

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



Studium interakcí organické hmoty a jejích složek pomocí molekulární dynamiky

Magisterská práce

Bc. Hana Barvíková

Školitel: doc. RNDr. Milan Předota, Ph.D.

České Budějovice 2014

Barvíková H., 2014: Studium interakcí organické hmoty a jejích složek pomocí molekulární dynamiky.

[Study of interactions of organic matter and its components via molecular dynamics. Mgr. Thesis, in Czech.] – 75 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Abstract

Humic acids and humates are principal components of humic substances – major organic constituents of soil, peat, coal and water around the world. I was involved in research into molecular dynamics simulations of interactions of quartz surfaces with aqueous solutions of ions and small organic molecules representing basic building blocks of larger biomolecules and functional groups of organic matter. We studied interactions of molecules with surfaces for a set of surface charge densities corresponding to the experimentally or environmentally relevant ranges of pH values employing molecular mechanics, molecular dynamics and ab initio techniques. Simulated quartz surfaces covered the range of surface charge densities 0.00, -0.03, -0.06 and $-0.12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, approximately corresponding to pH values 4.5, 7.5, 9.5 and 11. As model molecules, benzoic acid, phenol, o-salicylic acid and their conjugated bases were chosen.

My task was to prepare topologies and parametric models of selected organic matter basic building blocks – organic molecules. I focused on studying interactions of these molecules in an aqueous environment with mineral surface – quartz. The aim was to process simulation results and analyse conformations of the adsorption complexes and their thermodynamic properties such as interaction energies, free energies and adsorption geometries.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

.....
Místo, datum

.....
Hana Barvíková

Na tomto místě bych ráda poděkovala celému řešitelskému týmu projektu, jmenovitě doc. RNDr. Milanu Předotovi, Ph.D., za vedení diplomové práce, vstřícnost a koordinaci, dále Ing. Ondřeji Kroutilovi za přípravu silových polí, křemenných povrchů, užitečné rady k počítání interakčních energií a ve spolupráci s doc. Mgr. Martinem Kabeláčem, Ph.D. za veškeré provedené výpočty. RNDr. Babaku Minofarovi, MSc. Ph.D., děkuji za dodání ab initio parciálních nábojů a Mgr. Michalu Kutému, Ph.D. za připomínky k chemickému názvosloví. Za technickou podporu a výpočetní prostředky patří dík MetaCentru a Ústavu fyziky a biofyziky Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Děkuji i své rodině za poskytnuté zázemí a podmínky ke studiu.

Tato práce vznikala za podpory GAČR 13-08651S.

Obsah

Úvod	1
1. Současný stav	3
1.1 Povrchy a studium rozhraní	3
1.2 Studium molekul	4
1.2.1 Biomolekuly	4
1.2.2 Organické látky a polycyklické aromatické uhlovodíky	5
1.2.3 Směsi vody a organických rozpouštědel	9
1.3 Křemenný povrch	10
1.3.1 Úprava silového pole	10
2. Cíle práce	15
3. Metodika	16
3.1 Molekulární dynamika	16
3.2 Konfigurace systému	16
3.3.1 Simulační protokol	17
3.4 Příprava topologií	18
3.4.1 Atomové typy	22
3.5 Příprava systémů	25
3.5.1 Výpočty pH	25
3.5.2 Výpočty koncentrací	27
3.5.3 Dlouhé simulace	28
3.5.4 Výpočet volné energie a potenciálu střední síly	31
3.5.4.1 Generování konfigurací	34
3.5.4.2 Umbrella sampling	36
3.5.4.3 WHAM analýza	37
4. Výsledky	40

4.1 Interakce benzoátu s křemenem	42
4.2. Interakce o-salicylátu s křemenem	47
4.3 Interakce fenolu s křemenem.....	51
4.4 Interakce fenolátu s křemenem.....	55
4.5 Interakce fenolu a fenolátu s křemenem.....	58
5. Závěr.....	60
6. Seznam použité literatury	62
6.1 Internetové zdroje	67
7. Přílohy	69

Úvod

Tato práce vznikala v rámci projektu *Počítačové modelování interakcí organické hmoty a biomolekul s minerálními povrchy* a navazuje na téma mé předchozí – bakalářské – práce. Celý projekt je zaměřen na studium interakcí organických molekul (přírodních organických hmot, polycyklických aromatických uhlovodíků), biomolekul (stavební bloky DNA) a směsí rozpouštědel s minerálními povrchy (jmenovitě křemenem a rutillem) pomocí molekulární mechaniky, molekulární dynamiky a ab initio výpočetních metod s důrazem na ekologicky, technologicky a vědecky významné systémy.

Cílem projektu, který trvá do roku 2016, je získat poznatky týkající se podmínek, za jakých k adsorpcím dochází, nejčastějších konformací adsorpčních komplexů a hlavních interakcí, kterých se účastní atomy nebo skupiny atomů molekul i povrchů, a termodynamických charakteristik těchto interakcí. Dalším úkolem je zhodnotit vliv iontů na množství adsorbovaných molekul, ať už v důsledku kompenzace náboje, přemostění interakcí (záporně nabitá molekuly a záporného povrchu prostřednictvím kladného iontu) či ovlivnění rozpustnosti molekul přítomností těžkých a toxických iontů. Očekávané výsledky by měly poskytnout informace o vlivu chemických modifikací v podobě funkčních skupin a ligandů, jejich počtu či umístění na vlastnosti těchto interakcí. Předpokládá se, že srovnání s dostupnými experimentálními daty by mělo pomoci porozumět důsledkům vlastností molekul (hydrofobicita/hydrofilita, náboj) a jejich funkčních skupin na parametry adsorpce. Jak již bylo dříve prokázáno,^{[1][2]} data získaná z molekulárních simulací mohou pomoci vysvětlit experimentálně pozorované trendy a chování.

Získané výsledky mohou přispět i k lepšímu pochopení interakcí těchto složek v mnoha dalších oblastech výzkumu. Mezi možné aplikace výsledků lze zařadit vývoj DNA čipů, technologie čištění vod a dekontaminace půdy, výrobu samočisticích barev a nátěrů, omezení koroze (antioxidace) povrchů, využití heterogenní katalýzy a fotokatalýzy aj.

Ve své diplomové práci se věnuji modelování interakcí a simulacím malých organických molekul zastupujících základní stavební bloky organické hmoty s křemenným povrchem o různé hustotě povrchového náboje. Konkrétně se jedná o molekuly kyseliny benzoové, fenolu a kyseliny o-salicylové a jejich konjugovaných bází. Povrchové hustoty náboje křemenného povrchu o hodnotách 0,00, -0,03, -0,06 a -0,12 C·m⁻² odpovídají přibližně pH hodnotám 4,5, 7,5, 9,5 a 11. Kromě rozšíření mé předchozí práce o přípravu několika nových

stavebních molekul organické hmoty a modelování interakcí s povrchem o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, je tato diplomová práce zaměřena také na problematiku samotné přípravy topologií molekul pomocí nástroje MKTOP, včetně výběru vhodných atomových typů. Současně byly provedeny simulace i s větším počtem molekul stejného druhu, případně kombinace neutrálních variant molekul s jejich konjugovanými bázemi, v rámci jednoho simulačního boxu. Na rozdíl od bakalářské je tato práce právě z důvodu potřeby simulovat větší počet molekul zaměřena na zkoumání reálných podmínek modelovaných systémů jako jsou koncentrace a rozpustnost organické hmoty. Kromě samotného modelování interakcí a simulací systémů za podmínek experimentu či přírodních procesů se také více věnuje analýze výsledků z hlediska termodynamických vlastností, tj. interakčních energií, volných energií. Všechny simulace byly oproti předchozím provedeny s novou konfigurací křemene a modifikovaným silovým polem.

1. Současný stav

1.1 Povrchy a studium rozhraní

Zkoumání pevných povrchů a studium rozhraní povrchů s kapalnými fázemi je zásadní z toho důvodu, že prakticky všechny experimenty probíhají v nejrůznějších nádobách, zkumavkách či kapilárách a vyžadují kapalně prostředí umožňující dynamickou výměnu reaktantů a produktů. Tato rozhraní pak poskytují prostor pro nejrůznější reakce a interakce. Pevné povrchy představují i mikroskopické částice, zrnka písku či uměle vytvořené nanočástice.

Rozhraní pevných látek s kapalinami hrají klíčovou roli při adsorpci iontů a molekul, ať už se jedná o kovové povrchy, oxidy kovů či hydroxidy. Ve srovnání s ryzími kovy je pro oxidy kovů a jílů situace složitější z důvodu množství různých funkčních skupin (např. hydroxylové skupiny) na jejich površích, a z toho plynoucího odlišného chování při různých podmínkách (pH, náboj, iontová síla). Např. rutil a materiály z oxidů křemíku nesou za neutrálního pH záporný náboj.^{[1][2]} Adsorpce na tyto povrchy je tudíž dána jak elektrostatickými silami, tak van der Waalsovskými interakcemi (vodíkové můstky, hydrofilní/fóbní interakce, interakce dipól-dipól).

Jedním z povrchů, který přitahuje pozornost experimentálního i teoretického výzkumu, je grafen^[3] a od něho odvozené struktury – uhlíkové nanotrubičky a koule (bucky-balls). Během posledních deseti let se M. Předota zabýval také studiem struktury a dynamiky rozhraní vody a iontů v kontaktu s povrchem rutilu (α -TiO₂) za různých teplotních podmínek a hodnot pH. Existují i studie interakcí molekul s rutilem, avšak doposud jen s nenabitými povrchy.^{[4][5][6]}

Dalším důležitým povrchem jak z hlediska environmentálních aplikací, tak z důvodu napodobování laboratorních experimentů je křemen, SiO₂. Pro výzkum nabitého křemenného povrchu bylo vyvinuto modifikované silové pole,^[7] které je nezbytné pro studium křemene za pH různých od pH_{pzc} (PZC = Point of Zero Charge, bod nulového náboje), které je pro křemen velmi nízké ($pH_{pzc} = 4,5$)^[8]. Z toho důvodu je křemenný povrch za běžných pH záporně nabitý. Modifikované silové pole tak umožňuje simulovat mnohem realističtější interakce povrchu ve srovnání s existujícím neutrálním modelem. Ve srovnání s rutilem existuje méně vědeckých prací zabývajících se křemenem, vyjma několika pilotních

studií testujících silová pole a zkoumajících rozhraní neutrálního křemene s molekulami vody.^[9]

1.2 Studium molekul

Zmíněný projekt *Počítačové modelování interakcí organické hmoty a biomolekul s minerálními povrchy* pokrývá studium interakcí

- biomolekul (báze nukleových kyselin, nukleosidy a nukleotidy),
- polycyklických aromatických uhlovodíků, přírodních organických látek a jejich základních stavebních bloků
- a směsí vody s organickými rozpouštědly

s minerálními povrchy.

1.2.1 Biomolekuly

Výzkum biomolekul je založen na imobilizaci částí nukleových kyselin na anorganických površích, která je podstatou mnoha laboratorních technik jako jsou DNA mikročipy,^[3] chromatografické a elektroforetické separace,^[10] syntéza oligonukleotidů,^[11] vývoj biokompatibilních materiálů^[12] či výzkum prebiotických forem a polymerizace nukleových kyselin.^{[13][14]}

Dostupné experimentální studie se zaměřují především na adsorpci na čisté kovy,^{[15][16]} a to zejména zlato^{[17][18][19][20]} a uhlíkové povrchy.^{[21][22][23]} Důraz je kladen obzvláště na orientaci adsorbovaných molekul a typ adsorpce (fyzisorpce/chemisorpce). Podobný trend panuje i v případě teoretického výzkumu na poli kvantové mechaniky^{[24][25][26][27]} i molekulární dynamiky.^{[27][28][29]}

Některé experimentální práce se soustředí na chování složek nukleových kyselin v přítomnosti oxidů kovů^{[30][31]} a jílovitých materiálů^{[32][33][34]} za účelem vysvětlení prebiotických procesů. Jiné se zaměřují na měření adsorpční afinity složek nukleových kyselin^{[31][35]} nebo deprotonovaných tripeptidů^[4] na rutilu (TiO₂).

1.2.2 Organické látky a polycyklické aromatické uhlovodíky

Přírodní organická hmota a zejména huminové kyseliny, humáty a fulvokyseliny, vznikající rozkladem převážně rostlinných zbytků a vyskytující se ve velké míře v hydrosféře a pedosféře, jsou heterogenní a komplexní aromatické makromolekuly obsahující aminokyseliny, aminosacharidy, peptidy i alifatické řetězce spojující aromatické skupiny.^[36] Pochopení jejich struktury a interakcí může poskytnout důležité informace o jejich biologické rozložitelnosti, toxicitě i transportních vlastnostech. Molekulární mechanismy a dynamika procesů a reakcí týkající se huminových látek zatím nejsou příliš známy z důvodu složitosti makromolekul a přítomnosti mnoha funkčních skupin.

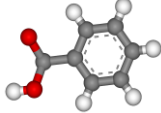
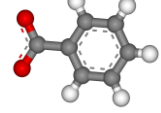
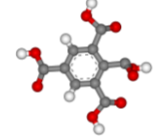
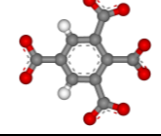
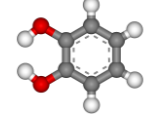
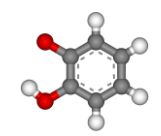
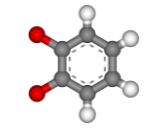
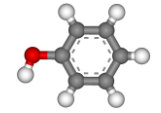
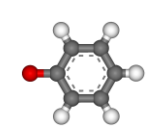
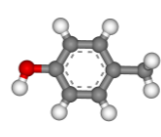
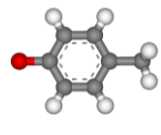
Tyto látky hrají řadu významných rolí v půdních ekosystémech,^[36] jejich interakce a vliv na vlastnosti vodních prostředí spolu s přítomností iontů kovů a organických kontaminantů mají vliv na životní prostředí a složení atmosféry. Je známo, že koncentrace huminových látek, jejich rozpustnost a toxicita může být ovlivněna přítomností stopových kovů^{[37][38]} – spolu s ionty mnoha těžkých a radioaktivních kovů mohou vytvářet ve vodě rozpustné komplexy.^{[39][40][41]} Adsorpce organické hmoty na přírodní povrchy zároveň může výrazně zvýšit adsorpci iontů těžkých kovů a ovlivnit tak transportní mechanismy toxických iontů v podzemních vodách a vodních ekosystémech.^{[42][43]}

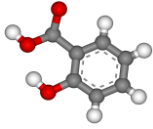
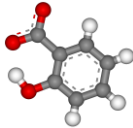
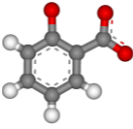
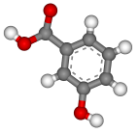
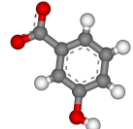
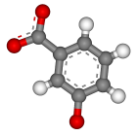
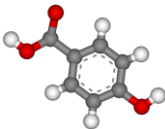
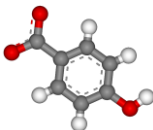
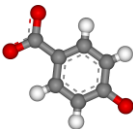
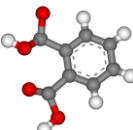
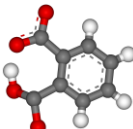
Za účelem zjednodušení interakcí huminových kyselin s ionty a dalšími organickými i anorganickými složkami bylo v rámci projektu naplánováno systematické studium jednotlivých stavebních bloků organické hmoty – aminokyselin, cukrů, aromatických sloučenin a jejich konjugovaných bází – zahrnující reprezentativní molekuly organické hmoty z různých přírodních zdrojů.

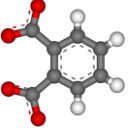
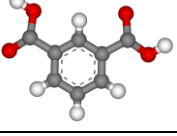
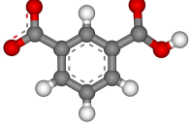
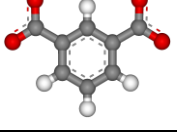
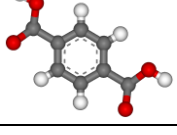
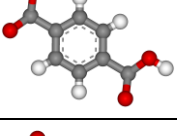
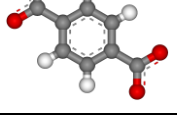
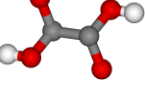
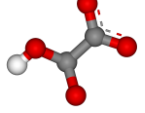
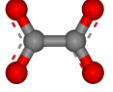
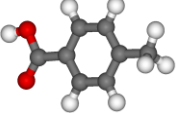
Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) jsou neutrální, nepolární aromatické sloučeniny představující další skupinu molekul, která je předmětem výzkumu. PAU jsou vedlejšími produkty při zpracování nebo spalování ropy,^[44] některé z nich vykazují toxické vlastnosti a karcinogenní účinky, a proto byl sestaven seznam znečišťujících látek, jejichž obsah je ve vodě i odpadech pravidelně sledován. Mezi tyto látky patří např. naftalen, antracen, fenantren, pyren, benzo[a]pyren a další.

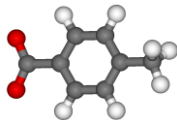
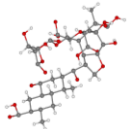
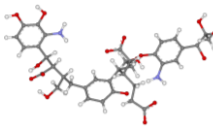
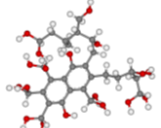
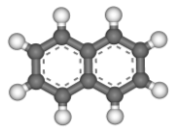
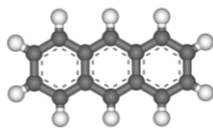
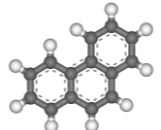
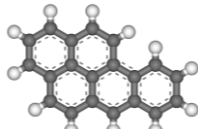
V následující tabulce jsou uvedeny studované stavební molekuly organické hmoty. Silnějším písmem zvýrazněné molekuly jsou předmětem zájmu této diplomové práce.

Tab. 1: Vybrané stavební molekuly organické hmoty. Zdroj dat [45].

molekula	náboj [e]	pK _a	rozpustnost [g·l ⁻¹]	M _m [g·mol ⁻¹]	obrázek
kyselina benzoová	0	4,204	3,4	122,122	
benzoát	-1	-	-	121,114	
kyselina benzen-1,2,3,5-tetrakarboxylová (prehnitová)	0	2,38; 3,51; 4,44; 5,81 ^{[81][82]}	?	254,150	
benzen-1,2,3,5-tetrakarboxylát	-4	-	-	250,118	
pyrokatechol	0	9,34	31,1%	110,111	
2-hydroxyfenolát	-1	12,6	-	109,103	
katecholát	-2	-	-	108,095	
fenol	0	9,99	76,04	94,111	
fenolát	-1	-	-	93,103	
p-kresol	0	10,26	23,1	108,138	
p-kresolát	-1	-	-	107,130	

molekula	náboj [e]	pK _a	rozpustnost [g·l ⁻¹]	M _m [g·mol ⁻¹]	obrázek
kyselina o-salicylová	0	2,98	1,19	138,121	
o-salicylát	-1	13,6	-	137,113	
o-oxidobenzoát	-2	-	-	136,105	
kyselina m-salicylová	0	4,08	7,25 ^[83]	138,121	
m-salicylát	-1	9,92	-	137,113	
m-oxidobenzoát	-2	-	-	136,105	
kyselina p-salicylová	0	4,57	8	138,121	
p-salicylát	-1	9,46	-	137,113	
p-oxidobenzoát	-2	-	-	136,105	
kyselina o-ftalová	0	2,943	6,977	166,132	
hydrogen o-ftalát	-1	5,432	-	165,124	

molekula	náboj [e]	pK _a	rozpustnost [g·l ⁻¹]	M _m [g·mol ⁻¹]	obrázek
o-ftalát	-2	-	-	164,116	
kyselina m-ftalová	0	3,7	0,154	166,132	
hydrogen m-ftalát	-1	4,6	-	165,124	
m-ftalát	-2	-	-	164,116	
kyselina p-ftalová	0	3,54	0,017 ^[84]	166,132	
hydrogen p-ftalát	-1	4,34	-	165,124	
p-ftalát	-2	-	-	164,116	
kyselina oxalová	0	1,25	95,1	90,035	
hydrogenoxalát	-1	3,81	-	89,027	
oxalát	-2	-	-	88,019	
kyselina p-toluová	0	4,37	3,45	136,149	

molekula	náboj [e]	pK _a	rozpustnost [g·l ⁻¹]	M _m [g·mol ⁻¹]	obrázek
p-toluát	-1	-	-	135,141	
Suwanee River Fulvic Acid (SRFA)	0	?	?	?	
Temple Northeastern Birmingham (TNB) ^[85]	-3	?	?	?	
Buffle's model of fulvic acid ^[86]	0	?	?	?	
naftalen	0	-	0,019	128,171	
antracen	0	-	≈ 0	178,229	
fenanthren	0	-	≈ 0	178,229	
benzo[a]pyren	0	-	≈ 0	252,309	

Tabulka představuje vybrané základních stavební bloky organické hmoty. Hodnoty, které nejsou známy, případně je literatura neuvádí, jsou nahrazeny otazníky. Hodnoty, které nemá smysl uvádět (jako např. rozpustnosti u deprotonovaných variant molekul, u kterých chybí kationt určující míru rozpustnosti), jsou proškrtnuty.

1.2.3 Směsi vody a organických rozpouštědel

Rozhraní mezi anorganickými povrchy a vodou jsou častým předmětem výzkumu, avšak aplikace jako např. hydrofilní interakční chromatografie (HILIC) či chromatografie s reverzními fázemi využívají směsi organických rozpouštědel s vodou.^{[10][46]}

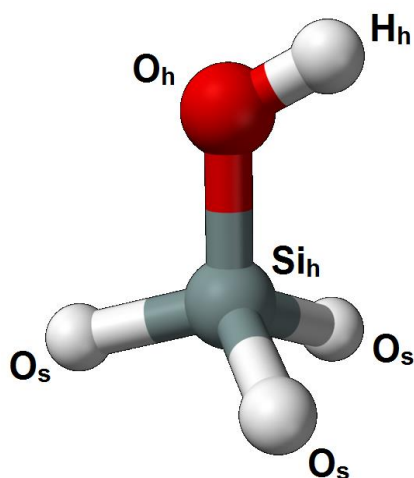
Nejnovější teoretické práce se zabývají interakcemi směsi acetonitrilu s vodou u křemenných povrchů^[47] nebo amorfních nanopórů,^{[48][49][50]} neberou však v úvahu negativní náboj křemene nebo adsorpci biologicky významných molekul jako jsou nukleotidy či peptidy. Směs methanolu s vodou byla studována za různých koncentrací mezi stěnami rutilu (TiO_2)^[51] a simulace zkoumající stabilitu párů bází nukleových kyselin byly provedeny v organických rozpouštědlech methanolu, dimethylsulfoxidu a chloroformu.^[52]

1.3 Křemenný povrch

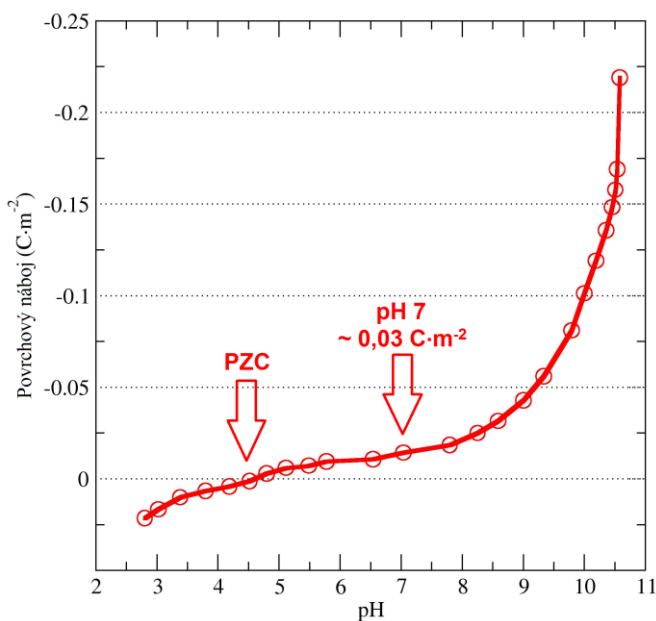
Oxid křemičitý ve všech svých krystalických i amorfních podobách je jedním z nejvíce zastoupených materiálů v zemské kůře. Krystalická forma α -křemen je stabilní do $573\text{ }^\circ\text{C}$ ^[53] a nachází se v půdách, jílech, píscích, štěrcích i skalách, tvoříc okolo 20% exponované zemské kůry.^{[54][55]} Díky své rozmanitosti a praktickému významu patří mezi nejstudovanější látky a z důvodu velkého množství vody v přírodě je rozhraní křemen-voda předmětem zájmu mnoha geologických,^{[56][57][58][59]} biologických^{[60][61]} a technologických^{[62][63]} aplikací. Molekuly vody tvořící toto rozhraní mohou rovněž zprostředkovat interakce (bio)molekul s povrchy^{[4][5]} a tyto interakce pak hrají hlavní roli v mnoha detekčních technikách jako jsou microarray technologie (DNA čipy),^{[64][65]} křemenné mikrováhy,^[66] chromatografie^[67] nebo aplikace uměle vytvořených křemenných nanomembrán.^[68] Předpokládá se, že přítomnost hydroxylových skupin na povrchu křemene a jejich schopnost utvářet vodíkové vazby s biomolekulami je hlavní příčinou zánětu plic – silikózy.^[69]

1.3.1 Úprava silového pole

Povrch křemene vystavený působení vody je zakončen silanoly (znázorněn na Obr. 1), poměrně silně kyselými hydroxylovými skupinami, které se začínají deprotonovat při $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$, tedy při hodnotě vyšší než pH nulového náboje povrchu (Point of Zero Charge; PZC). S rostoucím pH se zvyšuje množství deprotonovaných silanolů a vzrůstá záporný náboj povrchu. S narůstajícím negativním nábojem se výrazně mění vlastnosti povrchu a rozhraní povrch-voda. Stanovení přesné hodnoty pH_{pzc} je však omezeno velmi pozvolným trendem křivky závislosti povrchové hustoty náboje na pH okolo tohoto bodu (Obr. 2) a faktem, že měření pH_{pzc} jsou obtížná z důvodu vysoké rozpustnosti křemene ve vodě.^{[70][71][72]}



Obr. 1: Silanol zakončující povrch křemene s vyznačenými názvy atomů.^[87]



Obr. 2: Křivka povrchové hustoty náboje v závislosti na rostoucím pH.^[8]

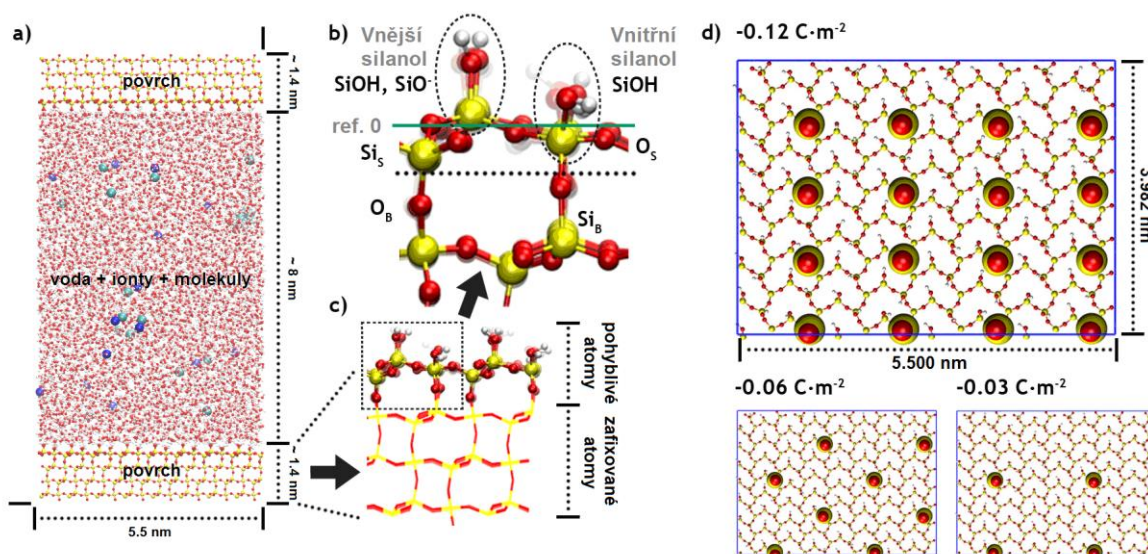
Hodnota pH_{pzc} nulového náboje studovaného křemene se pohybuje okolo 2,0 – 4,5,^{[8][73][74]} při běžných hodnotách pH nese proto křemenný povrch negativní náboj. Původní silové pole ClayFF, které vyvinuli Cygan a kol.,^[75] bylo modifikováno Kroutilem a kol.^[7] z důvodu nabíjení křemenného povrchu (101)^{*} nad hodnotu jeho PZC. Původní parciální náboje byly z důvodu deprotonace povrchových silanolových skupin povrchu a následné delokalizaci náboje upraveny proporcionálně k ab initio výpočtům tak, aby odpovídaly požadované hustotě povrchového náboje. Modifikované silové pole lze snadno implementovat v rámci běžně používaných molekulárně dynamických balíků (Gromacs, Amber) a aplikovat při modelování interakcí křemenných povrchů s ionty a organickými molekulami za různých hodnot pH. Molekulárně dynamické simulace α -křemene o různé povrchové hustotě náboje (0,00, -0,03, -0,06 a -0,12 C·m⁻²) jsou prováděny za účelem zhodnocení vlivu záporného povrchového náboje na chování molekul vody na rozhraní s povrchem, adsorpci iontů a biomolekul.

Křemenný krystal byl nejprve optimalizován a z krystalické struktury byly za použití NBO (Natural Bond Orbital) metod vygenerovány parciální náboje jak pro neutrální variantu

* pyramidální krystalická forma křemene

povrchu, tak pro záporně nabitě klastry, které byly odvozeny z neutrálních částečnou deprotonací silanolových skupin. Následně byly náboje porovnány se silovým polem ClayFF a vypočítáno rozložení náboje v rámci jednotlivých atomů záporně nabitých povrchů. Parciální náboje původního silového pole ClayFF byly modifikovány tak, aby byla zohledněna deprotonace silanolů fyzikálně realistickým způsobem (odebrání jednoho povrchového vodíku mění celkový náboj povrchu přesně o $-1 e$). Vzhledem k tomu, že každý odstraněný vodík nese kladný náboj $0,425 e$ (viz Tab. 2), zbylý náboj o velikosti $-0,575 e$ musel být rozdělen mezi sousední atomy povrchu, přičemž nebyla brána v úvahu možnost pronikání náboje do krystalu. To umožnilo minimalizovat množství atomových typů a zachovat silové pole tak jednoduché jak jen to bylo možné.^[7]

Následující obrázek přibližuje uspořádání modelovaných systémů obsahujících vždy dva bloky křemene o stejné povrchové hustotě náboje ($0,00, -0,03, -0,06$ nebo $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$), které byly připraveny výše popsáním způsobem.



Obr. 3: Konfigurace systému. **a)** Simulační box o uvedených rozměrech se dvěma identickými povrchy, vodou, ionty a organickými molekulami. **b)** Detail části křemenného povrchu s vnějšími a vnitřními silanoly. Zelená linka představuje referenční (nulovou) rovinu. Černá tečkovaná linka vyznačuje hranici mezi zafixovanými a pohyblivými atomy povrchu, označenými v Tab. 3. **c)** Pohyblivá a zafixovaná část povrchu během NVT ekvilibrace a produkčního běhu. **d)** Pozice deprotonovaných silanolových skupin pro tři různé povrchové hustoty náboje. Převzato a upraveno z [7].

Následující tabulka uvádí srovnání ClayFF a NBO parciálních nábojů atomů nenabitého povrchu, vyznačených na Obr. 1 a Obr. 3.

Tab. 2: Srovnání ClayFF a odpovídajících NBO nábojů. Relativní změny nábojů povrchových atomů po deprotonaci jsou uvedeny v posledním řádku. Převzato z [7].

Metoda	Si _B	O _B	Si _S	O _S	Si _h	O _h	H _h	O ⁻
ClayFF/0,00 = q _{i0}	2,100	-1,050	2,100	-1,050	2,100	-0,950	0,425	-
NBO/0,00	2,100	-1,050	2,090	-1,050	2,070	-0,900	0,420	-
Δ(NBO/-1,0) = Δq _i	0,000	0,000	-0,040	0,019	-0,035	0,015	-0,003	-0,031*

*Relativní změna náboje deprotonovaného kyslíku O⁻ s ohledem na O(H) atomový typ.

Náboje jednotlivých typů atomů q_{in} byly vypočítány podle vzorce

$$q_{in} = q_{i0} + \frac{(-0,575)n}{\sum_i \Delta q_i N_i} \Delta q_i \quad (1.1)$$

kde q_{i0} představuje náboj daného typu atomu v neutrálním povrchu, Δq_i reprezentuje rozdíl mezi NBO náboji atomů neutrálního a nabitého povrchu (Tab. 2, poslední řádek), N_i je počet atomů daného typu i a n zastupuje počet deprotonovaných silanolů.^[7]

Výsledné parciální náboje jednotlivých typů atomů modifikovaného silového pole jsou uvedeny v Tab. 3. Atomy povrchu (Obr. 3) jsou označeny jako bulkový křemík Si_B, bulkový kyslík O_B, povrchový křemík Si_S, povrchový kyslík O_S a nakonec atomy Si_h, O_h a H_h nenabitých silanolů SiOH (Obr. 1) a atomy Si_h a O⁻ deprotonovaných silanolů SiO⁻.

Tab. 3: Parciální náboje jednotlivých typů atomů křemene pro všechny studované povrchové hustoty náboje. Převzato a upraveno z [7].

Typ atomu Povrchový náboj [C·m ⁻²]	Si _B	O _B	Si _S	O _S	SiOH			SiO ⁻	
					Si _h	O _h	H _h	Si _h	O ⁻
0,00*	2,10	-1,05	2,10	-1,05	2,10	-0,95	0,425	-	-
-0,03	2,10	-1,05	2,05842	-1,03258	2,06342	-0,93658	0,42042	1,96792	-0,98258
-0,06	2,10	-1,05	2,05590	-1,03510	2,06090	-0,93910	0,41790	1,96560	-0,98510
-0,12	2,10	-1,05	2,05078	-1,04022	2,05578	-0,94422	0,41278	1,96024	-0,99022

* původní ClayFF náboje^[75]

Červeně ohraničené buňky tabulky zdůrazňují rozdílné parciální náboje na atomech Si_h nenabitého a deprotonovaného silanolu (oproti silovému poli použitému v bakalářské práci,

kde byly hodnoty shodné). Více informací o postupech přípravy křemenných povrchů a modifikace ClayFF silového pole lze nalézt v literatuře [7].

2. Cíle práce

1. Příprava topologií a parametrických modelů vybraných molekul organické hmoty a jejích základních stavebních kamenů – organických molekul.
2. Studium interakcí v homogenním prostředí – vzájemných interakcí, interakcí s ionty.
3. Studium interakcí s minerálními povrchy – křemenem, rutilem.
4. Zpracování výsledků simulací, analýza adsorpčních geometrií a interakčních energií.

3. Metodika

3.1 Molekulární dynamika

Z důvodu velkého počtu atomů v modelovaných systémech (řádově 20 000) byla uplatněna metoda molekulární dynamiky, která umožňuje deterministický výpočet trajektorií částic. Veškeré simulace byly provedeny s využitím programového balíku Gromacs 4.5, jehož základní popis a způsob práce s používanými utilitami uvádím ve své bakalářské práci [76].

Vstupní data pro modelování interakcí organických molekul s křemenným povrchem byla k dispozici z literatury – počáteční struktury molekul z PDB databází, silová pole implementovaná v rámci dostupných programových balíčků – případně byla využita data z předchozích prací nebo připravena v rámci projektu. V případě vlastní přípravy parametrických modelů molekul byly pomocí volně dostupného programu Accelrys Discovery Studio sestaveny struktury a z nábojů získaných z RESP výpočtů (popsáno dále) vygenerovány topologie molekul pomocí nástroje MKTOP a xleap utility, která je součástí programového balíku Amber.

3.2 Konfigurace systému

Oproti bakalářské práci, v níž byla využita konfigurace s jedním křemenným povrchem nabitým pouze ze svrchní strany,^[76] byly nově připraveny a použity dvě vrstvy vždy shodně nabitého křemene v rámci jednoho boxu. Tato nová konfigurace umožňuje mimo jiné vyloučit vzájemný vliv povrchů (jimiž tvořené elektrostatické pole se makroskopicky blíží poli homogenně nabitě desky) při opakování periodických okrajových podmínek vložení dostatečně velké mezery s vakuem.

Jeden blok křemene o velikosti 5,500 x 3,982 x 1,4 nm je tvořen vždy čtyřmi vrstvami křemíku Si (Obr. 3c). Celkový povrch jedné plochy, na které je pravidelně rozmístěno celkem 128 silanolů (SiOH), činí 21,901 nm². Na straně silanolů každého ze záporně nabitých bloků bylo deprotonováno 4, 8 nebo 16 silanolových skupin (Obr. 3d) za účelem dosažení požadované povrchové hustoty náboje – přibližně -0,03, -0,06 a -0,12 C·m⁻². Pravidelné uspořádání deprotonovaných míst bylo zvoleno tak, aby se minimalizovaly vzájemné elektrostatické repulze.^[77] Zároveň byly deprotonovány vždy pouze vnější (horní) silanoly, které jsou dle předpokladů přístupnější^[9] pro molekuly vody. Pro udržení celkové

elektroneutrality a dosažení požadované koncentrace solí byly ve vodné fázi rozpuštěny sodíkové a chloridové ionty. Koncentrace chloridových iontů byla stanovena na cca 0,13 M, množství sodíkových iontů bylo vždy součtem počtu chloridových iontů, deprotonovaných silanolů obou povrchů a deprotonovaných vodíků rozpuštěných organických molekul, takže výsledný náboj systému byl nulový. Simulační box, jehož celková výška činila přibližně 28 nm, obsahoval dva identické, zrcadlově převrácené bloky křemene, vzdálené cca 8,1 nm. Vakuová mezera zaujímal 17 nm z celkové výšky boxu. Celý systém obsahoval zhruba 5800 molekul vody v závislosti na množství vložených organických molekul.

3.3.1 Simulační protokol

Molekulárně dynamické simulace byly provedeny s využitím programového balíku Gromacs 4.5.3 (UFY), resp. 4.5.5 (MetaCentrum).

Systémy (roztoky) obsahující pouze molekuly vody, atomy iontů a organické molekuly byly minimalizovány metodou největšího spádu (steepest descent integrator) a zekvilibrovány. Ekvilibrační fáze sestávala z 0,2 ns dlouhého běhu v NVT souboru a 0,2 ns běhu v NPT souboru pro dosažení tlaku 3 kbar a stlačení boxu.

Následně byl box s vodou, ionty a organickými molekulami sloučen s boxem obsahujícím substrát a po (minimalizaci a) krátkém NVT běhu došlo k rozptýlení molekul roztoku původně stlačeného boxu do celého prostoru mezi oběma povrchy a dosažení požadovaného tlaku (cca 1 bar) a hustoty (cca $1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$).

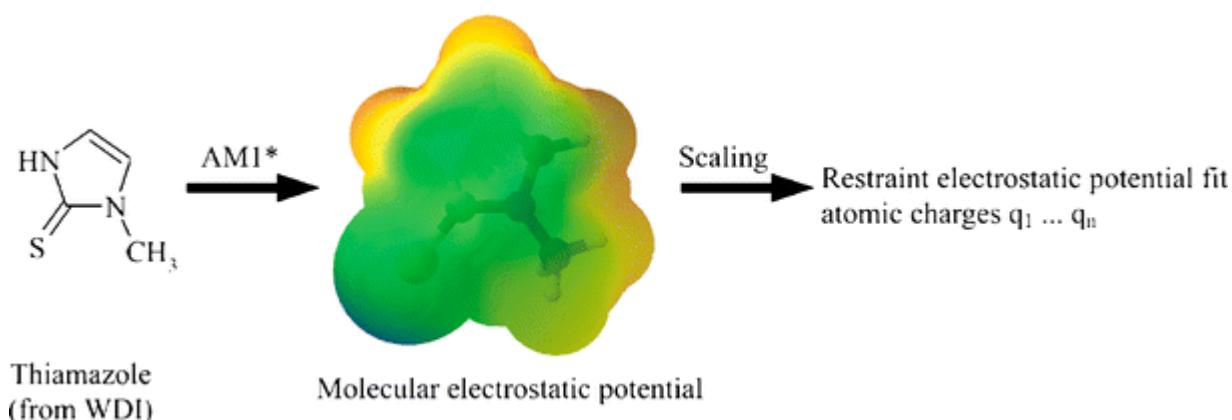
Nakonec byl spuštěn tzv. produkční běh, NVT simulace dlouhá 50 ns. Ve všech simulacích byl nastaven časový krok 2 fs a pro výpočet trajektorie použit algoritmus leap-frog (modifikovaný Verletův algoritmus). Sférické oříznutí potenciálu (cut-off) pro elektrostatické krátkodosahové (Coulombovské) i van der Waalsovské interakce bylo nastaveno na 1,2 nm. Dlouhodosahové elektrostatické interakce byly započteny třídímní Ewaldovou sumací (Particle Mesh Ewald summation, PME) s korekcí pro 2D periodické systémy. Pro stabilizaci teploty byl použit Nosé-Hooverův termostat s relaxační dobou $\tau = 1,0 \text{ ps}$ a referenční teplotou 300 K. Tlak během NPT ekvilibrační fáze byl kontrolován semiisotropickým škálováním ve směru osy z pomocí Parinello-Rahmanova barostatu s časovou konstantou $\tau = 1,0 \text{ ps}$ a referenčním tlakem nastaveným na hodnotu 3 kbar. Atomy silanolů a atomy Si_s a O_s (Obr. 3c) byly po dobu dlouhého běhu simulace volně pohyblivé, všechny ostatní atomy povrchu (bulk) byly během simulací zafixovány,

aby se zamezilo posunu a deformacím povrchu, které by zkreslily výsledné hustotní profily molekul. Souřadnice všech atomů byly ukládány vždy po 1000 krocích s přesností na 4 desetinná místa (*xtc_precision* = 10000), aby výsledné grafy hustotních profilů nevykazovaly nežádoucí nepřesnosti způsobené zaokrouhlovací chybou. Z důvodu možnosti srovnání hustotních profilů různých systémů byla stanovena referenční nulová výška pomocí střední výšky (pozice ve směru osy *z*) atomů křemíku Si_h (SU1) silanolových skupin (Obr. 1 a Obr. 3b).

3.4 Příprava topologií

Tato kapitola je věnována popisu přípravy topologií molekul pomocí nástroje MKTOP z předem vypočítaných ab initio nábojů a optimalizovaných *.pdb* struktur. Prostřednictvím skriptu MKTOP, který není součástí distribuce GROMACSu a byl vyvinut nezávislou skupinou^[78], lze vygenerovat topologie pro silové pole OPLS-AA (Optimized Potentials for Liquid Simulations – All Atom) ve formátu *.itp* v takové podobě, která je (po drobných úpravách) ihned použitelná pro přípravu simulovaných systémů programem GROMACS.

Parciální náboje atomů a energeticky minimalizované konfigurace molekul ve formátu *.pdb* jsou získané z RESP (Restrained ElectroStatic Potential) kvantových výpočtů. V kombinaci s programem DivCon (semiempirický kvantově-mechanický program) vypočítá program antechamber (součástí programového balíku Amber) parciální náboje jednotlivých atomů. RESP modeluje kvantově mechanický elektrostatický potenciál (Molecular ElectroStatic Potential, MEP) na povrchu molekul pomocí bodových nábojů jednotlivých atomů. Tuto metodu vyvinul Christopher Bayly.^{[88][89]}



Obr. 4: Schéma generování atomových nábojů. Molekulový elektrostatický potenciál je

vypočítán pomocí AM1* hamiltoniánu.[†] Semiempirický MEP je dále vyjádřen prostřednictvím DFT (Density Functional Theory, teorie funkcionálu elektronové hustoty) nebo ab initio nábojů, které jsou vygenerovány pomocí RESP metody.^[90]

Optimalizovaná struktura molekuly v *.pdb* formátu je použita jako vstupní soubor programu MKTOP a pro vygenerování souřadnicového *.gro* souboru. Soubor *.pdb* obsahuje označení typů částic (např. ATOM nebo HETATM) udávající, zda se jedná např. o malé molekuly, proteiny nebo atomy nukleových kyselin, dále obsahuje pořadová čísla a jména konkrétních atomů, název a číslo příslušného residua, ke kterému daný atom náleží, kartézské souřadnice v [Å] a okupační (occupancy factor) a teplotní faktor. Většině atomů je přidělen okupační faktor 1, což znamená, že se atom nachází ve všech molekulách v krystalu na stejném místě – molekuly jsou ve stejné konformaci. Čím vyšší teplotní faktor, tím rozmazanější mapa elektronové hustoty modelu v důsledku vibrací a pohybů daného atomu. To je často případ atomů na povrchu proteinů, kde mají dlouhé postranní řetězce obklopené vodou značnou volnost v pohybu. Více o obsahu a parametrech *.pdb* souboru v [91] a [92].

```

ATOM      1  C1  MOL      1      3.537   1.423  -0.000   1.00   0.00
ATOM      2  H1  MOL      1      4.105   2.344  -0.000   1.00   0.00
ATOM      3  C2  MOL      1      2.145   1.423  -0.000   1.00   0.00
ATOM      4  H2  MOL      1      1.605   2.365   0.000   1.00   0.00
ATOM      5  C3  MOL      1      1.425   0.228  -0.000   1.00   0.00
ATOM      6  C4  MOL      1     -0.084   0.221  -0.000   1.00   0.00
ATOM      7  H3  MOL      1     -0.481   1.236  -0.000   1.00   0.00
ATOM      8  H4  MOL      1     -0.487  -0.292  -0.878   1.00   0.00
ATOM      9  H5  MOL      1     -0.486  -0.291   0.879   1.00   0.00
ATOM     10  C5  MOL      1      2.148  -0.967  -0.000   1.00   0.00
ATOM     11  H6  MOL      1      1.612  -1.913  -0.000   1.00   0.00
ATOM     12  C6  MOL      1      3.537  -0.964  -0.000   1.00   0.00
ATOM     13  H7  MOL      1      4.109  -1.882  -0.000   1.00   0.00
ATOM     14  C7  MOL      1      4.257   0.233  -0.000   1.00   0.00
ATOM     15  C8  MOL      1      5.808   0.233  -0.000   1.00   0.00
ATOM     16  O2  MOL      1      6.341   1.364  -0.000   1.00   0.00
ATOM     17  O1  MOL      1      6.341  -0.898  -0.000   1.00   0.00
TER
END

```

Energeticky optimalizovaná konfigurace molekuly p-toluátu ve formátu *.pdb*.

Výstupem programu antechamber je textový soubor obsahující pořadová čísla atomů s jejich názvy, typy atomů a označením geometrie struktury prostřednictvím 5 topologických typů: Main (**M**), Side (**S**), Branch (**B**), číselné 3-6 (**3/4/5/6**) a End (**E**). Atomy označené písmenem **M** náleží k (hlavnímu) řetězci, který se váže na další residuum. **E** označuje koncové atomy

[†] AM1* je semiempirická technika počítání molekulárních orbitalů ve výpočetní chemii. Jedná se o rozšíření AM1 (Austin Model 1). Více na [89].

utvářející pouze jednu vazbu se zbytkem řetězce. **S** atomy se váží na dva další atomy a **B** atomy tvoří celkem tři vazby. **3** charakterizuje atom s vazbou na celkem čtyři další atomy (kvartérní atom), **4**, **5** a **6** se používají např. pro koordinační sloučeniny. V 5. – 7. sloupci souboru jsou čísla atomů, se kterými daný atom tvoří vazbu, úhel a dihedrál skrze předchozí dva uvedené. Následuje rovnovážná délka vazby v [Å] s atomem uvedeným v 5. sloupci, úhel ve stupních mezi atomy 1., 5. a 6. sloupce a dihedrál tvořený všemi čtyřmi atomy. V posledním sloupci jsou uvedeny parciální náboje atomů. Soubor dále specifikuje uzavřené vazby tvořící smyčky (LOOP) pomocí prvního a posledního atomu cyklu a nedovolené torze (IMPROPER), které např. udržují cyklické sloučeniny planární.^{[93][94]}

```

0      0      2

This is a remark line
molecule.res
MOL      INT      0
CORRECT      OMIT DU      BEG
0.0000
  1  DUMM  DU      M      0  -1  -2      0.000      .0      .0      .00000
  2  DUMM  DU      M      1  0  -1      1.449      .0      .0      .00000
  3  DUMM  DU      M      2  1  0      1.522      111.1      .0      .00000
  4  C1    ca      M      3  2  1      1.540      111.208      180.000      -0.15606
  5  H1    ha      E      4  3  2      1.082      121.781      -180.000      0.14059
  6  C2    ca      M      4  3  2      1.392      0.123      -179.999      -0.26643
  7  H2    ha      E      6  4  3      1.086      119.829      180.000      0.12453
  8  C3    ca      M      6  4  3      1.395      121.037      0.000      0.17263
  9  C4    c3      3      8  6  4      1.509      121.313      180.000      -0.21993
 10  H3    hc      E      9  8  6      1.090      111.142      0.000      0.05223
 11  H4    hc      E      9  8  6      1.094      111.754      120.196      0.05223
 12  H5    hc      E      9  8  6      1.094      111.688      -120.168      0.05223
 13  C5    ca      M      8  6  4      1.397      117.777      0.000      -0.26643
 14  H6    ha      E     13  8  6      1.087      119.258      180.000      0.12453
 15  C6    ca      M     13  8  6      1.389      121.021      0.000      -0.15606
 16  H7    ha      E     15  13  8      1.082      121.740      180.000      0.14059
 17  C7    ca      M     15  13  8      1.396      121.181      0.000      0.02471
 18  C8    c      M     17  15  13      1.551      121.029      180.000      0.84720
 19  O2    o      E     18  17  15      1.251      115.205      -180.000      -0.83329
 20  O1    o      M     18  17  15      1.250      115.241      0.000      -0.83329

LOOP
  C7    C1

IMPROPER
  C7    C2    C1    H1
  C1    C3    C2    H2
  C4    C5    C3    C2
  C6    C3    C5    H6
  C5    C7    C6    H7
  C8    C6    C7    C1
  C7    O2    C8    O1

DONE
STOP

```

Výstup programu antechamber pro molekulu p-toluátu. V posledním sloupci jsou uvedeny parciální náboje atomů z RESP výpočtů. První tři nepravé, tzv. DUMMY atomy, definují souřadnicový prostor residua.^[94]

Z tohoto textového souboru je potřeba nejprve extrahovat poslední sloupec s náboji do samostatného souboru:

```
awk '{print $11}' ptoluic_1neg_pdb_charge.txt > ptoluic1N.chg
```

Soubor s náboji (ptoluic1N.chg) je nutné upravit tak, aby jej bylo možné použít jako vstup pro skript MKTOP. Je potřeba smazat první tři řádky s nulovými náboji tzv. DUMMY atomů, na začátek každého řádku vložit pořadové číslo atomu s mezerou a seřadit atomy podle jejich pořadí v *.pdb* souboru optimalizované struktury. Výsledná podoba souboru s náboji:

```
1 -0.15606
2  0.14059
3 -0.26643
4  0.12453
5  0.17263
6 -0.21993
```

Ukázka souboru s parciálními náboji atomů.

Následuje vytvoření topologie *.itp*. Vstupními daty jsou optimalizovaná *.pdb* struktura a právě vytvořený soubor s náboji:

```
mktop.pl -i ptoluic_1neg.pdb -c ptoluic1N.chg -t ptoluic_1neg.itp
```

Vzniklá topologie obsahuje vše potřebné pro simulaci systému tvořeného touto jednou molekulovou. Protože však v simulacích pracujeme se souborem systémové topologie *.top*, který obsahuje jak vložení všech potřebných polí, tak specifikaci všech součástí systému (povrchy, voda, ionty, rozpuštěné molekuly), musí *.itp* soubor projít drobnými úpravami. Na začátku je smazána formule:

```
; Include forcefield parameters
#include "/usr/local/bin/gromacs-4.0.4/share/top/ffoplsaa.itp"
```

A na konci nepotřebné:

```
[ system ]
; Name
MKTOP

[ molecules ]
; Compound          #mols
MOL                  1
```

Výsledná podoba *.itp* topologie pak vypadá následovně:

```
[ moleculetype ]
; Name              nrexcl
MOL                 3
```

```

[ atoms ]
; nr   type   resnr residue  atom  cgnr   charge   mass   typeB  chargeB  massB
  1  opl_s_145  1     MOL     C1    1    -0.17449  12.011
  2  opl_s_146  1     MOL     H1    1     0.18367   1.008
  3  opl_s_145  1     MOL     C2    2    -0.21154  12.011
...

[ bonds ]
1 14 1  0.139  392459.2
1 3 1  0.139  392459.2
1 2 1  0.108  307105.6
...

[ angles ]
1 14 12 1  119.194  527.184
1 14 15 1  122.425  711.280
1 3 5 1  121.119  527.184
...

[ dihedrals ]
3 1 14 12 3
2 1 14 12 3
3 1 14 15 3
...

[ pairs ]
12 3 1
12 2 1
15 3 1
...

```

Ukázka *.itp* topologie. Tři tečky zastupují data vynechaná v tomto výpisu z prostorových důvodů – *.itp* soubor obsahuje řádky pro všechny interagující kombinace atomů.

Topologie molekuly je vložena do systémové topologie *.top* pomocí řádky

```
#include "ptoluic_1neg.itp"
```

Nakonec je pomocí utility *editconf* vygenerován souřadnicový soubor *.gro* z optimalizované struktury *.pdb*, který později slouží pro přípravu boxu s vodou, ionty a organickými molekulami.

```
editconf -f ptoluic_1neg.pdb -o ptoluic_1neg.gro
```

3.4.1 Atomové typy

Po vygenerování topologie je vhodné ověřit typy atomů přiřazené nástrojem MKTOP z databáze programu GROMACS. V některých případech je potřeba ručně zaměnit typy atomů dle parametrů silového pole za vhodnější s ohledem na koordinaci atomu a dostupnost úhlových a dihedrálních parametrů. V mnoha případech několik různých typů atomů má shodné van der Waalsovské ne vazebné parametry *a*/nebo náleží do stejné skupiny atomů z hlediska vazebných interakcí.

Každý atom nese označení dvojího typu. Jednak číselné (např. op1s_145) a jednak písmenné (tzv. bond-type, např. CA), které je přiřazeno každému atomu právě na základě číselného dle ffnonbonded.itp. Číselné označení typů atomů je rozhodující z hlediska nevazebných interakcí (v souboru ffnonbonded.itp jsou definovány nevazebné parametry σ a ϵ , které budou popsány dále), zatímco písmenné označení je určující pro vazebné interakce. Vazebné parametry (silové konstanty, délky vazeb) jsou uvedeny v souboru ffbonded.itp. Dodatečná ruční záměna číselného typu atomu tak neovlivní vazebné ale pouze intermolekulární interakce.

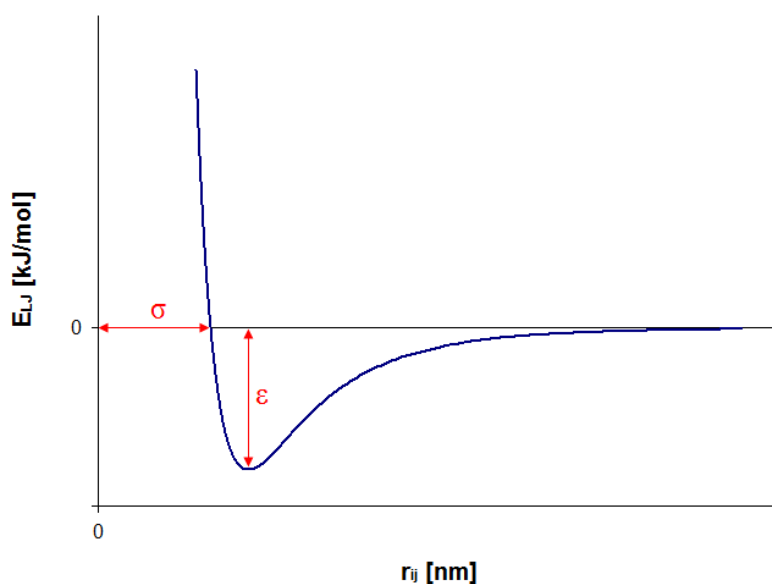
V následující tabulce je uveden úplný seznam použitých typů atomů, ze kterých jsou sestaveny organické molekuly vytvořené v rámci této práce.

Tab. 4: Použité atomové typy.

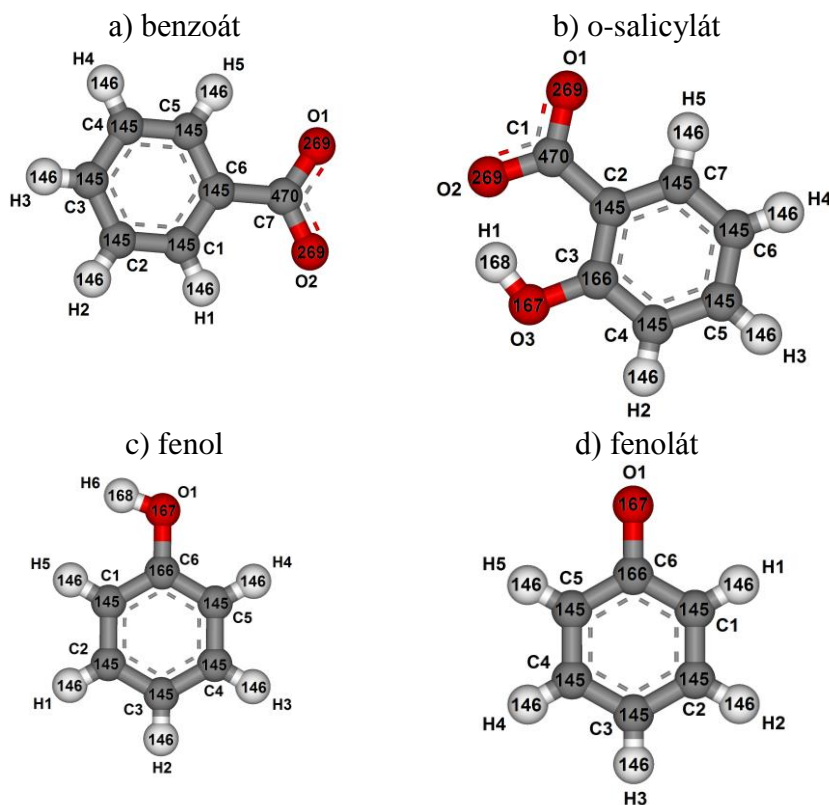
typ atomu pro nevazebné interakce	typ atomu pro vazebné interakce	A_r	q [e]	σ [nm]	ϵ [kJ·mol ⁻¹]	poznámka
op1s_140	HC	1,00800	0,060	2,50000e-01	1,25520e-01	alkane H
op1s_148	CT	12,01100	-0,065	3,50000e-01	2,76144e-01	C: CH3, toluene
op1s_145	CA	12,01100	-0,115	3,55000e-01	2,92880e-01	Benzene C - 12 site
op1s_146	HA	1,00800	0,115	2,42000e-01	1,25520e-01	Benzene H - 12 site
op1s_166	CA	12,01100	0,150	3,55000e-01	2,92880e-01	C(OH) phenol
op1s_167	OH	15,99940	-0,585	3,07000e-01	7,11280e-01	O phenol atom C, H 145 & 146
op1s_168	HO	1,00800	0,435	0,00000e+00	0,00000e+00	H phenol use #135-#140
op1s_268	OH	15,99940	-0,530	3,00000e-01	7,11280e-01	Oh in CCOOH
op1s_269	O_3	15,99940	-0,440	2,96000e-01	8,78640e-01	Oc in CCOOH neutral
op1s_270	HO	1,00800	0,450	0,00000e+00	0,00000e+00	H in CCOOH
op1s_470	C	12,01100	0,635	3,75000e-01	4,39320e-01	Co in benzoic acid

Tabulka uvádí vazebné typy použitých atomů, jejich relativní atomovou hmotnost A_r , náboje a kromě poznámky týkající se vhodnosti použití daného atomového typu také délkový parametr párového potenciálu σ a energetický parametr ϵ , vyjadřující hloubku potenciálového minima. Hladina minimální energie E_{LJ} a optimální vzdálenost atomů r_{ij} závisí na těchto parametrech interagujících atomů.

Lennardův-Jonesův potenciál



Obr. 5: Lennardův-Jonesův potenciál, závislost potenciální energie na vzdálenosti atomů. Čím vyšší (zápornou) hodnotu má parametr ϵ , tím silnější je interakce mezi danými dvěma atomy. Geometrický parametr σ vyjadřuje vzdálenost, ve které je potenciál nulový. Parametr ϵ určuje hloubku potenciálového minima.



Obr. 6: Použité molekuly s vyznačenými typy a čísly atomů dle *.pdb* souborů.

3.5 Příprava systémů

Před samotnou přípravou simulací bylo potřeba nejprve vypočítat z hodnot uvedených v Tab. 1 maximální reálné koncentrace molekul a smysluplnost jejich kombinací s povrchy z hlediska pH, tj. zvolit pro danou hodnotu povrchového náboje a jemu odpovídající pH příslušný protonovaný/deprotonovaný stav molekuly.

3.5.1 Výpočty pH

Z definice pH jakožto záporného dekadického logaritmu koncentrace protonů (aktivity oxoniových kationtů)

$$pH = -\log[H^+] \quad (3.1)$$

a ze známých vztahů pro disociaci dvojsytných kyselin lze odvodit vzorce pro výpočet koncentrace neutrální, jednou deprotonované a dvakrát deprotonované kyseliny (zásady).

Disociační konstanty dvojsytných kyselin lze vypočítat z následujících vzorců:

$$K_{a1} = \frac{[H^+][A^-]}{[A^0]}, \quad K_{a2} = \frac{[H^+][A^{2-}]}{[A^-]}, \quad (3.2)$$

kde K_{a1} a K_{a2} jsou disociační konstanty prvního, resp. druhého stupně, a $[H^+]$, $[A^0]$, $[A^-]$ a $[A^{2-}]$ jsou rovnovážné aktivity jednotlivých složek – H^+ protonů, A^0 neutrální kyseliny, A^- jednou deprotonované kyseliny a A^{2-} dvakrát deprotonované kyseliny.

Protože u slabých kyselin, jakými jsou obecně ty organické, vychází disociační konstanta malá, uvádí se obvykle jako hodnota pK , resp. pK_a , tedy jako záporný dekadický logaritmus disociační konstanty:

$$pK_{a1} = -\log K_{a1}, \quad pK_{a2} = -\log K_{a2} \quad (3.3)$$

Z předchozích vztahů je zřejmé, že tyto veličiny lze také vyjádřit jako rozdíl pH a logaritmu podílu rovnovážných aktivit:

$$pK_{a1} = pH - \log \frac{[A^-]}{[A^0]}, \quad pK_{a2} = pH - \log \frac{[A^{2-}]}{[A^-]} \quad (3.4)$$

Celková koncentrace kyseliny ve všech jejích disociačních stavech se potom rovná součtu jednotlivých rovnovážných aktivit všech disociačních stavů:

$$[A] = [A^0] + [A^-] + [A^{2-}] \quad (3.5)$$

Pro výpočet rovnovážných aktivit z uvedeného platí:^[79]

$$[A^-] = \frac{[K_{a1}][A^0]}{[H^+]}, \quad [A^{2-}] = \frac{[K_{a2}][A^-]}{[H^+]}, \quad [A] = [A^0] \left\{ 1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]} \left(1 + \frac{[K_{a2}]}{[H^+]} \right) \right\} \quad (3.6)$$

Po dosazení do rovnice 3.6 lze psát vzorce pro výpočet koncentrace neutrální, jednou deprotonované a dvakrát deprotonované kyseliny, které byly použity pro stanovení počtu molekul v modelovaných systémech, uvedených v Tab. 5:

$$[A^0] = \frac{[A]}{1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]} \left(1 + \frac{[K_{a2}]}{[H^+]} \right)} = \frac{[A]}{1 + 10^{pH-pK_{a1}} (1 + 10^{pH-pK_{a2}})} \quad (3.7)$$

$$[A^-] = \frac{[A] \frac{[K_{a1}]}{[H^+]}}{1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]} \left(1 + \frac{[K_{a2}]}{[H^+]} \right)} = \frac{[A] 10^{pH-pK_{a1}}}{1 + 10^{pH-pK_{a1}} (1 + 10^{pH-pK_{a2}})} \quad (3.8)$$

$$[A^{2-}] = \frac{[A] \frac{[K_{a1}]}{[H^+]} \frac{[K_{a2}]}{[H^+]}}{1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]} \left(1 + \frac{[K_{a2}]}{[H^+]} \right)} = \frac{[A] 10^{pH-pK_{a1}} 10^{pH-pK_{a2}}}{1 + 10^{pH-pK_{a1}} (1 + 10^{pH-pK_{a2}})} \quad (3.9)$$

Odvození výpočtu koncentrací neutrálních a jednou deprotonovaných forem kyselin, které nemohou být podruhé deprotonovány (jednosytné kyseliny), je zvláštním případem předchozích rovnic, kdy $[A^{2-}] = K_{a2} = 0$, to je $pK_{a2} = \infty$:

$$[A^0] = \frac{[A]}{1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]}} = \frac{[A]}{1 + 10^{pH-pK_{a1}}} \quad (3.10)$$

$$[A^-] = \frac{[A] \frac{[K_{a1}]}{[H^+]}}{1 + \frac{[K_{a1}]}{[H^+]}} = \frac{[A] 10^{pH - pK_{a1}}}{1 + 10^{pH - pK_{a1}}} \quad (3.11)$$

Pro výpočet koncentrací zásad platí analogické vztahy, ve kterých místo pK_a , $[H^+]$, $[A^0]$, $[A^-]$ a $[A^{2-}]$ vystupují pK_b , $[OH^-]$, $[B^0]$, $[B^-]$ a $[B^{2-}]$.

3.5.2 Výpočty koncentrací

Molární koncentrace c (molarita) je určena podílem látkového množství n a objemu V . Vyjadřuje počet molů rozpuštěné látky připadající na 1 litr roztoku:

$$c = \frac{n}{V} = \frac{m}{MV}, \quad (3.12)$$

kde m je hmotnost rozpuštěné látky a M její molární hmotnost. Z definice látkového množství

$$n = \frac{N}{N_A}, \quad (3.13)$$

kde N vyjadřuje počet částic dané látky a N_A představuje Avogadrovu konstantu (cca $6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), lze pomocí molarity roztoku snadno vypočítat maximální počet organických molekul. Látková množství organických molekul n_{MOL} a vody n_{H_2O} mají dle předchozí rovnice tvar:

$$n_{MOL} = \frac{N_{MOL}}{N_A}, \quad n_{H_2O} = \frac{N_{H_2O}}{N_A} \quad (3.14)$$

Na základě poměru látkových množství organických molekul a vody lze odvodit:

$$N_{MOL} = \frac{n_{MOL}}{n_{H_2O}} N_{H_2O} \quad (3.15)$$

Počet organických molekul N_{MOL} je možné určit také z objemu roztoku V a koncentrace organické hmoty c_{MOL} :

$$N_{H_2O} = c_{MOL} V N_A \quad (3.16)$$

Výsledný počet molekul organické hmoty, který uvádí Tab. 5, byl vždy zaokrouhlen dolů na celé jednotky.

Tab. 5: Počty použitých molekul v modelovaných systémech.

molekula	max. počet molekul		pH = 4,5			pH = 7,5			pH = 9,5			pH = 11		
			0,00 C·m ⁻²			-0,03 C·m ⁻²			-0,06 C·m ⁻²			-0,12 C·m ⁻²		
			[A]	[A ⁻]	[A ⁻²]	[A]	[A ⁻]	[A ⁻²]	[A]	[A ⁻]	[A ⁻²]	[A]	[A ⁻]	[A ⁻²]
kyselina benzoová	2	%	34	66	-	0	100	-	0	100	-	0	100	-
		ks	0	2	-	0	2	-	0	2	-	0	2	-
		ks	0	1	-	0	1	-	0	1	-	0	1	-
		PMF	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-
fenol	82	%	100	0	-	96	4	-	79	20	-	38	62	-
		ks	82	0	-	82	0	-	64	16	-	31	50	-
		ks	1	0	-	1	0	-	1	1	-	1	1	-
		PMF	1	0	-	1	0	-	1	1	-	1	1	-
kyselina o-salicylová	1	%	3	97	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
		ks	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
		PMF	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-

Z výše popsaných výpočtů pH bylo zjištěno procentuální zastoupení jednotlivých disociačních forem molekul. Silnějším písmem zvýrazněné hodnoty jsou skutečná množství molekul dosažená do simulačních boxů, přepočtená k reálné koncentraci pomocí vztahu 3.16. U každé z těchto kombinací byla provedena simulace jednak maximálního reálného počtu molekul, jednak simulace pouze jedné molekuly (v případě kyseliny o-salicylové nebylo nutné, neboť z důvodu její malé rozpustnosti je maximální počet molekul roven jedné) a simulace pro výpočet potenciálu střední síly (PMF – Potential of Mean Force; popsáno dále). Celkem tedy bylo provedeno 22 dlouhých simulací a 14 sérií pro výpočet PMF.

3.5.3 Dlouhé simulace

Pro kombinace organických molekul s křemennými povrchy byly provedeny simulace dlouhé 50 ns. V této kapitole uvádím jako osnovu přípravy postup v podobě příkazů, jejichž význam a bližší popis lze nalézt v [76]. Přípravu každého simulačního boxu lze rozdělit do tří částí, z nichž první je provedena pro každou ze čtyř variant povrchů pouze jednou:

1. Příprava povrchu

- Vytvoření indexového souboru a zformování pracovních skupin:

```
make_ndx -f quartz-0.12-2surf.gro -o qindex.ndx
```

- Oddálení obou povrchů o 3 nm (oproti původní vzdálenosti 5 nm):

```
editconf -f quartz-0.12-2surf.gro -n qindex.ndx -translate 0 0 3  
-o quartz_trans.gro volba SURF2 a SYSTEM
```

- Zvětšení prostoru s vakuem z důvodu omezení vzájemného vlivu povrchů:

```
editconf -f quartz_trans.gro -n qindex.ndx -box 5.5 3.982 27.5  
-o quartz_enlarged.gro -c volba SYSTEM a SYSTEM
```

- Minimalizace boxu s povrchy se zamrzlými bulkovými atomy:

```
grompp -f min.mdp -p topol.top -c quartz_enlarged.gro -o quartz_final.tpr  
-n qindex.ndx  
mdrun -deffnm quartz_final
```

- Krátký běh se zamrzlými BULKovými atomy:

```
grompp -f nvt.mdp -p topol.top -c quartz_final.gro -o quartz_final.tpr  
-n qindex.ndx  
mdrun -deffnm quartz_final
```

2. Příprava roztoku (voda + ionty + molekuly)

Při přípravě smíšených systémů obsahujících různé disociační stavy molekul je potřeba rozlišit tato residua pomocí různých názvů v *.itp* a *.gro* souborech a inkludovat příslušné molekuly pod jiným názvem také do topologie *.top*.

- Zvětšení boxu s molekulou na rozměry odpovídající prostoru mezi povrchy:

```
editconf -f phenol.gro -o phenol_uprav.gro -box 5.50000 3.98200 8.00000  
-center 2.75 1.99 4
```

- Přidání předem vypočítaného množství organických molekul:

```
genbox -cp phenol_uprav.gro -nmol 9 -ci phenol.gro -o 10phenols.gro  
-p topol.top -vdwd 0.15
```

- Solvatace systému:

```
genbox -cp 10phenols.gro -cs -o phenwat.gro -p topol.top -vdwd 0.15
```

- Vytvoření souboru *.tpr* pro následné přidání iontů:

```
grompp -f genion.mdp -p topol.top -c phenwat.gro -o phenwat.tpr
```

- Přidání iontů k vyrovnání celkové elektroneutrálnosti systému a dosažení požadované koncentrace solí a) v případě neutrálních povrchů, b) v případě nabitých povrchů. Počet chloridových iontů je shodný z důvodu zachování koncentrace, množství sodíkových iontů

je vždy součtem počtu chloridových iontů, deprotonovaných silanolů obou povrchů a deprotonovaných vodíků rozpuštěných organických molekul:

```
a) genion -s phenwat.tpr -o phenwati.gro -p topol.top -conc 0.13 -neutral  
volba SOL
```

```
b) genion -s phenwat.tpr -o phenwati.gro -p topol.top -nn 14 -np 56  
volba SOL
```

- Vytvoření aktuálního indexového souboru:

```
make_ndx -f phenwati.gro -o index.ndx
```

- Minimalizace systému s roztokem:

```
grompp -f min.mdp -p topol.top -c phenwati.gro -o phenwati.tpr -n index.ndx  
mdrun -deffnm phenwati
```

- NVT ekvilibrace:

```
grompp -f nvt.mdp -p topol.top -c phenwati.gro -o phenwati.tpr -n index.ndx  
mdrun -deffnm phenwati
```

- NPT ekvilibrace za tlaku 3kbar za účelem stlačení boxu a jeho pozdějšího dosazení mezi povrchy:

```
grompp -f npt.mdp -p topol.top -c phenwati.gro -o phenwati.tpr -n index.ndx  
mdrun -deffnm phenwati
```

3. Sloučení a dlouhý běh

- Zvětšení vzdálenosti mezi povrchy o 0,1 nm z důvodu dosažení reálné hustoty roztoku (odpovídající tlaku cca 1 bar) po jeho dosazení mezi povrchy:

```
editconf -f quartz_final.gro -n qindex.ndx -translate 0 0 0.1  
-o quartz_final.gro volba SURF2 a SYSTEM
```

- Zvětšení boxu s povrchy o prostor s vakuem, jehož výška by měla odpovídat (minimálně) 1,5násobku velikosti systému:

```
editconf -f quartz_final.gro -n qindex.ndx -box 5.5 3.982 28  
-o quartz_final.gro -c volba SYSTEM a SYSTEM
```

- Zvětšení boxu s roztokem na velikost boxu s povrchy z důvodu sloučení obou boxů:

```
editconf -f phenwati.gro -n index.ndx -box 5.5 3.982 28  
-o phenwati_enlarged.gro -c volba SYSTEM a SYSTEM
```

- Vložení stlačeného roztoku mezi povrchy:

```
genbox -cp quartz_final.gro -cs phenwati_enlarged.gro -o system_final.gro  
-p topol.top
```

- Vytvoření indexového souboru konečného systému:

```
make_ndx -f system_final.gro -o index_system.ndx
```

- Minimalizace konečného systému:

```
grompp -f min.mdp -p topol.top -c system_final.gro -o system_final.tpr
-n index_system.ndx
mdrun -deffnm system_final
```

- NVT ekvilibrace, po které následuje kontrola hustoty v bulku. Ta by měla odpovídat přibližně tlaku 1 bar (± 100 bar)^[79] dle vzorce 3.17:

```
grompp -f nvt.mdp -p topol.top -c system_final.gro -o system_final.tpr
-n index_system.ndx
mdrun -deffnm system_final
```

- Dlouhý běh – spuštění pomocí dávkového souboru run.sh:^[76]

```
grompp -f nvt.mdp -p topol.top -c system_final.gro -o system_final.tpr
-n index_system.ndx
qsub run.sh
```

Před spuštěním dlouhého běhu je potřeba zkontrolovat hustotu vody v systému, která by měla odpovídat tlaku přibližně 1 bar (± 100 bar)^[79]. Pomocí kompresibility β [bar^{-1}] vody lze určit, jaká změna tlaku dp odpovídá odchylce hustoty bulkové vody $d\rho$ od hustoty vody ρ . Stlačitelnost vody za tlaku 1 bar při teplotě 300 K se rovná $4,6 \times 10^{-5}$ [bar^{-1}].^[95]

$$dp = \frac{1}{\rho \cdot \beta} d\rho \quad [96] \quad (3.17)$$

Pokud hustota bulkové vody v systému odpovídá vyššímu tlaku, než je požadovaný, stačí zvětšit vzdálenost mezi oběma povrchy (a velikost vakuové mezery) a znovu zekvilibrovat. Je-li vypočtený tlak naopak nižší, je potřeba zmenšit původní vzdálenost mezi povrchy, znovu stlačit box s roztokem na takovou velikost, aby jej bylo možné vložit mezi povrchy, a zekvilibrovat. Pro zajištění správné struktury křemene je nutné zafixovat polohy atomů nižších vrstev, což neumožňuje použití NPT simulací systému se dvěma povrchy a je nutné obcházet výše uvedeným způsobem pomocí NVT simulací.

3.5.4 Výpočet volné energie a potenciálu střední síly

Z důvodu lepšího porozumění termodynamickým vlastnostem adsorpcí studovaných molekul byly kromě dlouhých NVT simulací provedeny i simulace na výpočet volné energie, resp. potenciálu střední síly (Potential of Mean Force, PMF).

Volná energie (nebo také Helmholtzova funkce) je stavová veličina, která charakterizuje termodynamickou soustavu při izotermickém ději. Za předpokladu konstantní teploty a objemu (NVT soubor), kdy soustava nekoná žádnou práci, je pokles volné energie roven

maximální užitečné práci, kterou lze ze systému získat. Při rovnovážném izotermicko-izochorickém ději nabývá Helmholtzova energie minima.^[97]

Helmholtzova volná energie A (z německého „Arbeit“) je určena vztahem:

$$A = U - TS, \quad (3.18)$$

kde U je vnitřní energie soustavy, T termodynamická teplota a S entropie.

Existuje několik způsobů, jakými lze pomocí programu GROMACS počítat volnou energii. Jedním z nich je tzv. metoda slow-growth (pomalého růstu/vývoje). Tato metoda vyžaduje simulaci, jejíž Hamiltonián se mění jen velmi pomalu. Změna je natolik pomalá, že systém je v každém kroku v rovnováze – změny jsou reverzibilní.^[95]

Hamiltonián H je funkcí vazebného parametru λ , který závisí na použitém silovém poli. Volná energie se vztahuje ke kanonické partiční funkci $Q(\lambda)$ NVT souboru, který je považován za rovnovážný soubor se stálým počtem částic generovaný MD simulací za konstantní teploty a objemu.^[95]

$$A(\lambda) = -k_B T \ln Q(\lambda) \quad (3.19)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta. Kanonická partiční funkce (statistická suma) je dána vztahem:

$$Q(\lambda) = c \iint e^{-\beta H(r, p; \lambda)} d\vec{r}^N d\vec{p}^N \quad (3.20)$$

kde $\beta = \frac{1}{k_B T}$ a $c = (N! h^{3N})^{-1}$.^[95] Polohu částic \vec{r} udáváme v kartézských souřadnicích a \vec{p}

je pak kanonicky sdružená hybnost. Okamžitý stav systému je popsán vektorem $(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, \vec{p}_1, \dots, \vec{p}_N) \equiv (\vec{r}^N, \vec{p}^N)$. Prostor všech těchto vektorů vytváří fázový prostor.^[80]

Výše uvedený integrál 3.20 nelze určit ze simulace, ale je možné stanovit jeho derivaci podle vazebného parametru λ .^[95]

$$\frac{dA}{d\lambda} = \frac{\iint (\partial H / \partial \lambda) \exp[-\beta H(r, p; \lambda)] d\vec{r}^N d\vec{p}^N}{\iint \exp[-\beta H(r, p; \lambda)] d\vec{r}^N d\vec{p}^N} = \left\langle \frac{\partial H}{\partial \lambda} \right\rangle_{NVT; \lambda} \quad (3.21)$$

Potenciál střední síly je speciálním případem předchozího, kdy $\lambda = z$ (záporná derivace energie podle vzdálenosti vyjadřuje sílu). Potenciál je získán integrováním střední síly ze série konfigurací. Mění-li se kontinuálně vzdálenost mezi dvěma skupinami atomů, je konána práce a systém není v rovnováze. Pro tyto účely lze však využít Jarzynského vztahu,^[95] který dává do souvislosti rozdíly volných energií mezi dvěma rovnovážnými stavy během nerovnovážných procesů:

$$\Delta A_{AB} = -k_B T \log \left\langle e^{-\beta W_{AB}} \right\rangle_A, \text{ resp. } \Delta G_{AB} = -k_B T \log \left\langle e^{-\beta W_{AB}} \right\rangle_A, \quad (3.22)$$

kde W_{AB} je práce vykonaná při přechodu systému ze stavu A do stavu B, lomené závorky označují průměrování přes kanonický soubor z počátečního stavu A v NVT, resp. NPT souboru.^[95]

Pro počítání potenciálu střední síly využíváme tzv. metodu numerické integrace. Potenciál je získán integrováním střední síly ze série konfigurací, kdy v našem případě modifikujeme systémy za použití harmonického potenciálu^[79]

$$H(z_{\text{ref}}) = H_0 + H_{\text{ham}}(z_{\text{ref}}); \quad H_{\text{ham}}(z_{\text{ref}}) = \frac{1}{2} k (z_{\text{ref}} - z)^2, \quad (3.23)$$

který udržuje polohu z funkční skupiny v blízkosti referenční polohy z_{ref} harmonického oscilátoru o tuhosti k . Z 3.21 pak plyne^[79]

$$\frac{dA(z_{\text{ref}})}{dz_{\text{ref}}} = \left\langle \frac{\partial H(z_{\text{ref}})}{\partial z_{\text{ref}}} \right\rangle_{NVT; z_{\text{ref}}} = \langle k(z_{\text{ref}} - z) \rangle_{NVT; z_{\text{ref}}} = \langle -F_z(z_{\text{ref}}) \rangle_{NVT; z_{\text{ref}}}, \quad (3.24)$$

kde v posledním vztahu vystupuje střední síla působící na referenční bod harmonického oscilátoru. Hledaný rozdíl volných energií mezi dvěma různě vzdálenými polohami molekuly je dán integrací^[79]

$$A(z_1) = A(z_0) + \int_{z_0}^{z_1} \frac{dA(z_{\text{ref}})}{dz_{\text{ref}}} dz_{\text{ref}} = \int_{z_0}^{z_1} \langle -F_z(z_{\text{ref}}) \rangle dz_{\text{ref}} \quad (3.25)$$

Realizace metody výpočtu rozdílu volné energie pomocí střední síly tak představuje numerický výpočet integrálu pro řadu hodnot na integrační cestě získaných ze série MD simulací lišících se polohou přidaného harmonického potenciálu z_{ref} , přičemž $A(z_0)$ reprezentuje referenční hodnotu potenciálu v bulku (nulový potenciál).

Pravděpodobně nejčastěji využívanou metodou k získání PMF prostřednictvím GROMACSu je použití tzv. pull kódu.^[98] Základní kroky vedoucí k získání PMF jsou:

- vygenerování série konfigurací podél reakční koordináty
- využití metody umbrella sampling („deštníkové“ vzorkování)
- použití utility `g_wham` za účelem aplikování WHAM algoritmu (Weighted Histogram Analysis Method, metoda analýzy vážených histogramů), určeného pro počítání volných energií biomolekul a k rekonstrukci PMF profilu

3.5.4.1 Generování konfigurací

Jak již bylo uvedeno výše, k získání PMF je potřeba vygenerovat sérii konfigurací, lišících se polohou funkční skupiny molekuly. Z těchto konfigurací jsou připraveny a spuštěny samostatné simulace dlouhé 3 ns. Od získaných výsledků je možné přikročit k WHAM analýze a vytvoření PMF profilu.

Pro vygenerování konfigurací, v nichž se molekula nachází v různých vzdálenostech od povrchu, je nutné nejprve spustit simulaci, během které daná molekula doputuje po reakční koordinátě do bezprostřední vzdálenosti od povrchu. K tomu se využívá tzv. pull kódu, který je začleněn do NVT `.mdp` souboru a přitáhne molekulu k povrchu:

```
;pull code
pull                = umbrella
pull_geometry       = distance
pull_dim            = N N Y
pull_start          = yes
;pull_init1         = 0           ; [nm]
pull_ngroups        = 1
pull_group0         = SU1
pull_group1         = OO
pull_rate1          = -0.01       ; 0.01 nm per ps = 10 nm per ns
pull_k1             = 1000        ; kJ mol-1 nm-2
pull_nstxout        = 1000        ; every 1 ps
pull_nstfout        = 1000        ; every 1 ps
```

Prostřednictvím tohoto kódu je mezi těžiště vybraných skupin atomů (funkční skupinu molekuly a povrchové atomy SU1) vložen harmonický potenciál (průžina), který díky nastavené silové konstantě postupně dle zvolené rychlosti posuvu přitáhne molekulu k povrchu.

Jednotlivé parametry mohou mít různá nastavení sloužící dalším metodám výpočtu PMF, proto uvádím jen ta, která byla využita v této práci.

`pull = umbrella`: aplikování harmonického potenciálu mezi těžišti dvou skupin atomů. Díky využití harmonického potenciálu bude působící síla úměrná posunutí.

`pull_geometry = distance`: posunutí podél vektoru spojujícího těžiště obou zvolených skupin atomů. Složky vektoru posunutí určuje parametr `pull_dim`.

`pull_dim = N N Y`: na zvolenou skupinu atomů bude působit síla pouze ve směru osy z ; posun ve směru složky z .

`pull_start = yes`: počáteční vzdálenost těžišť je nastavena jako referenční vzdálenost pro první snímek. Není potřeba nastavovat `pull_init1`.

`pull_init1 = 0`: referenční vzdálenost skupin v [nm] v čase $t = 0$.

`pull_ngroups = 1`: aplikování síly pouze na jednu ze zvolených skupin (`pull_group1`).

`pull_group0 = SU1`: referenční skupina atomů povrchu.

`pull_group1 = OO`: skupina atomů, na kterou působí síla. Jedná se o atomy funkční skupiny molekuly.

`pull_rate1 = -0.01`: rychlost posunutí ($0,01 \text{ nm} \cdot \text{ps}^{-1} = 10 \text{ nm} \cdot \text{ns}^{-1}$) určuje posuv referenčního bodu (ukotvení pružiny). Míra posouvání je v tomto případě konstantní v záporném směru osy z (přitahování skupiny OO k SU1). Je-li hodnota `pull_rate1` kladná, posouvá se referenční bod v kladném směru osy z (táhnutí `pull_group1` směrem od `pull_group0`).

`pull_k1 = 1000`: silová konstanta v $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-2}$.

`pull_nstxout = 1000`: zapisování souřadnic (každých 1000 kroků).

`pull_nstfout = 1000`: zapisování sil (každých 1000 kroků; v závislosti na velikosti časového kroku: pokud $dt = 1 \text{ fs}$, zapisují se každou 1 ps).

Parametry byly zvoleny s ohledem na doporučení literatury tak,^[99] aby molekula nebyla přitahována příliš rychle nebo s příliš velkou silovou konstantou, což by mohlo mít za následek deformace systému.

Díky výše uvedenému pull kódu je funkční skupina molekuly během simulace přitahována k povrchu a její souřadnice zapisovány do souboru s trajektorií. Ze získané trajektorie jsou vybrány konfigurace prostřednictvím utility `trjconv`:

```
trjconv -s system_final.tpr -f system_final.xtc -o conf.gro -sep
```

Pro hromadné zpracování vzdáleností mezi vybranými skupinami atomů je využito skriptu `distances.pl` dostupného na [100]. Před jeho spuštěním příkazem

```
perl distances.pl
```

je nutné vytvořit soubor `groups.txt` obsahující pořadová čísla indexových skupin `pull_group0` a `pull_group1` dle platného indexového souboru, která jsou využita při neinteraktivním hromadném měření vzdáleností mezi oběma skupinami prostřednictvím utility `g_dist`:

```
20  
21
```

Z vygenerovaného souboru `summary_distances.dat` jsou vybrány konfigurace, ve kterých se molekula nachází v požadovaném intervalu vzdáleností vzhledem k povrchu (2,0 – 0,1 nm) lišících se o určitou vzdálenost (`spacing`), konkrétně 0,1 nm. Tyto konfigurace jsou použity jako vstupní pro spuštění série simulací, ze kterých je počítán PMF.

3.5.4.2 Umbrella sampling

Umbrella sampling je metoda spočívající ve vzorkování podél reakční koordináty s použitím dodatečných harmonických potenciálů. Tato technika umožňuje vzorkování i statisticky nepravděpodobných stavů.^[95]

Z konfigurací získaných v předešlém kroku jsou připraveny `.tpr` soubory pro spuštění samostatných simulací, lišících se počáteční polohou funkční skupiny, která je zároveň použita jako referenční pro deštníkové vzorkování konfigurací a výpočet střední síly působící na funkční skupinu:

```
grompp -f umbrella.mdp -c conf185.gro -p topol.top -n index.ndx -o umbrella185.tpr  
grompp -f umbrella.mdp -c conf194.gro -p topol.top -n index.ndx -o umbrella194.tpr  
...
```

Soubor `umbrella.mdp` se od předchozího, obsahujícího `pull` kód, liší v parametru `pull_rate1`, který je tentokrát vypnutý – počáteční vzdálenost obou těžišť je díky `pull_start = yes` uložena jako referenční, a proto není potřeba pro každou konfiguraci zvlášť nastavovat `pull_init1`.

```
dt          = 0.001      ; ps
nsteps      = 3000000    ; 3ns
pull_start  = yes
pull_init1  = 0          ; [nm]
pull_rate1  = 0          ; no pulling
```

Každá z 20 simulací má nastaven časový krok 1 fs a je 3 ns dlouhá. Z těchto simulací se v následujícím kroku analyzuje distribuce podél reakční koordináty, tj. podél souřadnic, které jsou určeny harmonickým potenciálem. Pro účely WHAM analýzy je nutné místo obvyklého spuštění příkazem

```
mdrun -deffnm umbrella185
mdrun -deffnm umbrella194
...
```

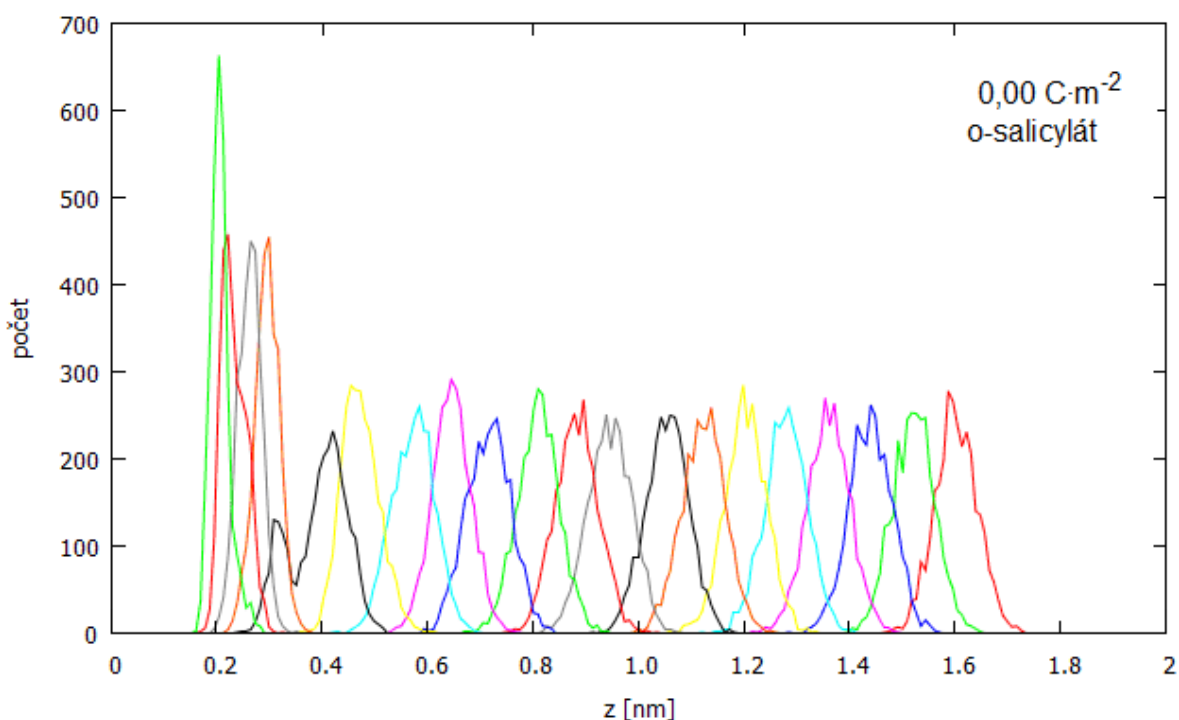
specifikovat `-pf` a `-px` s názvy souborů, do kterých je zapisován odděleně časový vývoj sil působících na funkční skupinu a časový vývoj poloh skupiny:

```
mdrun -deffnm umbrella185 -pf pullf-umbrella185.svg -px pullx-umbrella185.svg
mdrun -deffnm umbrella194 -pf pullf-umbrella194.svg -px pullx-umbrella194.svg
...
```

3.5.4.3 WHAM analýza

Weighted Histogram Analysis Method, neboli metoda analýzy vážených histogramů je metoda výpočtu potenciálu střední síly z deštníkového vzorkování. Zpracování výsledků simulací pro výpočet potenciálu střední síly prostřednictvím WHAM analýzy probíhá pomocí utility `g_wham`, která je součástí GROMACSu. Tento nástroj extrahuje PMF z výsledků simulací, v nichž se molekula nachází v různých výškách nad povrchem, zintegrováním střední síly ze série dodaných konfigurací. Výstupem jednotlivých simulací je histogram výskytu molekuly a střední hodnoty síly, kterou na molekulu působí okolí. Tato síla je statisticky rovna opačné hodnotě harmonické síly působící na molekulu díky deštníkovému vzorkování. Zásadou použití právě harmonického potenciálu, kde platí, že síla \vec{F} je úměrná aktuální výchylce \vec{y} ($\vec{y} = \vec{z} - \vec{z}_{ref}$) přes silovou konstantu k (tuhost pružiny): $\vec{F} = -k\vec{y}$, je zřejmé, že ze střední polohy molekuly z jedné ze série simulací lze získat střední sílu pro výslednou střední polohu molekuly. WHAM analýza však nepoužívá jen střední hodnotu síly působící na molekulu v každé ze simulací lišících se referenční

hodnotou z_{ref} , ale histogramy síly a polohy pokrývající celé okolí této referenční polohy vzorkované deštníkovým vzorkováním. Integrováním těchto sil z jednotlivých simulací, během kterých je molekula po malých krocích přitahována k povrchu, získáme výsledný potenciál střední síly. WHAM sloučí silové profily z různých simulací s přihlédnutím ke statistické významnosti výskytu molekul v různých vzdálenostech v jednotlivých simulacích. Proto je nutné hodnoty z_{ref} volit tak, aby se všechny výsledné histogramy dostatečně překrývaly (nejlépe tak, aby každý následující začínal přibližně v maximu předchozího). Na Obr. 7 je znázorněn více než dostatečný překryv.



Obr. 7: Histogram výskytu o-salicylátu u neutrálního povrchu z WHAM analýzy.

Vstupními soubory `g_wham` jsou `tpr-files.dat`, který obsahuje seznam všech `.tpr` souborů série simulací s různými referenčními polohami funkční skupiny, a soubor `pullx-files.dat` (případně `pullf-files.dat`), jenž obsahuje seznam všech `pullx.xvg` (`pullf.xvg`) souborů z každého okénka:

tpr-files.dat

```
umbrella185.tpr
umbrella194.tpr
...
```

pullx-files.dat

```
pullx-umbrella185.xvg
pullx-umbrella194.xvg
...
```

Nástroj `g_wham` postupně otevře všechny `umbrella.tpr` a `pullx.xvg` (`pullf.xvg`) soubory a provede WHAM analýzu:

```
g_wham -it tpr-files.dat -ix pullx-files.dat -o -hist -unit kJ
```

případně:

```
g_wham -it tpr-files.dat -if pullf-files.dat -o -hist -unit kJ
```

Pro vypuštění prvních několika stovek ps trajektorie každé ze simulací (považovaných za ekvilibrační část) lze využít volby `g_wham -b`.

4. Výsledky

Jedním z hlavních úkolů mé diplomové práce bylo připravit topologie malých organických molekul zastupujících základní stavební bloky organické hmoty a studovat jejich interakce s křemennými povrchy o různé hustotě povrchového náboje. S ohledem na reálné podmínky modelování interakcí z hlediska koncentrací a pH, jejichž výpočet je uveden v kapitolách 3.5.1 a 3.5.2, jsem studovala chování molekuly benzoátu, jednou deprotonované kyseliny o-salicylové (o-salicylátu), fenolu a fenolátu u křemenných povrchů s povrchovou hustotou náboje 0,00, -0,03, -0,06 a -0,12 C·m⁻². Byly provedeny simulace i s větším počtem stejných molekul či kombinace neutrálních molekul s jejich konjugovanými bázemi v rámci jednoho simulačního boxu. Všechny modelované kombinace uvádí Tab. 5.

Výsledky ze simulací uvádím v podobě názorného shrnutí v této kapitole. Interakce byly zkoumány především prostřednictvím analýzy radiálních distribučních funkcí (RDF) funkčních skupin molekul, hustotních profilů a interakčních energií (PMF). Kapitola je logicky rozčleněna podle výsledků vztahujících se ke každé konkrétní organické molekule.

Pro kreslení všech hustotních profilů i PMF byla použita referenční skupina atomů povrchu SU1 (ve výšce 9,66 nm od počátku simulačního boxu). Pro měření vzdáleností od druhého povrchu lze využít fakt, že skupina atomů Si_h (pracovně označovaná SU2) horního povrchu se nachází ve vzdálenosti 8,65 nm od těžiště atomů SU1 (tedy ve výšce 18,31 nm od počátku simulačního boxu). Proto je osa *x* hustotních profilů vyznačena právě pro interval vzdáleností od 0 do 8,65 nm. Pro kreslení radiálních distribučních funkcí byly využity jak atomy křemíku SU1 (dolní, v grafech levý povrch), tak atomy SU2 (horní, v grafech pravý povrch), které byly sloučeny do skupiny s pracovním názvem SU.

Hustotní profily jsou kresleny jak pro atomy funkčních skupin molekul (typicky pro atomy OO, OH nebo O, které náleží k -COO⁻, -OH nebo -O⁻ skupině), tak pro těžiště molekul. Z důvodu možnosti porovnání hustotních profilů jednotlivých molekul nezávisle na jejich hmotnosti byla počítána číselná hustota v jednotkách [nm⁻³]. Protože při počítání číselných profilů má na výsledný tvar funkce vliv velké množství k molekulám náležejících vodíků, jejichž profil není z hlediska interakcí a výsledných profilů molekul podstatný, byly nejprve spočítány hmotnostní hustotní profily molekul a ty následně přepočítány na číselné. GROMACS počítá hmotnostní hustotní profily ze souřadnic daných atomů s ohledem na jejich hmotnost (výsledek je kombinací dvou profilů, nikoli profilem těžiště skupiny), a

proto byly hmotnostní profily molekul přepočítány pomocí molárních hmotností na číselné. Ty byly porovnány s číselnými hustotními profily funkčních skupin v $[\text{nm}^{-3}]$, přičemž součet jednotlivých hustotních profilů samostatných atomů je shodný jako hustotní profil skupiny tvořené z těchto atomů.

Radiální distribuční funkce jsou uvedeny pro interagující atomy kyslíků funkčních skupin daných molekul vůči atomům SU obou povrchů. Profily PMF byly počítány pro těžiště funkčních skupin molekul vzhledem k těžišti atomů levého povrchu SU1.

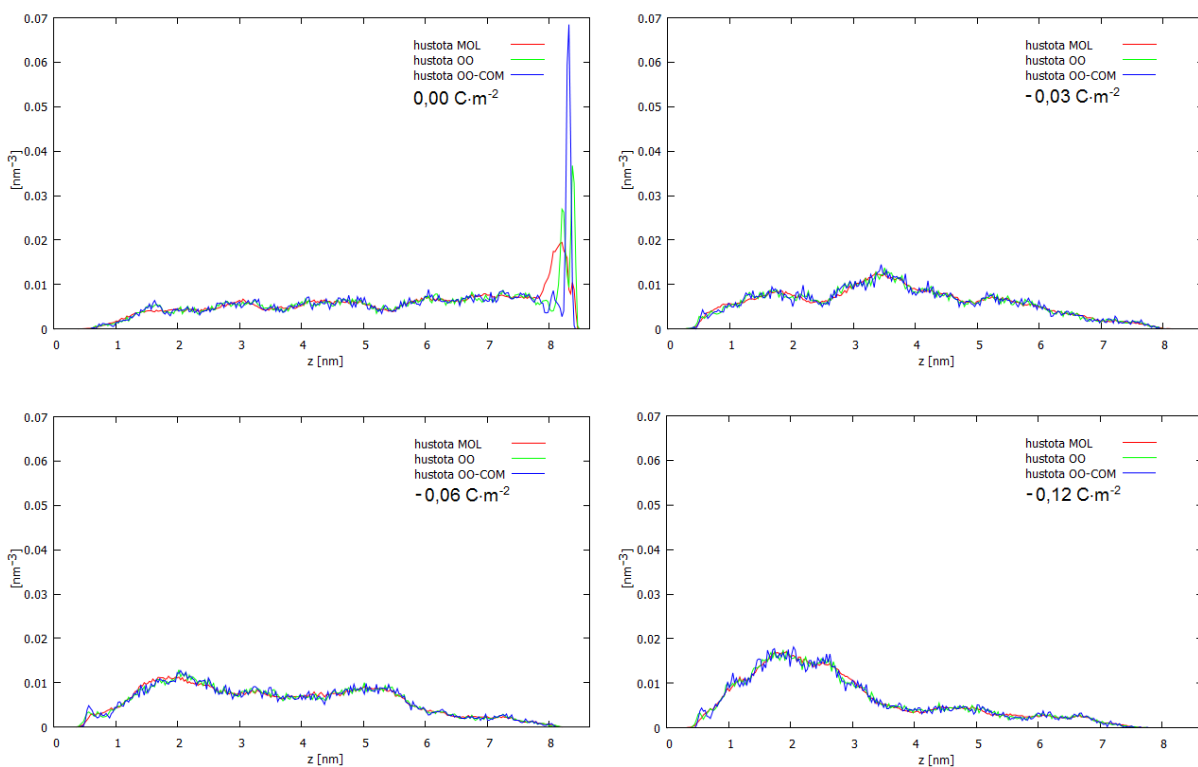
Atomy jsou označeny dle Obr. 6, pro funkční skupiny molekul je použito složené označení vyplývající z názvů atomů, z nichž se skupiny skládají – skupina „OO“ benzoátu a o-salicylátu se skládá z atomů O1 a O2, skupina pojmenovaná „OH“ je složena z atomů O3 a H1 v případě o-salicylátu, resp. O1 a H6 v případě molekuly fenolu. Samotné označení „O“ v sobě skrývá jediný atom kyslíku molekuly fenolátu. „MOL“ zastupuje skupinu zahrnující všechny atomy dané molekuly. Skupina s názvem „PHE“ představuje molekulu fenolu a „PH1“ označuje molekulu fenolátu v simulacích s oběma typy molekul.

Všechny systémy obsahovaly dva povrchy, vždy o stejné hustotě povrchového náboje, která také dala základ označení jednotlivým variantám povrchů v grafech.

4.1 Interakce benzoátu s křemenem

Jak je uvedeno v Tab. 5, molekula benzoátu byla simulována v kombinaci se všemi variantami povrchů, vzhledem ke své nízké rozpustnosti však pouze v maximálním počtu dvou molekul.

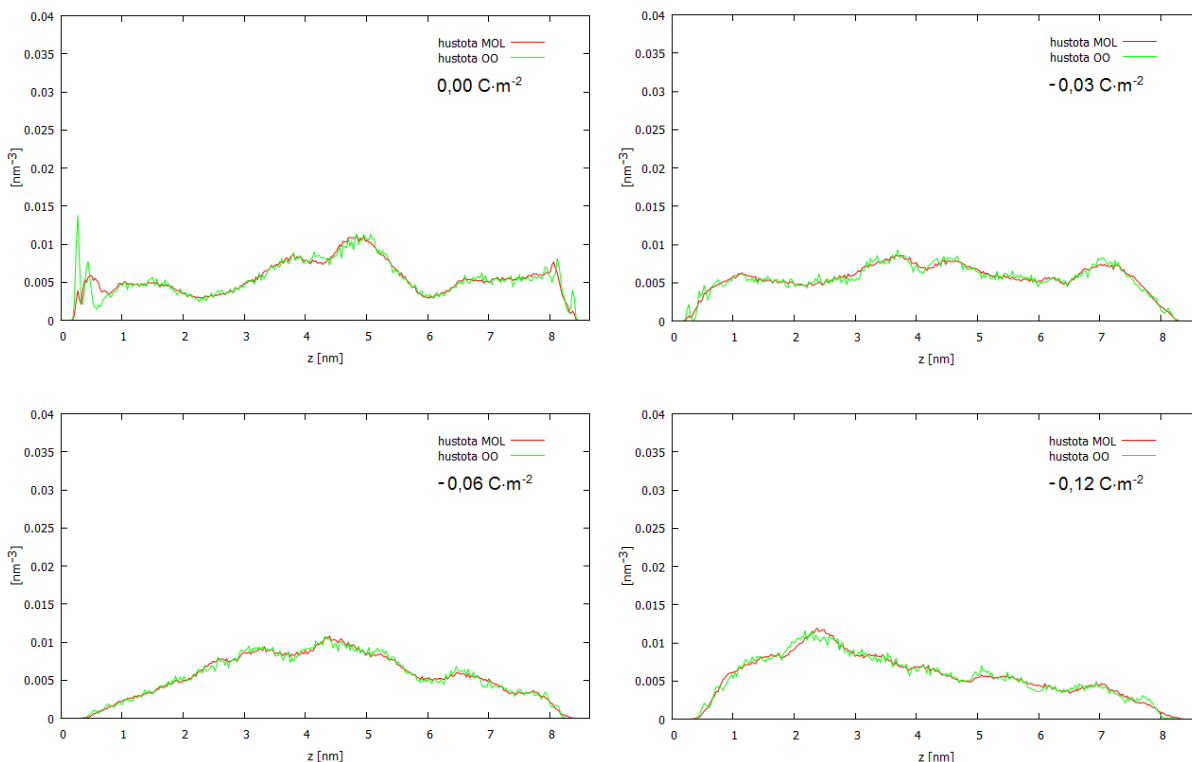
Chování všech prezentovaných molekul bylo studováno mimo jiné prostřednictvím hustotních profilů. Ty udávají, jak často se molekula, resp. její funkční skupina, vyskytovala v určité výšce mezi oběma povrchy. Obr. 8 představuje hustotní profily ze systémů obsahující jednu molekulu benzoátu.



Obr. 8: Srovnání hustotních profilů molekuly benzoátu, resp. funkční skupiny OO benzoátu a jejího těžiště OO-COM, pro různě nabitě povrchy.

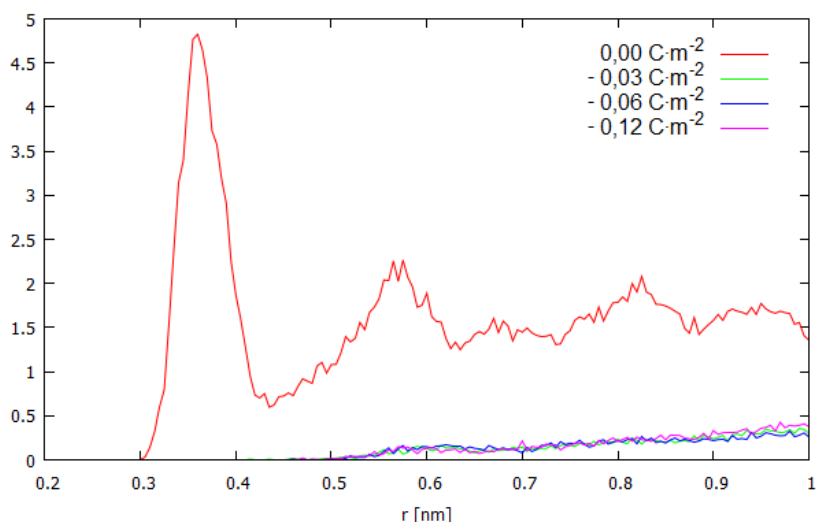
Za účelem možnosti porovnání hustotních profilů ze simulací s jednou organickou molekulou s profily ze simulací většího počtu molekul jsou hustotní profily vyděleny příslušným počtem molekul, v tomto případě dvěma.

Obr. 9 znázorňuje hustotní profily pocházející ze systémů obsahující dvě molekuly benzoátu.



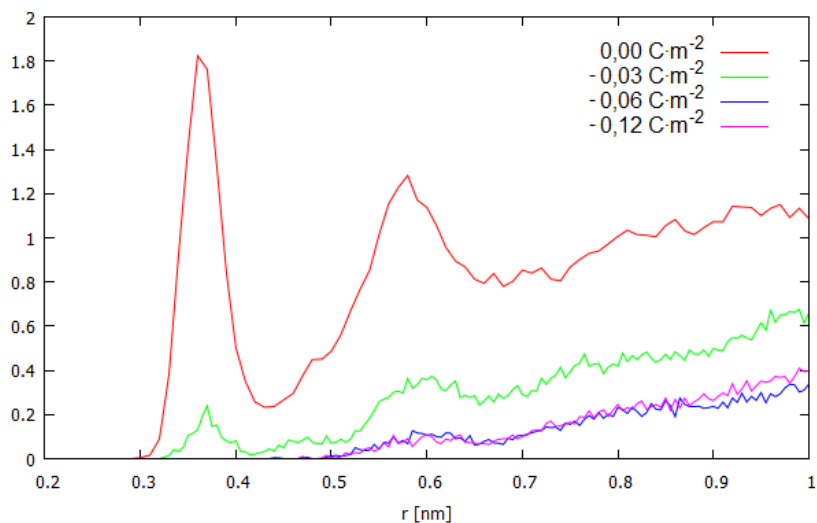
Obr. 9: Srovnání hustotních profilů 2 molekul benzoátu a jejich funkčních skupin OO pro různě nabitě povrchy.

Dalším nástrojem pro studium interakcí molekul s povrchy je analýza radiálních distribučních funkcí (RDF). Ta udává, s jakou pravděpodobností se dvě částice nacházejí ve vzájemné vzdálenosti r . K výpočtu vzájemné vzdálenosti se využívá utilita `g_rdf`. Na Obr. 10 jsou RDF pro systémy obsahující jednu molekulu benzoátu, počítané pro funkční skupinu OO a atomy křemíku SU.



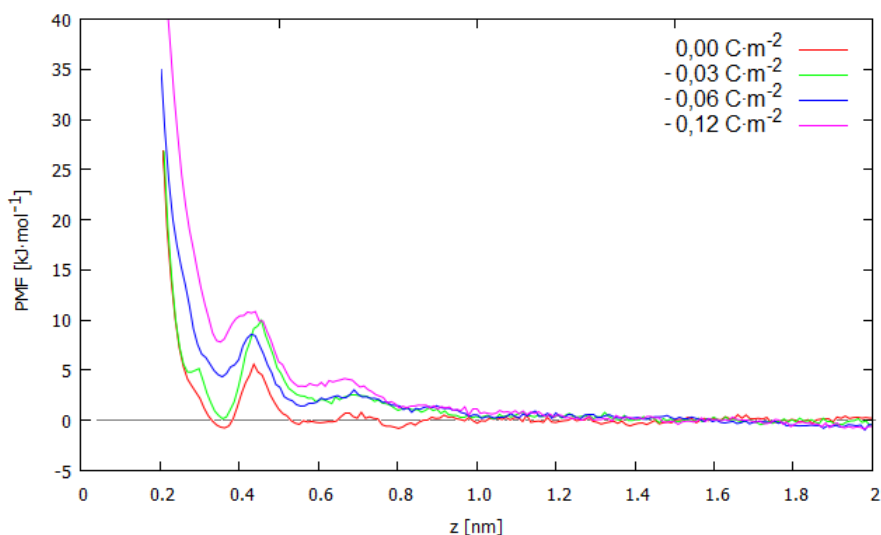
Obr. 10: RDF funkční skupiny OO molekuly benzoátu vůči atomům SU pro povrchy s různou hustotou povrchového náboje.

Následující obrázek znázorňuje RDF funkčních skupin OO pro systémy obsahující dvě molekuly benzoátu v kombinaci s různě nabitými povrchy.



Obr. 11: RDF funkčních skupin OO dvou molekul benzoátu s atomy SU různě nabitých povrchů.

Obr. 12 zobrazuje potenciály středních sil funkční skupiny benzoátu OO vzhledem k atomům SU1 různě nabitých povrchů, jejichž výpočet je popsán v kapitole 3.5.4. Křivky byly vertikálně posunuty tak, aby zobrazovaly $\Delta A(z) = A(z) - A_{bulk}$.



Obr. 12: PMF funkční skupiny OO benzoátu pro křemen s různou hustotou povrchového náboje.

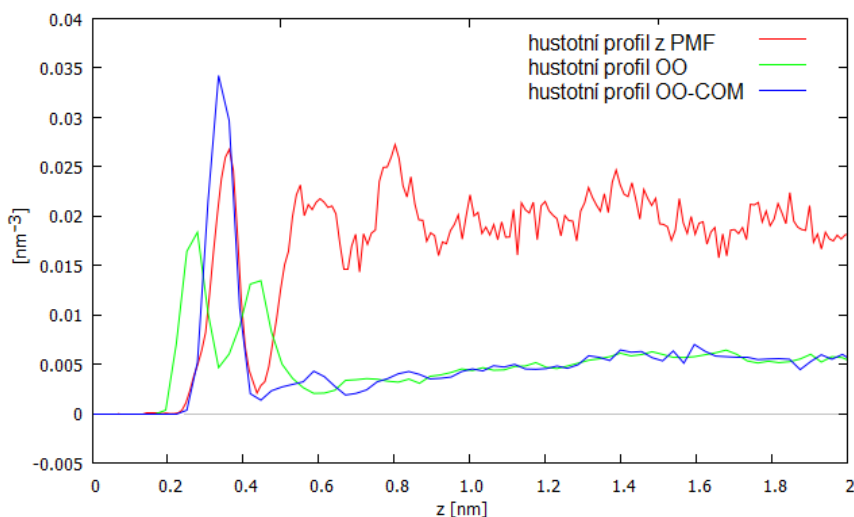
Následující tabulka uvádí hodnoty lokálních minim a maxim pro potenciály středních sil vztahující se k Obr. 12. Výška bariéry určuje, jak energeticky náročné je pro molekulu dostat

se do blízkosti povrchu, naopak hloubka minima určuje, jak výhodná je poloha molekuly v blízkosti povrchu oproti pozici v bulku.

Tab. 6: Hodnoty minimálních energií (A_{\min}) a výška bariér (A_{\max}) pro PMF benzoátu v kombinaci s různě nabitými povrchy.

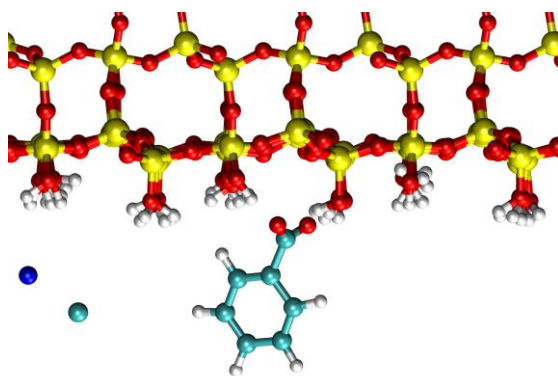
Povrchový náboj [$C \cdot m^{-2}$]	z_{\min} [nm]	A_{\min} [$kJ \cdot mol^{-1}$]	z_{\max} [nm]	A_{\max} [$kJ \cdot mol^{-1}$]
0,00	0,36	-0,74	0,44	5,61
-0,03	0,36	0,19	0,46	10,00
-0,06	0,36	4,42	0,43	8,65
-0,12	0,35	7,92	0,44	10,96

Z profilů PMF lze díky skutečnosti, že $\Delta A = -RT \ln \rho / \rho_{bulk}$, zpětně získat hustotní profil $\rho(z) = \rho \exp(-\Delta A(z)/RT)$ funkční skupiny OO vzhledem k atomům SU1. Ten byl porovnán se zesymetrizovaným hustotním profilem funkční skupiny OO získaným z dlouhé simulace jedné molekuly benzoátu u neutrálního povrchu. Symetrizace profilu byla provedena z důvodu zprůměrování hodnot hustoty u obou ekvivalentních neutrálních povrchů pomocí programu `g_sym`, jehož použití popisují v bakalářské práci.^[76] Hustotní rozložení těžiště funkční skupiny, které je rovněž zesymetrizováno, bylo získáno díky programu vedoucího práce, který počítá časový průběh z-ové souřadnice těžiště dvou zadaných atomů stejného typu. Z tohoto časového vývoje je pomocí utility `g_density` vypočítán hustotní profil těžiště funkční skupiny OO napříč boxem.



Obr. 13: Hustotní profil funkční skupiny OO benzoátu u neutrálního povrchu vypočítaný z PMF a vynásobený faktorem 0,02 v porovnání se zesymetrizovaným hustotním profilem téže funkční skupiny z dlouhé simulace a zesymetrizovaným profilem těžiště skupiny OO (OO-COM).

Z grafů RDF (Obr. 10 a Obr. 11) a hustotních profilů (Obr. 8 a Obr. 9) vyplývá, že molekula benzoátu interagovala především s neutrálním povrchem, a to svou funkční OO, resp. COO⁻ skupinou. Z časového vývoje vzdálenosti molekuly od povrchu, který není uveden, je rovněž patrné, že oproti nabitým povrchům strávila molekula benzoátu mnohem více času u povrchu neutrálního. Stejně jako v případě výsledků z bakalářské práce^[76] docházelo v případě kombinací benzoátu s nabitými povrchy k interakcím v mnohem menší míře než s povrchem neutrálním. Tyto výsledky potvrzuje také profil PMF (Obr. 12) a hodnoty v Tab. 6, ze kterých je zřejmé, že k nejpříznivější interakci dochází právě v případě kombinace s neutrálním křemenným povrchem – typická adsorpční konfigurace je zobrazena na Obr. 14.

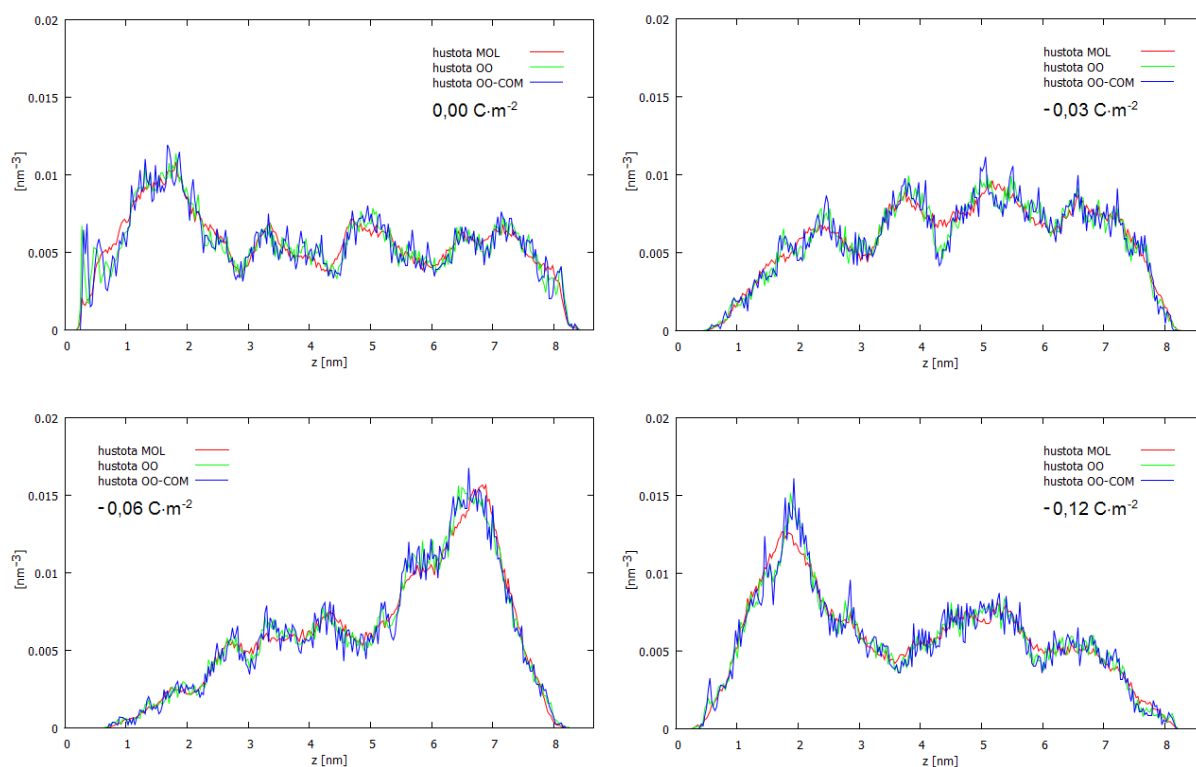


Obr. 14: Molekula benzoátu během interakčního okamžiku s neutrálním křemenným povrchem. Zobrazeny jsou též přítomné ionty sodíku (tmavě modrý) a chlóru (světle modrý).

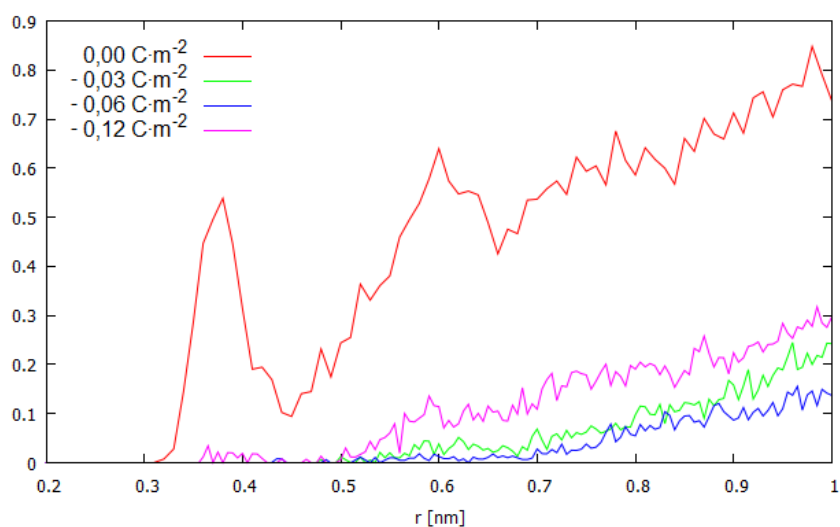
4.2. Interakce o-salicylátu s křemenem

Podobně jako v předchozím případě byla pro jednu deprotonovanou kyselinu salicylovou, o-salicylát, provedena analýza hustotních profilů, radiálních distribučních funkcí i PMF.

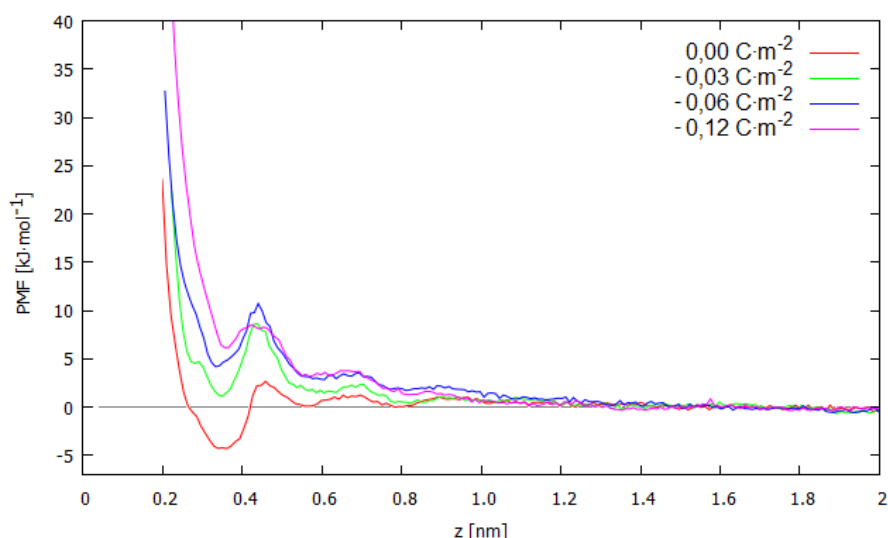
Obr. 15 představuje hustotní profily ze systémů obsahující jednu molekulu o-salicylátu.



Obr. 15: Srovnání hustotních profilů molekuly o-salicylátu, její funkční skupiny OO a jejího těžiště OO-COM pro různě nabitě povrchy.



Obr. 16: RDF funkční skupiny OO o-salicylátu vůči atomům SU pro různě nabitě povrchy.



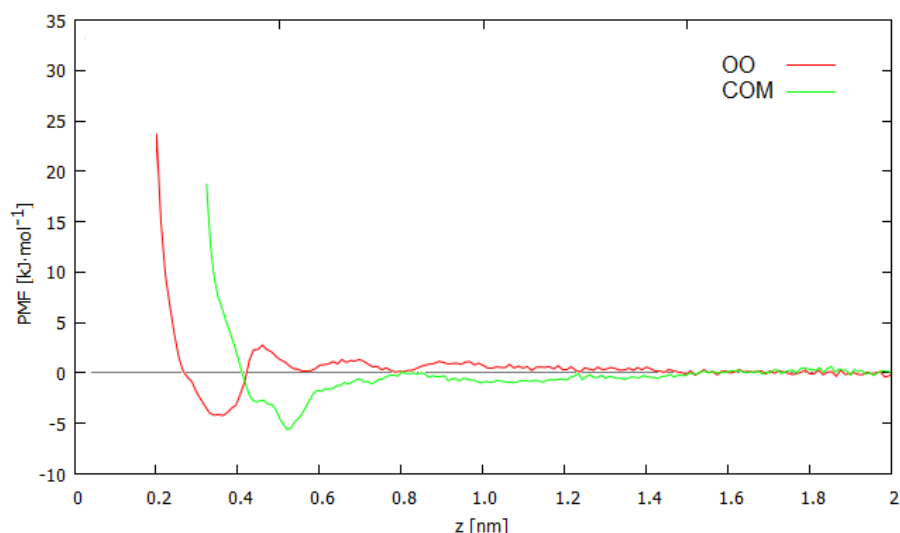
Obr. 17: PMF funkční skupiny OO o-salicylátu vůči atomům SU1 pro křemen s různou hustotou povrchového náboje.

Podobně jako v případě molekuly benzoátu uvádí Tab. 7 hodnoty lokálních minim a maxim pro potenciály středních sil o-salicylátu vztahující se k Obr. 17.

Tab. 7: Hodnoty minimálních energií (A_{\min}) a výška bariér (A_{\max}) pro PMF o-salicylátu v kombinaci s různě nabitými povrchy

Povrchový náboj [$\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$]	z_{\min} [nm]	A_{\min} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	z_{\max} [nm]	A_{\max} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]
0,00	0,36	-4,34	0,46	2,63
-0,03	0,35	1,09	0,44	8,61
-0,06	0,33	4,21	0,44	10,75
-0,12	0,36	6,22	0,42	8,58

Pro interakci funkční skupiny molekuly o-salicylátu s neutrálním povrchem, která je dle Obr. 17 výrazně výhodnější oproti kombinacím s nabitými povrchy, byla provedena analýza potenciálu střední síly i pro těžiště celé molekuly. Porovnání PMF funkční skupiny a těžiště jsou zobrazena na Obr. 18, příslušné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 8. Hloubky minima obou křivek jsou srovnatelné, což potvrzuje hlavní úlohu funkční skupiny během interakce s povrchem. Vzdálenost těchto minim (0,26 nm) přibližně odpovídá vzdálenosti funkční skupiny od těžiště molekuly (0,237 nm), což i vzhledem k hustotním profilům indikuje natočení molekuly funkční skupinou směrem k povrchu.

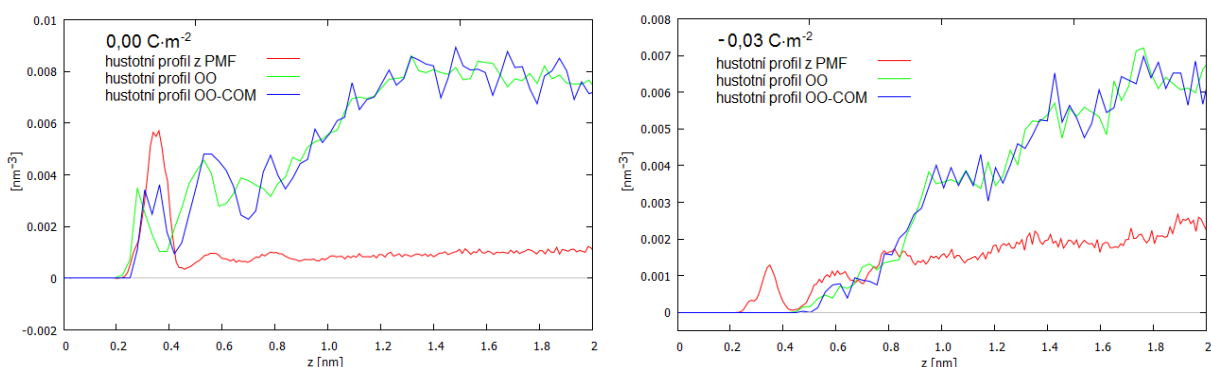


Obr. 18: Porovnání PMF funkční skupiny OO o-salicylátu a těžiště molekuly COM vůči atomům SU1 pro neutrální křemenný povrch.

Tab. 8: Srovnání hodnot minimálních energií (A_{\min}) a vzdáleností minim (z_{\min}) pro PMF funkční skupiny OO a těžiště molekuly COM o-salicylátu v kombinaci s neutrálním povrchem.

Typ PMF	z_{\min} [nm]	A_{\min} [kJ·mol ⁻¹]
OO	0,36	-4,34
COM	0,52	-5,73

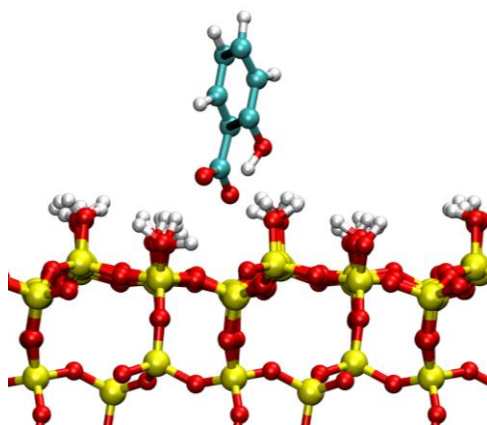
Podobně jako v případě molekuly benzoátu bylo pro o-salicylát provedeno srovnání hustotních profilů ze simulací s hustotním profilem vypočítaným z PMF, tentokrát pro výrazně interagující neutrální povrch (Obr. 17) s povrchem o nábojové hustotě $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 19: Hustotní profil funkční skupiny OO o-salicylátu u neutrálního povrchu vynásobený faktorem 0,001 a hustotní profil povrchu o nábojové hustotě $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ vynásobený faktorem 0,002 vypočítaný z PMF v porovnání se zesymetrizovanými profily téže funkční skupiny z dlouhých simulací a zesymetrizovaným profilem těžiště OO (OO-COM).

Z hustotních profilů (Obr. 15) je zřejmé, že záporně nabitá molekula o-salicylátu interagovala se všemi variantami nabitých povrchů pouze v nepatrné míře. V souladu s výsledky z bakalářské práce^[76] interagoval o-salicylát dle uvedených grafů RDF (Obr. 16) i hustotních profilů (Obr. 15) nejvíce s neutrálním povrchem, a to prostřednictvím své deprotonované karboxylové skupiny COO^- , která je také hlavní funkční skupinou podílející se na vazbách s neutrálním povrchem. Průběhy PMF (na Obr. 17) a hodnoty v Tab. 7 vypovídají rovněž o nejpříznivější interakci s neutrálním povrchem.

Obr. 20 znázorňuje molekulu o-salicylátu u neutrálního povrchu během adsorpce.

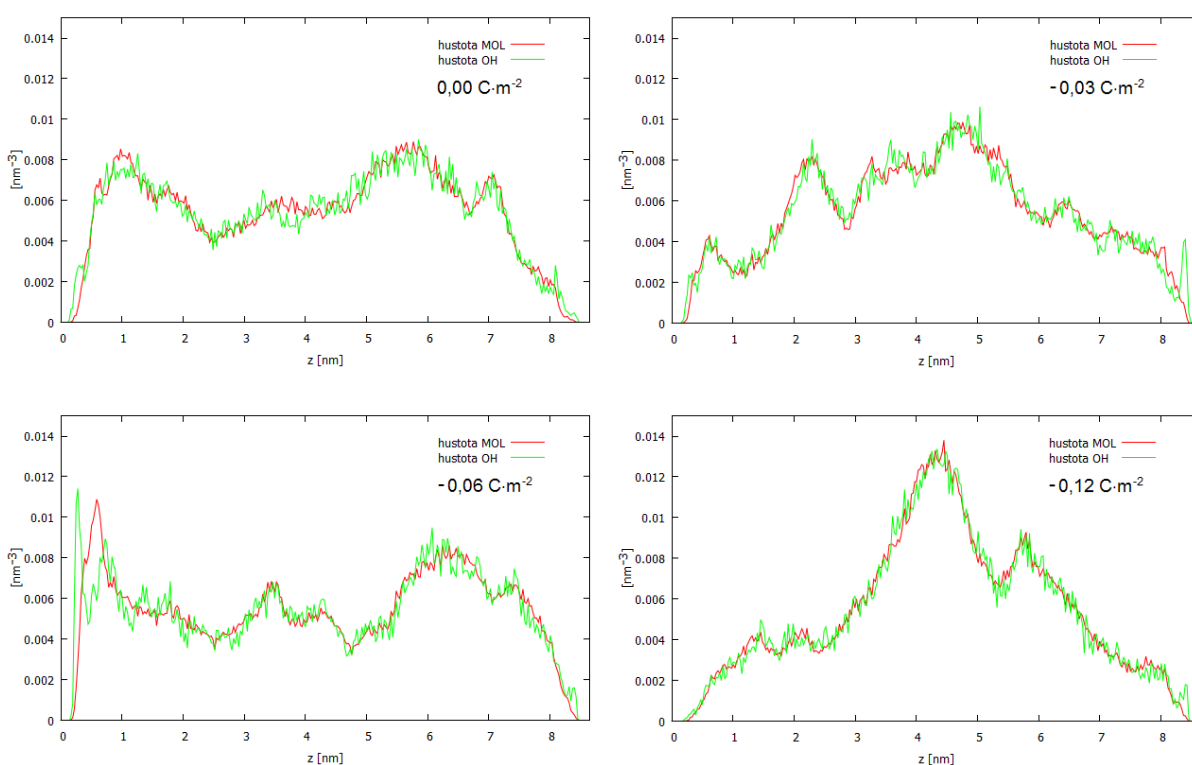


Obr. 20: O-salicylát během interakčního okamžiku s neutrálním křemenným povrchem.

4.3 Interakce fenolu s křemenem

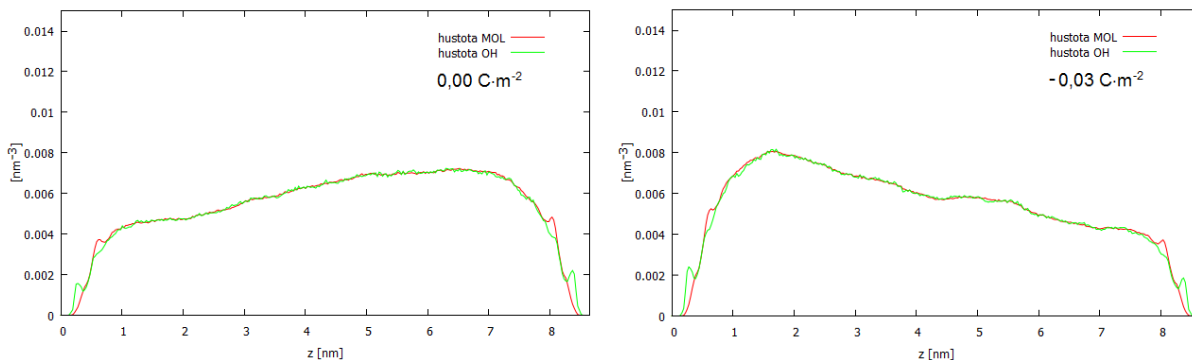
Díky své značné rozpustnosti mohl být fenol simulován i ve větším počtu molekul v rámci jednoho simulačního boxu, a to jak ve své neutrální, tak deprotonované formě – fenolátu. Z těchto simulací pocházejí hustotní profily znázorněné na Obr. 22 a radiální distribuční funkce na Obr. 24. Výhodou simulací s větším počtem molekul oproti simulacím jedné organické molekuly je, že poskytují statisticky přesnější a směrodatnější data.

Obr. 21 prezentuje hustotní profily ze systémů obsahující jednu molekulu fenolu.

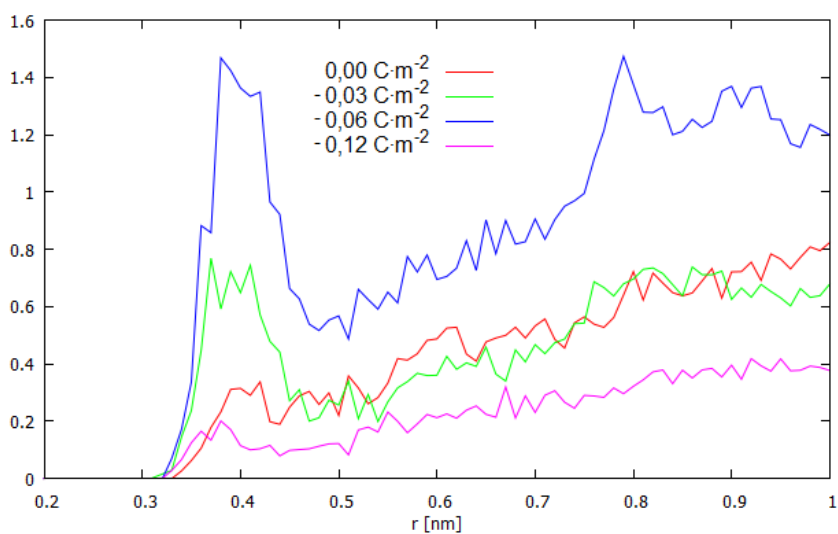


Obr. 21: Srovnání hustotních profilů molekuly fenolu a její funkční skupiny OH u různých nabitých povrchů.

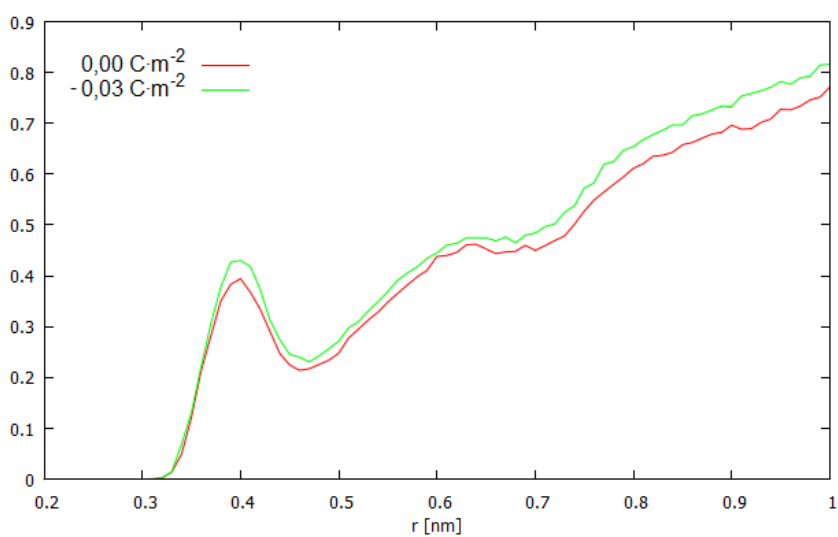
S ohledem na výpočty pH a procentuální zastoupení jednotlivých disociačních forem molekul byly simulovány systémy s 82 molekulami fenolu v kombinaci s povrchy o nábojové hustotě $0,00 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a dále smíšené systémy s 64 molekulami fenolu a 16 molekulami s povrchem o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, resp. s 31 molekulami fenolu a 50 molekulami fenolátu s povrchem o nábojové hustotě $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ (viz Tab. 5). Výsledky simulací těchto smíšených systémů uvádím zvlášť v kapitole 4.5.



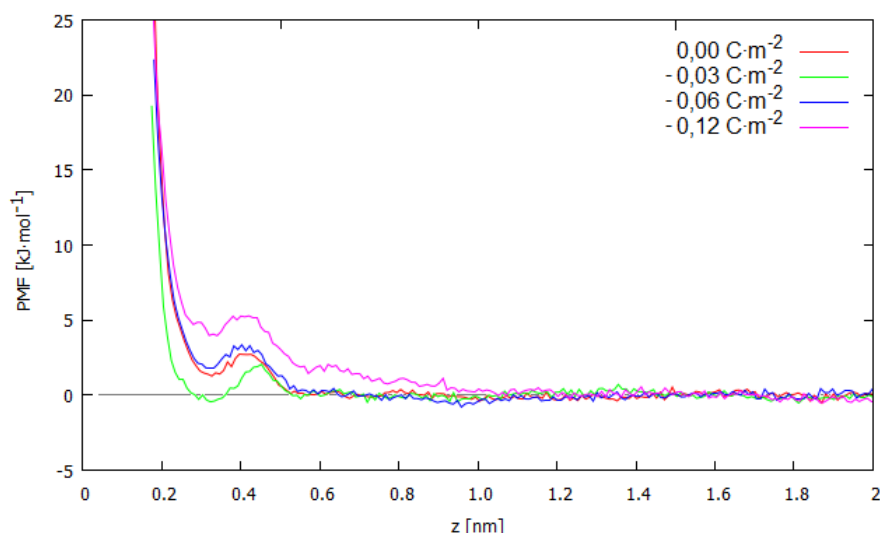
Obr. 22: Srovnání hustotních profilů 82 molekul fenolu a jejich funkčních skupin OH pro povrchy o povrchové hustotě náboje $0,00 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 23: RDF atomu O molekuly fenolu vůči atomům SU pro různě nabitě povrchy.



Obr. 24: RDF atomů O 82 molekul fenolu vůči atomům SU pro povrchy o povrchové hustotě náboje $0,00$ a $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

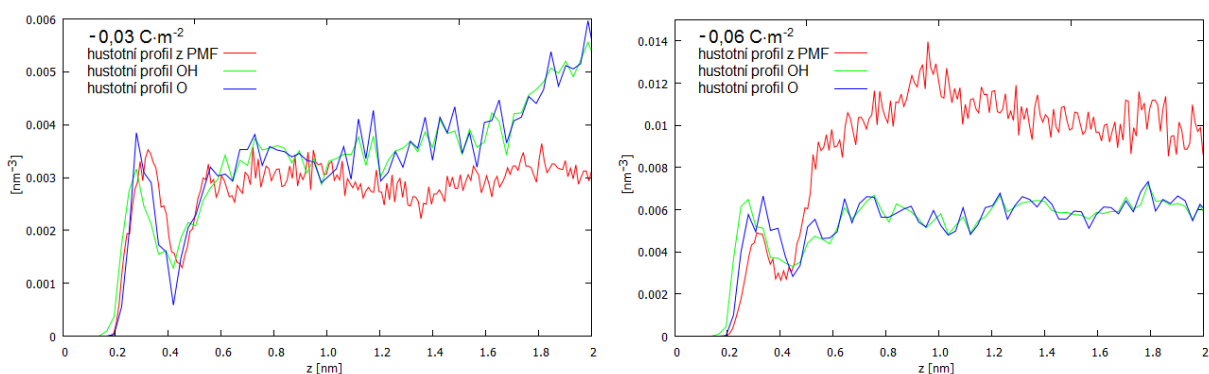


Obr. 25: PMF funkční skupiny OH fenolu pro křemen s různou hustotou povrchového náboje.

Tab. 9: Hodnoty minimálních energií (A_{\min}) a výška bariér (A_{\max}) pro PMF fenolu v kombinaci s různě nabitými povrchy.

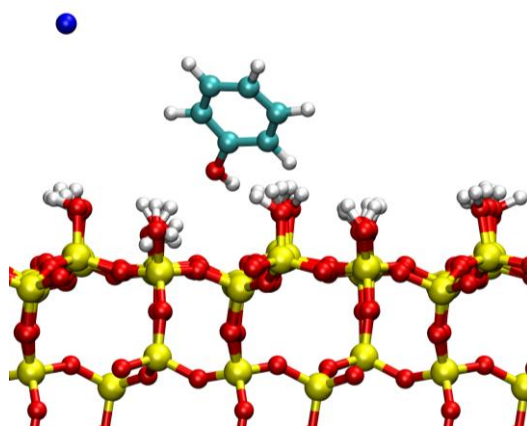
Povrchový náboj [$\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$]	z_{\min} [nm]	A_{\min} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	z_{\max} [nm]	A_{\max} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]
0,00	0,33	1,25	0,40	2,63
-0,03	0,32	-0,40	0,45	2,09
-0,06	0,31	1,78	0,40	3,32
-0,12	0,34	3,99	0,42	5,31

Pro molekulu fenolu bylo provedeno srovnání zesymetrizovaných hustotních profilů funkční skupiny OH a atomu O (který vzhledem ke své hmotnosti aproximuje polohu těžiště OH skupiny) z dlouhých simulací s hustotními profily vypočítanými z PMF pro povrchy o nábojové hustotě $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 26: Hustotní profily funkční skupiny OH molekuly fenolu u povrchu o nábojové hustotě $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ vypočítané z PMF a vynásobené faktorem 0,003 v porovnání se zesymetrizovanými profily skupiny OH a atomu O z dlouhých simulací.

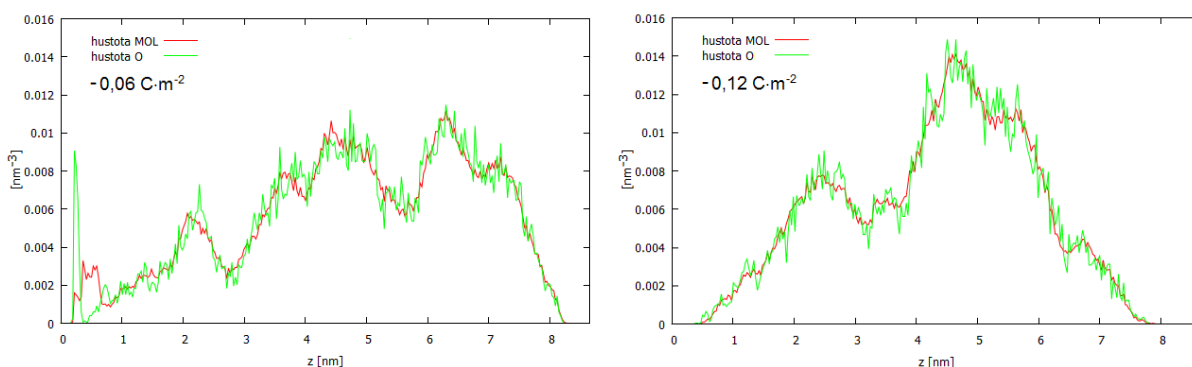
Hustotní profily pro neutrální molekulu fenolu (Obr. 21) nevypovídají navzdory logickému předpokladu o vzrůstající tendenci fenolu adsorbovat na záporně nabitě povrchy. Fenol nejvíce interagoval svou funkční skupinou OH (je dobře vidět např. z Obr. 21) s povrchem o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, o něco méně pak s povrchem o povrchové hustotě náboje $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$. S těmito výsledky korespondují i profily radiálních distribučních funkcí uvedené na Obr. 22. Potenciály střední síly (Obr. 25) však vypovídají o výrazném rozdílu v adsorpci právě mezi povrchy o povrchových hustotách $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, kdy v případě povrchu o nábojové hustotě $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ (zelená křivka) je interakce z energetického hlediska daleko výhodnější oproti profilu odpovídající povrchu o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ (modrá křivka).



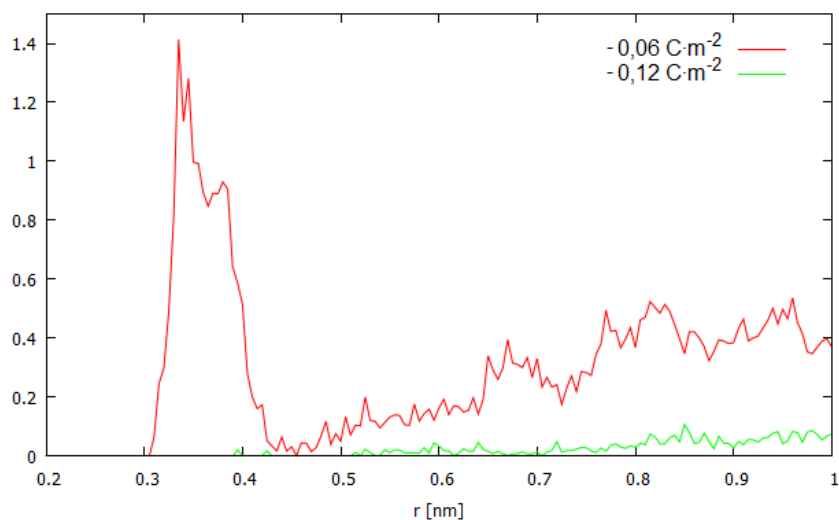
Obr. 27: Molekula fenolu zachycená během adsorpčního okamžiku u povrchu s povrchovou hustotou náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

4.4 Interakce fenolátu s křemenem

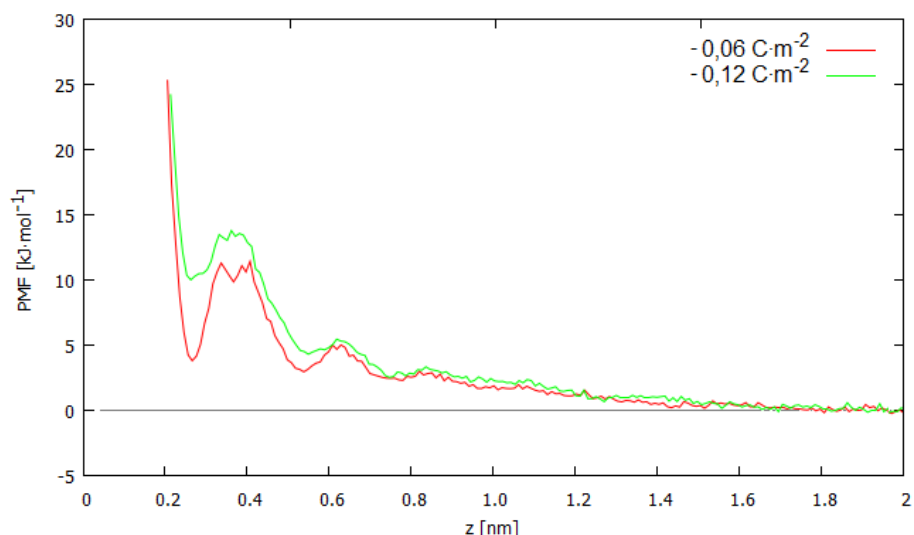
Oproti neutrálnímu fenolu, jehož pK_a dovoluje s ohledem na zachování reálných podmínek kombinaci se všemi povrchy používanými v této práci, byl fenolát simulován jen v kombinaci s povrchy o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, jak ukazuje Tab. 5.



Obr. 28: Srovnání hustotních profilů molekuly fenolátu a atomu O pro povrchy o povrchové hustotě náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 29: RDF atomu O molekuly fenolátu s atomy SU pro povrchy o povrchové hustotě náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

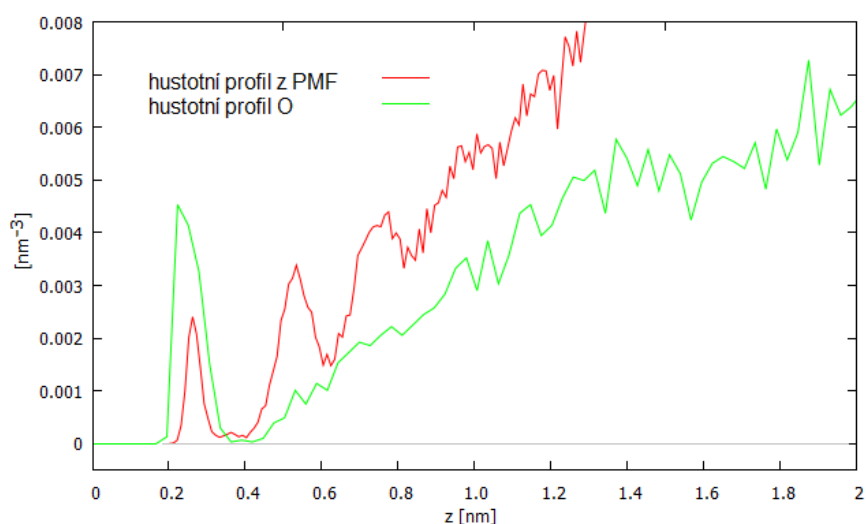


Obr. 30: PMF atomu O fenolátu pro křemen s hustotou náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

Tab. 10: Hodnoty minimálních energií (A_{\min}) a výška bariér (A_{\min}) pro PMF fenolátu v kombinaci s povrchy o hustotě náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

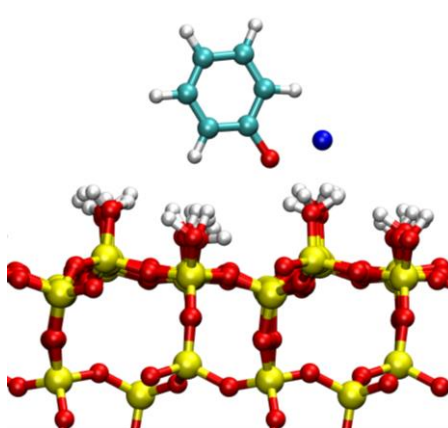
Povrchový náboj [$\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$]	z_{\min} [nm]	A_{\min} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	z_{\max} [nm]	A_{\max} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]
-0,06	0,26	3,56	0,40	11,18
-0,12	0,26	9,64	0,36	13,41

Pro molekulu fenolátu bylo provedeno srovnání zesymetrizovaného hustotního profilu atomu O z dlouhé simulace s hustotním profilem vypočítaným z PMF pro povrch o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 31: Hustotní profil atomu O fenolátu u povrchu o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ z PMF vynásobený faktorem 0,02 v porovnání se zesymetrizovaným profilem atomu O z dlouhé simulace.

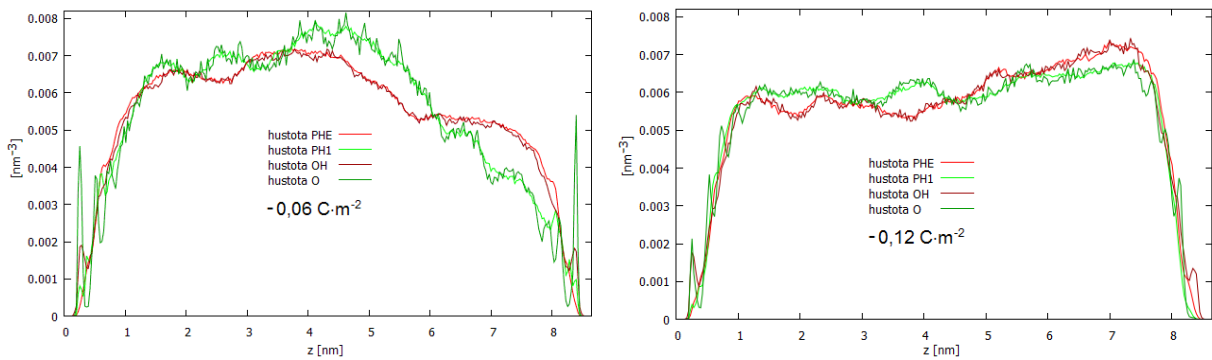
Z grafů hustotních profilů (Obr. 28) vyplývá, že oproti povrchu o povrchové hustotě náboje $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ strávila molekula fenolátu více času u povrchu o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$. Rovněž dle uvedených RDF (Obr. 29) byl fenolát více přitahován k méně nabitějšímu z obou povrchů. Z Obr. 21 a Obr. 28 je patrné, že fenol interagoval s povrchy o nábojových hustotách $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ silněji než jeho deprotonovaná forma fenolát. Profily PMF na Obr. 30 jsou v souladu s těmito údaji a ukazují rovněž na výhodnější interakci fenolátu s povrchem o náboji $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



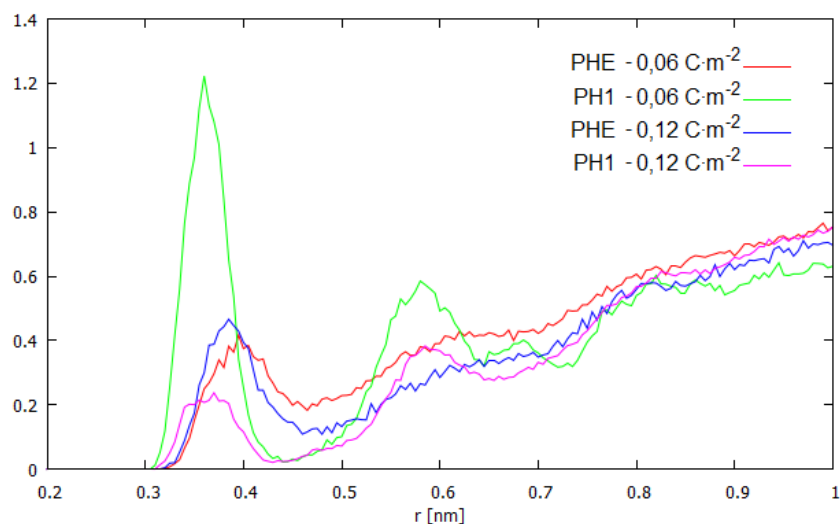
Obr. 32: Molekula fenolátu zachycená během interakce s povrchem o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

4.5 Interakce fenolu a fenolátu s křemenem

V souladu s vypočítanými koncentracemi a hodnotami pH byly simulovány dva systémy obsahující větší počet různých molekul. Konkrétně systém obsahující dva povrchy o nábojové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ se 64 molekulami fenolu a 16 molekulami fenolátu a druhý systém s povrchy o hustotě náboje $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ obsahující 31 molekul fenolu a 50 molekul fenolátu. Z důvodu možnosti porovnání hustotních profilů s těmi, které pocházejí ze systémů s jednou organickou molekulou, byly podobně jako v předchozích případech přepočteny číselné hustoty v jednotkách $[\text{nm}^{-3}]$ na hustoty jedné částice vydělením příslušných hodnot odpovídajícím počtem molekul.



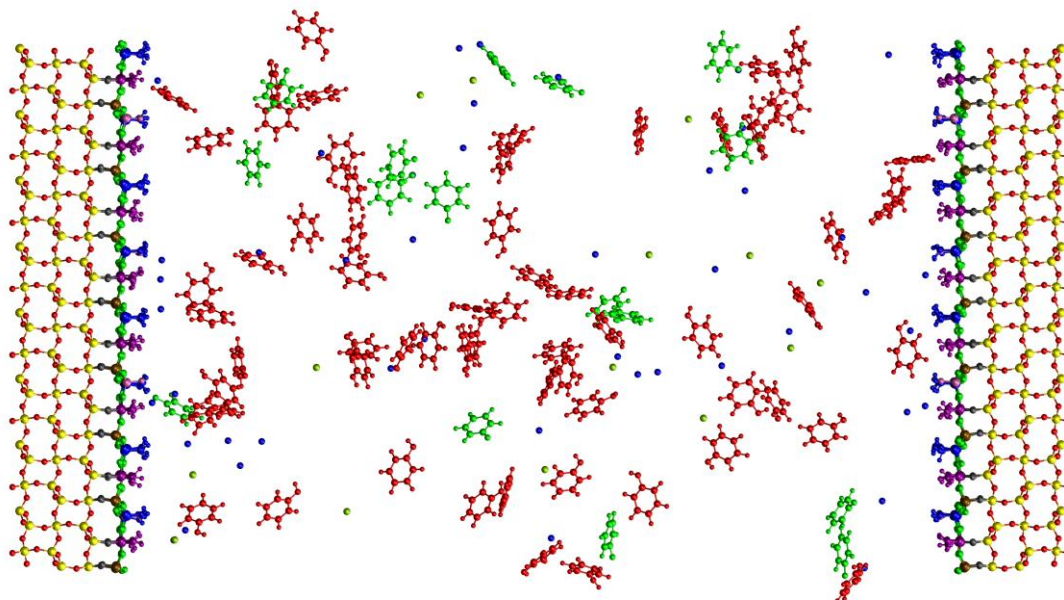
Obr. 33: Srovnání hustotních profilů fenolu s fenolátem a jejich funkčních skupin OH, resp. O, pro povrchy o povrchové hustotě náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.



Obr. 34: RDF atomu O molekuly fenolu (PHE) a atomu O molekuly fenolátu (PH1) vůči atomům SU pro povrchy o povrchové hustotě náboje $-0,06$ a $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

Dle Obr. 33 a Obr. 34 interagoval s povrchem o povrchové hustotě náboje $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ více fenolát, zatímco hustotní profily pro interakce fenolu a fenolátu s povrchem o povrchové

hustotě náboje $-0,12 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ jsou srovnatelné. V souladu s Obr. 28, který znázorňuje hustotní profil fenolátu ze systému obsahujícím jednu organickou molekulu, interagoval i zde fenolát s povrchem o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ lépe než s nejvíce nabitým povrchem.



Obr. 35: Systém obsahující 64 molekul fenolu (červeně) a 16 molekul fenolátu (zeleně) v kombinaci s povrchy o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$.

5. Závěr

Náplní mé diplomové práce byla příprava parametrických modelů vybraných organických molekul a zkoumání jejich vzájemných interakcí a interakcí s ionty v homogenním prostředí. Hlavním úkolem pak bylo studium interakcí organických molekul s minerálními povrchy a zpracování výsledků z provedených simulací.

Stanovené cíle byly splněny s ohledem na aktuální možnosti a potřeby výzkumu. V průběhu vypracování nebyly pozorovány žádné významné vzájemné interakce mezi molekulami nebo interakce molekul s ionty. Všechny provedené simulace modelují interakce organických molekul pouze s křemenným povrchem. Pro účely mé práce i navazující studium interakcí stavebních bloků organické hmoty s minerálními povrchy byly připraveny parametrické modely molekul kyseliny benzoové, salicylové (ortho-, meta-, para-), oxalové (šřavelové), ftalové (ortho-, meta-, para-), p-toluové, fenolu a jejich konjugovaných bází. Všechny vytvořené topologie molekul se nacházejí na přiloženém CD.

Stěžejní částí diplomové práce jsou kapitoly 3. Metodika a 4. Výsledky, jejichž význam spočívá především v metodickém přínosu a přístupu k modelování systémů za reálných podmínek experimentu. Rovněž počítání PMF jak malých organických molekul, tak větších bloků biomolekul, může v budoucnu přinést zajímavé výsledky na poli studia interakcí těchto látek s minerálními povrchy.

Ve své diplomové práci se s ohledem na reálné podmínky z hlediska koncentrací a pH zabývám simulacemi a modelováním interakcí molekul benzoátu, o-salicylátu, fenolu a fenolátu s křemenným povrchem o povrchové hustotě náboje 0,00, -0,03, -0,06 a -0,12 C·m⁻², odpovídající zhruba hodnotám pH 4,5, 7,5, 9,5 a 11. Ve srovnání s předchozí prací byly provedeny také simulace většího počtu molekul v rámci jediného simulačního boxu. Oproti bakalářské práci je tato zaměřena více na analýzu výsledků prostřednictvím interakčních energií. Všechny simulace byly provedeny s novou konfigurací křemene (dva samostatné povrchy o stejném náboji) a modifikovaným silovým polem.

Výstupem diplomové práce je zhodnocení vlivu změny velikosti povrchového náboje, která souvisí se změnou pH, na interakce uvedených molekul. Z analýzy výsledků vyplývá, že adsorpce studovaných organických molekul je spíše slabá, povrchy se obecně chovají odpudivě pro většinu testovaných kombinací. Ve většině případů se jedná o stav, kdy záporně nabitý povrch odpuzuje záporně nabitou molekulu. Výjimku dle uvedených

hustotních profilů a grafů RDF tvoří kombinace fenolátu nesoucího záporný náboj s povrchem o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, kterou však nepotvrzuje průběh příslušného PMF, a kombinace neutrálního fenolu s povrchy $-0,03 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ a $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, kdy dle hustotních profilů i RDF u druhého jmenovaného povrchu došlo k výraznější interakci, kterou však ani zde příliš nepodporuje průběh PMF.

Na základě analýzy hustotních profilů transformovaných z PMF (počítány pro těžiště funkčních skupin, resp. pro atom O u fenolátu) lze konstatovat, že polohy peaků korelují s hustotními profily těžišť funkčních skupin (potažmo atomu O fenolátu) z dlouhých simulací. Z poměru hodnot transformovaných hustotních profilů v blízkosti povrchů a v bulku však nelze hovořit o souhlasném trendu adsorpce s hustotními profily dlouhých simulací. Profily počítané z PMF ukazují v mnoha případech menší pravděpodobnost výskytů molekul v bezprostředních vzdálenostech od povrchů ve srovnání s hustotními profily z dlouhých simulací, ale např. u kombinace o-salicylátu s neutrálním povrchem je situace opačná. Stejně jako v případě hustotních profilů i radiálních distribučních funkcí pocházejících z analýzy dlouhých simulací je však patrný negativní vliv záporně nabitého křemenného povrchu na tvorbu vazeb mezi molekulami a atomy povrchu.

Na rozdíl od výsledků z dlouhých simulací nejsou výpočty PMF tolik zatíženy statistickou chybou, délkou simulací a problémy se vzorkováním těžko dosažitelných stavů, kdy se molekuly nacházejí v oblasti bariér. Z kinetické teorie plyne, že kinetická translační energie molekul je rovna $U = \frac{3}{2}RT = 3,74 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, což je v případě kombinace fenolátu s povrchem o nábojové hustotě $-0,06 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, u kterého je dle výše uvedených PMF bariéra nejvyšší, zhruba polovina hodnoty energie odpovídající výšce bariéry. Přesto během dlouhé simulace došlo k výrazné adsorpci a byl získán hustotní profil s vyšším adsorpčním peakem, než ukazuje hustotní profil spočítaný z PMF. Rozdíly hodnot maximálních a bulkových energií vypovídají obecně o vzájemném odpudivém chování molekul a povrchů, nikoli však o bariérách, které by molekuly nemohly za určitých podmínek překonat. Bylo by jistě přínosné získané výsledky porovnat s PMF ze systémů, u kterých dochází k výrazně atraktivnímu chování molekul vůči povrchům.

Dle mého názoru podávají PMF obecnější výsledky a pohled na interakci molekul s povrchy než klasické MD simulace, které na druhou stranu poskytují přidavné užitečné informace o studovaných systémech a modelují přirozené chování molekul. Proto za ideální způsob studia interakcí (bio)molekul s povrchy považují spojení obou prezentovaných metod.

6. Seznam použité literatury

- [1] Zhang, Z. et al.: Ion Adsorption at the Rutile-Water Interface: Linking Molecular and Macroscopic Properties. *Langmuir* 20, 2004, 4954-4969.
- [2] Předota, M., Zhang, Z., Fenter, P., Wesolowski, D.J., Cummings, P.T.: Electric Double Layer at the Rutile (110) Surface. 2. Adsorption of Ions from Molecular Dynamics and X-ray Experiments. *J. Phys. Chem. B* 108, 2004, 12061–12072.
- [3] Kabeláč, M., Kroutil, O., Předota, M., Lankaš, F., Šíp, M.: Influence of a charged graphene surface on the orientation and conformation of covalently attached oligonucleotides: a molecular dynamics study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 14, 2012, 4217.
- [4] Skelton, A. A., Liang, T., Walsh, T. R.: Interplay of Sequence, Conformation, and Binding at the Peptide–Titania Interface as Mediated by Water. *ACS Applied Materials & Interfaces* 1, 2009, 1482–1491.
- [5] Wu, C., Skelton, A. A., Chen, M., Vlček, L., Cummings, P. T.: Modeling the Interaction between Integrin-Binding Peptide (RGD) and Rutile Surface: The Effect of Cation Mediation on Asp Adsorption, *Langmuir* 28, 2012, 2799-2811.
- [6] Wu, C., Skelton, A.A., Chen, M., Vlček, L., Cummings, P.T.: Modeling the interaction between integrinbinding peptide (RGD) and rutile surface: The effect of Na⁺ on peptide adsorption. *Journal of Physical Chemistry C* 115, 2011, 22375.
- [7] Kroutil, O., Chval, Z., Předota, M., Skelton, A.: Computer simulations of quartz (101)-water interface over a range of pH values, 2012. Článek v revizi.
- [8] Moira K. Ridley, Texas Tech University, nepublikovaná data.
- [9] Skelton, A. A., Fenter, P., Kubicki, J. D., Wesolowski, D. J., Cummings, P. T.: *The Journal of Physical Chemistry C* 2011, 115, 2076–2088.
- [10] Marrubini, G., Mendoza, B. E. C., Massolini, G.: Separation of purine and pyrimidine bases and nucleosides by hydrophilic interaction chromatography. *J Sep Sci* 33, 2010, 803–816.
- [11] Sanghvi, Y. S., Guo, Z., Pfundheller, H. M., Converso, A.: Improved Process for the Preparation of Nucleosidic Phosphoramidites Using a Safer and Cheaper Activator. *Org. Process Res. Dev.* 4, 2000, 175–181.
- [12] Li, X., Yi Kuang, Shi, J., Gao, Y., Lin, H.-C., Xu, B.: Multifunctional, Biocompatible Supramolecular Hydrogelators Consist Only of Nucleobase, Amino Acid, and Glycoside. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 2011, 17513–17518.

- [13] Brindley, G. W., Lailach, G. E., Thompson, T. D.: Absorption of pyrimidines, purines, and nucleosides by Li^- , Na^- , Mg^- , and Ca-montmorillonite /clay-organic studies XII/. *Clays and Clay Minerals* 16, 1968, 285–293.
- [14] Mignon, P., Ugliengo, P., Sodupe, M.: Theoretical Study of the Adsorption of RNA/DNA Bases on the External Surfaces of Na^+ -Montmorillonite. *J. Phys. Chem. C* 113, 2009, 13741–13749.
- [15] Feyer, V., Plekan, O., Šutara, F., Cháb, V., Matolín, V., Prince, K. C.: Guanine adsorption on the Cu(110) surface. *Surface Science* 605, 2011, 361–365.
- [16] Plekan, O., Feyer, V., Ptasińska, S., Tsud, N., Cháb, V., Matolín, V., Prince, K. C.: Photoemission Study of Thymidine Adsorbed on Au(111) and Cu(110). *The Journal of Physical Chemistry C* 100812144836018, 2010.
- [17] Pagliai, M., Caporali, S., Muniz-Miranda, M., Pratesi, G., Schettino, V.: SERS, XPS, and DFT Study of Adenine Adsorption on Silver and Gold Surfaces. *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 2012, 242–245.
- [18] Plekan, O., Feyer, V., Tsud, N., Vondráček, M., Cháb, V., Matolín, V., Prince, K. C.: Adsorption of 5-halouracils on Au(111). *Surface Science* 606, 2012, 435–443.
- [19] Yang, B., Wang, Y., Li, G., Cun, H., Ma, Y., Du, S., Xu, M., Song, Y., Gao, H.-J.: Influence of Deoxyribose Group on Self-Assembly of Thymidine on Au(111). *J. Phys. Chem. C* 113, 2009, 17590–17594.
- [20] Kundu, J., Neumann, O., Janesko, B.G., Zhang, D., Lal, S., Barhoumi, A., Scuseria, G.E., Halas, N.J.: Adenine- and Adenosine Monophosphate (AMP)-Gold Binding Interactions Studied by Surface-Enhanced Raman and Infrared Spectroscopies. *J. Phys. Chem. C* 113, 2009, 14390–14397.
- [21] Panigrahi, S., Bhattacharya, A., Banerjee, S., Bhattacharyya, D.: Interaction of Nucleobases with Wrinkled Graphene Surface: Dispersion Corrected DFT and AFM Studies. *J. Phys. Chem. C* 116, 2012, 4374–4379.
- [22] Varghese, N., Mogera, U., Govindaraj, A., Das, A., Maiti, P.K., Sood, A.K., Rao, C. N. R.: Binding of DNA Nucleobases and Nucleosides with Graphene. *ChemPhysChem* 10, 2009, 206–210.
- [23] Sowerby, S. J., Cohn, C. A., Heckl, W. M., Holm, N. G.: Differential Adsorption of Nucleic Acid Bases: Relevance to the Origin of Life. *PNAS* 98, 2001, 820–822.
- [24] Bogdan, D., Morari, C.: Electronic Properties of DNA Nucleosides Adsorbed on a Au(100) Surface. *J. Phys. Chem. C* 116, 2012, 7351–7359.

- [25] Umadevi, D., Sastry, G. N.: Quantum Mechanical Study of Physisorption of Nucleobases on Carbon Materials: Graphene versus Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. Lett.* 2, 2011, 1572–1576.
- [26] Rajarajeswari, M., Iyakutti, K., Kawazoe, Y.: Adsorption mechanism of single guanine and thymine on single-walled carbon nanotubes. *Journal of Molecular Modeling* 17, 2011, 2773–2780.
- [27] Piana, S., Bilic, A.: The Nature of the Adsorption of Nucleobases on the Gold [111] Surface. *J. Phys. Chem. B* 110, 2006, 23467–23471.
- [28] Maleki, A., Alavi, S., Najafi, B.: Molecular Dynamics Simulation Study of Adsorption and Patterning of DNA Bases on the Au(111) Surface. *J. Phys. Chem. C* 115, 2011, 22484–22494.
- [29] Rapino, S., Zerbetto, F.: Modeling the Stability and the Motion of DNA Nucleobases on the Gold Surface. *Langmuir* 21, 2005, 2512–2518.
- [30] Plekan, O., Feyer, V., Šutara, F., Skála, T., Švec, M., Cháb, V., Matolín, V., Prince, K. C.: The adsorption of adenine on mineral surfaces: Iron pyrite and silicon dioxide. *Surface Science* 601, 2007, 1973–1980.
- [31] Cleaves, H. J., Jonsson, C. M., Jonsson, C. L., Sverjensky, D. A., Hazen, R. M.: Adsorption of Nucleic Acid Components on Rutile (TiO₂) Surfaces. *Astrobiology* 10, 2010, 311–323.
- [32] Baú, J., Carneiro, C., de Souza Junior, I., de Souza, C., da Costa, A., di Mauro, E., Zaia, C., Coronas, J., Casado, C., de Santana, H., Zaia, D.: Adsorption of Adenine and Thymine on Zeolites: FT-IR and EPR Spectroscopy and X-Ray Diffractometry and SEM Studies. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 42, 2012, 19–29.
- [33] Carneiro, C. E. A., Berndt, G., de Souza Junior, I. G., de Souza, C. M. D., Paesano, A., Jr, da Costa, A. C. S., di Mauro, E., de Santana, H., Zaia, C. T. B. V., Zaia, D. A. M.: Adsorption of adenine, cytosine, thymine, and uracil on sulfide-modified montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and EPR spectroscopy and X-ray diffractometry studies. *Orig Life Evol Biosph* 41, 2011, 453–468.
- [34] Negrón-Mendoza, A., Ramos-Bernal, S., de Buen, I. G.: A thermoluminescence Study of Bio-Organic Compounds Adsorbed in a Clay Mineral. *Nuclear Science, IEEE Transactions on* 57, 2010, 1223–1227.
- [35] Monti, S., Walsh, T. R.: Molecular Dynamics Simulations of the Adsorption and Dynamical Behavior of Single DNA Components on TiO₂. *J. Phys. Chem. C* 115, 2011, 24238–24246.

- [36] Stevenson, F. J., 1994. *Humus Chemistry Genesis, Composition, Reactions*, 2nd ed. John Wiley & Sons: New York. Tipping, E., 2002. *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge University Press, Cambridge.
- [37] Altmann, R. S., Buffle, J.: The use of differential equilibrium functions for interpretation of metal binding in complex ligand systems: Its relation to site occupation and site affinity distributions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 52, 1988, 1505–1519.
- [38] Tipping, E.: *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge University Press, Cambridge, 2002.
- [39] Pacheco, M. L., Havel, J.: Capillary zone electrophoretic study of uranium(VI) complexation with humic acids. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 248, 2001, 565-570.
- [40] Ghabbour E. A., Davies G. (eds.): *Humic substances: structures, models and functions*. Based on proceedings, RSC, Cambridge, 2001, p. 401.
- [41] Havel J., Fetsch, D., Peña-Méndez, E.M., Lubal, P., Havliš, J., 2001. Recent developments in humic acid characterization. Acidobasic and complexation properties, separation and reliable fingerprints by capillary electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. Swift, R.S., Spark, K.M. (eds.), *Understanding and Managing Organic Matter in Soils, Sediments, and Waters*. 9 th International Meeting of the IHSS, Adelaide, pp. 20-25, 77-82, IHSS, Atlanta 2001.
- [42] Bondietti E.: *Environmental migration of longlived radionuclides*. IAEA, Vienna 1982.
- [43] Samanidou, V., Papadoyannis, I., Vasilikiotis, G.: Mobilization of heavy-metals from river sediments of Northern Greece, by humic substances. *J. Environm. Sci. Health A26*, 1991, 1055-1068.
- [44] Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Rice, E. W., Greenberg, A. E.: *Standard methods for the examination of water and wastewater: American Public Health Association*, 2005, 1368 p.
- [45] *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 88th Edition, CRC Press, 2008.
- [46] Hemström, P., Irgum, K.: Hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Separation Science* 29, 2006, 1784–1821.
- [47] Melnikov, S. M., Höltzel, A., Seidel-Morgenstern, A., Tallarek, U.: A Molecular Dynamics Study on the Partitioning Mechanism in Hydrophilic Interaction Chromatography. *Angewandte Chemie International Edition* 51, 2012, 6251–6254.

- [48] Melnikov, S. M., Höltzel, A., Seidel-Morgenstern, A., Tallarek, U.: Composition, Structure, and Mobility of Water–Acetonitrile Mixtures in a Silica Nanopore Studied by Molecular Dynamics Simulations. *Anal. Chem.* 83, 2011, 2569.
- [49] Rodriguez, J., Elola, M. D., Laria, D.: Polar Mixtures under Nanoconfinement. *J. Phys. Chem. B* 113, 2009, 12744–12749.
- [50] Rodriguez, J., Elola, M. D., Laria, D.: Confined Polar Mixtures within Cylindrical Nanocavities. *J. Phys. Chem. B* 114, 2010, 7900–7908.
- [51] Pařez, S., Předota, M.: Determination of the distance-dependent viscosity of mixtures in parallel slabs using non-equilibrium molecular dynamics. *Physical Chemistry Chemical Physics* 14, 2012, 3640.
- [52] Zendlová, L., Hobza, P., Kabeláč, M.: Stability of nucleic acid base pairs in organic solvents: Molecular dynamics, molecular dynamics/quenching, and correlated ab initio study. *J. Phys. Chem. B* 111, 2007, 2591–2609.
- [53] Legrand, A. P.: *The surface properties of silicas*; Wiley: Chichester [u.a.], 1999.
- [54] Zhuravlev, L. T.: *Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects*, 2000, 173, 1-38.
- [55] White, A. F., Blum, A. E., Schulz, M. S., Vivit, D. V., Stonestrom, D. A., Larsen, M., Murphy, S. F., Eberl, D.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1998, 62, 209–226.
- [56] Yang, X.-S. *Tectonophysics* 2001, 330, 141–151.
- [57] Newton, R. C., Manning, C. E.: *Earth and Planetary Science Letters* 2008, 274, 241–249.
- [58] Koretsky, C. M., Sverjensky, D. A., Salisbury, J. W., D’Aria, D. M.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1997, 61, 2193–2210.
- [59] Schulz, M. S., White, A. F.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1999, 63, 337–350.
- [60] Tamerler, C., Kacar, T., Sahin, D., Fong, H., Sarikaya, M.: *Materials Science and Engineering C* 2007, 27, 558–564.
- [61] Sano, K.-I., Sasaki, H., Shiba, K.: *Langmuir* 2005, 21, 3090–3095.
- [62] Papakonstantinou, P., Vainos, N., Fotakis, C.: *Applied Surface Science* 1999, 151, 159–170.
- [63] Pinto, E. M., Gouveia-Caridade, C., Soares, D. M., Brett, C. M. A.: *Applied Surface Science* 2009, 255, 8084–8090.
- [64] Sassolas, A., Leca-Bouvier, B. D., Blum, L. J.: *Chemical Reviews* 2008, 108, 109–139.
- [65] Sobek, J., Bartscherer, K., Jacob, A., Hoheisel, J. D., Angenendt, P.: *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 2006, 9, 365–380.
- [66] Buttry, D. A., Ward, M. D.: *Chemical Reviews* 1992, 92, 1355–1379.

- [67] Nawrocki, J.: *Journal of Chromatography A* 1997, 779, 29–71.
- [68] Ho, C., Qiao, R., Heng, J. B., Chatterjee, A., Timp, R. J., Aluru, N. R., Timp, G.: *PNAS* 2005, 102, 10445–10450.
- [69] Murashov, V. V., Leszczynski, J. J.: *Phys. Chem. A* 1999, 103, 1228–1238.
- [70] Bickmore, B. R., Wheeler, J. C., Bates, B., Nagy, K. L., Eggett, D. L.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2008, 72, 4521–4536.
- [71] Dove, P. M., Elston, S. F.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1992, 56, 4147–4156.
- [72] Dove, P. M.: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1999, 63, 3715–3727.
- [73] Iler, R. K.: *The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry*; Wiley, 1979.
- [74] Fuerstenau, D. W.: *Pradip Advances in Colloid and Interface Science* 2005, 114–115, 9–26.
- [75] Cygan, R. T., Liang, J.-J., Kalinichev, A. G.: Molecular models of hydroxide, oxyhydroxide, and clay phases and the development of a general force field. *Journal of Physical Chemistry B*, 2004, 108 (4), 1255-1266.
- [76] Barvíková, H.: Počítačové modelování interakcí molekul s minerálními povrchy, bakalářská práce. PřF JU, 2012.
- [77] Předota, M., Bandura, A. V., Cummings, P. T., Kubicki, J. D., Wesolowski, D. J., Chialvo, A. A., Machesky, M. L. J.: *Phys. Chem. B* 2004, 108, 12049–12060.
- [78] Ribeiro, A. A. S. T., Horta, B. A. C., de Alencastro, R. B. J.: *Braz. Chem. Soc.*, Vol. 19, No. 7, 2008, 1433-1435.
- [79] Předota, M., ústní sdělení.
- [80] Nezbeda, I., Kolafa, J., Kotrla, M.: *Úvod do molekulárních simulací, Metody Monte Carlo a molekulární dynamiky*, Karolinum 2002

6.1 Internetové zdroje

- [81] <http://books.google.cz/books?id=fd2rChVCwwwC&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false> (str. 601) [2014-01]
- [82] http://www.fm.ehcc.kyoto-u.ac.jp/pKa_compilation_Williams_RipinEvans.pdf [2014-01]
- [83] <http://www.hmdb.ca/metabolites/hmdb02466> [2013-12]
- [84] http://en.wikipedia.org/wiki/Terephthalic_acid [2014-01]

- [85] <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/Environ%20Sci.%20Technology1998-2001/1999/no.4/4,1999%20vol.33,no4,p.546-552.pdf> [2014-02]
- [86] <http://karnet.up.wroc.pl/~weber/kwasy2.htm> [2014-02]
- [87] <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Silanol-Spartan-MP2-3D-balls.png> [2014-01]
- [88] <http://ambermd.org/doc6/html/AMBER-sh-16.html> [2013-12]
- [89] http://en.wikipedia.org/wiki/AM1* [2014-04]
- [90] <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00894-006-0137-8> [2013-12]
- [91] http://deposit.rcsb.org/adit/docs/pdb_atom_format.html [2013-12]
- [92] http://www.rcsb.org/pdb/101/static101.do?p=education_discussion/Looking-at-Structures/coordinates.html [2013-12]
- [93] <http://ambermd.org/antechamber/ac.html> [2013-12]
- [94] http://cinjweb.umdj.edu/~kerrigje/pdf_files/AMBER8_drug_dna.pdf [2013-12]
- [95] <ftp://ftp.gromacs.org/pub/manual/manual-4.5.6.pdf> [2014-03]
- [96] <http://galileo.phys.virginia.edu/classes/311/notes/compflu2/node2.html> [2014-04]
- [97] http://en.wikipedia.org/wiki/Helmholtz_free_energy [2014-04]
- [98] http://www.gromacs.org/Documentation/How-tos/Potential_of_Mean_Force [2013-12]
- [99] <http://www.bevanlab.biochem.vt.edu/Pages/Personal/justin/gmx-tutorials/umbrella/index.html> [2014-02]
- [100] <http://www.bevanlab.biochem.vt.edu/Pages/Personal/justin/gmx-tutorials/umbrella/Files/distances.txt> [2014-04]

7. Přílohy

Příložené CD obsahuje:

1. Topologie molekul připravené v rámci diplomové práce spolu s *.gro* soubory, obrázky s popisy atomů ve formátu *.png*
2. Soubory s názvy *pka12.doc* a *pka12.xls* se vzorci k výpočtům pH