE, M. S. ENHANCED PRODUCTION OF SERRATIA-MARCESCENS CHITINASE IN PEG DEXTRAN AQUEOUS 2-PHASE SYSTEMS. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, n. 11, p. 1021-1027, Nov 1995.
- 29 MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. CHITIN AND CHITOSAN, VERSATILE POLYSACCHARIDES FROM MARINE ANIMALS. **Journal of Chemical Education**, v. 67, n. 11, p. 938-942, Nov 1990.

- 30 PERCOT, A.; VITON, C.; DOMARD, A. Optimization of chitin extraction from shrimp shells. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 1, p. 12-18, Jan-Feb 2003.
- 31 EINBU, A. et al. Solution properties of chitin in alkali. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 5, p. 2048-2054, Sep-Oct 2004.
- 32 CAMPANA, S. P. et al. Extraction, structures and properties of alpha- and beta-chitin. **Quimica Nova**, v. 30, n. 3, p. 644-650, May-Jun 2007.
- 33 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.
- 34 RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, Jul 2006.
- 35 ZHANG, M. et al. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx Mori*) pupa exuvia. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 27, n. 1, p. 99-105, Mar 16 2000.
- 36 HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, v. 14, n. 1, p. 33-38, Feb 1996.
- 37 XU, J. et al. Chitosan film acylation and effects on biodegradability. **Macromolecules**, v. 29, n. 10, p. 3436-3440, May 6 1996.
- 38 RINAUDO, M.; MILAS, M.; LEDUNG, P. CHARACTERIZATION OF CHITOSAN - INFLUENCE OF IONIC-STRENGTH AND DEGREE OF ACETYLTATION ON CHAIN EXPANSION. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 15, n. 5, p. 281-285, Oct 1993.
- 39 BERTH, G.; DAUTZENBERG, H. The degree of acetylation of chitosans and its effect on the chain conformation in aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, n. 1, p. 39-51, Jan 2002.
- 40 KASAAI, M. R. Various Methods for Determination of the Degree of N-Acetylation of Chitin and Chitosan: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1667-1676, Mar 11 2009.

- 41 FRANCA, E. F.; FREITAS, L. C. G.; LINS, R. D. Chitosan Molecular Structure as a Function of N-Acetylation. **Biopolymers**, v. 95, n. 7, p. 448-460, Jul 2011.
- 42 BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF alpha-CHITIN AND CHITOSAN FROM THE SHELLS OF *Macrobrachium rosenbergii*. **Quimica Nova**, v. 31, n. 8, p. 2014-2019, Dec 2008.
- 43 CAMPANA FILHO, S. P. et al. Chitosan preparation involves extracting beta-chitin and alpha-chitin from cephalothorax of shrimp in aqueous solution and adding sodium hydroxide to aqueous solution. **Univ Sao Paulo Usp**, 2011.
- 44 CHANG, K. L. B. et al. Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution. **Carbohydrate Research**, v. 303, n. 3, p. 327-332, Sep 26 1997.
- 45 LIU, X. D. et al. Surface modification of nonporous glass beads with chitosan and their adsorption property for transition metal ions. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 2, p. 103-108, Aug 2002.
- 46 RINAUDO, M.; PAVLOV, G.; DESBRIERES, J. Solubilization of chitosan in strong acid medium. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, v. 5, n. 3, p. 267-276, 1999.
- 47 ARAUJO, J. V. et al. Preparation and characterization of chitosan-based scaffolds for biomedical applications. **Unknowned**. p. 1005-1009, 2006.
- 48 IMERI, A. G.; KNORR, D. EFFECTS OF CHITOSAN ON YIELD AND COMPOSITIONAL DATA OF CARROT AND APPLE JUICE. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 6, p. 1707-1709, Nov-Dec 1988.
- 49 CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. Quitosana - A fibra do futuro. Fortaleza, **Parque de Desenvolvimento. Tecnológico - PADETEC**, Fortaleza-CE, 1999, p. 124 Ceará, Brasil: 122 p. 1999.
- 50 JAYAKUMAR, R. et al. Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials-A short review. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 227-232, Sep 5 2010.

- 51 WANG, G. H. INHIBITION AND INACTIVATION OF 5 SPECIES OF
FOODBORNE PATHOGENS BY CHITOSAN. **Journal of Food Protection**,
v. 55, n. 11, p. 916-919, Nov 1992.
- 52 KUMAR, M. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive &
Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, Nov 2000.
- 53 Y.LE, S. C.; ANAND, A. R.; HORROCKS. Development of Antibacterial
Polysaccharide Fibbers and their Performance. in **European Conference
on Advances in World Managment**, Amsterdarn, Netherlands 1996.
- 54 OLSEN, R. et al. Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry, Biochemistry,
Physical Properties and Applications. **New York: Elsevier Applied Science**
1989.
- 55 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.
- 56 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, Apr 2012.
- 57 SRINIVASA, P. C.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan - Safe,
ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. **Food Reviews
International**, v. 23, n. 1, p. 53-72, Jan-Mar 2007.
- 58 ELGHAOUTH, A. et al. CHITOSAN COATING EFFECT ON STORABILITY
AND QUALITY OF FRESH STRAWBERRIES. **Journal of Food Science**, v.
56, n. 6, p. 1618-&, Nov-Dec 1991.
- 59 PONNAMPALAM, R. et al. CHITOSAN COATING TO EXTEND THE
STORAGE LIFE OF TOMATOES. **Hortscience**, v. 27, n. 9, p. 1016-1018,
Sep 1992.
- 60 MUZZARELLI, R. A. A. Human enzymatic activities related to the
therapeutic administration of chitin derivatives. **Cellular and Molecular Life
Sciences**, v. 53, n. 2, p. 131-140, Feb 1997.

- 61 ELWAKEEL, K. Z. Removal of Cr(VI) from alkaline aqueous solutions using chemically modified magnetic chitosan resins. **Desalination**, v. 250, n. 1, p. 105-112, Jan 2010.
- 62 KHALID, E. Z. 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. ISSN 0193-2691.
- 63 KNORR, D. Use of Chitin Polymers in Food - A Challenge in Food Research and Development. **Food Technol**, p. 85-97 1984.
- 64 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, Aug 30 2001.
- 65 DEBBAUDT, A. L.; FERREIRA, M. L.; GSCHAUER, M. E. 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.
- 66 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.
- 67 LI, N.; BAI, R. Development of chitosan-based granular adsorbents for enhanced and selective adsorption performance in heavy metal removal. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 10, p. 103-113, 2006.
- 68 ZENG, D.; WU, J.; KENNEDY, J. F. Application of a chitosan flocculant to water treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 1, p. 135-139, Jan 5 2008.
- 69 LU, L. C.; WANG, C. I.; SYE, W. F. Applications of chitosan beads and porous crab shell powder for the removal of 17 organochlorine pesticides (OCPs) in water solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1984-1989, Feb 1 2011.
- 70 NGAH, W. S. W.; TEONG, L. C.; HANAFIAH, M. A. K. M. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1446-1456, Feb 1 2011.

- 71 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, Dec 5 2005.
- 72 FURUSAKI, E. et al. Facile Preparation and Inclusion Ability of a Chitosan Derivative Bearing Carboxymethyl- β -Cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**. 29-34 p. 1996.
- 73 TOFFEY, A. et al. Chitin derivatives .1. Kinetics of the heat-induced conversion of chitosan to chitin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 60, n. 1, p. 75-85, Apr 4 1996.
- 74 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
- 75 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.
- 76 GONSALVES, A. D. A. et al. DIFFERENT STRATEGIES FOR CROSSLINKING OF CHITOSAN. **Quimica Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.
- 77 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.
- 78 ZHENG, S. K. et al. Removal of chlorophenols from groundwater by chitosan sorption. **Water Research**, v. 38, n. 9, p. 2315-2322, May 2004.
- 79 YANG, Z. F. et al. Comment on "Removal of chlorophenols from groundwater by chitosan sorption". **Water Research**, v. 39, n. 1, p. 264-268, Jan 2005.
- 80 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.

- 81 ZHOU, D.; ZHANG, L.; GUO, S. L. Mechanisms of lead biosorption on cellulose/chitin beads. **Water Research**, v. 39, n. 16, p. 3755-3762, Oct 2005.
- 82 BRAGA, J. P. Fundamentos de Química Quântica. **Editora UFV**, p. 272, Viçosa, 2007.
- 83 NORBECK, J. M. MODERN QUANTUM-CHEMISTRY - INTRODUCTION TO ADVANCED ELECTRONIC-STRUCTURE THEORY - SZABO,A, OSTLUND,NS. **American Scientist**, v. 72, n. 2, p. 195-195, 1984.
- 84 SZABO, A.; OSTLUND, N. S. MODERN QUANTUM CHEMISTRY: Introduction to Advanced Eletronic Structure Theory. **McGraw-Hill**, 1st ed. New York, NY, 1989.
- 85 NOSÉ, S. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. **Molecular Physics: An International Journal at the Interface Between Chemistry and Physics**, v. 52, p. 255-268, 1984.
- 86 VANGUNSTEREN, W. F.; BERENDSEN, H. J. C. ALGORITHMS FOR MACROMOLECULAR DYNAMICS AND CONSTRAINT DYNAMICS. **Molecular Physics**, v. 34, n. 5, p. 1311-1327, 1977.
- 87 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.
- 88 KRUGER, P.; LUKE, M.; SZAMEIT, A. SIMLYS - A SOFTWARE PACKAGE FOR TRAJECTORY ANALYSIS OF MOLECULAR-DYNAMICS SIMULATIONS. **Computer Physics Communications**, v. 62, n. 2-3, p. 371-380, Mar 1991.
- 89 GALLAGHER, H. G. et al. A theoretical examination of the molecular packing, intermolecular bonding and crystal morphology of 2,4,6-trinitrotoluene in relation to polymorphic structural stability. **Journal of Materials Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 229-235, Feb 1997.
- 90 DANTEN, Y.; TASSAING, T.; BESNARD, M. Molecular dynamics of monomeric water dissolved in very hydrophobic solvents: the current state of the art of vibrational spectroscopy analyzed from analytical model and MD

- simulations. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 104, n. 42, p. 9415-9427, Oct 26 2000.
- 91 LEACH, R. MOLECULAR MODELLING: Principles and Applications. Second, **Longman Publishers Ltd**, 2001.
 - 92 JENSEN, F. INTRODUCTION TO COMPUTATIONAL CHEMISTRY. **Second** Edition. p. 599. 2008.
 - 93 RATNER, M. A.; SCHATZ, G. C. INTRODUCTION TO QUANTUM MECHANICS IN CHEMISTRY. **Prentice Hall**, First ed. p. 305, 2001.
 - 94 TRSIC, M.; SIQUEIRA PINTO, M. F. **QUÍMICA QUÂNTICA. Fundamentos e Aplicações**. p. 154, 2009.
 - 95 ALCÁCER, L. **Introdução à Química Quântica Computacional**. 2007. 352
 - 96 MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. 1. 2007.
 - 97 ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Phase Transition For A Hard Sphere System. **Journal of Chemical Physics**, v. 27, n. 5, p. 1208-1209, 1957.
 - 98 VERLET, L. COMPUTER EXPERIMENTS ON CLASSICAL FLUIDS .I. THERMODYNAMICAL PROPERTIES OF LENNARD-JONES MOLECULES. **Physical Review**, v. 159, n. 1, p. 98-&, 1967 1967.
 - 99 PILAR, F. L. ELEMENTARY QUANTUM CHEMISTRY. **McGraw-Hill Inc**. Second ed. p. 599, 2001.
 - 100 DAW, M. S.; BASKES, M. I. Semiempirical, Quantum-Mechanical Calculation Of Hydrogen Embrittlement In Metals. **Physical Review Letters**, v. 50, n. 17, p. 1285-1288, 1983.
 - 101 FOILES, S. M.; BASKES, M. I.; DAW, M. S. EMBEDDED-ATOM-METHOD FUNCTIONS For The Fcc Metals Cu, Ag, Au, Ni, Pd, Pt, And Their Alloys. **Physical Review B**, v. 33, n. 12, p. 7983-7991, Jun 15 1986.

- 102 TERSOFF, J. Empirical Interatomic Potential For Carbon, With Applications To Amorphous-Carbon. **Physical Review Letters**, v. 61, n. 25, p. 2879-2882, Dec 19 1988.
- 103 HOOVER, W. G. Canonical Dynamics - Equilibrium Phase-Space Distributions. **Physical Review A**, v. 31, n. 3, p. 1695-1697, 1985.
- 104 LEACH, A. R. **Molecular Modelling. Principles and Applications**. 2nd. Addison Wesley Longman Limited, 2001.
- 105 ATKINS, E. Conformations In Polysaccharides And Complex Carbohydrates. **Journal of Biosciences**, v. 8, n. 1-2, p. 375-387, 1985.
- 106 GMELIN, L. A. Ueber einige merkwürdige, bei der Darstellung des Kaliums nach der Brunner'schen Methode, erhaltene Substanzen. Poggendorfs Annalen der Physik und Chemie. **Physik. Chem.** V. 4, p. 31, 1825.
- 107 COHEN, S.; LACHER, J. R.; PARK, J. D. DIKETOCYCLOBUTENEDIOL. **Journal of the American Chemical Society**, v. 81, n. 13, p. 3480-3480, 1959.
- 108 RAPPE, A. K. et al. UFF, A FULL PERIODIC-TABLE FORCE-FIELD FOR MOLECULAR MECHANICS AND MOLECULAR-DYNAMICS SIMULATIONS. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, n. 25, p. 10024-10035, Dec 2 1992.
- 109 RAPPE, A. K.; COLWELL, K. S.; CASEWIT, C. J. APPLICATION OF A UNIVERSAL FORCE-FIELD TO METAL-COMPLEXES. **Inorganic Chemistry**, v. 32, n. 16, p. 3438-3450, Aug 4 1993.
- 110 FRANCA, E. F. 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, Dec 2008.
- 111 SCOTT, W. R. P. et al. The GROMOS biomolecular simulation program package. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 103, n. 19, p. 3596-3607, May 13 1999.

- 112 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, Oct 2005.
- 113 HINCHLIFFE, A. Molecular Modelling for Beginners. **Wileyblackwell** Second ed., 2008.
- 114 RAPAPORT, D. C. The Art of Molecular Dynamics Simulation. 2nd. **Cambridge University Press**, 2004.
- 115 HINCHLIFFE, A. Molecular Modelling for Beginners. **Wiley**, New York, 2003.
- 116 ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. Computer Simulation of Liquids. **Oxford University Press** 1987.
- 117 TIRONI, I. G. et al. A GENERALIZED REACTION FIELD METHOD FOR MOLECULAR-DYNAMICS SIMULATIONS. **Journal of Chemical Physics**, v. 102, n. 13, p. 5451-5459, Apr 1 1995.
- 118 HESS, B. et al. GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 3, p. 435-447, Mar 2008.
- 119 PRONK, S. et al. GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit. **Bioinformatics**, v. 29, n. 7, p. 845-854, Apr 1 2013.
- 120 BARLETTE, V.; FREITAS, L. Statistical thermodynamics of liquids using the Monte Carlo method. I. Methodology. **Quimica Nova**, v. 22, n. 2, p. 254-262, MAR-APR 1999.
- 121 CUNHA, R. A. et al. The Molecular Structure and Conformational Dynamics of Chitosan Polymers: An Integrated Perspective from Experiments and Computational Simulations. **The Complex World of Polysaccharides.**, v. 1, p. *cap.* 9, 2013.
- 122 ROUX, B. THE CALCULATION OF THE POTENTIAL OF MEAN FORCE USING COMPUTER-SIMULATIONS. **Computer Physics Communications**, v. 91, n. 1-3, p. 275-282, Sep 1995.

- 123 LINDAHL, E.; HESS, B.; VAN DER SPOEL, D. GROMACS 3.0: a package for molecular simulation and trajectory analysis. **Journal of Molecular Modeling**, v. 7, n. 8, p. 306-317, 2001.
- 124 VAN DER SPOEL, D. et al. GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701-1718, Dec 2005.
- 125 VAN DER SPOEL, D.; HESS, B. GROMACS-the road ahead. **Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science**, v. 1, n. 5, p. 710-715, Sep-Oct 2011.
- 126 HESS, B. P-LINCS: A parallel linear constraint solver for molecular simulation. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 1, p. 116-122, Jan 2008. ISSN 1549-9618.
- 127 FROIMOWITZ, M. HYPERCHEM(TM) - A SOFTWARE PACKAGE FOR COMPUTATIONAL CHEMISTRY AND MOLECULAR MODELING. **Biotechniques**, v. 14, n. 6, p. 1010-1013, Jun 1993.
- 128 OGAWA, K.; YUI, T.; OKUYAMA, K. Three D structures of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 34, n. 1-2, p. 1-8, Apr 2004.
- 129 BERMAN, H. M. et al. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235-242, Jan 1 2000.
- 130 BERNSTEIN, F. C. et al. PROTEIN DATA BANK - COMPUTER-BASED ARCHIVAL FILE FOR MACROMOLECULAR STRUCTURES. **Journal of Molecular Biology**, v. 112, n. 3, p. 535-542, 1977.
- 131 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.
- 132 HOCKNEY, R. W. **The potential calculation and some applications.** Methods Comput Phys. 9, p. 136-210, 1970.

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