

Um modelo para simulação de formação de membranas e micelas

Nilzair Barreto Agostinho¹, Diana Francisca Adamatti¹

¹Centro de Ciências Computacionais - FURG)
Campus Carreiros: Av. Itália km 8 Bairro Carreiros

{nilzairmb, dianaada}@gmail.com

Abstract. *This paper describes a model developed in NetLogo software, based on the membrane formation model, which simulates micellar formation with amphiphilic phospholipids in aqueous media with and without addition of salt (NaCl) molecules. This model shows how forces of attraction and repulsion between different types of molecules can result in the formation of structures called micelles and how the temperature change and addition of salt can cause changes in the micellar formation process. As a result of the simulations it can be observed that the addition of salt shake system, preventing the formation of micelles. It has also been observed that the temperature variation practically does not interfere in the system and the variation of the water-oil forces and "water-water" can prevent the formation of micelles or accelerate the formation process.*

Resumo. *Este artigo descreve um modelo desenvolvido no software NetLogo, baseado no modelo de formação de membrana, que simula a formação micelar com fosfolipídeos anfifílicos em meio aquoso com e sem adição de moléculas de sal (NaCl). Este modelo mostra como forças de atração e repulsão entre diferentes tipos de moléculas pode resultar na formação de estruturas denominadas micelas e como a mudança de temperatura e adição de sal pode causar mudanças no processo de formação micelar. Como resultados das simulações pode-se observar que a adição de sal agita o sistema, impedindo a formação das micelas. Observou-se também que a variação de temperatura praticamente não interfere no sistema e a variação das forças "water-oil" e "water-water" podem impedir a formação de micelas ou acelerar o processo de formação.*

1 Introdução

A bicamada lipídica (ou bicamada de fosfolipídeos) é uma fina membrana polar composta por duas camadas de moléculas lipídicas. Estas membranas são folhas planas que formam uma barreira das células. As membranas celulares de quase todos os organismos vivos e muitos vírus são feitas de uma bicamada lipídica, assim como as membranas que cercam o núcleo da célula e outras estruturas sub-celulares [Andersen and Koeppe 2007].

As bicamadas biológicas são geralmente compostas por fosfolipídeos anfifílicos (moléculas possuidoras de regiões distintas e características como hidrofóbicas e hidrofílicas) que possuem uma cabeça de fosfato hidrófilo e uma cauda hidrofóbica constituída por duas cadeias de ácidos gordos. Os fosfolipídeos com certos grupos de cabeças

podem alterar a química superficial de uma bicamada e podem, por exemplo, servir como sinais e "âncoras" para outras moléculas nas membranas das células. Assim como as cabeças, as caudas de lipídios também podem afetar as propriedades da membrana, por exemplo, determinando a fase da bicamada [Andersen and Koeppe 2007].

Muitas destas substâncias anfífilas possuem a característica de modificar as interações interfaciais mediante a promoção dos fenômenos de absorção. Estas são conhecidas como agentes de superfície ou tensoativos. Assim, todos os tensoativos são compostos anfífilos, mas nem todos compostos anfífilos podem ser considerados tensoativos [Arteaga 2006].

Para que um composto possa ser considerado tensoativo é necessário que a molécula possua propriedades relativamente equilibradas, ou seja, que não seja demasiado hidrofílica nem demasiado hidrofóbica, portanto, que possua uma cadeia hidrofóbica de no mínimo 8 átomos de carbono e possuam uma polaridade mínima. Por outro lado estes compostos anfífilos devem possuir a possibilidade de formarem agregados micelares para serem considerados tensoativos [Arteaga 2006].

Em geral, o termo tensoativo se refere a uma propriedade da substância, enquanto que os anfífilos têm muitas outras propriedades e são qualificadas de acordo com as aplicações: sabão, detergente, dispersante, emulsionante, espumante, bactericida, inibidores de corrosão, antiestático e outros. No entanto, há certa tendência em confundir os dois termos. É importante destacar que os tensoativos estão entre os produtos mais usuais e utilizados na tecnologia química moderna [Arteaga 2006].

As membranas biológicas geralmente incluem vários tipos de moléculas diferentes dos fosfolipídios. Um exemplo particularmente importante nas células animais é o colesterol, que ajuda a fortalecer a bicamada e a diminuir sua permeabilidade. O colesterol também ajuda a regular a atividade de certas proteínas da membrana integral [Andersen and Koeppe 2007]. Quando os fosfolipídeos são expostos à água, eles se auto-montam em uma folha de duas camadas com as caudas hidrofóbicas apontando para o centro da folha. Porém, se um lípido particular tiver um desvio muito grande de zero curvatura intrínseca, não formará uma bicamada e, em vez disso, formará outras fases, como micelas ou micelas invertidas [Andersen and Koeppe 2007].

Pode-se verificar que modelos deterministas não proporcionam uma representação adequada dos componentes biológicos, químicos e físicos devido ao grande número de variáveis e fatores envolvidos no sistema em estudo. Modelos estocásticos, como as simulações baseadas em multi-agentes (MABS) que são ferramentas muito flexíveis que permitem a representação de cada indivíduo presente em um sistema, facilitam assim a avaliação de novas hipóteses no modelo. Normalmente, determinísticos apresentam como resultados o comportamento médio de seus componentes. Ao contrário, os modelos MABS podem modelar comportamento individual produzindo muito mais resultados detalhados [Werlang et al. 2014].

O modelo original simula a formação de membranas na água. Ele mostra como simples forças atrativas e repulsivas entre diferentes tipos de moléculas podem resultar em uma estrutura de nível superior. Este é composto pela representação de moléculas de água e fosfolipídeos, e simula a interação entre os mesmos utilizando os valores das forças já descritas anteriormente. Este trabalho propõe simular a formação de micelas

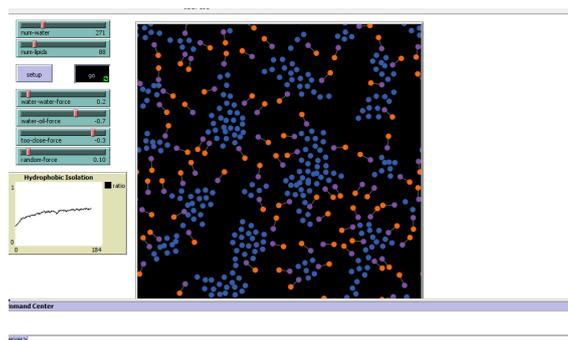


Figura 1. Modelo original de formação de membranas: As moléculas de água são representadas em azul e os lipídeos são representados em laranja

com fosfolipídeos. Esta simulação inclui forças de repulsão e atração, possibilidade do controle da temperatura, e possibilidade de adição de moléculas de sal.

O artigo contém uma sessão de introdução (1), a sessão de metodologia (2) onde é descrito o modelo original e quais métodos foram utilizados para desenvolver o modelo proposto. Logo após temos a sessão de resultados (3) e a conclusão (4).

2 Metodologia

O modelo utilizado como base para desenvolvimento deste trabalho simula a formação de membranas na água. Ele mostra como simples forças atrativas e repulsivas entre diferentes tipos de moléculas podem resultar em uma estrutura de nível superior. Este é composto pela representação de moléculas de água e fosfolipídeos, e simula a interação entre os mesmos utilizando os valores das forças já descritas anteriormente.

O presente trabalho foi baseado no modelo "Membrane Formation" do NetLogo e em conceitos físicos e bioquímicos do processo de formação de membranas e micelas [Bedau et al. 2005]. Os parâmetros que configuram as forças, porcentagens de estabilidade, distância e número de moléculas são calibrados e então a simulação pode ser iniciada. O modelo original está representado na figura 1 mostra como configurar o número de moléculas de água, número de moléculas de lipídeos, a intensidade da força "water-water-force" (Quanto uma molécula deve se mover quando está interagindo com outra molécula do mesmo tipo), a intensidade da força "water-oil-force" (Quanto uma molécula deve se mover quando está interagindo com uma molécula de um tipo diferente), intensidade da força "too-close-force" (Quanto uma molécula deve se mover quando está "muito perto" de outra molécula) e a intensidade da força "random-force" (Cada molécula mover-se-á em uma direção aleatória. Aumentar esse valor agita o sistema).

A simulação é parada se o número de lipídeos e água estáveis alcançou um percentual configurado. Uma molécula de lipídeo alcança a estabilidade se estiver há uma distância "radius" de uma molécula de água, bem como uma molécula de água encontra-se estável se estiver a um raio "radius" de outra molécula de água.

A adição de sal na solução pode impedir a formação micelar e a formação de membranas. Ocorre variações de acordo com o tipo e quantidade de sal adicionado e também de acordo com a quantidade de água presente na solução. Neste trabalho define-se o NaCl como sal que interage na solução. Considerando que 100ml de água dissolve 36g de sal

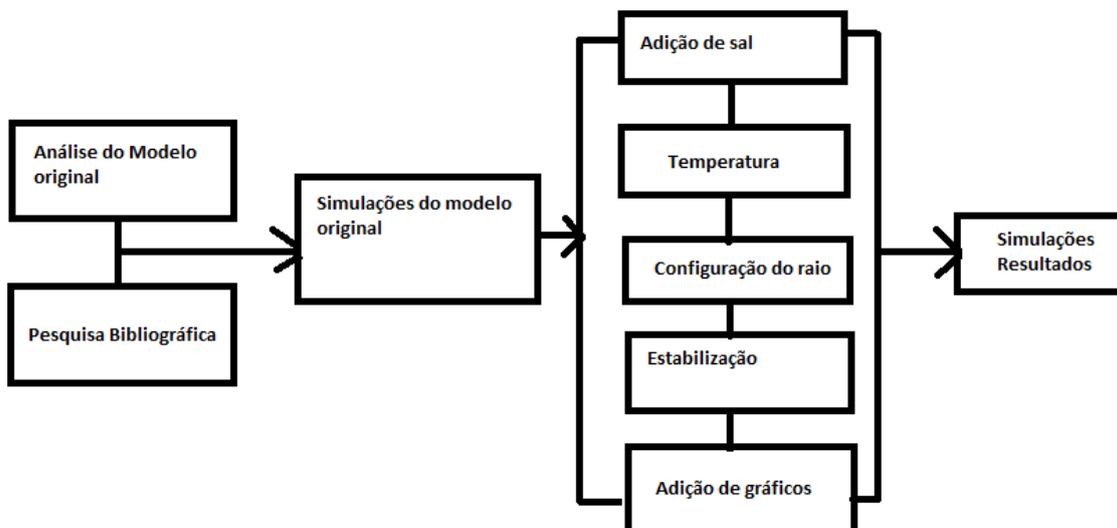


Figura 2. Metodologia: Para o desenvolvimento deste trabalho foram realizadas análises do modelo original e pesquisas bibliográficas, após foi desenvolvido o modelo de formação de micelas de acordo com a síntese indicada no terceiro bloco deste esquema e por fim foram realizadas simulações no modelo novo.

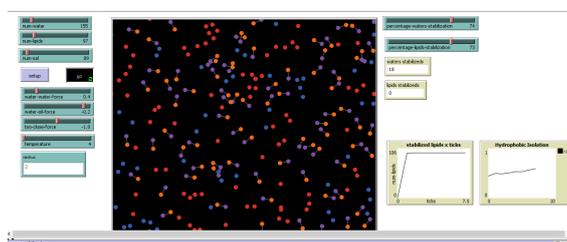


Figura 3. Modelo de formação de micelas

(NaCl) e que um mol qualquer contém $6,02 \cdot 10^{23}$ moléculas, chega-se a que 100ml de água contém $33 \cdot 10^{23}$ moléculas de água e que 36g de NaCl contém $3,7 \cdot 10^{23}$ moléculas de água. Assim sendo, obtém-se a proporção 3.7/33. Esta proporção foi utilizada como limite de solubilidade e ponto de origem para interferência do sal na formação de micelas. O modelo de formação de micelas está representado na figura 3. O esquema representado na figura 2 mostra uma síntese de como foi estruturada a metodologia.

2.1 Características do simulador

- **Fosfolipídios:** São os principais constituintes das membranas biológicas. Seu caráter anfifílico é responsável pelo típico arranjo "bilayer" como base estrutural das membranas biológicas. Além do seu papel estrutural, alguns fosfolipídios têm uma importância funcional significativa [Schiller et al. 2007]. O "slider" numlipids permite controlar o número de fosfolipídeos adicionados à simulação.
- **Moléculas de água:** São moléculas cuja composição química é de duas moléculas

de hidrogênio e de oxigênio formando um solvente que compõem parte do ambiente formador de moléculas e conseqüentemente também de micelas.

- **Sal:** A adição de sal em uma solução com micelas faz com que as mesmas assumam uma forma cilíndrica, o que faz com que elas tenham um movimento mais restrito, aumentando a viscosidade do sistema. Se muito sal for adicionado, ocorrerá a quebra do sistema, reduzindo drasticamente a viscosidade (o efeito do sal nas propriedades do xampú e sua relação com a estrutura micelar) . A agregação de monômeros (monômero é uma pequena molécula que pode ligar-se a outros monômeros formando moléculas maiores denominadas polímeros), em solução aquosa, é denominada de micelização. Este processo espontâneo e altamente cooperativo, por isso adequado para ser simulado em um ambiente multiagentes. A concentração na qual as micelas são formadas é chamada de concentração micelar crítica (CMC). Experimentalmente, a CMC é determinada pelo ponto de inflexão de um gráfico de alguma propriedade física da solução em função da concentração do surfatante. Uma ampla variedade de técnicas envolve medidas de tais propriedades físicas como condutividade elétrica, tensão superficial, fluorescência, viscosidade, espalhamento de luz, etc [Santos 2001]. Neste trabalho utiliza-se a temperatura e adição de sal como modificadores do CMC.
- **”Temperature”:** A variação da temperatura que pode influenciar na formação de agregados micelares, isto é, um aumento da temperatura favorece uma maior solubilidade do surfatante em água e isso faz aumentar a cmc [Santos 2001]. O ”slidertemperature” permite a seleção de um valor de temperature entre 0 e 100.
- **”water-water-force”:** Esta força representa o quanto uma molécula de água deve se mover quando está interagindo com outra molécula do mesmo tipo.
- **”water-oil-force”:** Este valor representa o quanto uma molécula deve se mover quando está interagindo com uma molécula de um tipo diferente.
- **”too-close-force”:** Já este valor indica o quanto uma molécula deve se mover quando está ”muito perto” de outra molécula.
- **”random-force”:** Ao selecionar um valor para este ”slider”, Cada molécula se moverá em uma direção aleatória, esta configuração agita o sistema.
- **”Radius”:** Este campo permite especificar o raio entre as moléculas.
- **”percentage-waters-stabilization”:** Esta opção especifica a percentagem de moléculas de água estabilizadas, ou seja, a porcentagem de moléculas agrupadas entre elas mesmo.
- **”percentage-lipids-stabilization”:** Esta opção especifica a percentagem de moléculas de lipídeos estabilizadas, ou seja, a porcentagem de moléculas de lipídeos que estão a uma raio ”radius” de pelo menos uma molécula de água.
- **”waters stabilized”:** Fornece o número de moléculas de água que alcançou a percentagem de estabilidade especificada.
- **”lipids stabilized”:** Fornece o número de moléculas de lipídeos que alcançou a percentagem de estabilidade especificada.

- **”stabilized lipids x ticks”**: Este gráfico informa o número de lipídeos estabilizados versus os ”ticks”(tempo da simulação). Para efetuar a contagem dos lipídeos estabilizados é medido quantos lipídeos estão a um raio ”radius”da molécula de água e após compara-se esse valor a percentagem definida no campo ”number stabilized lipidis”.
- **”Hydrophobic Isolation”**: O gráfico de isolamento hidrofóbico mostra a percentagem média de vizinhos de cada molécula hidrofóbica que também são hidrofóbicos. Assim, quanto maior, mais moléculas hidrofóbicas são isoladas da água e moléculas hidrofílicas.

2.2 Formação micelar

Micelas não são estáticas, elas existem dentro de uma dinâmica de equilíbrio, simplesmente como um agregado dinâmico. Cada micela é composta por um certo número de moléculas de tensoativo, denominado como número de agregação, que rege geralmente o tamanho e a geometria do sistema micelar. O termo ”micela normal”é utilizado para se referir a agregados de tensoativos em meio aquoso [Maniasso 2001]. Quando se adiciona à água pequenas quantidades de um tensoativo (substância de caráter anfifílico), uma parte é dissolvida como monômero e outra parte forma uma monocamada na interface ar-água. As moléculas da monocamada permanecem em equilíbrio com os monômeros que se formam na solução, e a cada concentração de monômero corresponde uma tensão superficial característica. Quando a concentração de monômero atinge um valor crítico que determina a saturação na interface, desencadeia-se o processo de formação espontânea de agregados moleculares (micelas) [Rossi et al. 2006].

Tensoativos são compostos anfifílicos, orgânicos ou organometálicos que formam colóides ou micelas em solução. Substâncias anfifílicas ou anfifílicas são moléculas possuidoras de regiões distintas e características como hidrofóbicas e hidrofílicas. Como nestas substâncias apenas a polaridade das diferentes regiões varia enormemente, as mesmas são também denominadas de moléculas anfipáticas, heteropolares ou polar não polares. Os tensoativos naturais incluem lipídeos simples, por exemplo, ésteres de ácido carboxilílico), lipídeos complexos (ésteres de ácidos graxos contendo fósforo, base nitrogenadas, e/ou açúcar) e ácidos bólicos tais como ácido cólico e deoxicólico [Maniasso 2001].

Tensoativos catiônicos, não iônicos e anfóteros, que são classificações de acordo com o grupo polar [Daltin 2011], quando empregados em quantidades acima da concentração micelar crítica e aquecidos a uma determinada temperatura, podem separar-se em duas fases isotrópicas, fenômeno este denominado ”cloud point”. A definição de ”cloud point”está sujeita a várias interpretações muito semelhantes, que se completam. É a separação de duas fases, que parece estar associada à existência de micelas compostas por moléculas gigantes na solução. Em soluções aquosas, o emprego de tensoativos não iônicos e anfóteros formam uma fase complexa e particularmente propensa a separar-se sob uma determinada temperatura. Certos tensoativos anfóteros e alguns não iônicos em presença de altas concentrações de eletrólitos (soluções salinas) podem também apresentar separação de fase [Maniasso 2001].

Devido ao fato de a temperatura adequada depender de muitas propriedades, inclusive do tipo de tensoativos, foi criado um campo chamado ”temperature”que pode ser

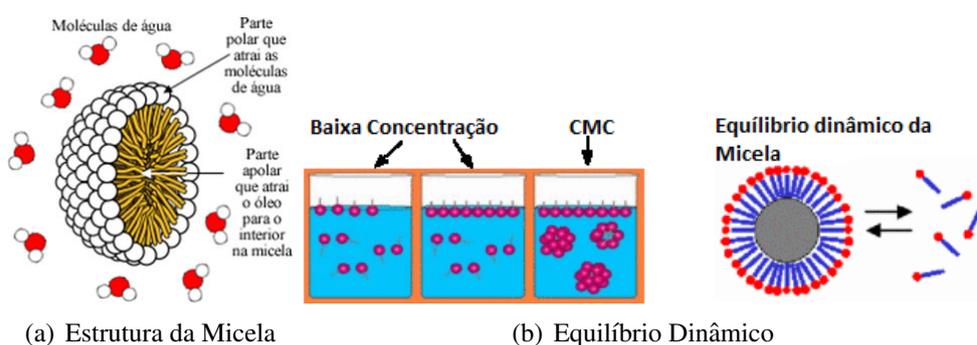


Figura 4. Estrutura e equilíbrio micelar

alterado pelo usuário. A princípio, devido a essa grande possibilidade de variação da temperatura, definiu-se que o fator temperatura só influencia na simulação a partir do valor 40, podendo esta definição ser modificada em trabalhos futuros de acordo com a obtenção de informações de um especialista da área bioquímica. Na figura 4(a), mostra-se a estrutura esférica de um agregado micelar. Já a figura 4(b) mostra como fica a estrutura e o arranjo das moléculas ao encontrar o equilíbrio dinâmico.

3 Resultados

Nesta seção são descritos os resultados obtidos após serem realizadas simulações com diferentes configurações. Foram realizadas simulações com a adição e ausência de sal. Para cada simulação foram estabelecidos parâmetros diferentes incluindo a variação da temperatura, "water-water-force", "too-close-force" e "water-oil-force". Nos itens posteriores serão apresentados os resultados através de gráficos que contém o valor da isolação hidrofóbica (mostra porcentagem média de cada "vizinho" da molécula hidrofóbica que também é hidrofóbico, sendo vizinhos moléculas que encontram-se a uma distância "radius") versus número de "ticks". As configurações referentes às simulações realizadas permanecem iguais exceto por somente um parâmetro variável a cada simulação. Os valores dos parâmetros variáveis são descritos no decorrer desta sessão. A tabela 1 é tomada como padrão para os valores dos parâmetros.

Tabela 1. Variação do valor "too-close-force"

Parâmetro	S1 - fig. 5(a)	S2 - fig. 5(b)	S3 - fig. 5(c)
num-water	155	155	155
num-lipids	97	97	97
num-sal	0	0	0
water-water-force	0.2	0.2	0.2
water-oil-force	-0.2	-0.2	-0.2
too-close-force	-2	-0.2	0
temperature	4	4	4
radius	2	2	2
percentage-waters-stabilization	75	75	75
percentage-lipids-stabilization	75	75	75

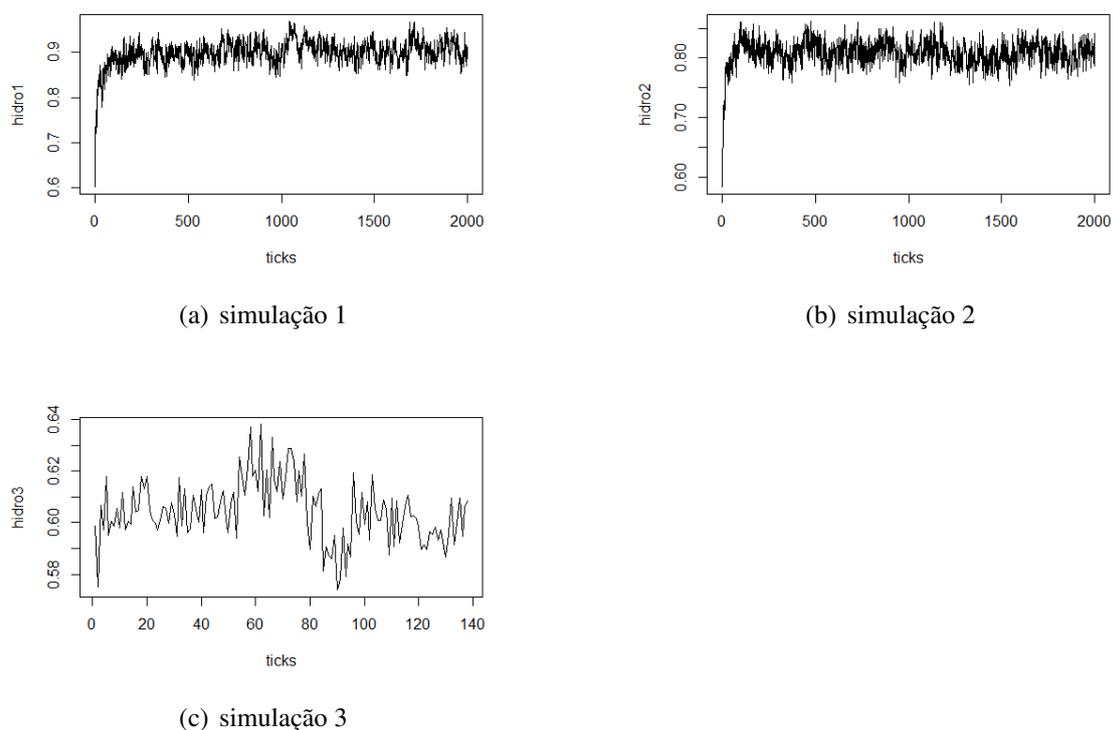


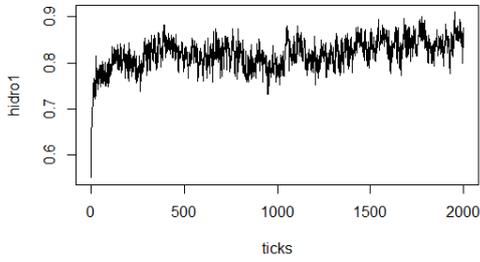
Figura 5. Variação do too-close-force

Os gráficos contidos na figura 5 mostram o resultado das simulações realizadas variando a força "too-close-force". Na figura 5(a) observa-se que mesmo ao chegar em 2000 ticks, o valor da isolamento hidrofóbica não estabilizou, indicando que ao configurar o valor -2"para "too-close-force"as moléculas ficam em grande movimentação permitindo uma pequena quantidade de formação de micelas. Na figura 5(b) pode-se ver o resultado da simulação com as mesmas configurações da anterior, porém com o valor -0.2"para "too-close-force". Já na figura 5(c), visualiza-se a estabilização da isolamento hidrofóbica em 140 ticks.

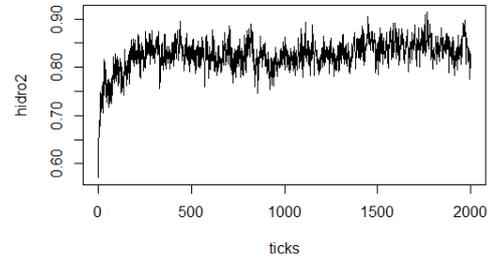
Nas simulações em que ocorre a variação da temperatura e adição de 20 moléculas de sal, utilizou-se os valores da tabela 1 e adicionou-se 20 moléculas de água e a temperatura teve seus valores definidos em 4,11,40 nas respectivas simulações representadas nas figuras 6(a), 6(b) e 6(c). Já na simulação representada na figura 7(a) adiciona-se 60 moléculas de sal e não é variada a temperatura, os demais parâmetros permanecem com o valor padrão definido inicialmente.

As simulações representadas nas figuras 8(a), 8(b) e 8(c) foram removidas as moléculas de sal e os valores da temperatura foram definidos em 4, 11 e 40 respectivamente.

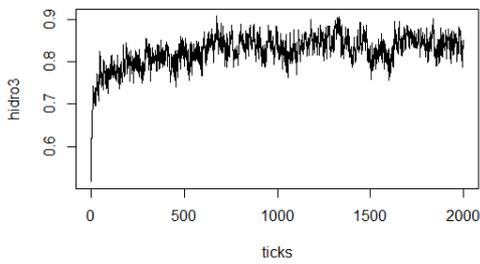
Nos resultados mostrados na figura 6 percebe-se que mesmo ao variar a temperatura, a isolamento hidrofóbica não alcança a estabilidade devido a adição de moléculas de sal. Na figura 7 pode-se visualizar que a isolamento hidrofóbica não estabiliza devido a adição de sal. Percebe-se que na figura 8 que sem adição de sal e com as configurações



(a) simulação 1

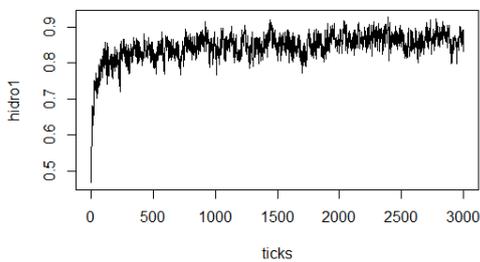


(b) simulação 2



(c) simulação 3

Figura 6. Variação da temperatura com adição de 20 moléculas de sal



(a) simulação 1

Figura 7. Adição de 60 moléculas de sal

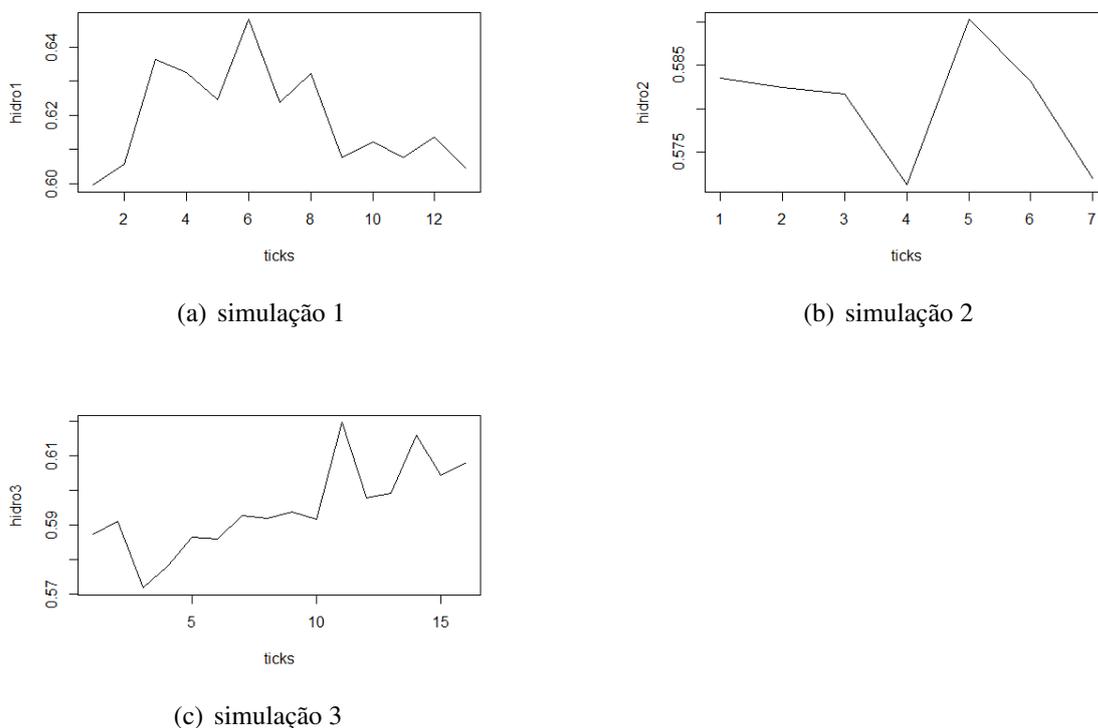


Figura 8. Sem adição de sal e variando a temperatura

descritas nessa simulação alcança-se a isolação hidrofóbica rapidamente, já que é o sal que agita o sistema.

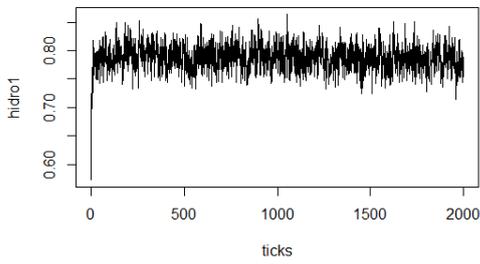
Os resultados representados nas figuras 9(a),9(b) e 9(c) utilizam os valores padrão exceto pelo valor de "water-oil-force" que é definido como -2, -0.2 e 0 respectivamente. E nas figuras 10(a), 10(b) e 10(c) temos os resultados das simulações realizadas com os parâmetros padrão exceto a variação do valor de "water-water-force" entre 0, 0.2 e 2.

Como resultados da variação da força "water-oil", pode-se verificar na figura 9 que ao ser utilizado o valor -2 não é alcançada a estabilidade da isolação hidrofóbica, porém com os valores -0.2 e 0.2 alcança-se a estabilidade rapidamente. Nos resultados mostrados na figura 10 verifica-se que quanto maior o valor da força "water-water", mais rapidamente se alcança a estabilidade da isolação hidrofóbica.

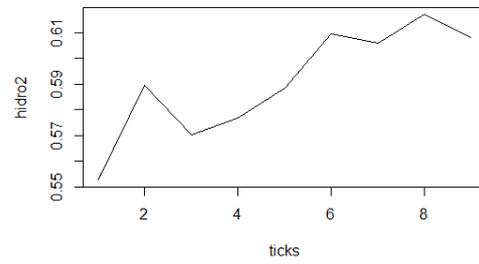
4 Conclusão

Ao analisar os resultados descritos, pode-se verificar que a adição de sal agita o sistema, impedindo a formação das micelas, pois nas figuras 6(a),6(b) e 6(c) percebe-se que mesmo ao variar a temperatura, o sistema não alcança a estabilidade da isolação hidrofóbica. Ao observar os resultados contidos na figura 6 verifica-se que a isolação hidrofóbica também não é alcançada devido a adição de sal.

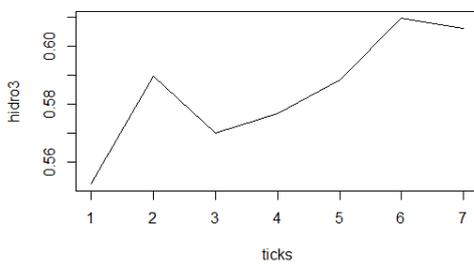
A figura 7 mostra resultados que corroboram com os resultados já analisados e discutidos anteriormente, pois com ou sem a variação da temperatura, a adição de sal mostrou-se como um fator preponderante para impedir a formação de micelas. Nos



(a) simulação 1

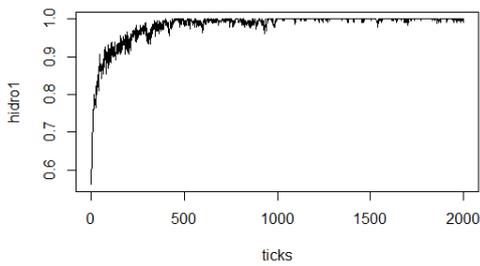


(b) simulação 2

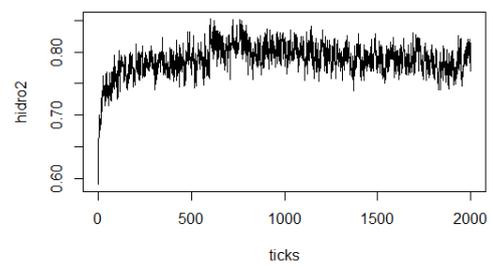


(c) simulação 3

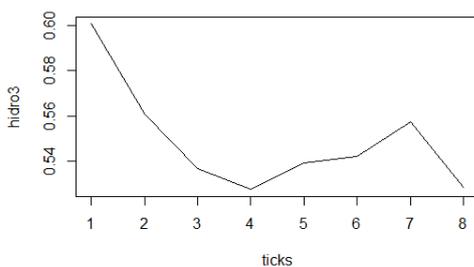
Figura 9. Variação da força water-oil



(a) simulação 1



(b) simulação 2



(c) simulação 3

Figura 10. Variação da força water-water

gráficos contidos na figura 8 os resultados mostram que a variação da temperatura pouco influencia na formação das micelas quando não há adição de sal.

Finalmente ao analisar os resultados contidos na figura 9 e 10 é verificado que a variação das forças de interação "water-oil" e "water-water" interfere no processo de formação de micelas e identifica-se que quanto menor a força de interação "water-oil" menos estabilidade de isolamento hidrofóbica o sistema alcança, bem como que quanto menor o valor da força "water-water" menor a estabilidade da isolamento da hidrofóbica.

Portanto, os resultados apresentaram-se satisfatórios, pois ao simular a formação de micelas com fosfolipídeos obteve-se informações que são de grande relevância para corroboração do processo de configuração dos sistemas formadores de micelas encontrados em muitos produtos e processos de suma importância para sociedade. Verificou-se que é relevante realizar como trabalhos futuros a introdução de outros tipos de moléculas que interagem no processo de formação de micelas, assim como permitir a configuração das forças de interação num nível mais aprofundado quimicamente.

Referências

- Andersen, O. and Koeppe, R. E. (2007). Bilayer thickness and membrane protein function: An energetic perspective. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 36:107–130.
- Arteaga, A. F. (2006). *Preparación, caracterización y estabilidad de emulsiones y microemulsiones O/W*. PhD thesis, Universidad de Granada - Facultad de Ciencias - Departamento de Ingeniería Química.
- Bedau, M., Buchanan, A., Gazzola, G., Hanczyc, M. M., Maeke, T., McCaskill, J. S., Poli, I., and Packard, N. H. (2005). Evolutionary design of a ddpd model of ligation. *Proceedings of the 7th International Conference on Artificial Evolution EA05. Lecture Notes in Computer Science*, 3871:201–212.
- Daltin, D. (2011). *Tensoativos: química, propriedades e aplicações*. Blucher.
- Maniasso, N. (2001). Ambientes micelares em química analítica. *Quim. Nova*, 24:87–93.
- Rossi, C., Dantas, T., Neto, A., and Maciel, M. (2006). Tensoativos: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. *Revista Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra, Seropédica, RJ: EDUR*, 25:73–85.
- Santos, S. (2001). *Hidrólise ácida de aceitais em misturas formadas por albumina do soro bovino e dodecilsulfato de sódio (sds) e poli(oxietileno) e sds: medidas dos parâmetros de ligação por tensão superficial, condutividade elétrica e espalhamento de raio-x a baixo ângulo*. PhD thesis, Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC.
- Schiller, J., Muller, M., Fuchs, B., Arnold, K., and Huster, D. (2007). 31p nmr spectroscopy of phospholipids: From micelles to membranes. *Current Analytical Chemistry*, 3.
- Werlang, P., Fagundes, M., Adamatti, D., Machado, K. S., Groll, A. V., da Silva, P., and Werhli, A. V. (2014). Multi-agent-based simulation of mycobacterium tuberculosis growth. *MBAS 2013*, 8325:131–142.