



SEMINAR

Hidrofobni efekt in vpliv na biološke molekule

Avtorica: Eva Grum
Mentor: prof. Rudolf Podgornik

Ljubljana, december 2008

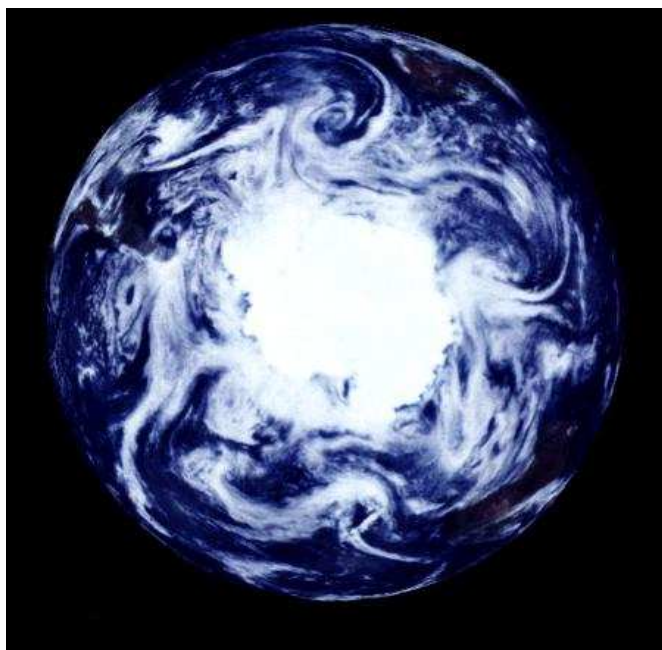
Povzetek

V seminarju je predstavljen osnovni koncept pojava hidrofobnega efekta. Na začetku so bolj podrobno predstavljene nekatere lastnosti povezane z vodno molekulo, ki so pomembne za hidrofobni efekt. Nekaj več povem o modeliranju vode, vodikovi vezi in njenem obnašanju kot topilu. Sledi razlaga hidrofobnega efekta pokazanega tudi na primeru kapljice vode na steklu. Predstavim tudi njegov vpliv na zvijanje proteinov in tvorbo celične membrane. Za konec sta navedena dva primera hidrofobnega efekta, ki jih najdemo v naravi. Pojav je predstavljen predvsem opisno, saj so matematični opisi del zapletenih računalniških simulacij.

Uvod	2
Molekula vode in njene lastnosti	3
Zgradba.....	3
Vodikova vez.....	5
Narava vode kot topila	6
Hidrofobni efekt	7
Hidrofobni efekt in zvijanje proteinov	12
Hidrofobni efekt v naravi	14
Hidrofobni efekt pri celični membrani.....	14
Vodni drsalci	16
Lotusov list.....	16
Zaključek	17
Literatura	18

Uvod

Veliko zanimivih fenomenov se poraja na površini, kjer se srečata dve snovi in za biološko okolje in procese je zelo pogosto ena od teh snovi voda. Kar tudi ni presenetljivo saj voda zavzema preko 70 % našega planeta in preko 60 % našega telesa. Pojav povezan z vodo, ki ga bom obravnavala v tem seminarju se imenuje hidrofobni efekt. Samo poimenovanje izvira iz grških besed hydro za vodo in phobos za strah. V bistvu zajema preprosto bistvo tega pojava, ki nam opisuje obnašanje vode ob snoveh, ki vode tako rekoč ne marajo. Izvor tega pojava izhaja iz lastnosti vodne molekule, ki zaradi svoje strukture tvori vodikove vezi. Te vezi so odgovorne za veliko anomalnih lastnosti vode, ki tukaj niso naštetе in predstavljene vendar so odgovorne za edinstvenost vode. Hidrofobni efekt pa igra tudi veliko vlogo v biološkem procesu zvijanja proteinov in pripomore k nastajanju celične membrane. Prisoten je tudi v drugih naravnih pojavih in ga s pridom uporabljamo tudi v sodobnem svetu.



Slika 1: Projekcija Zemlje z južnega pola. Vidina so ogromna območja vode. [1]

Molekula vode in njene lastnosti

Molekula vode ima zelo veliko zanimivih lastnosti, ki definirajo njeno obnašanje v različnih okoljih in vlogah. Tukaj si bomo bolj podrobno pogledali tiste lastnosti, ki so povezane s hidrofobnim pojavom.

Zgradba

Vodna molekula je majhen, V-oblikovan skupek enega težjega atoma kisika in dveh lažjih atomov vodikov. Atoma vodika sta na kisik vezana s kovalentnima vezema, ki sta dolgi 0,957 Å ^[1]. Porazdelitev elektronov ni enakomerna, saj del molekule pri kisiku bolj električno negativen in ima pribitek negativnega naboja. Vodikova atoma pa imata pribitek pozitivnega naboja. Sama molekula je električno nevtralna (ni neto naboja), vendar ima zaradi svoje geometrije relativno velik dipolni moment. Neenakomerna porazdelitev elektronov tudi podre predpostavko o tetragonalni strukturi vode, ki jo ponavadi uporabimo za poenostavljeno predstavo. Pri idealni tetragonalni obliki je kot med vezmi 109,47°, pri vodi pa nam izračuni podajo vrednost 104,5° in se na nekaj stotink ujemajo tudi z eksperimentalnimi podatki.



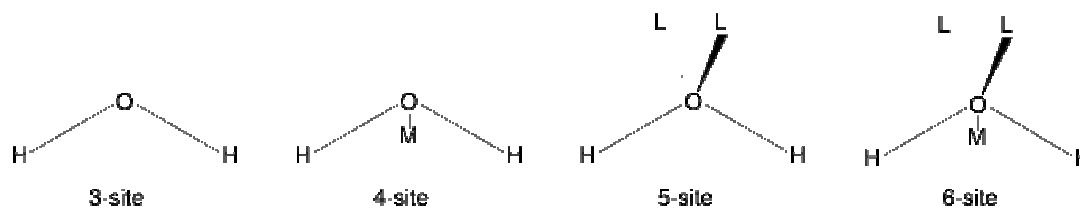
Slika 2: Molekula vode in prikaz porazdelitve naboja. [1]

Danes tekočo vodo, vodne skupke, vodne raztopine in obnašanje vode preučujemo z računalniškimi simulacijami, zato si pogledajmo nekaj najpogostejših modelov molekule vode, ki jih uporabijo. Različni modeli se med seboj razlikujejo po številu parametrov s katerim jih opišemo. Ponavadi so parametri dolžina vezi med kisikom in vodikom, HOH kot, naboj na posameznem atomu in še kaj. Najbolj preprost model vodno molekulo obravnava kot nefleksibilno in upošteva interakcije brez tvorjenja kemijskih vezi ^[2]. Elektrostatična interakcija je modelirana z Coulombovim zakonom, disperzija in odbojne sile pa z Lennard-Jonesovim potencialom. Energijski potencial za take modele napišemo kot

$$E_{ab} = \sum_i \sum_j \frac{k_c q_i q_j}{r_{ij}} + \frac{A}{r_{ij}^{12}} + \frac{B}{r_{ij}^6}$$

Tukaj je k_c elektrostatična konstanta vrednosti 332,1 Å kcal/mol, q_i in q_j sta delna naboja gledana glede relativno na naboj elektrona, r_{ij} je razdalja med atomoma z nabojem q_i in q_j . Konstanti A in B pa sta Lennard-Jonesova parametra. Presežek naboja je lahko na atomu ali na navidezno ustvarjenih atomih (dummy atom), kar nam omogoča lažje računanje. Posebnih parametrov, ki bi nam ovrednotile vodikove vezi

pri teh modelih ni. Velik del vodikove vezi predstavlja elektrostatski prispevek in je pri modelih že zajet v pozitivnem naboju H atoma.



Slika 3: Shema molekule vode kot je predstavljena v štirih različnih modelih vode. [2]

Poglejmo si najprej model s tremi mesti interakcije. Pri tem modelu ima vsak atom svoj naboj in kisikov atom opisujeta tudi parametra A in B. Več podatkov se nahaja v tabeli. Te vrste modelov se ponavadi uporabljajo za simulacijo molekularne dinamike (MD), ker so najbolj preprosti.

	TIPS	SPC	TIP3P	SPC/E
r(OH), Å	0.9572	1.0	0.9572	1.0
HOH, deg	104.52	109.47	104.52	109.47
$A \times 10^{-3}$, kcal Å ¹² /mol	580.0	629.4	582.0	629.4
B, kcal Å ⁶ /mol	525.0	625.5	595.0	625.5
q(O)	-0.80	-0.82	-0.834	-0.8476
q(H)	+0.40	+0.41	+0.417	+0.4238

Tabela 1: Podatki za parametre, ki opisujejo tri mestne modele. Parametri so dolžina vezi, kot HOH, Lennard-Jonesova parametra in naboja na kisiku in vodik. [2]

Pri modelu s 4 interakcijskimi mesti je negativni naboj postavljen na navidezni atom blizu kisikovega atoma na razpolovnici kota HOH. Na sliki 3 je navidezni atom označeno s črko M. Tako se izboljša elektrostatska distribucija okoli vodne molekule in olajša modeliranje. Več modelov je povzelo te način predstavitve (glej tabelo 2). Najbolj uporabljen je model TIP4P in njegove različice za modeliranje kubičnega ledu (TIP4P/Ice), faznega diagrama (TIP4P) in Ewaldove vsote.

	BF	TIPS2	TIP4P	TIP4P-Ew	TIP4P/Ice	TIP4P/2005
r(OH), Å	0.96	0.9572	0.9572	0.9572	0.9572	0.9572
HOH, deg	105.7	104.52	104.52	104.52	104.52	104.52
r(OM), Å	0.15	0.15	0.15	0.125	0.1577	0.1546
$A \times 10^{-3}$, kcal Å ¹² /mol	560.4	695.0	600.0	656.1	857.9	731.3
B, kcal Å ⁶ /mol	837.0	600.0	610.0	653.5	850.5	736.0
q(M)	-0.98	-1.07	-1.04	-1.048	-1.17	-1.11
q(H)	+0.49	+0.535	+0.52	+0.52422	+0.5897	+0.5564

Tabela 2 : Podatki za parametre, ki opisujejo štiri mestne modele. Parametri so dolžina vezi, kot HOH, Lennard-Jonesova parametra in naboja na nadomestnem atomu in vodik. [2]

5-mestni interakcijski model pa postavi negativni naboj ionskih parov kisikovega atoma na navidezna atoma nad kisikov atom. To je na sliki 3 označeno s črko L. Ta

model predpostavlja pravilno tetragonalno strukturo molekule, saj vidimo, da so koti OHO povsod 109,47°.

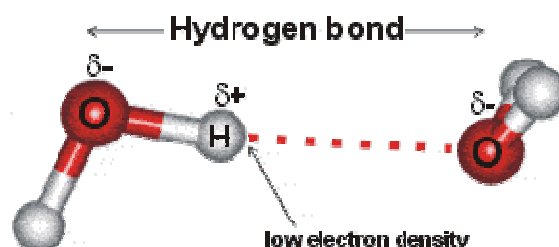
Obstaja pa še 6-mestni model, ki združuje lastnosti 4 in 5-mestnega.

	BNS	ST2	TIP5P	TIP5P-E
r(OH), Å	1.0	1.0	0.9572	0.9572
HOH, deg	109.47	109.47	104.52	104.52
r(OL), Å	1.0	0.8	0.70	0.70
LOL, deg	109.47	109.47	109.47	109.47
$A \times 10^{-3}$, kcal Å ¹² /mol	77.4	238.7	544.5	590.3
B, kcal Å ⁶ /mol	153.8	268.9	554.3	628.2
q(L)	-0.19562	-0.2357	-0.241	-0.241
q(H)	+0.19562	+0.2357	+0.241	+0.241

Tabela 3: Podatki za parametre, ki opisujejo pet mestne modele. Parametri so dolžina vezi, kot LOL, Lennard-Jonesova parametrea in naboja na nadomestnem atomu in vodiku. [2]

Vodikova vez

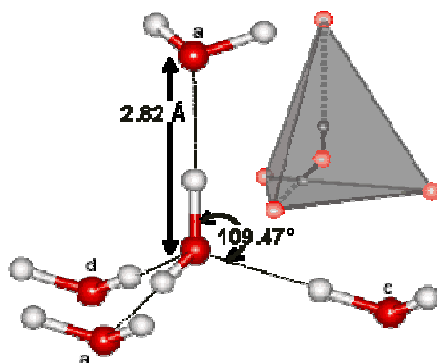
Tipična vodikova vez se pojavi, ko se delno pozitivno nabit vodik znajde med negativno nabitima atomom kisika. Vodikova vez je skoraj v celoti posledica elektrostatskega privlaka in le majhen del prispeva kvantno mehanski učinek. Vodikov atom je v vezi dokaj nestabilen in tunelira od enega kisika do drugega. V organskih spojinah imamo največkrat opravka z vodikovimi vezmi med naslednjimi atomi: O-H → O, O-H → N, N-H → O in N-H → N [3]. Pogosto pa se veže tudi halogenimi fluorovimi, bromovimi in klorovimi ioni.



Slika 4: Prikaz tvorjenja vodikove vezi. [1]

V vodi je vodik vezan na kisik s kovalentno vezjo, ki ima vezavno energijo 492,2 kJ/mol [2]. Na vodik pa delujejo tudi privlačne sile kisikovega atoma druge molekule vode z energijo okoli 23 kJ/mol. Ta energija je dosti večja, kot katerakoli van der Waalsova interakcija na molekularnem nivoju. Zato je nastanek vodikove vezi med molekulami vode prevladujoči način medmolekulske interakcije. Pri tvorbi vodikove vezi se donorski vodikov atom oddalji od kisikovega atoma in akceptorski ionski par se oddalji od drugega kisikovega atoma. Oba kisika tako potegne bližje drug drugemu. Čeprav je vezavna energija vodikove vezi tolikokrat manjša od kovalentne vezi je obstojna med termalnimi fluktuacijami. Vez je najmočnejša, ko so vsi trije atomi v ravni vrsti.

Molekule povezane z vodikovo vezjo se držijo bolj skupaj, kar je ugodneje tudi s energijskega stališča. Sama vodikova vez je usmerjena vez in zato, lahko eno molekulo obkrožajo samo 4 vodikove vezi, urejene v tetragonalno oblik, kot je prikazano na sliki 5. Vsaka vodna molekula lahko tvori dve vodikovi vezi z dvema vodikovima atomoma in sprejme še dva vodikova atoma z druge molekule. Tako sestavo najdemo v navadnem ledu, v tekoči vodi pa redko in na lokalni skali.



Slika 5: Molekula vode tvori idealno 4 vodikove vezi. [1]

Tekoča voda vsebuje najbolj gosto prepletanje vodikovih vezi, kjer jih je skoraj toliko kot kovalentnih vezi. To vpliva na veliko lastnosti vode, ki se obnašajo anomalno.

Narava vode kot topila

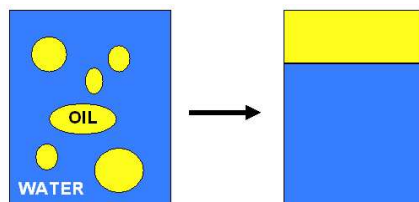
Voda ima izjemne lastnosti, da raztoplja številne biološke molekule, ki jih najdemo v bioloških materialih. Veliko nenabitih bioloških molekul se dobro topi v vodi, saj imajo polarne funkcionalne skupine, ki lahko vstopajo v ugodne dipol-dipol interakcije. Nekaj takih primerov so alkoholi, amidi, estri itd. Pri povezovanju atomov polarnih funkcionalnih skupin z enakimi, podobnimi molekulami ali vodo nastaja mreža vodikovih vezi. Take molekule imajo rade vodo in jih zato imenujemo hidrofilne. Obstajajo pa tudi izjeme polarnih spojin, ki niso topne v vodi.

Nepolarne spojine pa tudi običajno niso topne v vodi, ker nimajo niti polarnih niti ionskih spojin, ki bi vstopale v ugodne interakcije z molekulami vode. Torej so hidrofobne.

Nekatere molekule pa imajo dvojni značaj in imajo dele, ki so hidrofobni in deli, ki so hidrofilni. Take imenujemo amfifilne. Primer take snovi je detergent, ki vsebuje hidrofobne in hidrofilne molekule. Prve se vežejo z maščobno umazanijo in druge z vodo. Molekule detergenta se uredijo v strukture imenovane miceli, kjer so hidrofobni deli skupaj z maščobami skriti v notranjost in hidrofilni imajo stik z vodo.

Hidrofobni efekt

Hidrofobni efekt nastopi primarno, ko raztapljamo hidrofobno snov v vodi in s tem povzročimo spremembe v sestavi vode okoli hidrofobne snovi. Voda raje spremeni svojo vodikovo mrežo, kot da bi reagirala z hidrofobno snovjo, saj želi v najmanjši meri reagirati z hidrofobnim delcem. S tem spremenimo energijsko bilanco, saj pride do spremembe entalpije, toplotne kapacitete itd. Zelo preprost primer sta olje in voda. Olje se ne topi v vodi in tudi če ga razmešamo, se bo olje začelo vezati v čim večje skupke, dokler ne bo plavalo na vodi. S tem je njuna kontaktna površina minimizirana.

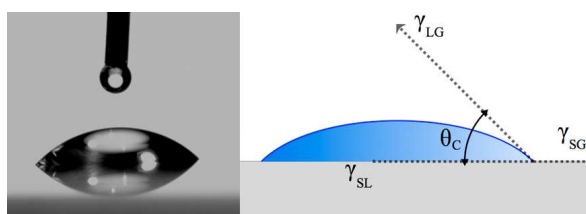


Slika 6: Fazna separacija olja in vode.

Za še boljšo predstavo si pogledjmo, kako se voda obnaša na različnih površinah. To najlepše opišemo z vodno kapljico in njenim obnašanjem na različnih površinah. Kako se bo kapljica obnašala, je seveda odvisno kakšna bo interakcija med molekulami vode in atomi/molekulami površine. Če je interakcija ugodna voda tvori vezi s površino oz. to želi storiti v čim večjem obsegu. Zato se vodna kapljica razleze in omoči večino površine. Glede na stopnjo hidrofilnost se razlikuje tudi velikost oz. razlezenost kapljice. Voda s tako površino interagira preko vodikovih, električnih in van der Waalsovih sil. Pri hidrofilni površini pa je na voljo le slednje. Tukaj voda stremi k minimalnem kontaktu s površino, saj je zanjo to energijsko ugodneje zaradi ohranjanja njenih notranjih vezi.

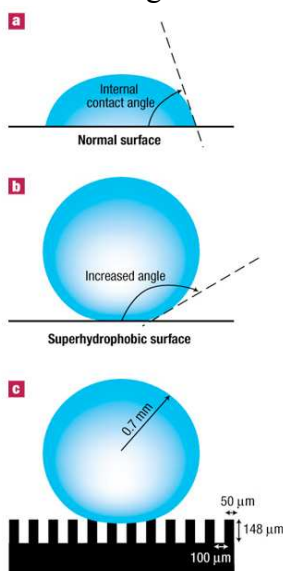
Da to ponazorimo s kapljico je zadosti, da poznamo kakšen je mejni kot med kapljico in površino. Končna vrednost mejnega kota je posledica ravnovesja različnih površinskih sil, ki izhajajo iz različnih površinskih energij. Za primer bomo vzeli kapljico vode na stekleni površini. Prva energija opisuje stik stekla in zraka enaka γ_{sg} na površinsko enoto. Potem imamo energijo med steklom in vodo γ_{sl} in energijo površine med vodo in zrakom γ_{lg} , obe spet na enoto površine. Tem količinam rečemo tudi površinske napetosti. Sila na enoto roba kapljice je enaka kar ustreznim γ , smeri pa so prikazane na sliki 7. Glede na to, da se rob kapljice v ravnovesju ne premika, morajo biti sile na enoto dolžine roba kapljice v smeri morebitnega gibanja uravnovešene. Od tod dobimo Youngovo enačbo mehanskega ravnovesja, ki jo formalno zapišemo:

$$\gamma_{sl} + \gamma_{gl} \cos \theta = \gamma_{sg}$$



Slika 7: Lego kapljice vode na steklu opisuje mejni kot θ , ki je posledica ravnovesja površinskih energij.

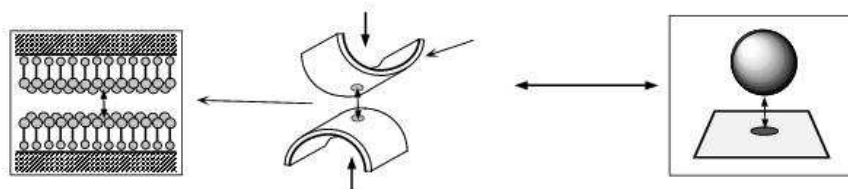
Kot θ oz. njegova velikost nam pove lastnost površine. Za idealno hidrofilno površino je mejni kot enak 0° . Manj hidrofilne površine pa imajo lahko kot do 90° . V naravi ponavadi najdemo hidrofilne površine s koti od 0° do 30° . Za hidrofobne površine pa je mejni kot po definiciji večji od 90° do nekje 150° ali celo do 180° . Površine s tako ekstremnim kotom imenujemo superhidrofilne površine. Na močni hidrofobnih površinah kapljica vode skoraj lebdi. Zaradi tako velikega mejnega kota na takih površinah se kapljica tukaj zelo težko obdrži, saj se ponavadi odkotali že pri spremembi nagiba za 1° .



Hidrofobne površine so v naravi zelo razširjene in materiale s takimi lastnostmi tudi umetno izdelujejo. Hidrofobne površine pa so še posebej uporabne za merjenje dosega interakcij in velikosti hidrofobnih interakcij med hidrofobiziranimi plastema. Hidrofobne interakcije so interakcije, ki jih povzroči voda med posameznimi deli hidrofobne snovi. Npr. zbiranje kapljic olja v vodi v še večje skupke. Tako opazovanje nam da veliko podatkov, ki so enakovredni opazovanju hidrofobne snovi v vodi, le da je to lažje izvedljivo. Take meritve se ponavadi izvaja na koščku sljude, ki se jo da razlomiti na zelo planarne sloje, ki jih prekrijemo s hidrofobnimi molekulami.

Slika 8: Obnašanje vodne kapljice na hidrofilni, hidrofobni in superhidrofobni površini.

Meritev se opravi na različne načine s spektroskopom na atomsko silo ali s SFA-surface force apparatus^[4]. To je znanstveni instrument zasnovan v zgodnjih 70-tih. Pri tem instrumentu dve površini previdno premikamo skupaj in narazen in med tem merimo interakcijsko silo. Ena površina je nameščena na nosilno vzmet in upogib vzmeti uporabimo za izračun sile. Ta tehnika uporablja piezoelektrične pozicijske elemente in zaznava razdaljo med površinama s pomočjo optične interferometrije. S tako občutljivim sistemom lahko zaznamo razdalj do $0,1 \text{ nm}$ in izmerimo sile do 10^{-8} N . Površine so ponavadi nameščene na cilindrično ukrivljene valje z med seboj pravokotnima osema. Razdalja med njima se spreminja od nekaj mikrometrov do nekaj nanometrov in do stika. Ko imata oba cilindra isti radij ukrivljenosti, R , je ta tako imenovana »prečna cilindrična« geometrija matematično ekvivalentna interakciji med ravno površino in kroglo z radijem R .



Slika 9: Prikaz prečne cilindrične geometrije. [4]

Tak način merjenja nam omogoča merjenja več različnih površin in tudi kotno odvisne meritve. Meritve adhezije in medpovršinske energije lahko analiziramo z dvema

teorijama, pri teoriji JKR (Johnson, Kendal, Roberts)^[4] za večje mehke objekte lahko privlačno silo napišemo kot

$$F = 3\pi\gamma R \quad [4]$$

in po teoriji DMT (Derjaguin, Muller, Toporov) za majhne trde objekte kot

$$F = 4\pi\gamma R \quad [4]$$

Pri meritvah so namerili, da je njen doseg tudi do okoli 20nm, seveda odvisno od vrste hidrofobne površine. To je za nekaj redov višje kot doseg van der Wallsovih sil, s katerimi bi še lahko razlagali interakcijo med površinama. Taka neposredna meritev interakcije nam potrdi, da ima le ta končen in nezanemarljiv doseg.

Na žalost nam je o hidrofobnem efektu še dosti neznanega in zaradi pomanjkanja eksperimentov se moramo zateči k računalniškim simulacijam. David Chandler z Univerze Berkeley je na podlagi takih simulacij zaključil, da lahko hidrofobni efekt obravnavamo na dva načina oz. imamo dve vrsti le tega. Prvi mehanizem je vezan na hidrofobni efekt na malih skupkih oz. molekulski skali. Drugi mehanizem efekta pa deluje na makroskopski skali oz. večjih skupkih hidrofobnih molekul. Pri majhnih hidrofobnih molekulah se struktura vode v okolici hidrofobne molekule malo modificira in svoje vodikove vezi upogne, le redko pa katero pretrga. Tako tvori okoli hidrofobne molekule kletkasto strukturo, ki jo imenujemo klatrat. Molekule v bližini hidrofobnega vključka v povprečju še vedno tvorijo štiri vodikove vezi, spremenjena je le statistična geometrija mreže. Tako strukturo je predlagal leta 1959 že Linus Pauling. Tipična statistična mreža okoli metana bi bila približno taka kot na sliki 11.



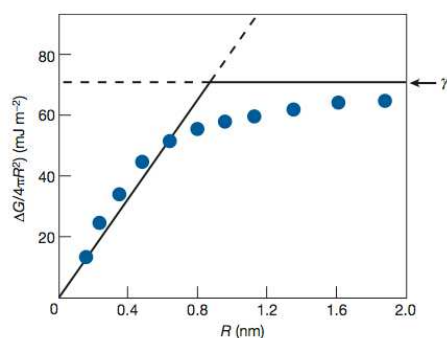
Slika 10: Primer statistične geometrije mreže vodikovih vezi okrog metanove molekule. [5]

Ker ni izgubljanja vodikovih vezi je z energijskega stališča energija takšnega vključka enaka njegovemu volumnu. V primeru s slike je razlika med energijo proste vode in vode z raztopljeno molekulo metana sorazmerna volumnu metana. Pomemben je tudi podatek, da je klatratna struktura vode bolj urejena, kot v prosti vodi.

Isti model pa ne moramo aplicirati na večje strukture, saj zadeve niso tako preproste o čemer se lahko prepričamo s preprostim razmislekom. Izračunajmo energijo hidrofobnih molekul v vodi pri sobnih pogojih, če večamo njihov volumen. Prosta energija se izraža kot

$$\Delta G = 4\pi R^2 \gamma$$

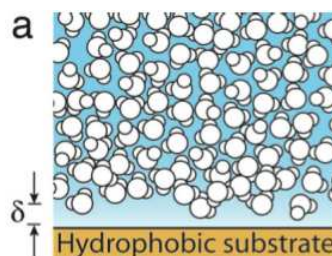
Če bi narisali odvisnost kvocienta med energijo in površino hidrofobne molekule, ki je kvadratna funkcija radija, bi potem morali dobiti premico, torej odvisnost od radija. Računalniška simulacija pa nam da druge rezultate. Za majhne radij hidrofobne molekule ja kvocient linearen in to velja do približno radija 0,8 nm. Potem se praktično ne spreminja več in s klatratno strukturo tega ne moremo več pojasniti.



Slika 11: Odvisnost energije hidrofobnega vključka od njegovega radija. Klatratna struktura , ki daje linearno odvisnost velja samo do malih radijev. [5]

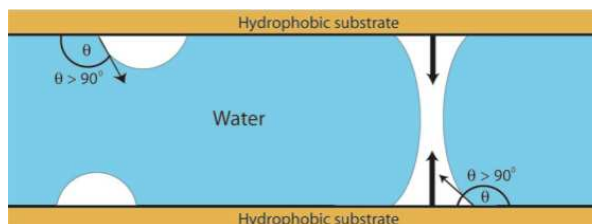
Tako vidimo, da v okvir majhnih radijev hidrofobne molekule mrežo vodikovih vezi v vodi samo prilagajamo. Ko pa enkrat presežemo to mejo pa bomo morali začeti rušiti statistično mrežo vode okoli hidrofobnega vključka. To rušenje zahteva energijo, ki je sorazmerna površini in tesno povezana s površinsko napetostjo vode na hidrofobni meji.

Ob večjih hidrofobnih površinah pride do izparevanja vode ob stičišču plasti. Z energijskega vidika je za vodo bolj ugodno, da preide v drugo fazno in razdere vodikov mrežo, kot če bi vztrajala ob hidrofobnem sloju.



Slika 12: Prazen pas ob hidrofobni površini iz katerega so ušle vodne molekule, da bi se izognile neugodnim interakcijam s hidrofobno površino. [5]

Izparjeni sloj je debel približno za dve molekuli. Ob hidrofobni površini je voda pravzaprav v metastabilnem stanju, pri čemer stabilno stanje predstavlja pravzaprav para. Tak vidik razlage lahko podkrepimo tudi z eksperimentom, kjer opazujemo kavitacijske mehurčke pri približevanju in oddaljevanju hidrofobnih površin. Če hidrofobni površini npr. OTE modificirano sljudno površino najprej staknemo in potem razvlečemo lahko opazimo med njima mehurčke pare^[1]. Temu pojavu pravimo tudi kapilarna kondenzacija oz. izparevaje - odvisno od smeri poskusa. Za tako izparevanje potrebujemo lokalno zelo ukrivljene površine kot recimo v kapilari. Ko hidrofobni površini vse bolj vlečemo narazen, majhni podmikroskopski mehurčki koalescirajo v velik parni most, ki združuje obe površini. Na razdalji nekaj mikronov, pa most postane nestabilen in izgine.



Slika 13: Kapilarna kondenzacija oziroma kavitacija med hidrofobnima površinama. [1]

Zanimiva pa je tudi temperaturna odvisnost hidrofobne interakcije. Vsaka temperaturna odvisnost interakcije pomeni, da imamo opraviti z entropijo vode. Zato lahko hidrofobni efekt opišemo tudi termodinamsko.

Termodinamski izkupiček ponavadi nakaže ali se bo nek proces zgodil in po navadi to ovrednotimo z Gibbsovo prosto energijo ΔG . V primeru raztapljanja molekule, je ΔG reverzibilno delo topila, da uredi molekule topljenca v topilu. Verjetnost^[5], da se bo raztapljanje zgodilo je proporcionalno $\exp(-\Delta G/k_B T)$, kjer je T temperatura in k_B Boltzmanova konstanta. Princip statistične mehanike, ki povezuje reverzibilno delo z verjetnostjo, narekuje, da lahko ΔG določimo z merjenjem ravnovesnih konstant, kot so koncentracija topljenca v vodi v primerjavi z prisotnostjo v drugih okoljih. Prosta energija pa je lahko izračunana preko mikroskopske teorije. Raztapljajoče molekule v topilu lahko obravnavamo kot transformacijo sistema iz stanja 1 (čisto topilo) v stanje 2 (topilo plus topljenec). Ta proces je povezan z spremembo proste energije, $\Delta G = G_2 - G_1$, ki je v našem primeru prosta energija raztopine. ΔG lahko določimo iz lastnosti molekul in molekulskih interakcij sistema zajete v tako imenovani particijski funkciji Z z uporabo statistične termodinamike:

$$\begin{aligned} \Delta G = G_2 - G_1 &= -k_B T \ln (Z_2/Z_1) \\ &= -k_B T \ln \langle \exp (-\Delta E/k_B T) \rangle_1 \\ &\approx \langle \Delta E \rangle_1 \end{aligned}$$

Particijska funkcija je pri tem funkcija, ki opisuje kanoničen sistem delcev z določenim številom razpoložljivih mikrostanj s , ki jih sistem lahko zasede. V vsakem stanju s ima sistem celotno energijo E_s . Funkcijo Z definiramo kot

$$Z = \sum_s e^{-\beta E_s}, \quad \beta \text{ je inverzna temperatura definirana kot } \beta \equiv \frac{1}{k_B T}.$$

V izračunu pa $\langle \Delta E \rangle$ označuje ravnovesno povprečeno razliko v energiji mikrostanj med stanjem 2 in 1. Končni izraz velja ko je izraz $\Delta E/k_B T$ primerno majhen za skupino mikrostanj.

Prosta energija pa lahko definiramo tudi z dvema primarnima komponentama:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

kjer sta ΔH in ΔS entalpijska in entropijska sprememba vzpostavljene med raztapljanjem. Entalpijski del je mera za povprečni energijski potencial interakcij med molekulami. Entropijski del pa je merilo za velikost znotraj molekulske povezanosti. Prosta energija procesa, ki zajema velike spremembe v številu molekulskih interakcij,

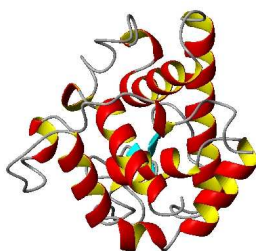
kot je pretrganje vodikovih vezi zaradi interakcije z večjo hidrofobno površino in prehodom v paro, je določena predvsem s strani entalpijske komponente. V takem primeru se $\Delta G/T$ zmanjšuje z naraščajočo temperaturo. To se dogaja pri drugem tipu hidrofobnega efekta, kjer pride do interakcije z večjo površino.

Proces, ki pa zahteva specifično ureditev mreže vodikovih vezi pa ima bolj pomembno entropijsko komponento. Pri sobni temperaturi, je prisotna velika negativna sprememba entropijskega člena, kar se kaže v večanju ΔG z naraščajočo temperaturo. Entalpijski del ja tukaj skoraj enak nič. Zato hidrofobni efekt v bioloških procesih, ki se dogajajo pri sobnih temperaturah vedno gledamo kot entropijske zato je prosta energija ponavadi pozitivna. Pr hidrofobnem efektu pa pride poleg negativne spremembe entalpije, negativne spremembe entropije tudi do opazne spremembe toplotne kapacitete zaradi negativne entalpijskih sprememb.

Navsezadnje pa lahko zaključimo, da se o hidrofobnem efektu razpravlja že 60 let in čeprav poznamo njegove osnovne principe je marsikatera podrobnost nam še nerazjasnjena.

Hidrofobni efekt in zvijanje proteinov

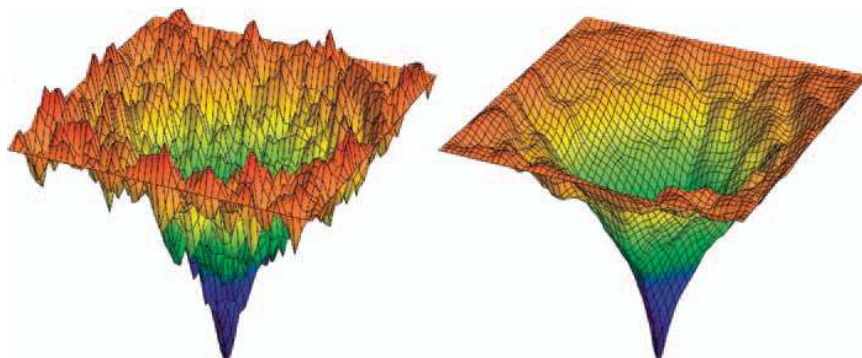
Proteini so biološke molekule, ki igrajo zelo pomembno vlogo v bioloških procesih. Sestavljeni so iz različnega zaporedja 20-tih različnih molekul aminokislin povezanih med seboj s peptidno vezjo. Njihovo zaporedje nam določa razvoj strukture proteina, ki gre čez primarno, sekundarno in terciarno strukturo oz. fazo. Terciarna oblika proteina je tista v kateri ima protein konformacijo primerno za aktivno biološko vlogo.



Slika 14: Protein 153L.

Prispevek hidrofobnega efekta opazimo pri globularnih proteinih, ki se zvijajo v vodnih raztopinah, ki ima v sebi določeno vrednost raztopljenih ionov in s določenim pH. Konstanten pH je pomemben za uspešno zvitje proteina, prisotnost ionov pa omogoča stabilno okolje za proteine. Da se protein zvija mora energija zvijanja ustrezati obliki multidimenzionalnega lijaka^[6] z majhnimi energijskimi barierami, ki jih lahko preseže z energijo, ki jo ima na voljo. Na spodnji sliki imamo najprej model takega energijskega lijaka za zvijanje proteina, pri katerem ni prisotno dovolj vode. Zgornji del predstavlja visoko energijo ne zvitega proteina, ki se z zvijanjem manjša do minimuma energije, ki je na dnu lijaka. Pri prvem primeru opazimo na začetku veliko manjšim minimumov v katerih se lahko protein ujame in ne pride do končne oblike. Pri drugi ponazoritvi z dovolj veliko prisotnostjo vode je zgornji energijski del

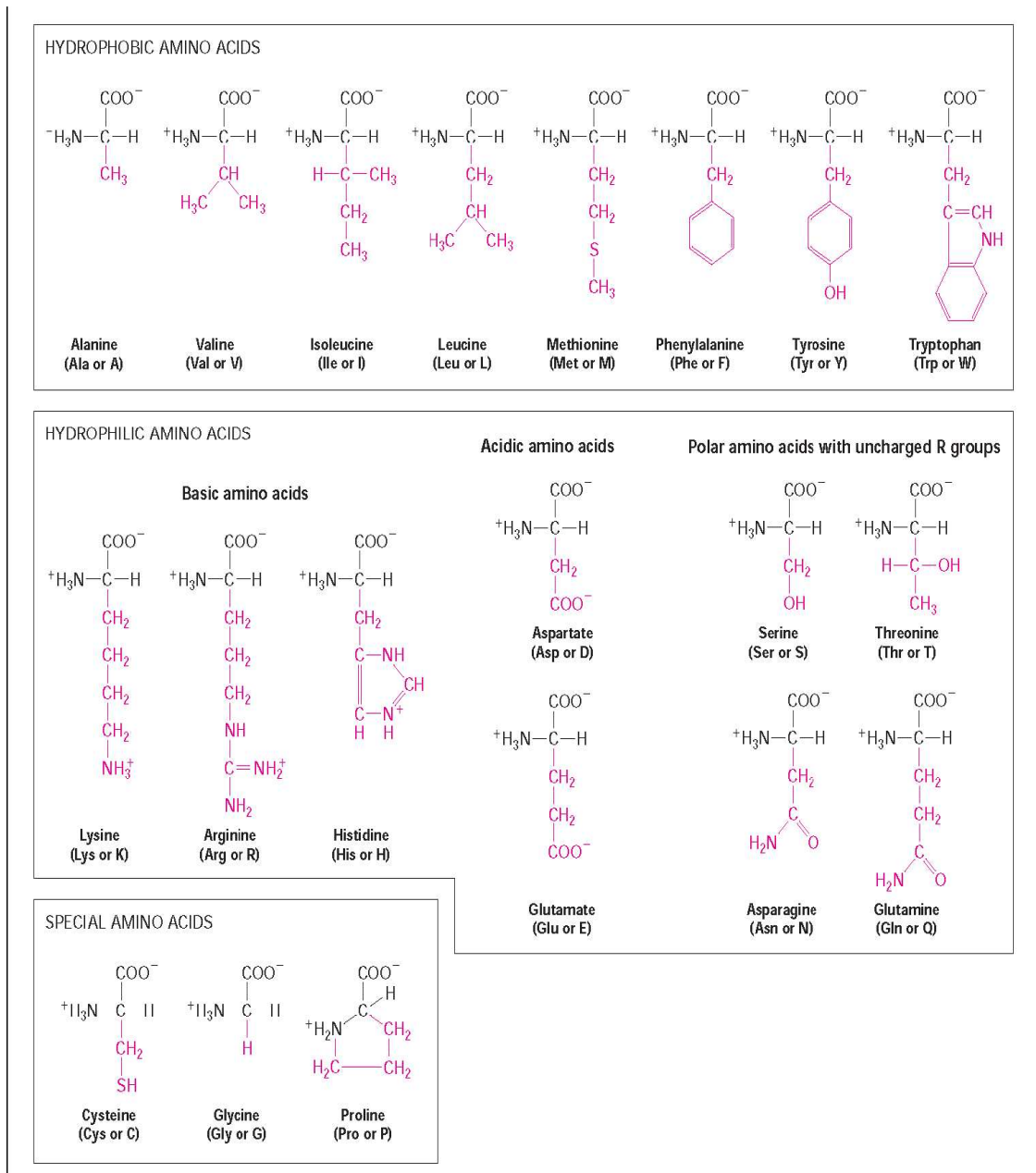
pretegoma gladek, kar omogoča da se protein brez motenj in hitro zvije. Minimumi se zgladijo saj je vodna hidracija dovolj velika, da olajša premikanje peptidnega ogrodja in stranskih verig.



Slika 15: Shema energijskega lija za zvijanje proteinov. Rdeče oranžno obrobje predstavlja visoko energijo nezvitiga proteina, ki se z zvijanjem znižuje, do strukture z minimumom energije v modrem dnu lija. [6]

Hidrofobni vpliv vode se pokaže že pri zvijanju v sekundarno strukturo, kjer poteka hidracija med peptidnim ogrodjem in se nadaljuje pri terciarni strukturi. Ko je protein v raztegnjeni obliki so hidrofobne aminokisliline izpostavljene vodi, ki okoli njih tvori klatratno strukturo zaradi ne zmožnost interakcije. Taka ureditev molekul vode je termodinamsko neugodna predvsem iz dveh razlogov. Prosta entalpija tega stanja je velika in entropija (neurejenost molekul) se zmanjša. Proteini se zato zvijejo tako, da ustvarijo hidrofobno jedro. Stranske verige, ki so sestavljene iz hidrofobnih aminokislin, se skrijejo v notranjosti strukture iz katere tako iztisnejo vodo in minimalno zmanjšajo neugodne interakcije. Te aminokisliline so našteje v spodnji tabeli. Da protein skrije hidrofobni del je zanj tudi energijski najbolj ugodno stanje in je tudi ravnovesno. Verige, ki pa so polarne ali hidofilne pa preidejo na zunanjo stran konformacije in ugodno reagirajo z vodo. Tako nam zviti protein stabilizirajo hidrofobne interakcije znotraj proteinskega jedra in ugodne interakcije zunaj proteina. Če povzamemo je postopek minimiziranja zunanjih hidrofobnih verig osnovna gonilna sila zvijanja proteinov. Pri tem naj še omenim, da ima protein astronomsko veliko možnosti glede končne oblike zvitja. Npr. za protein z 100-mi aminokislinami so ocenili, da lahko zavzame $5 \cdot 10^{47}$ konformacij. Ampak se zelo hitro zvije samo v eno stanje, ki ga imenujemo nativna konformacija. Ta oblika je za eno zaporedje proteinov vedno enaka. Temu pravimo tudi Levinthalov paradoks^[7].

Molekule vode pa ne igrajo pomembno vlogo samo pri zvijanju proteina ampak tudi v interakcijah med različnimi proteini, v korelacijah protein-DNA ali protein-ligand.



Slika 16: Razpredelnica aminokislin. [3]

Hidrofobni efekt v naravi

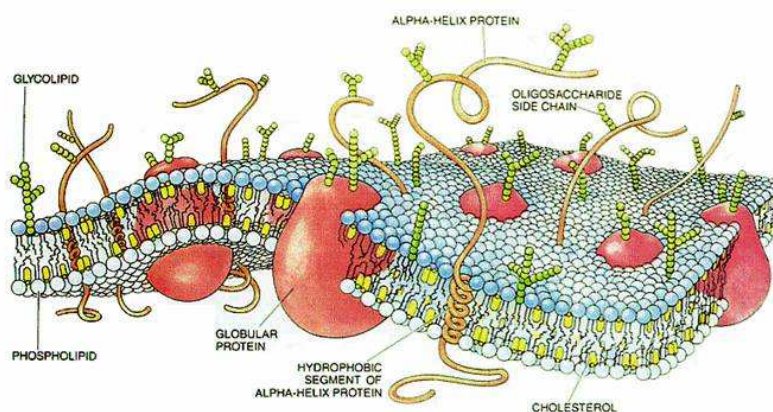
Čeprav nas hidrofobni pojav obkroža z vseh strani, saj je prisoten v vsaki celici si pogledimo še nekaj primerov iz narave, kjer ga lahko opazimo v večjem merilu.

Hidrofobni efekt pri celični membrani

Celična membrana je selektivni prepusten lipidni dvosloj, ki se nahaja okoli vsake celice. Sestavljajo jo predvsem proteini in lipidi. Membrana je povezava med celično

citoplazmo in okoljem zunaj celice in opravlja oz. je vpletena v veliko procesov. Ti procesi so transport snovi, prevajanje električnih impulzov, osmoza itd. Celično membrano si najlažje ponazorimo z modelom tekočega mozaika.

Osnovna struktura celične membrane je dvojna plast lipidov. Lipidi so biološke molekule, ki imajo to skupno lastnost, da so amfifilni. Če se spomnimo od prej to pomeni, da imajo molekule hidrofobni in hidrofilni del. Ponavadi jih imenujemo tudi rep in glava. Če amfifilno snov poskusimo raztapljati v vodi, ne dobimo prav raztopine ampak se snov povezuje v skupke oz. agregate, ki jih imenujemo miceili. Amfifilne molekule svoje hidrofobne repe skrijejo v notranjost agregata, zunanost pa sestavljajo hidrofilne glave. To stanje je energijsko ugodno, saj je za nastanek agregata potrebno manj energije kot če bi rušili vodikove vezi zaradi izpostavljenosti hidrofobnih molekul. Zato ima oblikovanje micilov ključno vlogo pri nastajanju celične membrane. Celično membrano poleg lipidnega sloja sestavljajo tudi globularni proteini, ki opravljajo transportne in receptorske naloge, molekule holesterola in ogljikovih hidratov. Transport čez membrano lahko poteka pasivno ali aktivno, za kar je potrebna energija. Pri pasivnem transportu oz. preprosti difuziji se molekule topljenca gibljejo s področja z večjo koncentracijo na področje z manjšo koncentracijo. Energijsko je proces ugoden, ker entropija narašča in energija ni potrebna. Tako se ponavadi prenašajo nepolarne molekule in pomembni plini kot so CO_2 , N_2 in O_2 .^[3] Z aktivnim transportom pa membrano prehajajo polarne molekule, ogljikovi hidrati in nekateri ioni. Pri tem se topljenec prenaša na eno stran membrane in se tam kopiči neglede na ravnotežje v gostoti. Sistem je podoben črpanju vode zato prenosu ionov pogosto rečemo ionsko črpanje. Energijo potrebno za to pridobimo iz energije kemijskih reakcij ali absorpcije svetlobne energije. Za vodo je membrana zelo slabo prepustna in ponavadi molekule vode preidejo v membrano če se ujamejo v lipidni sloj. Pri tem jim pomagajo tudi proteini akvapurini, ki dela luknjice v membrano. Tak je pasivni transport vode. Obstaja pa tudi aktivni način pri katerem sodelujejo proteini.



Slika 17: Zgradba celične membrane. [3]

Vodni drsalci

Vodni drsalci, suhe južine in podobne majhne žuželke lahko hodijo in stojijo na vodi. To jim omogočajo posebno oblikovane nožice, sestavljenih iz majhnih dlakic prekritih z hidrofobnim materialom^[8]. Ker pa imajo žuželke vseeno malo mase se na vodi oblikujejo jamice, kjer se vode dotika nožica. Žuželke imajo veliko razmerje površine proti volumnu in so bolj dovzetne za površinske sile kot so površinska napetost in adhezija. Razmerje med površino in volumnom tudi pojasni zakaj ljudje ne moremo hoditi po vod, četudi bi imeli hidrofobna stopala, saj nosimo na majhni površini stopal velik volumen telesa.



Slika 18: Vodna drsalca pri parjenju. Vdolbinice v vodo so dobro vidne. [8]

Lotusov list

Najlepši primer hidrofobne površine v naravi je lotusov list, ki je izredno hidrofoben oz. skoraj že superhidrofoben saj lahko mejni kot pri njem doseže tudi vrednost okoli 170° . Čeprav raste v blatnem ribniškem okolju je vedno čist, saj se umazanija ponavadi v obliki vodnih raztopin sploh ne prime na površino. Kontaktna površina z listom je samo od 2 do 3%^[9] površine dežnje kaplje. Zato da se list čisti sam je kriv hidrofoben zgornji sloj na listu in sama sestava lotusovega lista. Ta ima obliko igličastega sloja-površino pokrivajo strukture, ki imajo obliko hribočka in so visoke in široke okoli $10\mu\text{m}$. Na teh igličastih strukturah pa se nahajajo še od nekaj nanometrov do enega mikrometra velike cevaste tvorbe iz hidrofobnega materiala. Taka površina kapljici ne ponuja nobenega dobrega oprijemališča zato se kapljica odkotali z nje in pri tem nase prilepi umazanijo z lista. Čeprav je fenomen lotusovega lista znan in čaščen v Aziji že preko 2000 let sta botanika C. Neinhuis in W. Barthlott šele v 70-desetih ugotovila posebno sestavo lotusove površine. V zadnjih desetletjih se ta koncept uporablja tudi pri razvijanju materialov s hidrofobnimi lastnostmi.



Slika 19: Računalniška simulacija lotusovega površja in kapljica vode na katero se je nalepila umazanija. [9]

Zaključek

Hidrofobni efekt je pojav, ki ga človeštvo pozna že zelo dolgo časa vendar smo se vanj poglobili šele v zadnjih desetletjih. Igra pomembno vlogo v bioloških procesih in tudi v naravi. Njegova prisotnost nam tudi pokaže kako pomembna je voda v našem življenjskem okolju. S pomočjo raziskav in industrije pa poskušamo danes uporabne lastnosti hidrofobnega efekta prenesti na industrijo materialov in površin.

Literatura

- [1] Chaplin M., *Water structure and science*, <http://www.lsbu.ac.uk/water/> (21.12.2008)
- [2] *Water model*, http://en.wikipedia.org/wiki/Water_model (21.12.2008)
- [3] Boyer R., *Temelji biokemije* (Študentska založba, Ljubljana, 2005)
- [4] *Surface force apparatus*, http://en.wikipedia.org/wiki/Surface_forces_apparatus, http://www.mpip-mainz.mpg.de/~jonas/Master_Surf_Chem/lecture_IntroSurfChem_2b.pdf (21.12.2008)
- [5] Chandler D., *Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly*, (Nature **437**, 640, (2005))
- [6] Chaplin M., *Do we underestimate the importance of water in cell biology ?*, (Nature reviews, **vol. 7**, 861, (2006))
- [7] *Levinthal's paradox*, <http://www-wales.ch.cam.ac.uk/~mark/levinthal/levinthal.html> (21.12.2008)
- [8] *Water striders*, http://en.wikipedia.org/wiki/Water_strider (21.12.2008)
- [9] *Lotus effect*, http://en.wikipedia.org/wiki/Lotus_effect (21.12.2008)