

# Electrostática de cadenas poliméricas en disolución acuosa

Silvia Hormeño Torres

Centro Nacional de Biotecnología, CSIC. Cantoblanco 28049. Madrid.

Instituto Nicolás Cabrera, U. Autónoma de Madrid. Cantoblanco 28049. Madrid

[silvia.hormenno@uam.es](mailto:silvia.hormenno@uam.es)

## 1. Introducción

Las estructuras biológicas como los biopolímeros, las membranas o las organelas contienen normalmente un gran número de grupos cargados. Encontramos ejemplos en los grupos de las cadenas laterales de ciertos aminoácidos ( $\text{COO}^-$  del aspartato y glutamato,  $\text{NH}_3^+$  en la lisina, ...), en las cabezas polares de los ácidos grasos o en los grupos  $\text{PO}_4^-$  de los ácidos nucleicos y los fosfolípidos. Por esta razón, los biopolímeros y otros componentes celulares se comportan eléctricamente como conjuntos de cargas puntuales que ocupan posiciones fijas en las moléculas y que se desplazan con ellas. Además, hay que tener en cuenta a los iones libres presentes en la célula o en cualquier medio biológico ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^-$ , ...), que están en constante movimiento por agitación térmica y rodeados de moléculas de agua formando su *capa de hidratación*. Esta distribución de cargas crea campos eléctricos y potenciales muy complejos.

Para estudiar el problema de los polímeros en disolución se utiliza la combinación de las leyes de la electrostática, que gobiernan las distribuciones estacionarias de cargas, con la mecánica estadística, que describe el comportamiento de un conjunto de partículas con movimiento browniano sometidas a fuerza externa.

En primer lugar, puesto que la mayoría de las actividades celulares ocurren en el medio acuoso, no hay que olvidar que el comportamiento de las moléculas sometidas a un campo eléctrico depende de si poseen o no momento dipolar, es decir, si son o no polares. Las moléculas de agua son muy polares y tienden a orientarse en la dirección del campo eléctrico. Este tipo de medio que se polariza se denomina dieléctrico. El agua se caracteriza por una constante dieléctrica elevada:  $\epsilon \approx 80$  a  $20^\circ\text{C}$ .

### 1.1. Propiedades generales de los polielectrolitos

El término polielectrolito se refiere a los polímeros que contienen cargas del mismo signo. Un buen ejemplo son los ácidos nucleicos, en los que cada grupo está cargado negativamente en condiciones fisiológicas.

En los polielectrolitos, a diferencia de lo que sucede en las soluciones de electrolitos elementales o soluciones iónicas, las cargas están unidas a la cadena polimérica, limitando sus grados de libertad y provocando la acumulación de carga en ciertas regiones de la solución.

Para neutralizar la carga eléctrica, el volumen alrededor del polielectrolito debe contener iones de signo opuesto al de éste. Estos iones que compensan la carga se llaman contra-iones y son los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en el caso de los ácidos nucleicos. Por otro lado, los iones del mismo signo que el

polielectrolito o co-iones se excluyen de las proximidades. Dicho de otro modo, la concentración iónica cerca del polielectrolito debe ser muy diferente a la del resto del volumen. En el caso de que los contra-iones sean iones  $H^+$ , la distribución de carga sobre el polielectrolito produce variaciones locales del pH que juegan un papel muy importante en el reconocimiento y la orientación de los ligandos.

Además, las fuerzas repulsivas y atractivas entre las cargas influyen en la conformación adoptada por el polielectrolito.

## 1.2. Teorías de polielectrolitos

La forma general de tratar de forma teórica los electrolitos y los polielectrolitos ha sido combinar las leyes de la electrostática con la descripción estadística del medio líquido en el que los iones cargados y las moléculas se están moviendo.

A continuación, vamos a presentar dos modelos analíticos de polielectrolitos que se engloban dentro de los denominados modelos continuos: la teoría de Poisson-Boltzmann y la teoría de condensación. El nombre de modelo continuo obedece al tratamiento que se da de la solución como un medio continuo caracterizado por la constante dieléctrica  $\epsilon$ . Sin embargo, no hay que olvidar que en esta afirmación se están omitiendo las variaciones locales de  $\epsilon$  con la estructura molecular, por la presencia de carga o su disminución al aumentar la temperatura y la agitación térmica, por lo que un modelo más realista y más complejo debería incluir  $\epsilon(r)$ .

Otros modelos, discontinuos o moleculares, diferencian entre los iones, las moléculas del agua y los grupos cargados de las macromoléculas y precisan de la dinámica molecular para calcular todas las interacciones.

## 2. Teoría de Poisson-Boltzmann

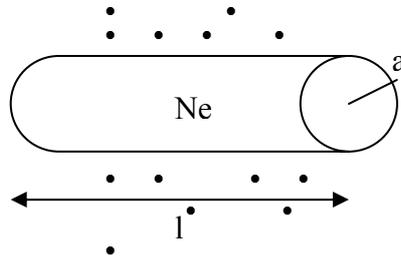
En la teoría de Poisson-Boltzmann, el polielectrolito se representa como un volumen dentro del cual ni la constante dieléctrica ni la distribución de cargas tienen efecto. Está rodeado por una superficie cerrada cargada en contacto con un electrolito cuya constante dieléctrica se supone constante en el tiempo y uniforme en el espacio. Según la geometría del volumen y de las aproximaciones hechas, se pueden obtener expresiones analíticas del potencial eléctrico  $\Psi$ , muy útiles para comparar con los resultados de métodos numéricos.

Los modelos más simples sirven además como buenas aproximaciones a los sistemas reales: el plano cargado para una membrana, la esfera para una proteína y el cilindro para un polielectrolito lineal. Nos limitaremos aquí al caso de la simetría cilíndrica como descripción de la molécula de ADN. El ADN se comporta en solución como un cilindro rígido cuya longitud depende de la estructura del polímero y de parámetros del medio como el pH, la temperatura y la fuerza iónica.

### 2.1. Teoría de Poisson-Boltzmann aplicada al cilindro cargado

Así pues, supongamos un cilindro de radio  $a$ , con carga  $N_e$  uniformemente distribuida por su superficie, longitud  $l \gg a$  y potencial superficial  $\Psi_0$ . Para simplificar, asumamos que el cilindro está

inmerso en una solución 1:1 de electrolitos con constante dieléctrica  $\epsilon$ . Sea  $n_s$  el número de iones por unidad de volumen ( $n_s=n_++n_-$ ) de la solución, considerando cada ión esférico como una carga puntual.



Una ley importante de la electrostática es la ecuación de Poisson, que relaciona la densidad de carga y el potencial eléctrico:

$$\nabla^2\Psi = -\frac{\rho}{\epsilon\epsilon_0}$$

Donde  $\rho$  es la densidad de carga de la solución de electrolitos, debida únicamente a la presencia de iones.  $\epsilon_0=8.854\cdot 10^{-12} \text{ C}^2\cdot\text{N}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  es la permitividad del vacío. Por otro lado, en esta teoría se considera que la variación de la densidad de carga sigue la ley de distribución de Boltzmann,

$$\rho(r) = n_s e \left[ -e^{\frac{e\Psi}{k_B T}} + e^{-\frac{e\Psi}{k_B T}} \right] = -2en_s \cdot \text{senh}\left(\frac{e\Psi}{k_B T}\right)$$

con  $r$  la distancia al cilindro. Combinando las dos ecuaciones anteriores se obtiene la **ecuación de Poisson-Boltzmann**, que describe el comportamiento de los iones en la vecindad del cilindro cargado:

$$\nabla_r^2\Psi(r) = \frac{2n_s e}{\epsilon\epsilon_0} \text{senh}\left(\frac{e\Psi}{k_B T}\right) \quad (1)$$

Para encontrar la solución analítica de esta ecuación, es conveniente introducir las variables adimensionales X e Y:

$$Y \equiv \frac{e\Psi}{k_B T},$$

que es el cociente entre la energía electrostática y la térmica, y

$$X \equiv kr,$$

que es el cociente entre la distancia  $r$  y la longitud de Debye  $k^{-1}$ ,

$$r_D = k^{-1} = \left( \frac{2n_s e^2}{k_B T \epsilon\epsilon_0} \right)^{-1/2}$$

La longitud de Debye es una estimación de la distancia a partir de la cual una carga queda apantallada por otras de signo opuesto, dejando de tener efectos apreciables para el resto. Cuando  $r_D$  es grande, el

apantallamiento eléctrico es débil, algo característico de las soluciones de baja fuerza iónica. En función de estas variables, la ecuación (1) toma la forma

$$\nabla_r^2 Y = k^2 \sinh Y$$

o bien

$$\nabla_x^2 Y = \sinh Y$$

Cuando  $Y = e\Psi/k_B T < 1$ , se puede aproximar  $\sinh Y \approx Y$  y se obtiene la ecuación de Poisson-Boltzman linealizada:

$$\begin{aligned} \nabla_x^2 Y &= Y \\ \frac{1}{X} \frac{\partial}{\partial X} \left( X \frac{\partial Y}{\partial X} \right) &= Y \end{aligned} \quad (2)$$

Esta es la llamada **aproximación de Debye-Hückel**, en la cual estamos suponiendo que la energía térmica es muy superior a la energía electrostática. Para encontrar la condición de contorno en la superficie del cilindro, aplicamos el teorema de Gauss para el flujo del campo eléctrico a través de la superficie, es decir,

$$\oint \vec{E} \cdot \vec{u}_n dS = \frac{Q}{\epsilon \epsilon_0}$$

en nuestro caso:

$$E \cdot 2\pi a l = \frac{Ne}{\epsilon \epsilon_0}$$

Introducimos  $X_0 = ak$  y resulta

$$E(X_0) = \frac{kNe}{2\pi X_0 l \epsilon \epsilon_0} \quad (3)$$

Como una distribución de carga en la superficie de un cilindro es equivalente a una distribución lineal y uniforme a lo largo del eje, podemos introducir el parámetro  $b=l/N$ , que es la distancia promedio entre las cargas a lo largo de la línea. Utilizando que  $\vec{E} = -\vec{\nabla}\Psi$  y, por tanto, que  $E(X_0) = -\left. \frac{\partial \Psi}{\partial X} \right|_{X=X_0}$  se

obtiene la condición de contorno

$$\left. \frac{X_0}{2} \frac{\partial Y}{\partial X} \right|_{X=X_0} = -\frac{e^2}{4\pi k_B T b \epsilon \epsilon_0} \equiv -\xi$$

El parámetro adimensional  $\xi$  se denomina parámetro de carga.

La ecuación (2) es la ecuación diferencial de Bessel modificada con  $n=0$  cuya solución general es  $Y = AI_0(X) + BK_0(X)$ .  $I_0$  y  $K_0$  son las funciones modificadas de Bessel de primera y segunda especie y A y B son constantes. Al aumentar X, la función  $K_0(X)$  decrece e  $I_0(X)$  crece. Como la solución de la ecuación de Poisson-Boltzmann debe anularse en el infinito, necesariamente  $A=0$ . Aplicando la condición de contorno y las propiedades de las funciones de Bessel  $K_0'(X) = K_1(X) + K_{-1}(X)$  y  $K_1(X) = K_{-1}(X)$ , resulta

$$Y(X) = \frac{2\xi}{X_0 K_1(X_0)} K_0(X)$$

o bien,

$$Y(r) = \frac{2\xi}{ka K_1(ka)} K_0(kr)$$

Si  $ka \rightarrow 0$  entonces  $K_1(ka) \approx 1/ka$  y  $ka K_1(ka) \rightarrow 1$ . Para el caso del ADN a baja fuerza iónica (1 mM NaCl,  $r_D = k^{-1} = 96.5 \text{ \AA}$ ,  $a \approx 10 \text{ \AA}$ ) se cumple que  $ka = 0.1$  y, por tanto, la aproximación es válida y se puede escribir:

$$Y(r) = 2\xi K_0(kr)$$

Además, a fuerza iónica baja se cumple que  $kr \rightarrow 0$  y  $K_0(kr) \approx -\ln(kr)$ . En este caso, la solución a la ecuación de Poisson-Boltzmann en la aproximación de Debye-Hückel es

$$\Psi(r) = -\frac{2e}{b\epsilon} [\ln(k) + \ln(r)]$$

Este es el potencial electrostático en la vecindad de un cilindro uniformemente cargado inmerso en una solución de electrolitos a baja fuerza iónica. A este potencial contribuyen dos términos: el potencial debido a la línea de carga,  $\ln(r)$ , y el potencial debido a los contra-iones,  $\ln(k)$ .

El ADN es un poli-anión con  $b = 1.7 \text{ \AA}$ , ya que tiene dos grupos fosfato (dos electrones) cada 3.4  $\text{ \AA}$ . En agua a 20°C ( $\epsilon = 80.10$ ) se obtiene el valor  $\xi = 4.2$ . Por tanto, para que la aproximación de Debye-Hückel sea válida debe cumplirse que

$$Y < 1 \quad \rightarrow \quad Y = 2\xi K_0(X) < 1 \quad \rightarrow \quad K_0(X) < 0.12$$

Que es equivalente a escribir:

$$X = kr > 2$$

Esta condición implica que la aproximación de Debye-Hückel se puede aplicar al ADN sólo a alta fuerza iónica y a distancias grandes de la doble hélice. Así, por ejemplo, a 0.1M NaCl,  $k^{-1} = 9.6 \text{ \AA}$  y para que la descripción de Debye-Hückel funcione debemos estar a más de 20  $\text{ \AA}$  del ADN, esto es, mucho más lejos que dos veces el radio de la hélice.

## 2.2 Soluciones numéricas de la ecuación de Poisson-Boltzmann

La ecuación de Poisson-Boltzmann sin aproximaciones sólo se puede resolver por métodos numéricos. Los resultados obtenidos distinguen tres regiones:

**i.** Región de Debye-Hückel. Como hemos visto en el desarrollo anterior, lejos del cilindro el potencial tiene la forma  $Y = CK_0(X)$ .

**ii.** Región de Gouy. A distancias intermedias del cilindro la simetría cilíndrica del problema sigue siendo válida, pero no así la aproximación de Debye-Hückel, ya que  $Y > 1$ . Aparece una fase de iones condensados cerca del polielectrolito, mientras que se crean pares iónicos transitorios entre las cargas del polielectrolito y los contra-iones.

**iii.** Región de Stern. Es la región más cercana al polielectrolito, en la que se pierde la simetría cilíndrica y los factores estructurales y geométricos como los detalles topológicos de la superficie, cobran

más relevancia. Además, también hay que tener en cuenta el tamaño de los iones y considerar efectos de deshidratación parcial en los iones que se unen a sitios específicos del ADN, por ejemplo.

### 3. Teoría de condensación

El modelo de condensación propone una descripción alternativa de una distribución lineal de carga (Manning, 1969), aunque se basa en las mismas suposiciones utilizadas en la teoría de Poisson-Boltzmann:

1. El solvente es un continuo con constante dieléctrica  $\epsilon$ .
2. Los iones son cargas puntuales con una densidad  $n_s$  y densidad de carga  $\rho(r)$ .
3. El poli-ión se considera como una línea de carga infinita caracterizada por el parámetro de carga, definido como:

$$\xi = \frac{e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T b}$$

siendo  $b=l/N$  la distancia media entre las cargas en la línea y  $z_p$ , la valencia del ión del polielectrolito.

El punto de partida de la teoría de Manning es la observación hecha por Lars Onsager (premio nobel de química en 1968) según la cual la integral que da el número de contra-iones alrededor del cilindro diverge para valores de  $\xi$  por encima de un cierto número crítico. Vamos a deducir ese valor y las implicaciones físicas que conlleva.

En primer lugar, consideremos una superficie equipotencial de la línea de carga. Como ya vimos al deducir  $\Psi(r)$  en el apartado anterior, tiene simetría cilíndrica. Tomemos pues una sección de radio  $r$  y longitud  $b$ , que contiene una única carga  $z_p e$ . El teorema de Gauss nos da el valor del campo eléctrico

$$E(r) = \frac{z_p e}{2\pi\epsilon\epsilon_0 b r}$$

Como  $E=-d\Psi/dr$ , el potencial es

$$\Psi(r) = -\frac{2z_p e}{4\pi\epsilon\epsilon_0 b} \ln r$$

La energía electrostática de un contra-ión móvil de valencia  $z_i$  que se halle a una distancia  $r$  de la línea de carga es  $W_{ip}(r)=z_i e \Psi(r)$ , es decir,

$$W_{ip} = -\frac{2z_i z_p e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 b} \ln r$$

Como consideramos que los iones siguen la distribución de Boltzmann, el número de iones dependerá del valor de la exponencial siguiente:

$$e^{-W_{ip}/k_B T} = e^{-\frac{2z_i z_p e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 b k_B T} \ln r} = e^{2z_i z_p \xi \ln r} = r^{2z_i z_p \xi}$$

Esto nos da la probabilidad de encontrar un ión de carga  $z_i$  a una distancia  $r$  de la línea de carga. El número de contra-iones dentro de un cilindro de radio  $r_0$  y longitud unidad es proporcional a la integral:

$$A_i(r_0) \propto \int_0^{r_0} e^{-\frac{W_{ip}(r)}{k_B T}} 2\pi r dr = 2\pi \int_0^{r_0} r^{(1+2z_i z_p \xi)} dr$$

Puesto que  $z_i z_p < 0$  (ión y contra-ión), para que la integral de fase no diverja en  $r=0$  se debe cumplir que

$$1 + 2z_i z_p \xi > -1$$

$$\xi < \frac{1}{|z_i z_p|}$$

En el caso de iones monovalentes la condición es

$$\xi < 1.$$

$\xi=1$  es, por tanto, un valor crítico que se interpreta de la siguiente manera: la distribución iónica alrededor del polielectrolito es inestable y la única manera de solucionar el problema es reducir la carga del polielectrolito “condensando” algunos contra-iones hasta hacer que  $\xi=1$ . La fracción de carga neutralizada es

$$\frac{\xi - 1}{\xi} = 1 - \frac{1}{\xi}$$

Por otro lado, en las soluciones de electrolitos se puede dar el fenómeno de asociación entre dos iones de carga opuesta cuando la energía electrostática de atracción iguale a  $k_B T$ . A este respecto, se define la longitud de Bjerrum como la distancia por debajo de la cual se pueden formar pares iónicos:

$$l_B = \frac{e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T}$$

Para el agua  $l_B=7.12 \text{ \AA}$  a  $20^\circ\text{C}$ .

El proceso de condensación se puede explicar por la formación de pares iónicos entre las cargas del polielectrolito y los contra-iones. Puesto que

$$\xi = \frac{l_B}{b}$$

se observa que si la distancia entre las cargas del polímero,  $b$ , es pequeña (es decir, si la densidad de cargas es muy alta),  $\xi > 1$ . La energía electrostática de un ión en la vecindad del poli-ión será muy alta y excederá  $k_B T$ , tendiendo a formar un par iónico con las cargas del poli-ión para neutralizarlo. Sin embargo, hay que darse cuenta de que éste no es un fenómeno estático, sino que cada catión explora todos los sitios de unión al polielectrolito muy rápidamente, de forma que en cualquier momento parte de la carga del polielectrolito es neutralizada dando  $\xi=1$ . Esta imagen es análoga al tratamiento termodinámico del equilibrio de fase: un “vapor” de contra-iones en equilibrio con una fase “condensada” sobre el polielectrolito.

Para el ADN tipo B,  $b=1.7 \text{ \AA}$  y  $\xi=4.2$  a  $20^\circ\text{C}$  en agua y  $1-1/\xi=0.76$ . Esto significa que, en promedio, aproximadamente tres de cada cuatro grupos fosfato está neutralizado por contra-iones, formando una capa de condensación alrededor de la doble hélice en la cual la concentración iónica es

mucho mayor que la de la solución. Desde el exterior, el ADN se comporta como un polielectrolito con una densidad de carga aparente que es sólo la cuarta parte de la que correspondería a la distribución de fosfatos sobre la molécula.

Esta teoría nos deja alguna observación importante. La unión de los ligandos cargados es inespecífica y está gobernada principalmente por la atracción de Coulomb. Los ligandos competirán con los contra-iones para unirse a los grupos cargados del polielectrolito, resultando en la liberación de muchos iones de la fase condensada al medio. Esto produce un aumento de la entropía que contribuye muy significativamente a aumentar la energía libre de unión de ligandos y proteínas al ADN.

#### **4. Conclusiones**

Desde un punto de vista eléctrico, la célula viva se presenta como un enorme conjunto de moléculas de todos los tamaños y de iones con carga asociada que se mueven a través o alrededor de las estructuras subcelulares que a su vez están cargadas. El resultado es una compleja distribución de potenciales y de campos involucrados en los mecanismos de interacción y de transporte. El problema es que esta clase de distribución no se puede abordar directamente, por eso hemos estudiado modelos simplificados.

Estos modelos analíticos nos han proporcionado expresiones para cantidades físicas medibles como la longitud de Debye o el parámetro de carga. A pesar de su simplicidad, la teoría de Poisson-Boltzmann y la teoría de condensación de Manning ofrecen una descripción general muy útil de los polielectrolitos:

- Explican que exista un exceso de contra-iones en la vecindad del poli-ión, aunque las características cuantitativas del fenómeno aún no han sido descritas.
- Ponen de manifiesto la importancia del parámetro de carga como variable esencial para describir el comportamiento de un polielectrolito lineal.
- Las soluciones analíticas que ofrecen sirven como punto de partida para modelos numéricos más sofisticados.
- E, incluso, es posible que el único método accesible para calcular el potencial o el campo de grandes complejos como los ribosomas o los nucleosomas o de toda la célula, sean los basados en la ecuación de Poisson-Boltzmann.

#### **5. Bibliografía**

- Daune M. (1999). *Molecular Biophysics. Structures in motion*. Editorial Oxford University Press.
- Cantor & Schimmel. (1980) *Biophysical Chemistry. Part III: The behavior of biological macromolecules*. Editorial WH Freeman and Co.
- Manning. G. S. (1969) Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions. I. Colligative properties. *J. Chem.Phys.* **51**, 3, 924-933