

VILNIAUS UNIVERSITETAS CHEMIJOS FAKULTETAS BIOCHEMIJOS IR MOLEKULINĖS BIOLOGIJOS KATEDRA

Biochemijos studijų programos IV kurso studentas

Danielius DVARECKAS

Poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveikos termodinamika

BAKALAURO DARBAS

Darbo vadovas:

Dr. Vytautas Petrauskas

Darbo konsultantas:

Dr. Daumantas MATULIS

Poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveikos termodinamika

Darbas paruoštas:

Vilniaus universiteto Biotechnologijos instituto Biotermodinamikos ir vaistų tyrimo skyriuje

Studentas:

Danielius DVARECKAS

Darbo vadovas:

Dr. Vytautas Petrauskas

Darbo konsultantas:

Dr. Daumantas MATULIS

Vilniaus Universitetas Chemijos Fakultetas Biochemijos ir Molekulinės Biologijos Katedra

Biochemijos studijų programos IV kurso studentas Danielius DVARECKAS

BAKALAURO DARBAS

Poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveikos termodinamika

SANTRAUKA

Baltymai specifiškai sąveikauja su kitomis makromolekulėmis (ligandais) dėka unikalios sandaros ir antrinės, tretinės bei ketvirtinės struktūrų. Šias sąveikas galima apibūdinti koreliacijomis tarp funkcijos, struktūros, kinetikos ir energijos. Realios baltymų-ligandų sistemos dažniausiai yra sudėtingos, todėl, siekiant suprasti juose vykstančių sąveikų mechanizmus, dažnai tiriamos jų modelinės sistemos nustatant termodinaminius parametrus. Egzistuoja labai įvairios baltymų-ligandų modelinės sistemos. Šiame darbe tirta sąveikaujančių katijoninių alkilaminų ir anijoninių poliaminorūgščių jungimosi sąveika.

Anijoninių poliaminorūgščių (poliglutamato, poliaspartato) ir katijoninių detergentų (alifatinių alkilaminų, kurių grandinės ilgis kito nuo 9 iki 13 anglies atomų) sąveika tirta izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu.

Rezultatai parodė, kad tokiose sistemose jungimosi sąveiką lemia hidrofobinis ir elektrostatinis efektai. Taip pat, izoterminio titravimo metodu buvo nustatyti minėtų sistemų termodinaminiai parametrai, esant įvarioms temperatūroms ir tirpalų sudėtims. Eksperimentinių duomenų analizei pritaikytas matematinis modelis, įskaitantis jungimosi stiprumo ir kooperatyvumo parametrus.

VILNIUS UNIVERSITY FACULTY OF CHEMISTRY DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

IVth year student of Biochemistry Bsc

Danielius DVARECKAS

BACHELOR THESIS

THERMODYNAMICS OF ION PAIR FORMATION BETWEEN ANIONIC POLYAMINO ACIDS AND CHARGED CATIONIC DETERGENTS

SUMMARY

Proteins show a variety of specific interactions with macromolecules and ligands which result from their unique composition and secondary, ternary, quaternary structure. These interactions can be described by correlations between function, structure, kinetics and energy. Real protein-ligand systems are often complicated, thus, it is useful to determine the interaction mechanisms by studying the thermodynamic parameters in simpler model systems. There are many different protein-ligand model systems. In this thesis cationic alkylamine and anionic polyamino acid systems were studied.

Thermodynamics of ion pair formation between anionic polyamino acids (polyglutamic acid, polyaspartic acid) and charged cationic detergents (nonylamine, decylamine, undecylamine, dodecylamine, tridecylamine) were studied by isothermal titration calorimetry.

Results have shown that the binding of alkylamines to polyamino acids was driven by hydrophobic and electrostatic interactions. Thermodynamic parameters of alkylamines and polyamino acids interactions in different solutions compositions and temperature were determined using isothermal titration calorimetry. The binding model was applied to describe the cooperative interactions between alkylamines and polyamino acids.

Turinys

ĮV	ADAS	1								
1.	LITERATŪROS APŽVALGA 1.1. Termodinamika 1.1.1. Temperatūra 1.1.2. Šiluminė talpa 1.1.3. Entalpija 1.1.4. Entropija 1.1.5. Laisvoji Gibso energija 1.2. Cheminė pusiausvyra ir reakcijos pusiausvyros konstanta 1.3.1. Izingo modelis 1.4.1. Kritinė micelės koncentracija 1.4.2. Micelių termodinamika	$egin{array}{c} 2 \\ 3 \\ 4 \\ 4 \\ 5 \\ 6 \\ 7 \\ 8 \\ 9 \\ 10 \\ 11 \\ 11 \end{array}$								
	 1.5. Hidrofobinis efektas	$12 \\ 12 \\ 14 \\ 14 \\ 16 \\ 16 \\ 17 \\ 17 \\ 18 \\ 20 \\ 21$								
2.	PRIETAISAI, MEDŽIAGOS IR METODAI 2.1. Naudoti prietaisai, medžiagos 2.1.1. Prietaisai 2.1.2. Medžiagos, reagentai ir jų paruošimas 2.2. Metodai 2.2.1. Izoterminio titravimo eksperimentas 2.2.2. Jungimosi entalpijos, stechiometrijos nustatymas 2.2.3. Priešjonių kondensacijos įvertinimas 2.2.4. Alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos modelis 2.2.5. Globali duomenų analizė	 23 23 23 23 23 24 25 25 25 								
3.	TYRIMO REZULTATAI 3.1. Sąveikos stechiometrija ir koncentracijos įtaka sąveikai 3.2. Tirpalo joninės jėgos įtaka sąveikai 3.3. Temperatūros įtaka sąveikai 3.4. Alifatinės grandinės ilgio įtaka sąveikai 3.5. pAsp ir pGlu entalpijos ir šiluminės talpos palyginimas 3.6. Sąveikos jungimosi stiprumas ir kooperatyvumas									
4.	TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS	36								
5.	5. IŠVADOS									
LITERATŪROS SĄRAŠAS										

Santrumpų sąrašas

α	joninės jėgos koeficientas
$oldsymbol{\kappa}(\mathbf{r})$	Debajaus-Hukelio parametras
Н	Isingo modelio sukinių Hamiltonianas
δ	gardelės mazgą aprašantis sukinio kintamasis
$\epsilon(\mathbf{r})$	dielektrinė funkcija
Г	krūvio tankio parametras
Γ_{crit}	krūvio tankio parametro kritinė riba
λ_B	Bjerum ilgis
н	magnetinio lauko stipris
∇	Laplaso operatorius
ω	kooperatyvumas $(1/\sigma)$
$\phi({f r})$	elektrostatinio potencialo funkcija
$ ho({f r})$	krūvio tankio funkcija
σ	kooperatyvumas
r	pozicijos vektorius
Θ	surišto ligando kiekis
A	mechaninis darbas
с	Vaismano faktorius
C_p	šiluminė talpa pastovaus slėgio sąlygomis
C_V	šiluminė talpa pastovaus tūrio sąlygomis
G	laisvoji Gibso energija
G_f^o	standartinė susidarymo laisvoji Gibso energija
$G^o_{f,p}$	standartinė produktų susidarymo Gibso energija
$G^o_{f,r}$	standartinė reaguojančių medžiagų susidarymo G
Η	entalpija
H_f^o	standartinė susidarymo entalpija
J	dalelių sąveikos stipris
K_b	jungimosi konstanta

Gibso energija

- k_B Bolcmano konstanta
- K_d baltymo-ligando komplekso disociacijos konstanta
- K_p pusiausvyros konstanta
- K_{sp} specifinės konkurencijos konstanta
- L besijungiančio ligando kiekis
- l_q atstumas tarp gretimų krūvį turinčių monomerų
- N dalelių ar komponentų skaičius
- P_t bendra baltymo koncentracija
- q šilumos kiekis
- q_g grįžtamo proceso šiluma
- q_p šilumos kiekis pastovaus slėgio sąlygomis
- R universalioji dujų konstanta
- S entropija
- S_f^o standartinė susidarymo entropija
- T temperatūra
- T_C temperatūra Celsijaus skalėje
- T_K temperatūra Kelvino skalėje
- U vidinė energija
- V kalorimetro darbinės celės tūris
- W bendra energija
- y_f pridėto ligando ir viso baltymo koncentracijų santykis
- C netvarkinga spiralinė struktūra
- DNR deoksiribonukleorūgštis
- H tvarkinga α -spiralizuota struktūra
- pAsp poli-L-asparto rūgštis
- pGlu poli-L-glutamo rūgštis

ĮVADAS

Termodinaminių metodų taikymas suteikia svarbios informacijos apie sąveikas baltymųligandų sistemose. Ligandai – tai mažos molekulinės masės cheminiai junginiai. Baltymai gali specifiškai atpažinti ir grįžtamai prisijungti mažamolekulinius ligandus (jonus, lipidus, angliavandenius), makromolekules (baltymus, DNR) ar net makromolekulių kompleksus. Šias sąveikas galima apibūdinti koreliacijomis tarp funkcijos, struktūros, kinetikos ir energijos. Termodinaminių parametrų matavimas yra svarbus, nes biomolekulių grįžtamoji nekovalentinė sąveika apima nekovalentinių jungčių perskirstymą. Realios baltymųligandų sistemos dažniausiai yra sudėtingos, todėl, siekiant suprasti juose vykstančių sąveikų mechanizmus, dažnai tiriamos jų modelinės sistemos. Taigi, norint sužinoti daugiau informacijos apie baltymų-ligandų sąveikas yra nagrinėjami termodinaminiai parametrai ne tik realiose, tačiau ir modelinėse baltymų-ligandų sistemose.

Egzistuoja labai įvairios baltymų-ligandų modelinės sistemos. Šiame darbe tirtos sąveikaujančių katijoninių alkilaminų ir anijoninių poliaminorūgčių sistemos.

Darbo tikslas:

Nustatyti standartinius sąveikos termodinaminius parametrus neigiamą krūvį turinčių poliaminorūgščių ir teigiamą krūvį turinčių alkilaminų sistemose.

Darbo uždaviniai:

- 1. Išmatuoti neigiamą krūvį šoninėse grandinėse turinčių homopolimerų (poliaspartato ir poliglutamato) sąveikos su katijoniniais detergentais (įvairaus alifatinės grandinės ilgio alkilaminais) standartinius termodinaminius parametrus: laisvosios Gibso energijos, entalpijos, entropijos ir šiluminės talpos pokyčius bei jungimosi pusiausvyros konstantas.
- 2. Nustatyti minėtų sistemų termodinaminius parametrus esant įvairioms temperatūroms ir tirpalų sudėtims.
- 3. Eksperimentinių duomenų analizei pritaikyti matematinį modelį įskaitantį jungimosi stiprumo ir kooperatyvumo parametrus.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Termodinamika

Termodinamika yra mokslas, nagrinėjantis temperatūros ir šilumos sąsają su energija, darbu (Fermi, 1956). Tai tarsi taisyklių rinkinys, kuriam objektai ir procesai privalo paklusti. Termodinamikos tyrimo objektas yra makroskopinių termodinaminių sistemų šiluminės savybės, nagrinėjamos operuojant termodinaminiais parametrais, kurių pagrindiniai: vidinė energija, entropija, slėgis, temperatūra, šiluminė talpa, laisvoji Gibso energija. Šie parametrai nusako termodinaminės sistemos būseną ir jos ryšį su aplinka – koduoja savyje informaciją apie molekulių konformaciją (Boyd, 1968), solvatacijos efektus (Aue et al., 1976), taip pat padeda nustatyti dujų molekulių (Myers ir Prausnitz, 1965), ląstelių membranų (Almeida et al., 2005) savybes ir funkcijas bei aprašyti daugelį kitų procesų.

Termodinamikos pagrindą sudaro keturi empiriniai dėsniai (Guggenheim (1986), Haynie (2008)):

- Nulinis termodinamikos dėsnis termodinaminė pusiausvyra. Jei sistema A yra pusiausvyroje su B, o B pusiausvyroje su C, tai A yra pusiausvyroje su C (Haynie, 2008). Toks dėsnio formulavimas užtikrina terminės pusiausvyros vienareikšmiškumą, ko pasekoje įmanomas matematinis temperatūros formuluotės apibrėžimas, o tai leidžia sukurti prietaisus sistemų šiluminei būsenai matuoti termometrus (Lieb ir Yngvason, 1999). Taip pat vienareikšmiškai nustatomas sistemos šiluminės būsenos pokytis (svarbus pirmam termodinamikos dėsniui) ir dviejų sujungtų sistemų pusiausvyros taškas (svarbus antram termodinamikos dėsniui).
- Pirmasis termodinamikos dėsnis teigia, kad norint pakeisti kūno energiją, reikia atlikti darbą arba šiluminės energijos perdavimą. Remiantis dviem energijos perdavimo būdais formuluojamas energijos tvermės dėsnis:

$$\Delta W = A + q, \tag{1.1}$$

kur ΔW – bendros energijos pokytis, A – atliktas darbas, q – šilumos kiekis.

Vykstant energijos perdavimo procesams, kai sistemos mechaninė energija nekinta, pasikeičia tik vidinė energija, tuomet esant tokiomis sąlygomis suformuotas energijos tvermės dėsnis yra vadinamas pirmuoju termodinamikos dėsniu ir išreiškiamas lygtimi:

$$\Delta U = A + q, \tag{1.2}$$

kur ΔU – sistemos vidinės energijos pokytis, A – atliktas darbas, q – šilumos kiekis.

Iš 1.2 lygties seka, kad sistemai suteikus tam tikrą šilumos kiekį, sistema pati atlieka darbą ir tuo pačiu keičia savo vidinę energiją:

$$q = A + \Delta U, \tag{1.3}$$

todėl kita pirmojo termodinamikos dėsnio formuluotė gali būti tokia - "termodinaminės sistemos gautas šilumos kiekis (q) yra lygus sistemos vidinės energijos pokyčio (ΔU) ir sistemos atlikto darbo (A) išorinių kūnų atžvilgiu sumai". Svarbi išvada yra tai, kad energijos kiekis izoliuotoje fizikinėje sistemoje išlieka pastovus, tačiau energijos formos gali kisti.

 Antrasis termodinamikos dėsnis aprašo spontaninių procesų kryptį ir teigia, kad izoliuotoje sistemoje savaime vyksta procesai, kurių metu energijos išsibarstymas didėja. Energijos išsibarstymą apibrėžia termodinaminis dydis – entropija (žym. S, žiūrėti 1.1.4 skyrių). Kadangi šiluma negali iš šaltesnio kūno savaime tekėti į šiltesnį kūną, tai reiškia, kad spontaniniai procesai vyksta terminės energijos sklaidymo kryptimi, o entropijos pokytis (ΔS) didėja:

$$\Delta S \ge 0. \tag{1.4}$$

 Trečiasis termodinamikos dėsnis įveda entropijos matavimo skalės nulinę vertę ir teigia, kad idealios kristalinės medžiagos entropija absoliutaus nulio temperatūroje (0K) yra lygi nuliui, o visi procesai sustoja.

1.1.1. Temperatūra

Temperatūra yra termodinaminis dydis, skaitmeniškai įvertinantis objektų esančių terminėje pusiausvyroje šilumą – tai objekto šiltumo ar šaltumo matas, išmatuojamas termometru. Nulinis termodinamikos dėsnis įgalina skirtingų matavimo skalių, pavyzdžiui: Celsijaus, Farenheito egzistavimą, o antrojo termodinamikos dėsnio dėka yra apibrėžiama Kelvino skalė (Buchdahl, 1966). Kelvino skalė dar vadinama absoliutine temperatūros skale, nes skalės nulinė vertė lygi apatinei įmanomai temperatūros ribai (absoliutusis nulis). Celsijaus ir Kelvino temperatūrinių skalių sąryšis:

$$T_K = T_C + 273,15,\tag{1.5}$$

kur T_K – temperatūra Kelvino skalėje,
o T_C - temperatūra Celsijaus skalėje.

Vykstant šiluminiams mainams dėl šiluminio laidumo, radiacijos, konvekcijos medžiaga gali pakeisti savo fazę (agregatinę būseną, žiūrėti 1.3 skyrių) (Gilbert, 2009), o taip pat ir tūrį, spalvą, magnetines savybes ir kietumą.

1.1.2. Šiluminė talpa

Šiluminių mainų metu šiluma perduodama iš vieno kūno kitam. Suteikus medžiagai energijos (neatliekant darbo), jos temperatūra dažniausiai pakyla – medžiaga pašildoma. Išimtis tais atvejais, kuomet įvyksta fazių virsmas: garavimas ar kondensacija, tirpimas ar stingimas, ar sublimacija (Gurses, 2012). Šiluma sugerta ar išspinduliuota temperatūriniam vienetui pastovaus slėgio sąlygomis vadinama šilumine talpa (Haynes, 2013):

$$C_p = \frac{\Delta H}{\Delta T},\tag{1.6}$$

kur ΔT – temperatūros pokytis, o ΔH – entalpijos pokytis. 1.6 lygties privalumas yra tai, jog dauguma cheminių reakcijų vyksta arba yra vykdomos atviruose induose (pastovaus slėgio sąlygomis). Šiluminė talpa gali būti išmatuojama ir pastovaus tūrio sąlygomis:

$$C_V = \frac{\Delta U}{\Delta T}.\tag{1.7}$$

 C_V kaip ir C_p matuojama J K⁻¹ t.y. šilumos kiekis džiauliais, kurio reikia pakelti medžiagos temperatūrą vienu kelvinu. Skirtumą tarp C_p ir C_V verčių lemia besikeičiantis sistemos tūris, tuomet C_p nuo C_V skiriasi per universaliąją dujų konstantą (R):

$$C_p = C_V + R. \tag{1.8}$$

Universalioji dujų konstanta (R) – tai toks šilumos kiekis, kuris sunaudojamas vidinei sistemos energijai padidinti didžiu C_V ir atlikti dujų plėtimosi darbą pastovaus slėgio sąlygomis.

Reakcijoms skysčiuose ir kietuose kūnuose C_p ir C_V vertės skiriasi nežymiai. Kadangi šiluminė talpa priklauso nuo sistemos dydžio, kad atskirti šiluminės talpos vertę nuo medžiagos kiekio, įvedama šiluminės talpos charakteristika išreikšta medžiagos vienetui. Tai medžiagos unikali savybė (Domalski ir Hearing, 1996), kuri vadinama specifine šilumine talpa.

1.1.3. Entalpija

Entalpija (iš graikų kalbos – pašildymas) – tai šilumos kiekis, sugertas sistemos pastovaus slėgio sąlygomis (Mills, 1993):

$$\Delta H = q_p. \tag{1.9}$$

Pagal Hess'o dėsnį, vykstant tiek vienpakopėms, tiek daugiapakopėms reakcijoms per keletą tarpinių junginių – išlaikomas entalpijos adityvumas (Haynie, 2008). Kadangi cheminės reakcijos šiluminis efektas nepriklauso nuo to, per kokias tarpines stadijas vyksta procesas, bet priklauso tik nuo pradinės ir galutinės sistemos būsenos, gyvose sistemose vykstančius sudėtingus procesus galima išskaidyti į sudėtines dalis (reakcijas), o suminės proceso entalpijos pokytis lygus atskirų procesų entalpijų pokyčių sumai:

$$\Delta H = \sum_{i=1}^{N} \Delta H_i, \tag{1.10}$$

kur ΔH – proceso entalpijos pokytis, o ΔH_i – *i*-tosios proceso tarpinės reakcijos entalpijos pokytis iš N tarpinių reakcijų.

Eksperimentiškai entalpijos pokytis išmatuojamas kalorimetru pastovaus slėgio sąlygomis fiksuojant temperatūrinius pokyčius, atsirandančius dėl cheminių reakcijų (Freire et al., 1990). Egzoterminio proceso metu sistemai atidavus šilumą aplinkai entalpijos pokytis yra neigiamas, o endoterminės reakcijos metu sistemai sugėrus šilumą iš aplinkos entalpijos pokytis yra teigiamas (1.9 lygtis).

1.1.4. Entropija

Pakėlus knygą nuo stalo ir ją paleidus laisvai kristi, knyga nukrenta ant stalo, o knygos kinetinė energija paverčiama į terminę energiją, kuri smūgio sąlyčio vietoje pasiskirsto tarp stalo ir knygos molekulių. Nors pirmasis termodinamikos dėsnis teigia, kad energija niekur nedingo, tačiau iš praktikos žinome, kad knygos turėta kinetinė energija virtusi į šiluminę energiją niekada savaime nevirs į kinetinę t.y. tokią, kuri priverstų pakilti knygą nuo stalo. Šį energijos virsmų negrįžtamumą kiekybiškai apibūdina entropija. Entropija įvedama kaip termodinaminė funkcija, parodanti kaip keičiasi terminės energijos išsibarstymas.

Entropija taip pat apsprendžia savaiminio proceso kryptį. Negalima teigti, kad kiekvienas pokytis vyksta su minimalia energija, nes visatos bendra energija išlieka pastovi. Savaime vyksta tie procesai, kurių metu išsisklaido daugiausiai bendrosios energijos. Matematiškai entropija apibrėžiama kaip:

$$\Delta S = \int_{T_1}^{T_2} \frac{q_g}{T},\tag{1.11}$$

kur q_g – grįžtamo proceso šiluma, T_1 – pradinė temperatūra, T_2 – galutinė temperatūra (Schiller, 2015).

Šilumos pernašos tarp sistemos ir aplinkos neįmanoma pasiekti visiškai grįžtamomis sąlygomis. 1.11 lygtis tik apibrėžia ΔS kaip termodinaminį parametrą. Tokiu atveju entropija yra būsenos funkcija, o sistemos proceso ΔS vertė nepriklauso nuo proceso kelio ir gali būti taikoma negrįžtamiems procesams, pavyzdžiui – pastovios temperatūros sąlygomis išmatuota entropijos pokyčio vertė nepriklauso nuo to, per kiek žingsnių padidinamas inde esančių dujų tūris.

Entropija padeda suprasti energijos virsmus, cheminę pusiausvyrą, procesus tokius

kaip: tirpinio difuzija tirpiklyje skiedžiant, dūmų kylančių iš degančios medienos išsisklaidymas, magnetų aukštoje temperatūroje spontaninis išsimagnetinimas, šilumos savaiminis tekėjimas į šaltesnį kūną (Haynie, 2008) ir pan.



1.1 pav. a) Cheminė reakcija esant neigiamam Gibso energijos pokyčiui. Energija išskiriama, procesas spontaninis. b) Cheminė reakcija esant teigiamam Gibso energijos pokyčiui, kurio metu energija absorbuojama.

1.1.5. Laisvoji Gibso energija

Laisvoji Gibso energija (ΔG) išreiškiama kaip entalpijos pokyčio (ΔH) ir sandaugos tarp termodinaminės temperatūros ir entropijos pokyčio ($T\Delta S$) skirtumas:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \tag{1.12}$$

kur ΔG – laisvosios Gibso energijos pokytis pastovioje temperatūroje ir slėgyje (Mills, 1993).

Laisvoji Gibso energija – tai energija, kuri gali būti panaudota atlikti darbą. Jos skaitmeninė išraiška leidžia nuspėti grįžtamo proceso sistemos pokyčius ir kryptį pastovios temperatūros ir slėgio sąlygomos.

Cheminės reakcijos krypties nustatymas pastovios temperatūros ir slėgio sąlygomis yra naudingas, nes gyvose sistemose cheminės reakcijos dažniausiai ir vyksta pastovios temperatūros ir slėgio sąlygomis. Taip pat tokiomis sąlygomis yra atliekami beveik visi biocheminiai eksperimentai (Reece, 2011). Laisvosios Gibso energijos pokytis yra neigiamas ($\Delta G < 0$) spontaniniams procesams, teigiamas ($\Delta G > 0$) atvirkštiniams procesams ir lygus nuliui ($\Delta G = 0$) pusiausvyros sąlygomis. Įdomu tai, kad ΔG bus neigiamas bet kokio proceso vykstančio pastoviomis temperatūros ir slėgio sąlygomis metu, didėjant entropijai. $\Delta G < 0$ yra pagrindas aiškinant cheminį reaktingumą (1.1 paveikslas), pusiausvyrą, fazių elgseną.



1.2 pav. Reakcija A \longrightarrow B. Vykstant reakcijai sistemos sudėtis keičiasi ir kinta laisvoji Gibso energija. (1) – reaktantas A, (2) – produktas B. Reakcijos pusiausvyra ((3)) nusistovi reakcijos koordinatėje, kur pasiekiama ΔG minimali vertė. a) Produkto ΔG mažesnė už reaktanto, todėl tiesioginės reakcijos pusiausvyra bus pasislinkusi į dešinę (pusiausvyroje yra daugiau produkto negu reaktanto). b) Produkto ΔG didesnė už reaktanto, todėl atvirkštinės reakcijos pusiausvyra bus pasislinkusi į kairę (pusiausvyroje yra daugiau reaktanto negu produkto). Adaptuota iš (Lower, 2010).

1.2. Cheminė pusiausvyra ir reakcijos pusiausvyros konstanta

Norint nuspėti cheminius virsmus, reikia žinoti reakcijos komponentų laisvasias Gibso energijas. Šiam tikslui pasiekti įvedama komponento standartinė susidarymo Gibso energija:

$$\Delta G_f^o = \Delta H_f^o - T \Delta S_f^o, \tag{1.13}$$

kur ΔH_f^o – standartinė susidarymo entalpija, o ΔS_f^o – standartinė susidarymo entropija. Tuomet standartinė reakcijos laisvoji Gibso energija reakcijai:

$$\Delta G^o = \sum \Delta G^o_{f,p} - \sum \Delta G^o_{f,r}, \qquad (1.14)$$

kur $\Delta G_{f,p}^o$ – standartinė produktų susidarymo Gibso energija, o $\Delta G_{f,r}^o$ – standartinė reaguojančių medžiagų susidarymo Gibso energija.

Tačiau ΔG^o vertė neaprašo visos reakcijos eigos, o tik laisvąją Gibso energiją tam tikroje reakcijos koordinatėje. Cheminės reakcijos metu vyksta nuolatiniai pokyčiai kol pasiekiama pusiausvyros būsena (1.2 paveikslas). ΔG fizikinė prasmė yra ta, jog ji parodo kaip sistemos laisvoji energija pasikeitė reaktanto ΔG^o atžvilgiu.

Reakcijai artėjant prie pusiausvyros, ΔG tampa mažiau neigiamas, o pasiekus pusiausvyrą $\Delta G = 0$, tuomet standartinės Gibso energijos ir pusiausvyros konstantos sąryšis išreiškiamas kaip:

$$\Delta G^o = -RT \ln K_p, \tag{1.15}$$

kur K_p – pusiausvyros konstanta. Šiame taške dvi skirtingos reakcijos vyksta vienodu greičiu priešingomis kryptimis. Atskiros molekulės toliau reaguoja, bet bendra reakcijos mišinio sudėtis nekinta.

1.15 lygtis leidžia matuoti reakcijos komponentų fizikines savybes. Žinant standartines formavimo entropijas ir entalpijas, galime nuspėti pusiausvyros konstantos vertę nežinant reakcijos mechanizmo.

1.3. Fazių virsmai

Fazė yra sritis termodinaminėje sistemoje, kurioje medžiagos fizikinės savybės tokios kaip tankis, lūžio rodiklis, įmagnetėjimas, cheminė sudėtis yra homogeninės, o fazių virsmas – tai procesas, kurio metu termodinaminė sistema atlikdama šiluminius mainus pereina iš vienos fazės į kitą (Jaeger, 1998). Medžiagų fazės atskiriamos pagal išvaizdą (skystas vanduo vizualiai skiriasi nuo kristalinio ledo), esančią ribą tarp fazių (menisko forma tarp skystos ir dujinės alkoholio fazės), o taip pat ir pagal molekulių organizaciją (sukinių orientaciją magnetiniuose domenuose). Fazių virsmo, kaip mokslinio reiškinio nagrinėjimo pradžią galime laikyti skystos-dujų fazių termodinaminių parametrų nustatymą, kuomet de la Tour (1822) eksperimentiškai atrado fazių pusiausvyros kritinį tašką. Pakėlus temperatūrą virš kritinio taško, skystos fazės ir dujų fazės tankiai susivienodina ir pranyksta tarpfazinė skiriamoji riba. Šį virsmą de la Tour (1822) charakterizavo ne tik temperatūriniu, bet ir slėginiu ir tūriniu parametrais. Andrews (1869) eksperimentiškai parodė, kad skystą fazę grįžtamai galima paversti dujine kritinio taško riboje keičiant temperatūrą ar slėgį.

Gibbs (1873) sukūrė fazių diagramą, kurioje atvaizduojamas kritinis taškas, fazių sritys ir fazių virsmo priklausomybė nuo termodinaminių parametrų (pavyzdžiui: 1.3 paveiksle pateikta vandens temperatūros-slėgio fazių diagrama). Fazių skiriamąją ribą fazių diagramoje Gibsas (angl. *Gibbs*) pavadino "fazių koegzistavimo kreive", o kritinį tašką apibrėžė kaip ribą fazių diagramos kreivėje, kuomet koegzistavimo kreivė nutrūksta. Toks apibūdinimas tiko daugeliui skysčių ir magnetų sistemoms. Tais pačiais metais van der Waals (1873) savo daktaro disertacijoje pristatė būsenos funkciją (matematinis sistemos modelis aprašomas tos sistemos termodinaminiais parametrais), skysčių kritiniam taškui aprašyti. Svarbu paminėti, kad Curie (1895) eksperimentiškai nustatė kritinę temperatūrą, kuriai esant išnyksta feromagnetinės magnetinių dalelių savybės, ko pasekoje Weiss (1907) sukūrė feromagnetizmo teoriją, o kritinį tašką pavadino "Curie" tašku.

Tolimesni detalūs fazių virsmų tyrimai atlikti įvairiose modelinėse sistemose. Šie modeliai dažniausiai naudoja diskrečius mikroskopinius kintamuosius fiksuotus kristalinėje gardelėje (Velasco, 2010). Tokie modeliai leidžia išnagrinėti pagrindinius fazių virsmų teorijos principus. Toliau panagrinėsime tik dviejų-dimensijų Izingo (angl. *Ising*) modelį (Ising, 1925).



Temperatūra T

1.3 pav. Vandens fazių virsmų diagrama. Diagramoje pažymėti du svarbūs taškai: trigubas taškas (T_t, p_t) kuriame sistema egzistuoja trijose fazėse (raudonas apskritimas), ir kritinis taškas (T_k, p_k) , kuriame virsmo vizuali riba tarp dujų ir skystos fazių pranyksta (mėlynas apskritimas). Adaptuota iš (Fermi, 1956).

1.3.1. Izingo modelis

Skysčių, dujų sąveikų statistinė mechanika sudėtinga. Dėl šios priežasties reikalingos aproksimacijos. Izingo modelis iš pradžių buvo naudojamas tirti feromagnetinius reiškinius, tačiau vėliau įgijo platesnį pritaikymą – netrivialiai aprašyti fazių virsmų prigimtį ir vykstančias sąveikas.

Izingo modelio didžiausias privalumas yra paprastumas, tačiau kartu modelis leidžia kiekybiškai parodyti, jog trumpų atstumų sąveikos tarp molekulių gali sukelti tolimų atstumų sąveiką, fazių virsmą, besiskiriantį nuo klasikinio van der Valso (angl. *van der Waals*) fazių virsmo (Gallavotti, 1999).

Išsprendus vienos-dimensijos Izingo modelį buvo nustatyta, jog fazių virsmas nevyksta (Ising, 1925). Tačiau Izingas tuomet klydo spėdamas, jog dviejų-dimensijų modelyje taip pat nevyks fazių virsmai. Vėliau spėjimas paneigtas Onsager (1944) išsprendus dviejų-dimensijų Izingo modelį be išorinio magnetinio lauko.

Izingo matematinio modelio sukinių Hamiltonianas (klasikinėje mechanikoje tai yra sistemos energija išreikšta per koordinates ir judesio kiekį) magnetinėms medžiagoms užrašomas kaip:

$$\mathcal{H}(\delta) = -\sum_{(ij)}^{N} J_{i,j} \delta_i \delta_j - \mathbf{H} \sum_{(i=1)}^{N} \delta_i$$
(1.16)

kur N – dalelių skaičius, $\delta_i - i$ -tąjį gardelės mazgą aprašantis sukinio kintamasis, galintis

įgyti vertes ± 1 , kai i = 1, 2, 3, ..., N, $J_{i,j}$ – sąveikos tarp *i*-tosios ir *j*-tosios dalelių stipris, **H** – magnetinio lauko stipris.

Ising (1925) modelyje pirmasis lygties narys aprašo kaimyninių dalelių sąveikos energijų sumą, antras narys aprašo sistemos dalelių sąveikos su išoriniu magnetiniu lauku **H**. Dalelių sukiniai gali išsidėstyti tik lygiagrečiai pasirinktai ašiai, δ_i gali įgyti ±1 reikšmes. Sąveika, kai $J_{i,j} > 0$ yra vadinama feromagnetine, o kai $J_{i,j} < 0$ – vadinama antiferomagnetine, o kai $J_{i,j} = 0$ – atomų sukiniai tarpusavyje nesąveikauja.

Izingo modeliu galima aprašyti įvairias sistemas. Įprastinėje magnetinėje interpretacijoje, Izingo spinų kintamieji yra magnetinius momentus turintys atomų sukiniai, orientuoti aukštyn arba žemyn išilgai magnetinio lauko. Kitas pavyzdys – dvinaris AB lydinys. Šiuo atveju, spinų kintamieji parodo užimtumą atomų A arba B lydinyje. Tokio pačio tipo kaimyninių atomų energija $-J_{i,j}$, skirtingų tipų $+J_{i,j}$.

Izingo modelio interpretacijų daugialypiškumas ypatingas tuo, jog leidžia nagrinėti pagrindines kritines įvairių sistemų elgsenas. Izingo modelis taip pat pritaikomas chemijoje, molekulinėje biologijoje, kuomet nagrinėjama didelių sistemų kooperatyvi sąveika (Cipra, 1987).



1.4 pav. Darbe naudotų alkilaminų formulės.

1.4. Micelės

Detergentai yra amfifilinės, polinę "galvą" ir hidrofobinę "uodegą" turinčios molekulės (1.4 paveikslas), kurių nepolinės grupės vengia kontakto su vandeniu, o polinės grupės hidratuojasi. Detergentai vandeniniuose tirpaluose pasižymi unikalia savybe spontaniškai formuoti sferines struktūras – miceles (įprastai agreguojasi nuo 10 iki 100 molekulių) (Haynes, 2013). Vandeniniuose tirpaluose hidrofilinė molekulės galva nukreipta į micelės išore, o hidrofobinė uodega yra nukreipta į micelės sferos centrą. Micelizacija – grįžtamas procesas, o pačios micelės yra termodinamiškai stabilios. Miceles formuojančių molekulių sterinis faktorius, koncentracija, o ir hidrofilinių ir hidrofobinių dalių savybės, forma, dydis

ir apsprendžia solvatacijos efektą. Agregacija į micelles yra koperatyvus, fazę formuojantis procesas (Shinoda ir Hutchinson, 1962).

1.4.1. Kritinė micelės koncentracija

Jau beveik prieš 90 metų Ekwall (1927) pastebėjo surfaktantų fizikocheminių savybių priklausomybę nuo koncentracijos. Vėliau iš to kilo kritinės micelės koncentracijos (angl. *critical micelle concentration*, KMK) sąvoka. Mažose detergentų koncentracijose daugelis fizikocheminių savybių rodo, jog agregacija nevyksta, tačiau peržengus kritinę micelės koncentracijos ribą, besikeičiančios savybės rodo agregaciją, fazių atsiskyrimą (Lindman ir Wennerström, 1980).

Eksperimentinių KMK verčių nustatymui dažniausiai yra atliekami elektrinio laidumo, paviršiaus įtampos, detergento tirpumo matavimai. KMK vertei didžiausią įtaką daro temperatūra, detergento hidrofobinės ir hidrofilinės grupių struktūra, cheminė prigimtis, o taip pat ir tirpale esantys elektrolitai ir priešjoniai (Mukerjee ir Mysels, 1972).

1.1 lentelė. Kai kurių detergentų KMK vertės vandenyje esant 25 °C temperatūrai. Detergento formulė: $C_m H_{2m+2} N H_3^+ Cl^-$, kur m – anglies atomų skaičius alifatinėje grandinėje. KMK vertės paimtos iš Mukerjee ir Mysels (1972).

Detergentas	m	KMK (M)
n-oktilamino chloridas	8	$1,75 imes 10^{-1}$
n-decilamino chloridas	10	$4{,}8\times10^{-2}$
n-dodecilamino chloridas	12	$1{,}34\times10^{-2}$
n-tetradecilamino chloridas	14	$1{,}0\times10^{-3}$

1.4.2. Micelių termodinamika

Micelių formavimo laisvosios Gibso energijos aproksimacija (Butt et al., 2006):

$$\Delta G_{mic} = \mu^o_{mic} - \mu^o_{tirpiklio} = RT \ln(\text{KMK}), \qquad (1.17)$$

kur ΔG_{mic} yra molinė micelizacijos Gibso energija, R – universalioji dujų konstanta, T – temperatūra kelvinais, KMK – kritinė micelės koncentracija.

Micelizacijos varomoji jėga yra hidrofobinės anglies grandinės (detergento uodegos) persiorientavimas iš hidrofilinės (vandens) į hidrofobinę aplinką. Šis entropinis efektas vadinamas hidrofobiniu efektu. Palyginus su aplinkos vandens molekulių entropijos padidėjimu, šis entropinis efektas sąlyginai mažas. Vandens molekulės griežtai orientuojasi aplink hidrofobines anglies grandines. KMK mažėja didėjant alkil- grandinės ilgiui (Esumi



1.5 pav. Darbe naudotų alkilaminų fazių diagrama detergento koncentracijos ir jo alifatinės grandinės ilgio koordinatėse, esant 25 °C temperaturai. Fazių diagramos nubrežtos pagal Mukerjee ir Mysels (1972) duomenis.

ir Ueno, 2003). Tokia KMK ir detergentų anglies grandinės ilgio priklausomybė ir matoma šiame darbe naudotuose detergentuose (1.5 paveikslas). Eksperimentuose naudotos detergentų koncentracijos neviršijo KMK ribos, kad išvengti micelizacijos ir jos sąlygotų papildomų šiluminių efektų.

1.5. Hidrofobinis efektas

Baltymai yra ilgi polimerai, sudaryti iš aminorūgčių. Gyvose sistemose baltymai susivynioja į trimatę struktūrą, taip įgydami funkcinį aktyvumą. Kyla klausimas: kas lemią grandinės susivyniojimą į kompaktišką globulę?

Hidrofobinių sąveikų sąvoka apibrėžia nepolinių molekulių polinkį agreguotis poliniuose tirpikliuose ir išstumti vandens molekules (Chandler, 2005). Žodis "hidrofobinis" pažodžiui reiškia "vandens bijantis". Šis efektas ypatingai svarbus baltymų-substratų sąveikoms, lipidų saviorganizacijai biomembranose, surfaktantų agregacijai ir yra viena iš baltymų susivyniojimo į natyvią struktūrą varomųjų jėgų (Kauzmann, 1959). Hidrofobinis efektas padeda geriau suvokti daugelį biologinių ir biocheminių procesų, vykstančių molekuliniame lygyje.

1.5.1. Klasikinis hidrofobinio efekto modelis

Standartinėje temperatūroje ir slėgyje ($25 \,^{\circ}$ C, 1 atm), nepoliniai junginiai prastai tirpsta vandenyje. Nepolinės molekulės bando įsiterpti tarp polinių molekulių, tačiau solvatacijai poliniame tirpiklyje (vandenyje) priešinasi vandenilinių ryšių tinklas. Kad vandens molekulės išlaikytų vandenilinius ryšius, vyksta vandens molekulių persitvarkymas vandens ir nepolinės medžiagos paviršiuje. (Blokzijl ir Engberts, 1993) Yra žinoma, jog vandens molekulės vidutiniškai tarpusavyje suformuoja 3,6 vandenilinius ryšius. Ši savybė yra unikali vandeniui, nes nėra jokių kitų panašios molekulinės masės junginių, kurie gebėtų formuoti tokius tvirtus tarpmolekulinius ryšius (Chaplin, 2012). Mažas molekulinis tūris leidžia vandens molekulėms formuoti tetraedrinius koordinacinius tinklus išlaikant ypač žemą izoterminį suspaudžiamumą. Šios savybės dėka vanduo gali apsupti nepolines molekules ir tuo pačiu išlaikyti bene visus vandenilinius ryšius (Blokzijl ir Engberts, 1993). Pirmi hidrofobinio efekto aiškinimai kilo iš metano solvatacijos skirtingose tirpikliuose

Tirpiklis	$\Delta G_0 \; (\mathrm{kJ} \; \mathrm{mol}^{-1})$	$\Delta H_0 \; (\mathrm{kJ} \; \mathrm{mol}^{-1})$	$-T\Delta S_0 \; (\mathrm{kJ} \; \mathrm{mol}^{-1})$
n-heksadekanas	12,7	-2,30	15,0
n-dekanas	$13,\!0$	-4,31	$17,\!3$
n-heksanas	13,1	-2,26	15,4
cikloheksanas	14,2	-3,01	17,2
dietil eteris	$13,\!4$	-3,34	16,7
benzenas	$15,\!3$	-1,25	$16,\! 6$
acetonas	$15,\! 6$	-2,80	18,4
1-propanolis	16,0	-10,3	26,3
etanolis	16,5	-8,78	$25,\!3$
metanolis	17,5	-7,94	25,4
vanduo	$25,\!5$	-13,8	39,3

1.2 lentelė. Dujinio metano solvatacijos termodinaminiai parametrai įvairiuose organiniuose tirpikliuose ir vandenyje esant 25 °C (duomenys iš (Abraham, 1984)).

termodinaminių parametrų esant kambario temperatūrai (1.2 lentelė).

Kambario temperatūroje nepolinių dujų ištirpimas varomas entalpijos, o taip pat pasižymi anomaliai dideliu šiluminės talpos pokyčiu (dujiniam metanui šiluminės talpos pokytis esant 25 °C yra 209 kJ mol⁻¹K⁻¹ (Hossein Naghibi ir Gill, 1986)). Tuo tarpu šiluminės talpos pokytis dujiniam metanui organiniuose tirpikliuose yra mažas. Menkas tirpumas lemia didelį entropijos praradimą. Ištirpusių dujų dalinio molinio tūrio vertė vandenyje yra panaši į molinį dujų tūrį virimo temperatūroje, kas yra įsidėmėtina, nes daliniai tirpinių moliniai tūriai organiniuose tirpikliuose yra žymiai didesni. Frank ir Evans (1945) pasiūlė molekulinį interpretacijos modelį, pavadintą ledkalnio (angl. *iceberg*) modeliu, aiškinančiu neįprastai didelį entropijos praradimą tirpinant nepolines dujas.

Didėjant temperatūrai, vandens molekulės įgyja didesnę judėjimo laisvę. Tuomet vandens molekulėms, esančioms šalia hidrofobinių sričių, perėjimas į tūrinį vandenį tampa naudingas, nes tūrinės vandens molekulės gali sudaryti daugiau vandenilinių ryšių, ko pasekoje aukštesnėje temperatūroje hidrofobinio efekto pagrindine varomąja jėga tampa entalpija, o ne entropija (Doig ir Williams, 1991).

1.6. Elektrostatika

Viena iš klasikinės elekstrostatikos taikymo sričių – turinčių krūvį ir polinių molekulių tirpalų nagrinėjimas. Elektrostatiniai molekulių paviršiaus potencialų skaičiavimai parodo baltymų, nukleorūščių molekulių krūvių pasiskirstymą (Gilson et al., 1988), kiekybiškai įvertina difuziją ribojančius procesus (Berg ir von Hippel, 1985), pH ir joninės jėgos įtaką molekulių sąveikai (Saksena ir Zydney, 1994) ir pan. Tačiau įvertinti visas tirpalo molekulių sąveikas sudėtinga, o neretai ir visi procesai vykstantys sąveikaujančioje sistemoje nėra žinomi, todėl yra kuriami matematiniai modeliai, leidžiantys supaprastintai įvertinti ir nuspėti nagrinėjamos sistemos elekstrostatinius efektus.

1.6.1. Puasono-Bolcmano lygtis

Puasono-Bolcmano (orig. *Poisson–Boltzmann*) lygtis yra viena iš mezoskopinių teorijų aprašanti sistemos mobilių jonų elektrostatinį potencialą ir molekulių krūvių pasiskirstymą. Puasono-Bolcmano modelis supaprastintai charakterizuoja molekulių elektrostatines savybes, priešjonių asociaciją, solvatacijos elekstrostatinį indėlį, molekulinio jungimosi laisvąsias energijas (Grochowski ir Trylska, 2008). Puasono-Bolcmano lygtis:

$$\nabla[\epsilon(\mathbf{r})\nabla\phi(\mathbf{r})] - \epsilon(\mathbf{r})\boldsymbol{\kappa}(\mathbf{r})^2 \sinh[\phi(\mathbf{r})] = -\frac{4\pi\rho(\mathbf{r})}{k_B T},$$
(1.18)

kur ∇ – Laplaso operatorius, **r** – pozicijos vektorius, $\rho(\mathbf{r})$ – krūvio tankio funkcija, k_B – Bolcmano konstanta, T – temperatūra, $\epsilon(\mathbf{r})$ – dielektrinė funkcija, $\phi(\mathbf{r})$ – elektrostatinio potencialo funkcija, $\kappa(\mathbf{r})$ – Debajaus-Hukelio parametras (Honig ir Nicholls, 1995).

Analitiniai linijinės Puasono-Bolcmano lygties sprendiniai sudėtingi, todėl nagrinėjamos sistemų molekulės neretai supaprastinamos iki paprastesnių geometrinių formų (Sharp ir Honig, 1990), pavyzdžiui: baltymų, kaip sferų elektrostatikos modeliai (Kirkwood (1934), Tanford et al. (1967)), DNR ir linijiniams polielektrolitams – cilindrinės simetrijos modeliai (Alfrey et al. (1951); Katchalski et al. (1971), Manning (1978)). Nagrinėjant net ir tokius supaprastintus objektus, Puasono-Bolcmano lygtis įvertina tirpiklio ekranavimą, solvatacijos energiją, druskų efektus, ir, lokalių dielektrinių konstantų dėka, gali būti panaudota ir mikroskopiniame lygyje. Sudėtingesnėms sistemoms nei cilindrai, sferos ar plokštumos paviršiai atliekami skaitmeniniai skaičiavimai.

1.7. Priešjonių kondensacijos teorija

Tiek priešjonių kondensacijos teorijoje, tiek Puasono-Bolcmano modelyje yra balansas tarp entropijos varomos priešjonių dispersijos ir entalpiškai naudingos polielektrolito krūvių traukos sąveikos, tačiau polielektrolitų kondensacijos teorija geriau aprašo procesus, kuomet vyksta priešjonių kondensacija ant polielektrolito.



1.6 pav. Manning (1978) polielektrolitų kondensacijos teorijoje polielektrolito grandinė idealizuota – tolygiai pasiskirsčiusio begalinio krūvio tankio ir begalinio ilgio linijinėje monomerinėje grandinėje, o sukondensuotų priešjonių sluoksnis yra pusiausvyroje su polielektrolitą supančia jonine aplinka. Adaptuota iš (Holst et al., 1994).

Polielektrolitų kondensacijos teorija teigia, kad priešjoniai gali kondensuotis ant polielektrolito, kuomet elektrolito grandinės gretimų monomerų krūvių tankis (Γ , 1.19 lygtis) pasiekia tam tikrą kritinę ribą Γ_{crit} (Record et al. (1976), Manning (1978), Manning (2007)):

$$\Gamma = \frac{\lambda_B}{l_q} > \Gamma_{crit},\tag{1.19}$$

kur Γ – bedimensinis krūvio tankio parametras, l_q – atstumas tarp gretimų krūvį turinčių monomerų, Γ_{crit} – krūvių tankio parametro kritinė riba, o λ_B – Bjerum ilgis (Manning, 1978).

Bjerum ilgis yra vidutinis polielektrolito krūvio tankio pasiskirstymas angstremais. Kambario temperatūroje (300 K) $\lambda_B \approx 7.1$ Å, o $\Gamma_{crit} = 1$ (Record et al., 1978).

Šiame darbe tirtose sąveikaujančių alkilaminių ir poliaminorūgščių sistemose priešjonių kondensacijos efektai nebuvo nagrinėjami dėl per mažo krūvio tankio. Krūviai nėra lokalizuoti poliaminorūgščių grandinėje, o ant įsivaizduojamo cilindro formos paviršiaus, kur cilindro spindulys paskaičiuojamas įvertinant polimerą sudarančių aminorūgščių šoninės grandinės ilgį. Kadangi mūsų nagrinėtoje sistemoje atstumai tarp gretimų krūvių buvo didesni už λ_B , o Γ vertės mažesnės už Γ_{crit} vertę, buvo laikoma, kad alkilaminų ir poliaminorūščių sąveikos metu nevyksta priešjonių kondensacija (žiūrėti 2.2.3 skyrių).

1.8. Izoterminio titravimo kalorimetrija (ITK)

Izoterminio titravimo kalorimetrija (ITK, angl. isothermal titration calorimetry) – tai toks eksperimentinis metodas, kuomet pagal registruojamą jungimosi šilumą titruojant vieną tirpalą į kitą tirpalą tiesiogiai nustatomi termodinaminiai parametrai — entalpijos pokytis (ΔH) ir jungimosi konstanta (K_b). Gibso energijos (ΔG) ir entropijos (ΔS) pokyčiai apskaičiuojami iš termodinaminių lygčių. Gibso energijos pokytis apskaičiuojamas iš lygties:

$$\Delta G = -RT \ln K_b, \tag{1.20}$$

o entropijos pokytis iš lygties:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S. \tag{1.21}$$

Atlikus eksperimentus keliose temperatūrose išmatuojamas šiluminės talpos pokytis (ΔC_p).

Nustatyti termodinaminiai parametrai suteikia galimybę geriau išnagrinėti ir palyginti baltymų-ligandų sistemas, o taip pat ir kurti baltymų-ligandų sąveiką aprašančius modelius.

1.8.1. Teorija

Tipinis ITK eksperimentas atliekamas palaipsniui titruojant vieną komponentą į darbinę celę, kurioje yra kitas nagrinėjamos sistemos komponentas (1.7a paveikslas). Izoterminio titravimo kalorimetras tiesiogiai matuoja titruojamų tirpalų sąveikos ir cheminių reakcijų metu vykstančius šilumos mainus. Kiekvienos injekcijos sukeltos cheminės reakcijos metu išsskiriamas ar sugeriamas tam tikras šilumos kiekis (q_i) , proporcingas *i*-tosios injekcijos su baltymu besijungiančio ligando kiekiui $(V \times \Delta L_i)$ ir reakcijos entalpijai (ΔH) :

$$q_i = V \,\Delta H \,\Delta L_i,\tag{1.22}$$

kur V – darbinės celės tūris, o ΔL_i yra besijungiančio ligando koncentracijos padidėjimo pokytis po *i*-tosios injekcijos (Leavitt ir Freire, 2001).

Modernus izoterminio titravimo kalorimetras veikia galios kompensacijos principu. Signalas (išvestis) yra galios kiekis (energijos kiekis laiko vienetui), reikaligas palaikyti pastovią temperatūrą tarp palyginamosios ir darbinės celių. Tuomet injekcijos metu išsiskyrusi šiluma atitinka plotą tarp injekcijos piko ir bazinės linijos (1.7b paveikslas). Kadangi po kiekvienos injekcijos mažėja laisvo baltymo kiekis, tai po kiekvienos injekcijos mažėja piko aukštis ir plotas, kol pasiekiamas įsotinimas. Injekcijų pikai po įsotinimo yra susiję su mechaniniu maišymu ir skiedimo efektais, todėl juos reikia įvertinti.



1.7 pav. a) ITK aparato principinė schema. b) ITK prietaiso duomenų išvestis (viršutinis brėžinys) ir integruota entalpijos kreivė (apatinis brėžinys).

1.8.2. Privalumai

ITK eksperimentai atliekami naudojant natyvius baltymus, jų nemodifikuojant. Reaguojančių medžiagų nereikia imobilizuoti, jos sąveikauja tirpale (Garbett ir Chaires, 2012). Taip pat ITK eksperimentui nedaro įtakos reaguojančių medžiagų spektroskopinės savybės, vidinė (arba intrinstinė) fluorescencija ar optinis tankis, o tai reiškia, jog metodas nėra jautrus vykstančiam agregacijos procesui. Šie ITK metodo privalumai leidžia keičiant tirpalo kompoziciją nagrinėti sąveikas tarp detergenų ir poliaminorūgčių, kai sąveikos proceso metu vyksta agregacija, ko negalėtume padaryti optiniais metodai (Boudker ir Oh, 2015).

ITK suteikia daug žinių apie nagrinėjamos sistemos stechiometriją (n), termodinaminius parametrus, tokius kaip entalpija (ΔH) , entropija (ΔS) , standartinė laisvoji Gibso energija (ΔG) , šiluminė talpa (C_p) ir disociacijos konstanta (K_d) . ITK padeda suprasti vykstančius reakcijų, kooperatyvumo efektus, šiluminius pokyčius, todėl ji yra plačiai pritaikoma: antikūnų ir antigenų, ligandų, baltymų, peptidų, fermentų, slopiklių, DNR sąveikos tyrimuose, kinetikoje (Perozzo et al., 2004).

1.8.3. Trūkumai

ITK metodu labai stipriai ar labai silpnai besijungiančių ligandų jungimosi konstantą $(K_b, K_d = 1/K_b)$ nustatyti sudėtinga. Idealiomis sąlygomis, ITK eksperimente baltymo koncentracija turi viršyti baltymo-ligando komplekso disociacijos konstantos K_d vertę nuo 5 iki 500 kartų. Jungimosi sąveikos modeliui su n identiškų jungimosi centrų, šis reikalavimas dažniausiai aprašomas parametru Vaismano c-faktoriumi (Wiseman, 1989):

$$c = \frac{n P_t}{K_d},\tag{1.23}$$



1.8 pav. ITK teorinės dozavimo kreivės, esant skirtingoms disociacijos konstantoms K_d .

kur P_t – bendra baltymo koncentracija, K_d – baltymo-ligando komplekso disociacijos konstanta, n - stechiometrija.

Izoterminio titravimo kalorimetrija nėra tinkamas metodas labai stipriai ar labai silpnai besijungiančių ligandų K_d nustatymui. Kokybiškai įvertinti reakcijos K_d galima tik tada, kai 5 < c < 500. Tokioms kreivėms nesunku nustatyti termodinaminius parametrus. Esant labai stipriam ar silpnam jungimusi, jungimosi konstatos K_d tiksliai nustatyti negalime, nes tokiems atvejams skirtumas tarp dozavimo kreivių polinkio kampo yra mažas, o K_d skiriasi dešimtimis kartų (1.8 paveikslas). Iš 1.23 lygties matyti, kad K_d nustatymą riboja bendra baltymo koncentracija P_t .

Atliekant ITK eksperimentus svarbu įvertinti tiek baltymo, tiek ligando stabilumą ir tirpumą. Dauguma hidrofobinių ir amfifilinių ligandų yra netinkami būtent dėl prasto tirpumo atitinkamose koncentracijose, reikalingose atlikti eksperimentą. Vykstant tokių ligandų agregacijai, išsiskiria dideli šilumos kiekiai, kurie gali paslėpti komplekso susidarymo šilumą (Boudker ir Oh, 2015). Taip pat baltymas gali būti nepakankamai stabilūs viso eksperimento metu (daugiau nei valandą), atitinkamoje temperatūroje ar vykstant nuolatiniam mėginio maišymui celėje.

Taip pat, nepaisant jau minėtų priežasčių, naudingi eksperimentiniai duomenys negaunami esant mažiems šiluminiams efektams komplekso formavimosi metu.

1.9. Zimm-Bragg modelis

Tai statistinės mechanikos modelis aprašantis polimerinių grandinių konformacinius virsmus (Zimm ir Bragg, 1959).



1.9 pav. Tvarkingos spiralės polimero molekulės išsidėsto tvarking
a α -spirale (paveikslas kairėje). Netvarkingos spiralės polimero molekulės išsidėsto atsi
tiktine spirale (paveikslas dešinėje).

Modelyje polipeptido grandinės monomerai gali įgyti dvi struktūras: netvarkingą spiralės struktūrą (žym. C) ir tvarkingą α -spiralės struktūrą (žym. H, 1.9 paveikslas). Tuomet tokia polipeptido grandinė užrašoma kaip C ir H struktūrų seka, pavyzdžiui -CCHHCH.

Modelyje netvarkinga polipeptidinė spiralė virsta tvarkinga spirale nukleacijos ir elongacijos procesų metu. Nukleacijos proceso metu tarp aminorūgščių susidaro pirmieji α -spiralėms būdingi vandeniliniai ryšiai, o spiralės elongacijos metu vandeniliniai ryšiai susidaro šalia jau suformuotų vandenilinių jungčių. Nukleacija vyksta atsitiktinėse polipeptidinės grandinės vietose ir su vienoda įvykio tikimybe.

Elongacijos parametras s apibrėžiamas kaip:

$$s = \frac{\mathrm{H}}{\mathrm{C}},\tag{1.24}$$

kur s yra C struktūros virtimo H struktūra pusiausvyros konstanta šalia jau esančios H srities. Nukleacijos proceso metu C struktūra virsta H struktūra šalia esančių C struktūrų. Ši pusiausvyros kosntanta išreiškiama kaip σs . Daugumai aminorūgščių s šiek tiek didesnis už 1, o $\sigma \approx$ nuo 10^{-4} iki 10^{-3} (Zimm et al., 1959).

Kadangi grandinės ilgis N gali įgyti įvairią konfigūraciją, paskaičiu
ojama statistinė suma Z:

$$Z_N = 1 + \sum_{k=1}^{N} (N - k + 1)\sigma s^k = 1 + \sigma s \frac{N - s - Ns}{(s - 1)^2},$$
(1.25)

kur (N-k+1)yra
 kH struktūrų buvimo šalia viena kitos galimų kombinacijų skaičius,
 N – polimero grandinės skaičius.

Tikimybė *i*-tojo monomero būti C arba H struktūros priklauso nuo greta esančio (i-1)-tojo ir *i*-tojo monomero struktūrų kombinacijos (1.3 lentelė).

Nors nukleacija energetiškai nenaudinga, nes fiksuojant aminorūgščių pakaitus erdvėja mažėja entropija, energija kompensuojama energetiškai naudingų vandenilinių ryšių

i-1	i	Statistinis svoris
\mathbf{C}	С	1
Η	С	1
С	Η	σs
Н	Η	S

1.3 lentelė. Polipeptide greta esančių (i-1) ir i skirtingų struktūrų kombinacijų statistiniai svoriai. Čia C – netvarkinga spiralės struktūra, o H yra tvarkinga α -spiralės struktūra.

formavimu. Taip pat entropiškai naudingas kelių spiralizacijos centrų sudarymas, priešingu atveju polipeptidinė grandinė nesusivinyniotų į vieną ilgą grandinę (Haynie, 2008). Išimtis – trumpos polipeptidinės grandinės, tuomet tikėtinas vienas nukleacijos centras nulemtas energetinio nukleacijos proceso nepalankumo.

Spiralinių struktūrų stabilumas skirtingoms aminorūgščių sekoms skiriasi. Zimm-Bragg modelis struktūros atžvilgiu įvertina spiralių formavimosi tendencijas.

1.9.1. Alkilaminų ir DNR sąveikos modelis

Matulis et al. (2002) matematiškai aprašo kooperatyvios alkilaminų ir DNR sąveikos modelį. Modelis išvestas iš Zimm-Bragg DNR lydymosi modelio (Zimm ir Bragg, 1959), kuriame išsivyniojusi DNR dalis (Θ) išreiškiama kaip dviejų parametrų s ir σ funkcija:

$$\Theta = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \left(\frac{s-1}{\sqrt{(s-1)^2 + 4s\sigma}} \right), \tag{1.26}$$

kur s – vienos bazių poros jungimosi stiprumas, o σ – kooperatyvumo parametras, parodantis kiek kartų tikimybė yra mažesnė, kad lingandai prisijungia nutolusiai vienas nuo kito, nei greta (Grosberg ir Khokhlov, 1994).

Kitaip nei DNR lydimosi modelyje, įvedamas ω ($\omega = 1/\sigma$) kooperatyvumo parametras, parodantis kiek kartų tikimybė yra didesnė, kad lingandai prisijungia greta, nei nutolus, o jungimosi stiprumas žym. K, tuomet DNR fosfato (DNRP) prijungta ligando dalis (Θ):

$$\Theta = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \left(\frac{K_b - 1}{\sqrt{(K_b - 1)^2 + 4\frac{K_b}{\omega}}} \right),$$
(1.27)

o elektrostatinė alkilaminų jungimosi konstanta (K_{elec}) :

$$K_{elec} = \left(y_f \frac{[\text{DNRP}]_{tot}}{[\text{Na}^+]} K_{sp} \right)^{\alpha}, \qquad (1.28)$$

kur $[DNRP]_{tot}$ – viso DNR fosfato koncentracija, $y_f - [DNRP]_{tot}$ ir pridėto $[RNH_3^+]$ san-

tykis, $[Na^+]$ – natrio jonų koncentracija, α – parametras, priklausantis nuo tirpalo joninės jėgos (Rouzina ir Bloomfield, 1996) ir lygus 1 ($[NaCl] \rightarrow 0 M$), $\frac{1}{2}$ ($[NaCl] \rightarrow \sim 1 M$), o K_{sp} – specifines elektrostatines jėgas aprašanti konstanta.

Tuomet jungimosi konstanta užrašoma kaip elektrostatinės jungimosi konstantos K_{elec} ir kooperatyvumo ω sandauga:

$$K_b = K_{elec}\omega. \tag{1.29}$$

Pasitelkus 1.27, 1.28 ir 1.29 lygtis išreiškiama prijungto ligando dalis:

$$\Theta = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \times \left(\frac{\left(y_f \frac{[DNRP]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha} \omega - 1}{\sqrt{\left(\left(y_f \frac{[DNRP]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha} \omega - 1 \right)^2 + 4 \left(y_f \frac{[DNRP]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha}} \right). \quad (1.30)$$

ITK matuoja šilumos pokytį titruojant ligandą į kiuvetę. Šiluma yra proporcinga prijungtam lingandui ir nepriklauso nuo reakcijos eigos. Ši šiluma – entalpija, nes palaikomos pastovaus slėgio sąlygos. ITK eksperimento injekcijų entalpijos išreiškiamos kaip:

$$\delta H(y) = \Delta H \frac{\partial \Theta}{\partial y},\tag{1.31}$$

kur y – pridėto ligando [RNH₃⁺] koncentracijos ir kiuvetėje esančio [DNRP] koncentracijos santykis, o ΔH – integralinė molinė entalpija, gaunama eksperimentiškai sudėjus šilumas, išsiskyrusias ar sugertas titravimo metu.

Teorinės kreivės taškai paskaičiuojami iš eksperimentinių taškų lygtimi:

$$\frac{\partial \Theta}{\partial y} = \frac{\Theta_i - \Theta_{(i-1)}}{y_i - y_{(i-1)}},\tag{1.32}$$

kur i - i-toji injekcija į kalorimetro darbinę celę.

Modelis nuspėja eksperimentinių kreivių poziciją ir formą kaip funkciją nuo alkil- grandinės ilgio, joninės jėgos ir DNR koncentracijos. Šiame darbe modelis taikomas nustatyti alkilaminų ir poliaminų sąveikų termodinaminius parametrus.

1.10. Globali duomenų analizė

Analizuojant duomenų kreives pagal tam tikrą modelį ieškoma modelio parametro verčių, su kuriomis teorinis modelis geriausiai aprašo nagrinėjamus duomenis. Kartais reikia nagrinėti keletą atskirų duomenų rinkinių, turinčių bendrą ar susietą tarpusavyje parametrą – tuomet tai vadiname globalia duomenų analize.

Globalus modelis aprašo ne vieną teorinę kreivę, o kreivių šeimą. Siuo atveju dalis

parametrų yra bendri ir jų vertės priskiriamos visoms kreivėms bendrai, o tuo tarpu kiti parametrai išlieka nepriklausomi kiekvienai kreivei. Kiekvienam bendram parametrui suskaičiuojama vertė, geriausiai atitinkanti visą duomenų rinkinį, o nepriklausomiems parametrams – vertės parenkamos atskirai kiekvienai kreivei.

Netiesinės regresijos būdu surandamos modelio parametrų vertės, kuriomis esant gaunama panašiausia teorinė kreivė duotiems duomenis. Panašiausia teorinė kreivė randama mažiausių kvadratų (angl. *least square*) metodu – suskaičiuojant mažiausią sumą atstumų tarp vertikalių duomenų ir teorinės kreivės taškų kvadratų. Taigi, globalios regresijos atveju visas duomenų rinkinys analizuojamas vienu metu ir yra minimizuoja viso rinkinio mažiausių kvadratų suma.

Globali analizė gali būti atlikta tik tuomet, kai visi duomenų rinkinio globalūs parametrai pateikiami vienodais vienetais, o duomenų išsibarstymas apytiksliai vienodas (Motulsky ir Christopoulos, 2003).

2. PRIETAISAI, MEDŽIAGOS IR METODAI

2.1. Naudoti prietaisai, medžiagos

2.1.1. Prietaisai

- 1. Kalorimetras "Microcal MCS" (angl. Micro Calorimetry System)
- 2. Analitinės svarstyklės "A&D GR-200"
- 3. pH-metras "LaboChema"

2.1.2. Medžiagos, reagentai ir jų paruošimas

Moksliniame tyrime panaudotos šios, iš Sigma-Aldrich pirktos polipeptidų druskos: poli-L-glutamo rūgšties natrio druska, poli-L-asparto rūgšties natrio druska. Poliaminorūgščių tirpalai paruošti tirpinant distiliuotame Mili-Q vandenyje ir laikomi -20 °C temperatūroje. Druskos rūgštis pirkta iš Sigma-Aldrich.

Tyrime panaudoti šie detergentai: oktilaminas, nonilaminas, decilaminas, undecilaminas, dodecilaminas, tridecilaminas. Detergentų tirpalai ruošti tirpinant Mili-Q vandeyje 20 μ M koncentracijos ir siekant pilnai ištirpinti poliaminą titruojant druskos rūgštimi iki pH ≈ 5 . Detergentų tirpalai laikomi kambario (25 °C) temperatūroje.

Poliaminorūgščių tirpalai ruošiami 50 mM koncentracijos atsveriant reikiamą kiekį medžiagos. ITK eksperimentuose poliaminorūgščių koncentracijos išreikštos vienam aminorūgšties monomerui. Poliaminorūgčių grynumui patikrinti atlikta elementinė analizė. Elementinė analizė atlikta elementiniu analizatoriumi Thermo Scientific Flash 2000. C, H ir N cheminių elementų dalis matuota pGlu ($C_5H_6NO_3Na \cdot nH_2O$): 32,38 (31,82)%, 5,39 (5,:44)% ir 7,29 (7,42)%, eilės tvarka C, H, N. Skaičiai skliausteliuose nurodo suskaičiuotą vertę. Mėginyje rasta (20,0±0,8)% H₂O. Tai patvirtino pGlu grynumą ir vandens masės dalies tikslumą. Tokiu pačiu principu atlika cheminių elementų C, H, ir N analizė ir pAsp ($C_4H_4NO_3Na \cdot nH_2O$, rasta (14,8±0,5)% H₂O) C – 30,15 (29,86)%, H – 4,34 (4,16)%, N – 8,62 (8,71)%. Elementinės analizės standartinė paklaida C, H ir N yra 0,07%, 0,05% ir 0,01%.

2.2. Metodai

2.2.1. Izoterminio titravimo eksperimentas

Eksperimentai atlikti Microcal (Northampton, MA) MCS (angl. *Micro Calorimetry System*) izoterminio titravimo kalorimetru. Eksperimentui kalorimetras paruošiamas darbinę celę pakartotinai plaunant Milli-Q vandeniu ir praskalaujant paruoštu tirpalu. Eksperimentai atlikti pastovioje temperatūroje, temperatūros intervale nuo 25 °C iki 60 °C. Švirkšto maišymo greitis 300 apsisukimų per minutę. Įprastai švirkšte 5 mM koncentracijos detergento tirpalas, nebent nurodyta kitaip. Eksperimentai planuoti su 0,5 mM poliaminorūgties koncentracija darbinėje celėje, kad eksperimento viduryje būtų pasiektas 1:1 detergento ir poliaminorūgšties molekulių santykis, tačiau atlikus elementinę analizę, dėl mėginiuose rasto vandens patikslintos naudotos poliaminorūgščių koncentracijos: kalorimetro darbinėje celėje 0,40 mM pGlu ar 0,425 mM pAsp, nebent nurodyta kitaip. Celės ir švirkšto tūriai 1,34 mL ir 250 µL (išvardinta eilės tvarka). Nusistovėjus bazinei linijai, pirma injekcija automatiškai atliekama po 3 minučių. Titruojama 25 injekcijomis po 10 µL intervalu kas 3 minutes.

Eksperimentams būdinga kalno formos jungimosi kreivė. Tipinis eksperimento rezultatas pavaizduotas 2.1 paveiksle.

2.2.2. Jungimosi entalpijos, stechiometrijos nustatymas

Suminė jungimosi entalpija išmatuojama sudėjus ir perskaičiavus moliui medžiagos atskirų injekcijų metu išsiskyrusias jungimosi šilumas (2.1 paveikslas).



2.1 pav. 0,4 mM pGlu sąveikos su 5 mM $C_{10}H_{21}NH_3^+$ ITK eksperimento duomenys. a) Neapdoroti eksperimento duomenys. b) Integruotas išsiskyręs šilumos kiekis kiekvienos injekcijos metu (integruotas plotas atvaizduota horizontaliomis linijomis).

Jungimosi entalpijos nustatytos integruojant ITK duomenis. Tam buvo panaudota Origin 7 (© OriginLab Corporation) duomenų integravimo priemonė (MicroCal, 2004).

Kadangi patikrinus poliaminorūgčių grynumą elementinės analizės metodu pGlu mėginyje rasta (20,0±0,8)% H₂O, o pAsp mėginyje (14,8±0,5)% H₂O, tikėtina jungimosi stechiometrija n = 0.80 (pGlu) ir n = 0.85 (pAsp).

2.2.3. Priešjonių kondensacijos įvertinimas

Norint įvertinti ar nagrinėtose sistemose vyksta priešjonių kondensacija (žiūrėti 1.7 skyrių), buvo atlikti pGlu ir pAsp poliaminorūgščių teoriniai krūvio tankio atstumo (λ_B) skaičiavimai.

Kadangi krūviai linkę pasiskirstyti didžiausiu atstumu vienas nuo kito, atstumai tarp homopolimero aminorūgščių gretimų krūvių centrų paskaičiuoti esant ištiesintai polimero grandinės konfigūracijai. Apskaičiuotas atstumas tarp *i* ir (i + 1) krūvių pAsp buvo 7,4 Å, o pGlu – 7,9 Å. Analizė parodė, kad apskaičiuotos Γ vertės yra mažesnės už Γ_{crit} (1.19 lygtis), todėl priešjonių kondensacijos efektai neturėjo įtakos nustatant nagrinėjamų sistemų termodinaminius parametrus.

2.2.4. Alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos modelis

Jungimosi stiprumas ir kooperatyvumas įvertintas remiantis D. Matulio alkilaminų ir DNR sąveikos modeliu (žiūrėti 1.9.1 skyrių), pritaikytu katijoninių alkilaminų ir anijoninių poliaminorūgščių sąveikai nagrinėti. Analogiškai 1.30 lygčiai, besijungiančio ligando dalis (Θ) :

$$\Theta = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \times \left(\frac{\left(y_f \frac{[pAR]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha} \omega - 1}{\sqrt{\left(\left(y_f \frac{[pAR]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha} \omega - 1 \right)^2 + 4 \left(y_f \frac{[pAR]_{tot}}{[Na^+]} K_{sp} \right)^{\alpha}} \right), \quad (2.1)$$

kur ω – kooperatyvumas, K_{sp} – specifinės konkurencijos konstanta, y_f – pridėto [RNH₃⁺] ir visos [pAR]_{tot} koncentracijų santykis, α – joninės jėgos koeficientas.

Tuomet analogiškai alkilaminų ir DNR sąveikos atveju jungimosi entalpija paskaičiuojama pagal 1.31 lygtį, o teorinės kreivės – remiantis 1.32 lygtimi.

Tokios sistemos jungimosi konstanta išreiškiama kaip:

$$K_b = K_{sp}\omega \tag{2.2}$$

2.2.5. Globali duomenų analizė

Alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos modelis neturi analitinio sprendinio, todėl taikomas skaitmeninis sprendimo būdas.

Jungimosi stiprumui ir kooperatyvumui įvertinti (žiūrėti 1.9.1 skyrių) parašytas matematinis modulis PYTHON programavimo kalba (3.4 versija) panaudojant duomenų analizei skirtą LMFIT (Newville et al., 2014) programinį paketą.

Alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos teorinės kreivės generuojamos kaip 1.32 lygties

funkcija:

$$f(K_{sp},\omega,n,\Delta H), \tag{2.3}$$

kur K_{sp} – specifinės konkurencijos konstanta, ω – kooperatyvumas, n – stechiometrija, ΔH – integralinė entalpija.

Pagrindiniai duomenų analizės etapai:

- 1. Iš poliaminorūgšties (pAsp ar pGlu) sąveikos (toje pačioje temperatūroje) su nagrinėtais alifatiniais alkilaminais sudaromas eksperimentinių duomenų rinkinys.
- Poliaminorūgšties ir alkilamino sąveikos duomenių rinkiniui nustatomos išmatuotos integruotos entalpijos vertės ir stechiometrija (žiūrėti 2.2.2 skyrių).
- 3. Nustatoma kooperatyvumo (ω) parametro vertė. Trumpiausią alifatinę grandinę turinčio alkilamino kooperatyvumo parametro vertei leidžiama kisti laisvai, o ilgesniems alkilaminams kooperatyvumas susiejamas su kooperatyvumo faktoriumi (ω_{CH_2}), kuris pailgėja 4,24 kartus alkilamino alifatinei grandinei pailgėjant viena metilen- grupe. Tokia metilen- grupės įtaka jungimuisi buvo stebima daugeliui alifatinių grandinių (McAuliffe (1966), Tanford (1980), bei alkilaminų agreagacijos procesuose (Matulis ir Bloomfield, 2001).
- 4. Parenkamos pradinės K_{sp} ir ω vertės ir paleidžiama programa, kuri keisdama K_{sp} ir ω parametrų vertes randa tokias parametrų rinkinio vertes, su kuriomis yra mažiausia kvadratų suma tarp eksperimentinių ir teorinių kreivių taškų.

3. TYRIMO REZULTATAI

Šiame darbe izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu buvo tirti neigiamai įkrautų anijoninių poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveikos termodinaminiai parametrai. Tirta kaip šie parametrai priklauso nuo temperatūros, tirpalo joninės jėgos, medžiagų koncentracijos, cheminės struktūros (aminorūgšties šoninės grupės, detergento joninės grupės, hidrofobinės dalies ilgio). Taip pat tirtas šių sistemų jungimosi stiprumas ir kooperatyvumas taikant alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos modelį aprašytą 2.2.4 skyriuje.

3.1. Sąveikos stechiometrija ir koncentracijos įtaka sąveikai

ITK eksperimentai planuoti taip, kad eksperimentų metu detergento molekulei jungiantis prie krūvį turinčios aminorūgšties šoninės grupės, santykis 1:1 būtų pasiektas eksperimento viduryje, tačiau iš eksperimentinių rezultatų buvo matyti, kad šis santykis pasiekiamas anksčiau nei tikėtasi. Tai galėjo lemti poliaminorūgščių grynumas, todėl atlikta elementinė poliaminorūgščių analizė, kuri patikslino poliaminorūgščių medžiagose esantį vandens kiekį. Įvertinus medžiagose rastą vandens kiekį ($20 \% H_2O - pGlu$ ir $15 \% H_2O - pAsp$), tikėtinas detergento molekulių ir poliaminorūgščių santykis 1:1 pGlu pasiekiamas esant moliniam santykiui 0,8, o pAsp – 0,85, kas pateisina gautus eksperimentinius duomenis. Toliau poliaminorūgščių koncentracijos pateikiamos įtraukiant jose rastą vandens



3.1 pav. pGlu sąveikos su dodecilaminu ITK duomenys. Linijos yra tik vaizdinimo priemonė, ne matematinis modelis.

kiekį.

Siekiant patikrinti tirpalų koncentracijų įtaką poliaminorūgščių ir detergentų jungimosi sąveikai, atlikti kontroliniai ITK eksperimentai su skirtingomis tirpalų koncentracijomis (darbinėje celėje – poliaminorūgštis, o švirkšte detergentas): 0,4 mM poliglutamato ar 0,425 mM poliaspartato sąveikos su 5,0 mM alkilaminais eksperimentai, bei eksperimentai su dvigubai didesnėmis koncentracijomis – 0,8 mM poliglutamato ar 0,85 mM poliaspartato sąveikos su 10,0 mM alkilaminų. Poliaminorūgščių koncentracijos išreikštos vienam aminorūgšties monomerui. Eksperimentai nebuvo atlikti didesnėse koncetracijose dėl prasto alkilaminų tirpumo.

Atlikti eksperimentai parodė, kad koncentracija neturėjo reikšmingos įtakos sąveikos stiprumui (3.1 paveikslas), todėl eksperimentai buvo tęsiami su mažesnės koncentracijos tirpalais t.y. 0,4 mM koncentracijos poliglutamato ar 0,425 mM koncentracijos poliaspartato kalorimetro darbinėje celėje ir 5,0 mM koncentracijos alkilaminais - švirkšte.

Nuokrypius nuo stechiometrijos gali paaiškinti skirtingas vandens kiekis esantis atsvertoje poliaminorūgštyje. Taip pat molekulinė poliaminorūgščių sąveikos su detergentais dinamika, lemianti vykstančius agregacijos ir kooperatyvumo procesus. O taip pat rezultatų tikslumui daro įtaką ir žmogiškasis faktorius ruošiant tirpalus ir atliekant eksperimentus.

3.2. Tirpalo joninės jėgos įtaka sąveikai



Natrio tridecilamino chlorido ir pGlu molinis santykis

3.2 pav. Natrio tridecilamino ir pGlu sąveikos 37 °C temperatūroje ITK duomenys esant skirtingoms natrio chlorido koncentracijoms. Didinant NaCl koncentraciją silpnėja tridecilamino ir pGlu egzoterminė sąveikos entalpija. Linijos paveiksle yra tik vaizdinė priemonė.

Tirpalo joninės jėgos įtaka detergentų ir poliaminorūgšcių sąveikai buvo išmatuota naudojant tirpalus su skirtinga natrio chlorido koncentracija (3.2 paveikslas). Eksperimentiniai duomenys parodė, kad didėjant NaCl koncentracijai mažėja reakcijos stechiometrija, o pasiekus tam tikrą NaCl koncentraciją – jungimosi sąveika nebevyksta.

Įdomu tai, kad esant didelei druskų koncentracijai entalpijos narys pradeda priešintis vykstančiam procesui ir egzoterminė reakcija tampa endotermine.

3.3. Temperatūros įtaka sąveikai

Visoms alkilaminų (nonilamino, decilamino, undecilamilo, dodecilamino ir tridecilamino) ir poliaminorūgščių (pAsp, pGlu) poroms buvo matuojama sąveikos (jungimosi) entalpija esant skirtingoms temperatūroms (intervale nuo 25 °C iki 60 °C). pAsp ir alkilaminų entalpijų matavimai pateikiami 3.3 paveiksle.

Kadangi iš 1.6 lygties šiluminė talpa yra entalpijos ir temperatūros pokyčių santykis, todėl iš to galime įvertinti pAsp ir alkilaminų jungimosi sąlygotus šiluminės talpos pokyčius. Analogiški eksperimentai atlikti ir su pGlu. Gauti rezultatai apibendrinti 3.1 lentelėje



3.3 pav. ITK eksperimentų metu nustatyta sąveikos tarp skirtingo ilgio alkilalimų ir poliasparto entalpijų priklausomybė nuo temperatūros (kairėje) ir išmatuotų skirtingo ilgio alkilalimų ir poliasparto šiluminių talpų priklausomybė nuo detergento alkil- grandinės ilgio (dešinėje).

Tyrime naudotų alkilaminų ir poliaminorūgšties porų tarpusavio sąveikos pasižymi neigiamu šiluminės talpos pokyčiu. Didėjant temperatūrai sąveikos entalpijos vertė neigiamėja. Šis reiškinys siejamas su hidrofobine agregacija (Matulis ir Bloomfield, 2001). Iš atliktų eksperimentų buvo pastebėta, jog šiluminės talpos pokyčio neigiama vertė tiesiškai koreliuoja su detergento hidrofobinės dalies ilgiu (3.3 paveikslas).

05.			
pAR	m	$\Delta C_p(\mathrm{kJmol^{-1}K^{-1}})$	$\Delta\Delta C_{p,\mathrm{CH}_2}(\mathrm{kJmol^{-1}K^{-1}})$
	9	$-0,04 \pm 0,02$	
nAsn	10	$-0,158\pm0,002$	0.074 ± 0.000
рлър	11	$-0,250\pm0,002$	-0,014±0,005
	12	$-0,289 \pm 0,005$	
	13	$-0,346 \pm 0,005$	
	9	$-0,05\pm0,01$	
n Clu	10	$-0,165 \pm 0,004$	0 11 0 01
pGiù	11	$-0,27\pm0,03$	$-0,11\pm0,01$
	12	$-0,44\pm0,02$	
	13	$-0,448 \pm 0,001$	

3.1 lentelė. Skirtingo ilgio alkilaminų $\rm C_mH_{m+1}NH_3^+$ sąveikos su poliaspartu ir poliglutamu šiluminės talpos.

3.4. Alifatinės grandinės ilgio įtaka sąveikai

Alifatinės grandinės ilgio įtaka poliaminorūgščių ir detergentų tarpusavio sąveikai nustatyta atlikus ITK eksperimentus naudojant skirtingų alifatinės grandinės ilgių detergentus. ITK eksperimentai atlikti poliaspartato ir poliglutamato homopolimerus titruojant alifatiniais alkilaminais, kurių alifatinės grandinės ilgis buvo nuo 9 iki 13 anglies atomų. Trumpesnių nei 9 anglies atomus turinčių detergentų sąveika su poliaminorūgštimis buvo per silpna ITK metodu stebėti jungimąsi, o ilgesnės anglies grandinės alkilaminų tirpumas



3.4 pav. Skirtingo ilgio alkilaminų ir poligliutamato sąveikos ITK duomenys nuo 25 °C iki 60 °C temperatūros intervale (kairėje) ir sąveikos entalpijų pokyčio metilen- grupei priklausomybė nuo temperatūros (dešinėje).

pernelyg mažas (detergentai sudaro miceles), kad atlikti eksperimentus (1.5 paveikslas).

Pastebėta, kad alkilaminų prisijungimo prie poliaminorūgščių entalpijos pokytis skirtingo ilgio katijoniniams alkilaminams skiriasi – ilgesnis detergento hidrofobinės dalies ilgis lemia neigiamesnį entalpijos pokytį. Taip pat stebėtas dėsningumas, kad sąveikos entalpijos dydis – tiesiogiai proporcingas alifatinės grandinės ilgiui alkilaminams, turintiems nuo 10 iki 13 anglies atomų. Toks dėsningumas stebėtas tiek pGlu, tiek pAsp sąveikos su alkilaminais metu, tačiau vienos metilen- grupės įtakos entalpijos skaitinei vertei skirtingoms poliaminorūgštims nebuvo vienoda (žiūrėti 3.5 skyrių). pGlu ir alkilaminų entalpijos matavimai pateikti 3.4 paveiksle, rezultatai apibendrinti 3.2 lentelėje. Ilgėjant detergento alifatinės grandinės ilgiui buvo stebima vis labiau egzoterminė sąveika. Tikėtina, kad poliaminorūgščių sąveiką su nonilaminu užmaskuoja kiti šioje sistemoje vykstantys procesai, todėl sąveikos su nonilaminu (ir trumpesnę anglies atomų grandinę turinčiais detergentais) entalpijos pokyčio nepavyko patikimai išmatuoti.

3.2 lentelė. Skirtingo ilgio alkilaminų $C_m H_{m+1} N H_3^+$ sąveikos su poliaspartatu ir poliglutamatu entalpijos pokytis tenkantis CH_2 grupei skirtingose temperatūrose.

pAR	T (°C)	$\Delta H_{\rm CH_2} (\rm kJmol^{-1})$
	25	$-2,54{\pm}0,3$
n A an	37	$-3,32{\pm}0,3$
pAsp	49	$-3,87{\pm}0,4$
	60	$-4,60{\pm}0,08$
	25	$-1,60\pm0,3$
nClu	37	$-2,95\pm0,2$
pGiù	49	$-4,14{\pm}0,5$
	60	$-5,19{\pm}0,6$

0 -1 a b -2 -0,1 ΔH_{CH_2} (kJ/mol) $\Delta C_{p_{\rm l}}(\rm kJ/mol\,K)$ -3 pGlu × × pGlu pAsp -5 -0,4* pAsp Ж -6 -0,5Т Т Τ 20 25 $30 \ 35 \ 40 \ 45 \ 50 \ 55 \ 60 \ 65$ 129 10 11 13Temperatūra (°C) Anglies atomų skaičius

3.5. pAsp ir pGlu entalpijos ir šiluminės talpos palyginimas

3.5 pav. a) pAsp ir pGlu entalpijos pokyčio priklausomybė nuo temperatūros. b) pAsp ir pGlu šiluminės talpos pokyčio priklausomybė nuo anglies atomų skaičiaus.

Atlikus eksperimentus su skirtingomis poliaminorūgštimis pastebėta, kad entalpijos ir šiluminės talpos pokytis sistemoms skiriasi. pGlu atveju buvo stebimas didesnis šiluminės talpos pokytis ir entalpijos pokytis didėjant detergento alifatinės grandinės ilgiui. Tai galima sieti su poliaminorūgščių šoninių grandinių struktūros skirtumu – pGlu šoninė grandinė yra ilgesnė viena metilen- grupe. Tačiau tvirtinti, kad toks dėsningumas neginčijamas – negalime, nes sąveikos energijos yra šiluminio judėjimo energijos (RT) eilės (25 °C temperatūroje RT yra 2,479 kJ mol⁻¹).

3.6. Sąveikos jungimosi stiprumas ir kooperatyvumas

Siekiant nustatyti poliaminorūgščių ir detergentų jungimosi sąveikos stiprumo ir kooperatyvumo parametrus, eksperimentiniai ITK duomenys analizuoti remiantis alkilaminų ir poliaminorūgščių sąveikos modeliu (žiūrėti 2.2.4 skyrių) atliekant globalią analizę (žiūrėti 2.2.5 skyrių).

Analizuojant duomenis buvo pastebėta, kad ieškant eksperimentinius taškus geriausiai apibūdinančių teorinių kreivių, egzistuoja lokalūs mažiausių kvadratų sumos minimumai, trukdantys automatiniu paieškos būdu rasti globalų funkcijos minimumą. Šiam pastebėjimui patvirtinti, visų duomenų rinkiniams buvo sudaryti trijų dimensijų paviršiaus grafikai plačiame parametrų intervale (pavyzdžiui: 3.6 paveikslas).



3.6 pav. pGlu ir alkilaminų sąveikos 49 °C temperatūroje mažiausios kvadratų sumos priklausomybė nuo varijuojamų K_{sp} ir ω parametrų intervale: K_{sp} nuo 0 iki 1, ω nuo 0 iki 400. Dėl plataus ω verčių intervalo, kai kurios sritys atvaizduojamos netiksliai.

Taip pat sukauptų duomenų rinkinių dėka buvo surasti parametrų deriniai, su kuriais apskaičiuojama globali mažiausia kvadratų suma.

Sugeneravus kreivės su mažiausią kvadratų sumą turinčiu parametrų deriniu, gaunamos teorinės kreivės, geriausiai apibūdinančios eksperimentinius taškus. Tipiniai tokios analizės rezultatai pavaizduoti 3.7, 3.8 paveiksluose.

Iš 3.7 paveikslo matyti, kad aukštesnėje temperatūroje modelis geriau aprašo ilgesnės alkil- grandinės alkilaminų, o žemesnėje temperatūroje (3.8 paveikslas) geriau aprašomos trumpesnės alkil- grandinės alkilaminų sąveikos su poliaminorūgštimis eksperimentiniai taškai. Dėsningumą lemia trumpiausio alkilamino ω ir kooperatyvumo faktoriaus (ω_{CH_2}) vertės, apsprendžiančios ilgesnių alkilaminų sąveikos kooperatyvumo vertę.



3.7 pav. pGlu (0,415 mM) sąveika su detergentais (5 mM) 49 °C temperatūroje ITK eksperimentiniai taškai ir juos atitinkančios modelinės kreivės (žym. linijos). Parametrų vertėms: $K_{sp} = 0,995$, $\omega_{10} = 1,6$, $\omega_{CH_2} = 4,241$, n = 0,8, $\Delta H_{C_{10}} = -0,2$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{11}} = -4,11$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{12}} = -10,02$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{13}} = -12,08$ kJ mol⁻¹ paskaičuota mažiausių kvadratų sumos vertė 51,75.



3.8 pav. pGlu (0,415 mM) sąveikos su detergentais (5 mM) 25 °C temperatūroje ITK eksperimentiniai taškai ir juos atitinkančios modelinės kreivės (žym. linijos). Parametrų vertėms: $K_{sp} = 0.975$, $\omega_{10} = 60$, $\omega_{CH_2} = 4.241$, n = 0.8, $\Delta H_{C_{10}} = 3.81$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{11}} = 3.35$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{12}} = 1.54$ kJ mol⁻¹, $\Delta H_{C_{13}} = -0.91$ kJ mol⁻¹ paskaičuota mažiausios kvadratų sumos vertė 91,62.

 K_{sp} visiems duomenų rinkiniams apytiksliai lygi 1. Ši vertė parodo, kad tirtose sistemose poliaminorūgštys yra vienodai atrankios tiek sąveikai su natrio jonais, tiek su hipotetiniu alkilaminu, neturinčiu hidrofobinės dalies. Kooperatyvumo (ω) parametro vertė smarkiai kito, todėl jos vienareikšmiškai nustatyti nepavyko.

Iš atliktos alkilaminų ir detergentų sąveikos modelio parametrų globalios duomenų analizė matyti, kad jungimosi stiprumo (K_b) ir kooperatyvumo (ω) vienareikšmiškai nustatyti negalima dėl keletos pagrindinių priežaščių:

- 1. Varijuojant K_{sp} ir ω parametrus ($K_s p \in [0, 1], \omega \in [0, 400]$) apskaičiuotos mažiausio kvadrato vertės gerai aprašo tik dalį duomenų rinkinio eksperimentinių kreivių.
- 2. Yra (K_{sp}, ω) parametrų rinkinių, kuomet apskaičuojamas sąlyginai mažas skirtumas tarp eksperimentinių ir teorinių duomenų kvadratų sumos, nors parametrų rinkinių vertės smarkiai skiriasi.
- 3. Esant didelei ω parametro vertei, gerai aprašomi trumpesnių alkilaminų eksperimentiniai taškai, nors ir kvadratų suma paprastai būna didesnė. Ilgesnių alkilaminų didelės kvadratų sumos paklaida atsiranda dėl $\omega_{\rm CH_2} = 4,241$ daugiklio, kuomet ilgėjant alkilaminui smarkiai statėja teorinės kreivės forma.

3.3 lentelėje pateikiamos sumodeliuotos ΔG ir $T\Delta S$ vertės. ΔG apskaičuota iš 1.20, 2.2 lygčių, o $T\Delta S$ iš 1.21 lygties. Neigiamas ΔG pokytis patvirtina savaiminę poliaminorūgščių ir alkilaminų sąveiką, o $T\Delta S$ įvertina šios sąveikos entropijos indėlį.

Neatmetama galimybė, kad ω_{CH_2} daugiklio vertė gali būti mažesnė. O taip ir tai, jog mūsų taikytas matematinis modelis nagrinėtoms sistemoms gali būti per daug supaprastintas.

3.3 lentelė. Poliaminorūgščių ir alkilaminų sąveikos termodinamikos parametrai. Čia t - teorinė vertė iš sumodeliuotų K_{sp} ir ω verčių, i - integruota vertė. Vertės suskaičiuotos, kai $\omega_{CH_2} = 4,241$.

				$\Delta G_t \; (\text{kJ/mol})$			$\Delta H_i \; (\text{kJ/mol})$			$T\Delta S_t \; (kJ/mol)$					
pAR	T (°C)	K_{sp}	ω_{10}	C ₁₀	\mathbf{C}_{11}	\mathbf{C}_{12}	\mathbf{C}_{13}	C ₁₀	\mathbf{C}_{11}	\mathbf{C}_{12}	\mathbf{C}_{13}	C_{10}	\mathbf{C}_{11}	\mathbf{C}_{12}	\mathbf{C}_{13}
	25	0,99	80	-10,8	-14,4	-18,0	-21,6	3,11	1,93	-1,42	-4,22	13,9	16,3	$16,\! 6$	$17,\!4$
n A an	37	1,00	2,4	-2,2	-6,0	-9,7	-13,4	1,11	-0,85	-5,53	-8,38	3,4	5,1	4,2	5,0
pAsp	49	0,90	40	-9,7	-13,6	-17,5	-21,3	-0.7	-4.08	-9.38	-14.29	$_{9,0}$	9,5	8,1	7,1
	60	0,97	40	-10,1	-14,1	-18,1	-22,1	-2,44	-6,78	-11,36	-16,21	7,7	7,3	6,8	$5,\!9$
	25	0,98	60	-10,1	-13,7	-17,2	-20,8	3,81	$3,\!35$	$1,\!54$	-0,91	13,9	17,0	$18,\!8$	$19,\!9$
nClu	37	1,00	1,1	-0,2	-4,0	-7,7	-11,4	2,01	-0,04	-3,81	-6,58	2,2	3,9	3,9	4,8
pGiù	49	$1,\!00$	$1,\!6$	-1,2	-5,1	-9,0	-12,8	-0,2	-4,11	-10,02	-12,08	1,0	1,0	-1,0	$0,\!8$
	60	$1,\!00$	3	-3,0	-7,0	-11,0	-15,0	-1,91	-5,81	-14,41	$-15,\!54$	1,1	1,2	-3,4	-0,5

4. TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS

Šio darbo metu tirta neigiamą krūvį turinčių poliaminorūgščių (poliaspartato, poliglutamato) ir teigiamą krūvį turinčių detergentų (alifatinių alkilaminų – nonilamino, decilamino, undecilamino, dodecilamino ir tridecilamino) tarpusavio sąveikos sistema. Išmatuoti nagrinėtos sistemos sąveiką lemiantys ir paaiškinantys termodinaminiai parametrai. Tai pat pastebėti dėsningumai, padedantys nustatyti ir suprasti sistemoje vykstančius procesus.

Eksperimentai, varijuojant sistemos joninę jėgą keičiant natrio chlorido koncentraciją, parodė, kad didėjant natrio chlorido koncentracijai silpnėja anijoninių poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveika. Tai reiškia, kad sąveikos tarp poliaminorūgščių ir detergentų viena iš dedamųjų yra elektrostatinė sąveika, o pridėti natrio jonai galimai sąveikauja su poliaminorūgšties šoninėmis karbonil- grupėmis ir blokuoja (ekranuoja) poliaminorūgščių sąveiką su teigiamais detergentų krūvių centrais. Taip pat, ITK eksperimentinių duomenų kreivės parodė, kad alkilaminų molekulių krūviai sąveikauja su poliaminorūgščių krūviais santykiu 1:1, o tai reiškia, kad pasiekus ribą, kuomet teigiamai įkrautų alkilamino molekulių krūvių skaičius susilygina su poliaminorūgšties priešingo krūvio skaičiumi, sąveika nebevyksta. Tačiau galimi stechiometriniai nukrypimai, sąlygoti poliaminorūgščių molekulinės dinamikos, o taip pat ir dėl vykstančių agregacijos, kooperatyvumo procesų.

Atlikus eksperimentus keičiant alkilaminų alkil- grandinės ilgį nuo 9 iki 13 anglies atomų, apskaičiuota metilen- grupės įtaka sąveikos entalpijai ir nustatyta koreliacija tarp detergento alifatinės grandinės ilgio ir sąveikos stiprumo – didėjant alkilamino alifatinės anglies grandinės ilgiui tiesiškai didėjo alkilamino ir poliaminorūgšties jungimosi sąveika. Toks pastebėjimas negalioja poliaminorūgščių sąveikai su nonilaminu. Tikėtina, kad poliaminorūgščių sąveiką su nonilaminu užmaskuoja kiti šioje sistemoje vykstantys procesai.

Norint nustatyti šiluminės talpos pokyčius (ΔC_p) pastovaus slėgio sąlygomis buvo atlikti eksperimentai skirtingose temperatūrose. Nustatyta, kad ilgėjant detergento grandinės ilgiui stebimas tiesinis neigamas pastovaus slėgio šiluminės talpos (ΔC_p) pokytis. Apskaičiuota metilen- grupės įtakos sąveikai vertė (ΔH_{CH_2}) ir neigamas šiluminės talpos pokytis pastovaus slėgio sąlygomis (ΔC_p) pagrindė, kad sąveikos metu vyksta detergentų hidrofobinė agregacija (Matulis ir Bloomfield, 2001).

Trumpesniems detergentams, nei 9 anglies atomai jungimasis vyksta silpnai ar visai nevyksta, o tai reiškia, kad jungimuisi svarbi tiek elektrostatinė, tiek hidrofobinė sąveika.

Eksperimentinių ITK duomenų kalno formą galima paaiškinti kooperatyvumo efektu. ITK signalo stiprėjimas aiškinamas tuo, kad prie polimero jungiantis detergento molekulėms, polimero ir detergento molekulių kompleksas iš netvarkingos struktūros pereina į tvarkingą α -spiralės struktūrą, ko pasekoje daugiau detergento molekulių gali persikloti tarpusavyje ir didėja jungimosi sąveika.

Eksperimentinių duomenų analizei pritaikytas matematinis modelis įskaitantis jun-

gimosi stiprumo ir kooperatyvumo parametrus. Apskaičiuota speficinės konkurencijos konstanta (K_{sp}) apytiksliai lygi 1. Tokia specifinės konkurencijos konstantos vertė rodo, kad tirtose sistemose hipotetinis alkilaminas neturinis hidrofobinės dalies ir natrio jonai saveikautų su poliaminorūgščių šoninėmis grupėmis neatrankiai t.v. nei natrio jonai, nei hipotetinis alkilaminas vienas kito atžvilgiu neturi didesnio afiniškumo saveikai su poliaminorūgšties karbonil- grupėmis. Kooperatyvumo (ω) parametro vertė smarkiai kito, todėl jos vienareikšmiškai nustatyti nepavyko. Vienareikšmiui kooperatyvumo parametro nustatymui galėjo turėti įtakos didelis sistemos jautrumas, kuris lėmė eksperimentinių taškų išsibarstymą, kas apsunkino skaitmeninę duomenų analizę. Taip pat tai, jog egzistuoja kraštutinės trumpiausio alkilamino kooperatyvumo vertės, kuomet esant mažesnei tokiai vertei geriau aprašomi ilgesnės grandinės alkilaminų saveikos eksperimentiniai taškai, o kitu atveju – esant didesnei trumpiausio alkilamino kooperatyvumo vertei geriau aprašomos trumpesne alifatinę anglies grandinę turinčių alkilaminų saveikos su poliaminorūgštimis eksperimentinės kreivės. Šį dėsningumą lemia tai, kad alkilaminų kooperatyvumas yra susietas per kooperatyvumo daugikli, lygu 4,24 kartams alkilamino pailgėjimui per metilengrupę. Tokia metilen- grupės įtaka jungimuisi buvo stebima daugeliui alifatinių grandinių (McAuliffe (1966), Tanford (1980)), bei alkilaminų agreagacijos procesuose (Matulis ir Bloomfield, 2001). Neatmetama galimybė, kad nagrinėtų sistemų kooperatyvumo daugiklis gali būti daug mažesnis, o taip pat ir galimybė, kad naudotas modelis nagrinėtoms sistemoms yra per daug supaprastintas.

Keičiant su detergentais sąveikajančias poliaminorūgštis, nustatyta, kad metilen- grupės įtaka sąveikos entalpijai yra nevienoda. pGlu sąveikos su detergentais entalpijos pokytis metilen- grupei neigiamesnis, o taip pat ir neigiamesnis sąveikos su detergentais šiluminės talpos pokytis. Tai galime paaiškinti steriniu efektu. pGlu turi metilen- grupe ilgesnę šoninę grandinę, todėl prie šoninėje pGlu grandinės karbonil- grupės gali lengviau priartėti priešingą krūvį turinčios detergentų amino grupės.

5. IŠVADOS

Naudojant izoterminio titravimo kalorimetrijos metodą ir varijuojant eksperimento sąlygas bei naudojamas medžiagas buvo nustatyti pagrindiniai anijoninių poliaminorūgščių ir katijoninių detergentų sąveikos termodinaminiai parametrai ir savybės:

- Poliaminorūgščių ir detergentų sąveika susideda iš elektrostatinės ir hidrofobinės sąveikos dedamųjų. Tirtos poliaminorūgštys sąveikauja su alkilaminais stechiometriniu santykiu 1:1.
- Standartinėse sąlygose (25 °C, 1 atm) alkilaminų alifatinės grandinės padidėjimas viena metilen- grupe (kai anglies atomų skaičius m kinta nuo 10 iki 13) lemia sąveikos entalpijos su pAsp ir pGlu sumažėjimą atitinkamai 2,54 kJ mol⁻¹ ir 1,60 kJ mol⁻¹.
- Darbe tirtų alkilaminų alifatinės grandinės ilgiui padidėjus viena metilen- grupe, sąveikaujančių pAsp ir alkilamino sistemos šiluminė talpa sumažėja 0,074 kJ mol⁻¹ K⁻¹, o pGlu ir alkilamino sistemos 0,11 kJ mol⁻¹ K⁻¹.
- Naudojant matematinį modelį nustatytos specifinės konkurencijos jungimosi konstantos ir kooperatyvumo parametrų vertės leidžia įvertinti laisvosios Gibso energijos ir entropijos indėlį sąveikai. Standartinėse sąlygose, alkilaminų alifatinei grandinei kintant nuo 10 iki 13 anglies atomų, pAsp-alkilamino sistemos ΔG kito nuo -10,8 kJ mol⁻¹ iki -21,6 kJ mol⁻¹, o $T\Delta S$ nuo 13,9 kJ mol⁻¹ iki 17,5 kJ mol⁻¹. pGlu ir alkilaminų sistemai ΔG kito nuo -10,1 kJ mol⁻¹ iki -20,8 kJ mol⁻¹, o $T\Delta S$ nuo 13,9 kJ mol⁻¹ iki 19,9 kJ mol⁻¹.
- Didėjant tirtų sistemų joninei jėgai mažėja sąveikos stechiometrija, o pasiekus tam tikrą joninę jėgą jungimosi sąveika nebevyksta.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

- Abraham, M. H. (1984). Thermodynamics of solution of homologous series of solutes in water. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases, 80(1):153–181.
- Alfrey, T., Berg, P. W., ir Morawetz, H. (1951). The counterion distribution in solutions of rod-shaped polyelectrolytes. *Journal of Polymer Science*, 7(5):543–547.
- Almeida, P. F., Pokorny, A., ir Hinderliter, A. (2005). Thermodynamics of membrane domains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1720(1):1–13.
- Andrews, T. (1869). Bakerian lecture: On the continuity of the gaseous and liquid states of matter. Proceedings of the Royal Society of London, 18(114-122):42–45.
- Aue, D. H., Webb, H. M., ir Bowers, M. T. (1976). A thermodynamic analysis of solvation effects on the basicities of alkylamines. an electrostatic analysis of substituent effects. *Journal of the American Chemical Society*, 98(2):318–329.
- Berg, O. G. ir von Hippel, P. H. (1985). Diffusion-controlled macromolecular interactions. Annual review of biophysics and biophysical chemistry, 14(1):131–158.
- Blokzijl, B. W. ir Engberts, J. B. F. N. (1993). Hydrophobic effects. opinions and facts. In Angew. Chem. Int. Ed. Engl., volume 32, pages 1545–1579.
- Boudker, O. ir Oh, S. (2015). Isothermal titration calorimetry of ion-coupled membrane transporters. *Methods*.
- Boyd, R. H. (1968). Method for calculation of the conformation of minimum potentialenergy and thermodynamic functions of molecules from empirical valence-force potentials—application to the cyclophanes. *The Journal of Chemical Physics*, 49(6):2574– 2583.
- Buchdahl, H. (1966). General relativistic fluid spheres. ii. general inequalities for regular spheres. *The Astrophysical Journal*, 146:275.
- Butt, H.-J., Graf, K., ir Kappl, M. (2006). *Physics and chemistry of interfaces*. John Wiley & Sons.
- Chandler, D. (2005). Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly. *Nature*, 437(7059):640–647.
- Chaplin, M. (2012). Water structure and science.

- Cipra, B. A. (1987). An introduction to the ising model. In *The American Mathematical Monthly*.
- Curie, P. (1895). Propriétés magnétiques des corps a diverses températures. Number 4. Gauthier-Villars et fils.
- de la Tour, C. C. (1822). Presentation of some results obtained by the combined action of heat and compression on certain liquids, such as water, alcohol, sulfuric ether [i.e., diethyl ether], and distilled petroleum spirit.
- Doig, A. J. ir Williams, D. H. (1991). J. mol. biol. In *Is the Hydrophobic and Effect Stabilizing and or Destabilizing and in Proteins?*
- Domalski, E. S. ir Hearing, E. D. (1996). Heat capacities and entropies of organic compounds in the condensed phase. volume iii. *Journal of physical and chemical reference data*, 25(1):1–525.
- Ekwall, P. (1927). About the surface activity in solutions of sodium soaps of long chain fatty acids. *Acta Acad. Abo, Math. Phys*, 4:1–83.
- Esumi, K. ir Ueno, M. (2003). Structure-performance relationships in surfactants. CRC Press.
- Fermi, E. (1956). Thermodynamics. Thermodynamics.
- Frank, H. S. ir Evans, M. W. (1945). Free volume and entropy in condensed systems iii. entropy in binary liquid mixtures; partial molal entropy in dilute solutions; structure and thermodynamics in aqueous electrolytes. *The Journal of Chemical Physics*, 13(11):507.
- Freire, E., Mayorga, O. L., ir Straume, M. (1990). Isothermal titration calorimetry. Analytical chemistry, 62(18):950A-959A.
- Gallavotti, G. (1999). Statistical mechanics. Springer-Verlag.
- Garbett, N. C. ir Chaires, J. B. (2012). Thermodynamic studies for drug design and screening. *Expert opinion on drug discovery*, 7(4):299–314.
- Gibbs, J. W. (1873). A method of geometrical representation of the thermodynamic properties of substances by means of surfaces. Connecticut Academy of Arts and Sciences.
- Gilbert, T. (2009). Chemistry. W.W. Norton, New York.
- Gilson, M. K., Sharp, K. A., ir Honig, B. H. (1988). Calculating the electrostatic potential of molecules in solution: method and error assessment. *Journal of computational chemistry*, 9(4):327–335.

- Grochowski, P. ir Trylska, J. (2008). Continuum molecular electrostatics, salt effects, and counterion binding a review of the poisson-boltzmann theory and its modifications. *Biopolymers*, 89(2):93–113.
- Grosberg, A. Y. ir Khokhlov, A. (1994). Statistical mechanics of macromolecules. *AIP: Woodbury, NY*.
- Guggenheim, E. A. (1986). Thermodynamics : an advanced treatment for chemists and physicists. North-Holland Sole distributors for the U.S.A. and Canada, Elsevier Science Pub. Co, Amsterdam New York New York, N.Y., U.S.A.
- Gurses, A. (2012). A View from the Conservation of Energy to Chemical Thermodynamic. INTECH Open Access Publisher, City.
- Haynes, W. M. (2013). CRC handbook of chemistry and physics. CRC press.
- Haynie, D. T. (2008). Biological Thermodynamics. Cambri.
- Holst, M. J. et al. (1994). The poisson-boltzmann equation: Analysis and multilevel numerical solution.
- Honig, B. ir Nicholls, A. (1995). Classical electrostatics in biology and chemistry. In SCIENCE, volume 268.
- Hossein Naghibi, S. D. ir Gill, J. (1986). Heat of solution of methane in water from 0 to 50 °C. In *J. Phys. Chem.*
- Ising, E. (1925). A contribution to the theory of ferromagnetism. Z. Phys, 31(1):253–258.
- Jaeger, G. (1998). The ehrenfest and classification of phase and transitions: and introduction and evolution. In Arch. Hist. Exact Sci.
- Katchalski, E., Silman, I., ir Goldman, R. (1971). Effect of the microenvironment on the mode of action of immobilized enzymes. Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology, Volume 34, pages 445–536.
- Kauzmann, W. (1959). Some factors in the interpretation of protein denaturation. Advances in protein chemistry, 14:1–63.
- Kirkwood, J. G. (1934). Theory of solutions of molecules containing widely separated charges with special application to zwitterions. *The Journal of Chemical Physics*, 2(7):351.
- Leavitt, S. ir Freire, E. (2001). Direct measurement of protein binding energetics by isothermal and titration calorimetry. In *Current Opinion in Structural Biology*, page 11:560–566.

- Lieb, E. H. ir Yngvason, J. (1999). The physics and mathematics of the second law of thermodynamics. *Physics Reports*, 310(1):1–96.
- Lindman, B. ir Wennerström, H. (1980). *Micelles: Amphiphile Aggregation in Aqueous Solution*. Springer.
- Lower, S. (2010). Chem1 virtual textbook url: http://www.chem1.com/acad/webtext/thermeq/te4.html. [Aplankyta 24-Geg-2015].
- Manning, G. S. (1978). The molecular theory of polyelectrolyte and solutions with applications to the and electrostatic properties of polynucleotides. In *Quarterly Reviews of Biophysics n*, 2 (1978), pp. 179-246 Printed in Great Britain.
- Manning, G. S. (2007). Counterion condensation on charged spheres, cylinders, and planes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(29):8554–8559.
- Matulis, D. ir Bloomfield, V. A. (2001). Thermodynamics of the hydrophobic effect. ii. calorimetric measurement of enthalpy, entropy, and heat capacity of aggregation of alkylamines and long aliphatic chains. *Biophysical chemistry*, 93(1):53–65.
- Matulis, D., Rouzina, I., ir Bloomfield, V. A. (2002). Thermodynamics of cationic lipid binding to DNA and DNA condensation: Roles of electrostatics and hydrophobicity. *Journal of the American Chemical Society*, 124(25):7331–7342.
- McAuliffe, C. (1966). Solubility in water of paraffin, cycloparaffin, olefin, acetylene, cycloolefin, and aromatic hydrocarbons1. The Journal of Physical Chemistry, 70(4):1267– 1275.
- MicroCal, L. (2004). Itc data analysis in origin: Tutorial guide. MicroCal, LLC, Northampton, MA.
- Mills, I. (1993). *Quantities, units, and symbols in physical chemistry*. Blackwell Scientific Publications CRC Press distributor, Oxford Boston Boca Raton, Fla.
- Motulsky, H. ir Christopoulos, A. (2003). Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: A practical guide to curve fitting. Manual.
- Mukerjee, P. ir Mysels, K. J. (1972). Critical micelle concentrations of aqueous surfactant systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(2):319–319.
- Myers, A. ir Prausnitz, J. M. (1965). Thermodynamics of mixed-gas adsorption. *AIChE Journal*, 11(1):121–127.

- Newville, M., Stensitzki, T., Allen, D. B., ir Ingargiola, A. (2014). LMFIT: Non-Linear Least-Square Minimization and Curve-Fitting for Python.
- Onsager, L. (1944). A two-dimensional model with an order-disorder transition. In *Crystal Statistics*, volume 65.
- Perozzo, R., Folkers, G., ir Scapozza, L. (2004). Thermodynamics of protein-ligand interactions: history, presence, and future aspects. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 24(1-2):1–52.
- Record, M. T., Anderson, C. F., ir Lohman, T. M. (1978). Thermodynamic analysis of ion effects on the binding and conformational equilibria of proteins and nucleic acids: the roles of ion association or release, screening, and ion effects on water activity. *Quarterly reviews of biophysics*, 11(02):103–178.
- Record, M. T., Lohman, T. M., ir De Haseth, P. (1976). Ion effects on ligand-nucleic acid interactions. *Journal of molecular biology*, 107(2):145–158.
- Reece, J. (2011). Campbell biology / Jane B. Reece ... [et al. Benjamin Cummings imprint of Pearson, Boston.
- Rouzina, I. ir Bloomfield, V. A. (1996). Competitive electrostatic binding of charged ligands to polyelectrolytes: planar and cylindrical geometries. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(10):4292–4304.
- Saksena, S. ir Zydney, A. L. (1994). Effect of solution ph and ionic strength on the separation of albumin from immunoglobulins (igg) by selective filtration. *Biotechnology* and bioengineering, 43(10):960–968.
- Schiller, C. (2015). The Adventure of Physics Volume I: Fall, Flow and Heat. Motion Mountain.
- Sharp, K. A. ir Honig, B. (1990). Electrostatic and interactions in and macromolecules: and theory and applications. In Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chern. 1990. 19:301-32.
- Shinoda, K. ir Hutchinson, E. (1962). Pseudo-phase separation model for thermodynamic calculations on micellar solutions. In *THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY*.
- Tanford, C. (1980). The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes 2d Ed. J. Wiley.
- Tanford, C., Kawahara, K., ir Lapanje, S. (1967). Proteins as random coils. i. intrinsic viscosities and sedimentation coefficients in concentrated guanidine hydrochloride. *Journal of the American Chemical Society*, 89(4):729–736.

- van der Waals, J. D. (1873). Over de Continuiteit van den Gas-en Vloeistoftoestand. AW Sijthoff.
- Velasco, E. (2010). Chapter iii. phase transitions.
- Weiss, P. (1907). Hypothesis of the molecular field and ferromagnetism. *Journal de Physique*, 6:661–690.
- Wiseman, T. (1989). Rapid measurement and of binding and constants and heats and of and binding using and a new and titration calorimeter. In ANALYTICAL BIOCHE-MISTRY 179,131-137.
- Zimm, B., Doty, P., ir Iso, K. (1959). Determination of the parameters for helix formation in poly-γ-benzyl-l-glutamate. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 45(11):1601.
- Zimm, B. H. ir Bragg, J. K. (1959). Theory of the phase transition between helix and random coil in polypeptide chains. *The Journal of Chemical Physics*, 31(2):526.