



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

CLAUDIO MENDES DIAS DE SOUZA

**INTERAÇÃO DE FORSTERITA-91 E DA CISTEÍNA EM  
CONDIÇÕES DE QUÍMICA PREBIÓTICA UTILIZANDO  
DIFERENTES TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, QUÍMICAS  
E MINERALÓGICAS**

CLAUDIO MENDES DIAS DE SOUZA

**INTERAÇÃO DE FORSTERITA-91 E DA CISTEÍNA EM  
CONDIÇÕES DE QUÍMICA PREBIÓTICA UTILIZANDO  
DIFERENTES TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, QUÍMICAS  
E MINERALÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Química - Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Dr. Dimas A. M. Zaia

LONDRINA - PR  
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

S729i Souza, Claudio Mendes Dias de.

Interação de forsterita-91 e da cisteína em condições de química prebiótica utilizando diferentes técnicas espectroscópicas, químicas e mineralógicas / Claudio Mendes Dias de Souza. – Londrina, 2012.  
77 f. : il.

Orientador: Dimas Augusto Morozin Zaia.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina,  
Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Química prebiótica – Teses. 2. Cisteína – Teses. 3. Análise espectral – Teses.  
4. Forsterita – Teses. 5. Água do mar artificial – Teses. I. Zaia, Dimas Augusto  
Morozin. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa  
de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 547

CLAUDIO MENDES DIAS DE SOUZA

**INTERAÇÃO DE FORSTERITA-91 E DA CISTEÍNA EM CONDIÇÕES  
DE QUÍMICA PREBIÓTICA UTILIZANDO DIFERENTES TÉCNICAS  
ESPECTROSCÓPICAS, QUÍMICAS E MINERALÓGICAS**

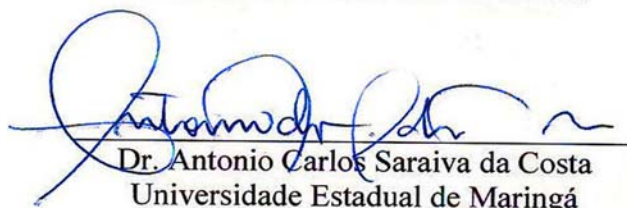
Dissertação apresentada ao Programa de  
Mestrado em Química - Departamento de  
Química da Universidade Estadual de Londrina,  
como requisito parcial para a obtenção do título  
de Mestre em Química.

**BANCA EXAMINADORA**



Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia  
(Orientador)

Universidade Estadual de Londrina



Dr. Antonio Carlos Saraiva da Costa  
Universidade Estadual de Maringá



Dr. Carlos Alberto Policiano Almeida  
UNICENTRO

Londrina, 10 de Fevereiro de 2012

*Ao Sr. João e a D. Cida, meus pais queridos, que me  
proporcionaram esta oportunidade.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao Professor Dimas, que é meu exemplo como cientista e, principalmente, como pessoa. Muito obrigado Professor, por abrir meus olhos para um mundo novo e fascinante.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Cássia Thais B. V. Zaia, do Dep. de Ciências Fisiológicas da UEL, por todo apoio, tempo gasto, paciência e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Henrique de Santana, por todas as vezes que me auxiliou em situações diversas e pelas análises de espectroscopia Raman.

Ao Prof. Dr. Antonio C. S. da Costa, do Dep. de Agronomia da UEM, pelas análises de difratometria de raios-X, almoços produtivos e disposição, tanto em ajudar com os experimentos quanto ensinar.

Ao Prof. Dr. Eduardo di Mauro, do Dep. de Física da UEL, pelas análises de EPR.

Ao Prof. Dr. Andrea Paesano Jr, do Dep. de Física da UEM, pelas análises de espectroscopia Mössbauer.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Célia Guadalupe e ao pessoal do Laboratório de Microscopia e Microanálise-UEL, em especial ao Oswaldo, pelas análises de MEV-EDS.

Ao Dr. Luís Otávio de Brito Benetoli da UFSC. Tutor, conselheiro e amigo. E pelas análises de Potencial Zeta, estadias e bons tempos.

Aos professores do Dep. de Química da UEL por todos os ensinamentos passados.

Aos funcionários do Dep. de Química e Bioquímica da UEL, em especial a Ivanira, Nelson, Mauro, Sandra, Neusa e “Didi”, por todo o apoio durante os anos de UEL, obrigado.

Ao pessoal do Laboratório de Química Prebiótica, a grande Ana Paula, aos novatos Gustavo e Zé Eduardo pelo apoio. E, principalmente agradeço a Cristine e ao João Paulo que tiveram inúmeras participações neste trabalho, além da amizade que se revelou durante estes anos.

À Luna Guerreiro, por me aturar durante o tempo que este trabalho durou, e especialmente pelo companheirismo, atenção, paciência e pelos incontáveis momentos de alegria, obrigado.

Aos meus amigos, Otávio, Túlio, Gabriel, Igor, Alfredo, Alessandro, Lucas (Cebola) e Marcelo.

E agradeço, principalmente, à minha família, Sr. João, D. Cida e meu irmão Fernando, pois cada um do seu jeito sempre me ensina algo sobre tudo, muito obrigado!

SOUZA, Claudio Mendes Dias de. **Interação de forsterita-91 e da cisteína em condições de Química Prebiótica utilizando diferentes técnicas espectroscópicas, químicas e mineralógicas**. 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

## RESUMO

Este trabalho reproduziu condições prebióticas que teriam existido na Terra primitiva e estudou a interação entre forsterita-91, cisteína e água do mar artificial. Estas interações foram estudadas em meio aquoso em dois valores de pH, 2,0 e 8,0. As amostras de forsterita-91 mais água destilada e água do mar artificial foram agitadas por 24h e centrifugadas, os sólidos e sobrenadantes separados e liofilizados. Utilizou-se técnicas espectroscópicas (UV-Vis, FT-IR, Raman, RPE e Mössbauer), químicas (Potencial Zeta, PCZ) e mineralógicas (DRX e MEV-EDS) para análises dos dados obtidos. Os resultados de DRX e MEV-EDS mostram que sob as condições usadas a forsterita-91 sofre dissolução e este processo interfere na interação com a cisteína, propiciando a formação de cistina. As análises de FT-IR, Raman e MEV-EDS indicam que não houve a adsorção de cisteína ou cistina sobre a forsterita-91. Nas amostras estudadas sem forsterita-91, observou-se que os sais da água do mar artificial, valores de pHs básicos e a alta concentração de cisteína são fatores que levam a formação de cistina, indicando que esta reação não ocorre somente na presença de  $Fe^{3+}$ . Portanto, pode-se concluir que minerais, como a forsterita-91, podem desempenhar papéis secundários na interação com cisteína.

**Palavras-chave:** Química Prebiótica. Forsterita-91. Cisteína. Água do mar artificial.

SOUZA, Claudio Mendes Dias de. **Interaction of forsterite-91 and cysteine in Prebiotic Chemistry conditions using different spectroscopic, chemical and mineralogical techniques.** 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

### ABSTRACT

This work simulated prebiotic conditions existed on primordial Earth and studied the interaction between forsterite-91, cysteine and artificial seawater. These interactions were studied in aqueous medium at two values of pH 2.0 and 8.0. The samples of olivine plus distilled water and artificial seawater were mixed for 24h, centrifuged, the solids and supernatants were separated and lyophilized. It was used spectroscopy (UV, FT-IR, Raman, EPR and Mössbauer), chemical (Zeta Potential and PZC) and mineralogical techniques (XRD and SEM-EDS) to analyze the data obtained. The results of XRD and SEM-EDS show that under conditions used forsterite-91 was dissolved and this process interfered with the interaction between forsterite-91 and cysteine, favoring the formation of cystine. Analysis of FT-IR, Raman and SEM-EDS indicate that there was no adsorption of cysteine or cystine on the forsterite-91. For the samples without olivine, it was observed that the salts of artificial seawater, basic pH values and high concentrations of cysteine are factors that lead to formation of cystine, indicating that this reaction does not occur only in the presence of  $\text{Fe}^{3+}$ . Therefore, it can be concluded that minerals such as forsterite-91 can play a secondary role in the interaction with cysteine.

**Key words:** Prebiotic Chemistry. Forsterite-91. Cysteine. Artificial Seawater.

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> - Composição química da Forsterita-91.....  | 24 |
| <b>Tabela 2</b> - Valores de pH, pH no ponto de carga zero (pH <sub>pcz</sub> ) e pH no ponto isoelétrico (pH <sub>iep</sub> ) das amostras de forsterita-91.....                   | 32 |
| <b>Tabela 3</b> - Composição química elementar da forsterita-91 utilizando MEV-EDS.....   | 37 |
| <b>Tabela 4</b> - Valores de intensidade de linhas de ressonância do Fe <sup>3+</sup> e Mn <sup>2+</sup> das amostras de Forsterita-91.....   | 40 |
| <b>Tabela 5</b> - Parâmetros hiperfinos de Mössbauer e áreas subspectrais para as amostras de forsterita-91.....  | 43 |
| <b>Tabela 6</b> - Forsterita-91 + cisteína em água do mar artificial agitada por 24h a 25 °C.....   | 44 |
| <b>Tabela 7</b> - Cisteína em água do mar artificial agitada por 24h a 25 °C.....   | 45 |
| <b>Tabela 8</b> - Amostras de cisteína em água destilada agitada por 24h a 25 °C.....   | 47 |
| <b>Tabela 9</b> - Cisteína em água do mar artificial refrigerada (8 °C) sem agitação por 24h.....   | 49 |
| <b>Tabela 10</b> - Amostras de cisteína em água destilada, refrigerada (8 °C) sem agitação por 24h. 50  |    |
| <b>Tabela 11</b> - Valores de pH final, pH no ponto de carga zero (pH <sub>pcz</sub> ) e pH no ponto isoelétrico (pH <sub>iep</sub> ) das amostras de forsterita-91 e cisteína..... | 51 |
| <b>Tabela 12</b> - Valores de intensidade de linhas de ressonância do Fe <sup>3+</sup> e Mn <sup>2+</sup> das amostras de forsterita-91 e cisteína.....                             | 66 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> - Estrutura da olivina.....  | 17 |
| <b>Figura 2</b> - Estruturas e reação de oxidação da cisteína em cistina. ....   | 19 |
| <b>Figura 3</b> - Gráficos do Potencial Zeta ( $\zeta$ ) em função do pH para as amostras de: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----) e forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----) .....  | 33 |
| <b>Figura 4</b> - Espectro FT-IR da forsterita-91 pura (-----).....  | 34 |
| <b>Figura 5</b> - Espectros FT-IR das amostras de forsterita-91 agitadas em água destilada pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----). E amostras de forsterita-91 agitadas em água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----).....   | 35 |
| <b>Figura 6</b> - Espectros Raman das amostras: forsterita-91 pura (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----); forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----).....  | 36 |
| <b>Figura 7</b> - Micrografias de microscópio eletrônico de varredura (MEV) das amostras: a) Forsterita-91 pura; b) Forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0; c) Forsterita-91 agitada com água destilada em pH 8,0; d) Forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0; e) Forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 8,0..... | 38 |
| <b>Figura 8</b> - Espectros EPR: A: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----); B: Sobrenadantes das amostras sólidas de forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----).....   | 39 |
| <b>Figura 9</b> - Difractogramas de raios-X das amostras de: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----) e forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----).....  | 42 |
| <b>Figura 10</b> - Valores de pKa para a Cisteína.....   | 46 |
| <b>Figura 11</b> - Gráfico do Potencial Zeta em função do pH para as amostras de: forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água destilada ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (-----) e com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (-----).....                   | 52 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 12</b> - Espectro FT-IR da amostra de água do mar artificial liofilizada. ....  | 53 |
| <b>Figura 13</b> - Espectros FT-IR das amostras de Cistina (-----) e Cisteína (-----).....  | 54 |
| <b>Figura 14</b> - Espectros FT-IR das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com<br>soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----) 1440; (-----) 2160; (-<br>-----) 2880; (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----) 17500 $\mu\text{g}$<br>$\text{mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0.....                               | 55 |
| <b>Figura 15</b> - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de forsterita-<br>91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----)<br>1440; (-----) 2160; (-----) 2880; (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000;<br>e (-----) 17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0.....                  | 56 |
| <b>Figura 16</b> - Espectros FT-IR dos sólidos precipitados das amostras de soluções de<br>cisteína em água destilada: (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (----<br>--) 17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0.....   | 57 |
| <b>Figura 17</b> - Espectros FT-IR dos sólidos precipitados das amostras de soluções de<br>cisteína em água do mar artificial: (-----) 2880; (-----) 3600; (-----) 4320;<br>(-----) 10000; e (-----) 17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0.....   | 58 |
| <b>Figura 18</b> - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de soluções de<br>cisteína em água destilada: (-----) 1440; (-----) 2160; (-----) 2880; (-----)<br>3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----) 17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e<br>(B) pH 8,0.....  | 59 |
| <b>Figura 19</b> - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de soluções de<br>cisteína em água do mar artificial: (-----) 1440; (-----) 2160; (-----) 2880;<br>(-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----) 17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH<br>2,0 e (B) pH 8,0.....  | 60 |
| <b>Figura 20</b> - Espectros Raman das amostras de cisteína (-----) e cistina (-----).....  | 61 |
| <b>Figura 21</b> - Espectros Raman das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com<br>soluções de cisteína em água do mar artificial, em pH 2,0: (-----) 1440; (---<br>---) 2160; (-----) 2880; (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----)<br>17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) Sem lavar e (B) Após lavagem com água destilada..... | 62 |
| <b>Figura 22</b> - Espectros Raman das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com<br>soluções de cisteína em água do mar artificial, em pH 8,0: (-----) 1440; (---<br>---) 2160; (-----) 2880; (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----)<br>17500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) Sem lavar e (B) Após lavagem com água destilada..... | 63 |

**Figura 23** - Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras: a) Cisteína dissolvida em água destilada; b) Cistina dissolvida em água destilada; c) Amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial pH 2,0; d) Amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial pH 8,0; e) Amostra (c) após processo de lavagem com água destilada; e f) Amostra (d) após processo de lavagem com água destilada. .... 65

**Figura 24** - Espectros EPR: A: amostras sólidas de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ): em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (-----); B: sobrenadantes das amostras sólidas de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ): em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (-----). .... 68

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 14 |
| 1.1 QUÍMICA PREBIÓTICA .....   | 14 |
| 1.2 FORSTERITA-91 .....  | 17 |
| 1.3 CISTEÍNA .....   | 18 |
| 1.4 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL.....  | 20 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> 22  |    |
| 2.1 OBJETIVO GERAL.....  | 22 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 22 |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | 23 |
| 3.1 MATERIAIS .....  | 23 |
| 3.1.1 Água do Mar Artificial .....   | 23 |
| 3.1.2 Forsterita-91 .....  | 23 |
| 3.1.3 Reagentes e Soluções .....   | 24 |
| 3.1.4 Preparo de Amostras.....   | 26 |
| 3.1.4a Amostras de Forsterita-91.....  | 26 |
| 3.1.4b Amostras de Cisteína a temperatura ambiente (25 °C).....                                      | 26 |
| 3.1.4c Amostras de Cisteína a 8 °C .....   | 27 |
| 3.1.5 Equipamentos .....   | 27 |
| 3.2 MÉTODOS .....  | 28 |
| 3.2.1 Determinação do Ponto de Carga Zero (PCZ).....   | 28 |
| 3.2.2 Potencial Zeta ( $\zeta$ ).....  | 28 |
| 3.2.3 Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....  | 29 |
| 3.2.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)..... | 29 |
| 3.2.5 Espectroscopia de espalhamento Raman.....  | 29 |
| 3.2.6 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) .....   | 29 |
| 3.2.7 Espectroscopia Mössbauer .....   | 30 |
| 3.2.8 Difractometria de Raios-X (DRX) .....  | 30 |
| 3.2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS) .....  | 30 |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....   | 31 |
| 4.1 Interação da Forsterita-91 com Água Destilada e Água do Mar Artificial .....                     | 31 |
| 4.1.1 pH, $pH_{pcz}$ e $pH_{iep}$ .....  | 31 |
| 4.1.2 Espectroscopia Infravermelho (FT-IR) .....   | 34 |
| 4.1.3 Espectroscopia Raman.....  | 35 |
| 4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS) .....  | 36 |
| 4.1.5 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) .....   | 39 |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.1.6 Difractometria de Raios-X (DRX) .....                                       | 40        |
| 4.1.7 Espectroscopia Mössbauer .....  | 42        |
| 4.2 Interação da Cisteína com Forsterita-91, com Água Destilada e com Água do Mar |           |
| Artificial .....  | 43        |
| 4.2.1 Resultados Quantitativos .....  | 43        |
| 4.2.2 $\text{pH}_{\text{pcz}}$ e $\text{pH}_{\text{iep}}$ .....                   | 50        |
| 4.2.3 Espectroscopia Infravermelho (FT-IR) .....                                  | 52        |
| 4.2.4 Espectroscopia Raman.....   | 61        |
| 4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS) .....                         | 64        |
| 4.2.6 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) .....                            | 66        |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>  | <b>69</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>70</b> |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 QUÍMICA PREBIÓTICA

“A Química Prebiótica estuda as reações químicas ou os processos que poderiam ter contribuído para o surgimento do primeiro ser vivo em nosso planeta” (ZAIA, 2004). Outra definição é feita pela NASA, 2006: a Química Prebiótica investiga como a síntese de biomoléculas deve ter ocorrido antes do início da vida como a conhecemos (“*Prebiotic chemistry investigates how synthesis of biomolecules may have occurred prior to the beginning of life as we know it.*”) (NASA, 2006).

Atualmente a Química Prebiótica faz parte de um novo ramo multidisciplinar de pesquisa chamado Astrobiologia (Biologia, Astronomia, Geofísica, Geoquímica, Química, Bioquímica, Ecologia e Engenharias), cujos objetivos são: a procura por planetas habitáveis em nosso sistema solar; a exploração de Marte e outros planetas; investigação (teórica e prática) da origem e evolução primordial da vida; e estudos sobre a adaptação da vida à futuras mudanças, na Terra ou no espaço (NASA, 2006; DE MARAIS et al., 2008).

No início do século XX dois cientistas propuseram um esquema para o estudo da origem da vida: Em 1924 o bioquímico russo Alexander I. Oparin (1894-1980) e em 1929 o geneticista inglês J. B. S. Haldane (1892-1964).

Esta proposta é atualmente denominada como hipótese de Oparin-Haldane, que é descrita, resumidamente, da seguinte maneira. A partir de moléculas simples (metano, amônia, hidrogênio e água) que reagiriam entre si, ocorreria a formação e o acúmulo de biomoléculas (aminoácidos, açúcares, lipídios, purinas), ao longo de milhões de anos. Em seguida, estas biomoléculas unir-se-iam para formar biopolímeros, isto é, moléculas gigantes feitas pela repetição de unidades simples, como proteínas, que são sintetizadas a partir de unidades de aminoácidos, os quais levariam mais alguns milhões de anos. Estes biopolímeros combinar-se-iam formando o que Oparin chamou de estruturas coacervadas, semelhantes às células vivas existentes hoje. Com o decorrer do tempo (milhões de anos), reações cada vez mais complexas começariam a ocorrer dentro dessas estruturas coacervadas até a formação do primeiro ser vivo no nosso planeta (DE DUVE, 1997; ZAIA, 2003; ZAIA, 2004; TIRARD, 2010).

Em 1953, o jovem químico Stanley Lloyd Miller (1930-2007) realizou um experimento, em colaboração com seu professor (Harold Clayton Urey, 1893-1981), simulando uma atmosfera primitiva (gases), oceano (água) e descargas elétricas (fonte de energia). E a partir da mistura de moléculas simples (metano, amônia, hidrogênio) foram sintetizadas moléculas mais complexas, como aminoácidos, que são essenciais a todos seres vivos (MILLER, 1953; ZAIA, 2004).

Portanto, Miller forneceu a primeira evidência experimental, de que a hipótese Oparin-Haldane estaria correta. Pode-se dizer que este experimento fundou o ramo da Química Prebiótica (ZAIA, 2004), pois deu início a uma série de investigações que perduram até os dias atuais em busca de evidências experimentais e explicações a respeito da origem da vida.

Estudos conduzidos na área de Química Prebiótica devem, experimentalmente, reproduzir os ambientes existentes na Terra primitiva, ou seja, de aproximadamente 3.5-3.9 bilhões de anos atrás, período no qual a maioria das evidências aponta para o aparecimento das primeiras formas de vida (MOJZSIS et al., 1996).

O ambiente na Terra primitiva necessitaria de algumas condições para que a evolução química ocorresse. Segundo LAHAV, 1994; MENCK E OLIVEIRA, 2001; SCHOONEN et al., 2004 estas condições seriam:

- Fonte de energia – a energia necessária para a formação de moléculas orgânicas complexas a partir de moléculas simples na Terra primitiva estaria presente em diversas formas, tais como: descargas elétricas, raios cósmicos, raios UV, impactos de meteoros e cometas, radioatividade, vulcanismo (CHIBA, 1993; KOBAYASHI et al., 2001).
- Proteção – após formação de biomoléculas, estas necessitariam de proteção ou seriam destruídas pelo contínuo fluxo de energia, principalmente na forma de radiação ultravioleta do Sol. Essa proteção dar-se-ia em águas mais profundas ou em fendas nas rochas, em sedimentos, ou mesmo adsorvidas sobre minerais;
- Pré-concentração de compostos – a diluição das biomoléculas no oceano primitivo tornaria a evolução molecular impossível, assim supõe-se a existência de mecanismos que favorecessem a pré-concentração de compostos, sendo estes, provavelmente: evaporação ou congelamento de pequenas lagoas, adsorção sobre minerais e penetração em estruturas coacervadas.

- Catálise – muitas reações químicas são favorecidas por catalisadores, isto é, substâncias que auxiliam nas reações, mas não tomam parte nela. As seguintes substâncias poderiam atuar como catalisadores primitivos: argilas, metais de transição, pequenas moléculas orgânicas. No início, alguns catalisadores teriam favorecido a origem de moléculas mais complexas e, posteriormente, determinadas reações ocorreriam auxiliadas por catalisadores confinados no interior de membranas.

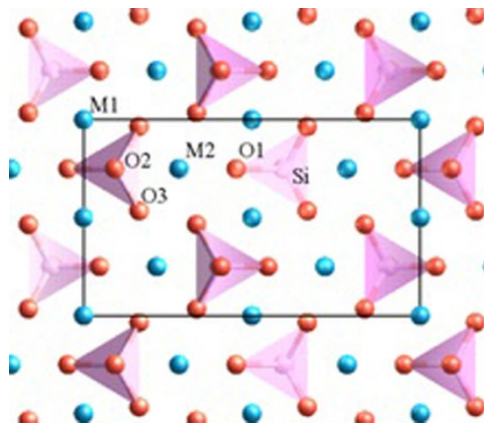
Segundo Noam Lahav (1929 -) o processo de adsorção é o primeiro estágio de uma grande variedade de reações prebióticas (LAHAV, 1994), pois minerais podem adsorver moléculas orgânicas em ambiente aquoso, concentrá-las e fornecer um ambiente catalítico de ocorrência natural para a formação de grandes moléculas, incluindo os blocos de construção da vida, por exemplo, peptídeos/proteínas e nucleotídeos/RNA (BERNAL, 1951; CAIRNS-SMITH, 1982; FERRIS, 1993).

J. D. Bernal (1901-1971) foi o primeiro a sugerir que superfícies minerais seriam de extrema relevância para o surgimento da vida na Terra (BERNAL, 1951). Desde então, diversos estudos foram publicados sobre a interação entre biomoléculas e superfícies minerais. Entre estes estudos, pode-se citar a adsorção de Alanina/Glicina/Serina/Fenilalanina/Histidina sobre  $\beta$ -FeOOH.Cl<sub>n</sub> (HOLM et al., 1983); diversos aminoácidos sobre argilas (PAECHT-HOROWITZ, 1978; AUFDENKAMPE et al., 2001; DING e HENRICHS, 2002); Lisina/Leucina/Ácido aspártico sobre dióxido de titânio (ROGACHEVA e BOBYRENKO, 1985); aminoácidos sobre hidróxi apatita/calcita/albita (TANAKA et al., 1989; CHURCHILL et al., 2004); Glicina/Lisina/ácido glutâmico sobre hematita (BEN-TALEB et al., 1994); vinte aminoácidos protéicos sobre sílica gel (MELLERSH e WILKINSON, 2000); diversos aminoácidos sobre diversos sedimentos (HENRICHS e SUGAI, 1993; AUFDENKAMPE et al., 2001; MONTLUÇON e LEE, 2001; DING e HENRICHS, 2002); diversos aminoácidos sobre sílica/quartzo/areia (BASIUK e GROMOVOY, 1996; BASIUK, 2002; ZAIA et al., 2002; CHURCHILL et al., 2004); diversos aminoácidos sobre bentonita, montmorillonita e caulinita (BENETOLI et al., 2007); Alanina, Cisteína, Histidina, Metionina sobre zeólitas (CARNEIRO, et al., 2011) e Cisteína sobre óxidos de ferro (VIEIRA et al., 2010). Estes estudos sugerem o possível envolvimento de superfícies minerais na evolução Química Prebiótica sobre a Terra primitiva.

## 1.2 FORSTERITA-91

O mineral olivina ( $\text{FeMgSiO}_4$ ) pertence a um grupo de nome homólogo, que é constituído por diversos silicatos relacionados e cristalizam com simetria ortorrômbica. A estrutura da olivina (Figura 1) é constituída por tetraedros independentes de  $\text{SiO}_4^{4-}$  ligados por átomos divalentes com número de coordenação seis. Os sítios octaédricos (posições M1 e M2) são ocupados, preferencialmente, por íons divalentes ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ), no entanto íons trivalentes, como  $\text{Al}^{3+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$  estão presentes em pequenas quantidades (KING, 2009; DEER et al., 1982).

**Figura 1** - Estrutura da olivina.



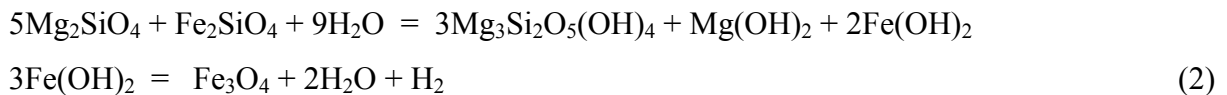
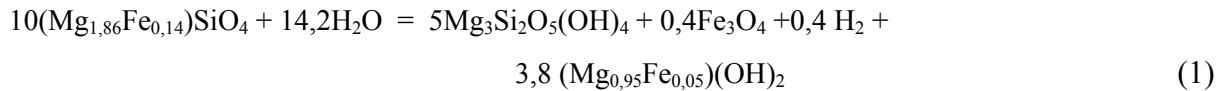
**Fonte:** King (2009)

Olivinas de Fe e Mg formam diversas séries de soluções sólidas; dentre estas, a mais relevante é formada em virtude da variação da razão Fe/Mg, nas quais os extremos são nomeados como forsterita, Fo, ( $\text{Mg}_2\text{SiO}_4$ ) e faialita, Fa, ( $\text{Fe}_2\text{SiO}_4$ ). Os nomes forsterita e faialita são homenagens a A. J. Forster (coleccionador de minerais) e a ilha de Faial, nos Açores (KING, 2009; DEER et al., 1982).

Olivinas (FeMg) são comuns e importantes minerais primários constituintes de rochas ultramáficas e ígneas básicas. Podem sofrer processos de intemperismo, entre estes se destaca a serpentinização, que é a transformação, por intemperismo, de minerais primários em minerais secundários (serpentina, brucita, talco, magnetita, entre outros), cuja formação explica-se por reações de hidratação e oxirredução das rochas ultramáficas (WILSON, 2004; DEER et al., 1982).

Os minerais que comumente predominam como resultado deste processo de transformação metamórfica são as serpentinhas ( $\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ), originando a denominação

de serpentinização. As Equações 1 e 2 mostram reações de serpentinização características para a forsterita-91 (DEER et al., 1982; FROST e BEARD, 2007; NEUBECK et al., 2011).



Por ser um mineral primário, olivinas são encontradas em diversos ambientes, como, por exemplo, Terra primitiva (HAZEN, 2008), Marte (BURNS, 1993; MORRIS, et al., 2000; POULET, et al., 2005; LARRY, et al., 2005; PAPIKE et al., 2009), meteoritos e cometas (STÖFFLER et al., 1991; HANNER, 1999; DRAINE, 2003; NGUYEN e ZINNER, 2004) e na Terra contemporânea (BAKER et al., 1998; NEUBECK et al., 2011).

Em relação à presença de olivina na Terra primitiva, Hazen (HAZEN, 2008) estudou a genesis de diversos minerais e classificou a olivina (forsterita) entre os 60 primeiros minerais que teriam surgido na Terra, há 4,5 bilhões de anos.

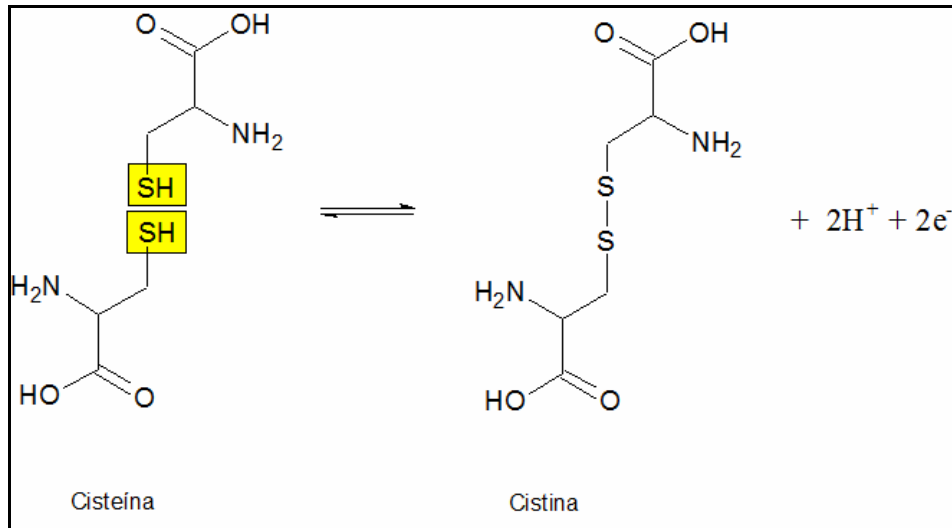
### 1.3 CISTEÍNA

Proteínas são longos polímeros de aminoácidos e, ao lado da água, são os maiores constituintes celulares. São vinte os aminoácidos ( $\alpha$ -aminoácidos) protéicos que interligados, por ligações peptídicas, formam diversas sequências resultando nas proteínas existentes nos seres vivos. A partir das proteínas formadas, diferentes organismos podem sintetizar produtos largamente diferentes entre si, como: enzimas, hormônios, anticorpos, transportadores, músculos, antibióticos, constituintes de carapaças, corpos e diversas outras substâncias, cada uma delas exibindo atividades biológicas distintas (LEHNINGER et al., 2007).

Dentre os 20 aminoácidos protéicos, encontra-se a cisteína. A cisteína é um aminoácido com um grupo R não carregado e polar. Este grupo R (tiol) confere a cisteína maior solubilidade aquosa (hidrofílica), devido a formação de ligações de hidrogênio com a água. Além disso, a ligação entre dois grupos tióis da cisteína (ligação dissulfeto) forma um aminoácido dimérico, unido covalentemente, a cistina (Figura 2). Estas ligações dissulfetos,

fortemente hidrofóbicas (apolares), têm um importante papel na estabilização de estruturas de muitas proteínas, em virtude da formação de ligações covalentes entre diferentes partes de uma molécula protéica ou entre duas cadeias protéicas distintas (LEHNINGER et al., 2007).

**Figura 2** - Estruturas e reação de oxidação da cisteína em cistina.



**Fonte:** Adaptado de Lehninger et al. (2007)

Nesse sentido entende-se a importância das proteínas e, conseqüentemente, dos aminoácidos para os seres vivos modernos, uma vez que as proteínas constituem peças-chave na construção e manutenção da vida como a conhecemos. Por exemplo, o funcionamento adequado de qualquer célula viva depende do correto funcionamento de milhões de reações catalisadas por biocatalisadores. A grande maioria destes catalisadores são proteínas chamadas de enzimas.

Lahav, (LAHAV, 1994) sugere que aminoácidos tenham servido como blocos de construção de alguns dos biocatalisadores primitivos, similares em sua estrutura e funcionamento as proteínas contemporâneas.

Logo, a relação entre Química Prebiótica e aminoácidos torna-se natural, pois, entender os mecanismos de síntese abiótica, acúmulo, proteção, polimerização e formação de peptídeos, leva-se a compreender uma parte deste quebra-cabeça que é o estudo ou busca da origem da vida.

Estudo realizado por Zaia (ZAIA, 2008) propõe uma classificação relativa da abundância de aminoácidos, sintetizados experimentalmente em condições prebióticas, endógenas (formados na Terra) e exógenas (formados fora da Terra). Este estudo mostra que não existe produção abiótica de cisteína exógena, somente endógena e com baixa abundância entre os aminoácidos formados. No entanto, alguns pesquisadores sintetizaram cisteína

prebioticamente, simulando ambientes hidrotermais (HENNET et al. 1992); e atmosferas (SAGAN e KHARE, 1971; BECKER et al. 1974).

A cisteína já foi estudada como adsorbato em diversos experimentos utilizando minerais, como pirita (BEBIÉ e SCHOONEN, 2000); argilas (BRIGATTI et al., 1999; BENETOLI et al., 2007; DE SANTANA et al. 2010); sílica (BASIUK e GROMOVOY 1996; BASIUK 2002); zeólitas (CARNEIRO et al., 2011); e metais (STEWART e FREDERICKS 1999; MARTI et al., 2004 e ARYAL et al., 2006).

#### 1.4 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

A maioria dos estudos envolvendo a simulação experimental de ambientes prebióticos em meio aquoso utilizam água destilada ou soluções de NaCl (ZAIA, 2012). Poucos são os estudos que utilizam soluções de água do mar artificial (WINTER e ZUBAY, 1995; ZAIA et al., 2002; ZAIA, 2004; BENETOLI et al., 2007, 2008; CARNEIRO et al., 2011a,b; BAÚ et al., 2012).

Muitas são as hipóteses a respeito da composição da água do mar primordial. As composições hipotéticas dadas por alguns autores mostram que esta seria muito diferente da composição dos dias atuais. (BROWN et al., 2004; DE RONDE et al., 2007; ISAWA et al., 2010; ZAIA, 2012). Esta variação composicional pode ser atribuída, principalmente, a processos de intemperismo que as rochas têm sofrido ao longo dos períodos geológicos desde o surgimento dos oceanos na Terra (KOMIYA et al., 2007).

ZAIA, 2012 sugere três composições de água do mar artificial que podem ser representativas, e assim, utilizadas em experimentos prebióticos: moderna, baseada na composição dos oceanos atuais em que predominam sais monovalentes, como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  (BROWN et al., 2004); 3,2 bilhões de anos atrás, que segundo DE RONDE et al., 2007 a composição da água do mar das fontes hidrotermais modernas são semelhantes às existentes há 3,2 bilhões de anos; e Terra Prebiótica, composição baseada nos experimentos de ISAWA et al., 2010 que sugerem que nos oceanos primordiais havia uma predominância de  $\text{Ca}^+$  e  $\text{Mg}^+$ . Neste trabalho, é utilizada a água do mar moderna, contendo os principais sais existentes nos oceanos atuais (BROWN et al. 2004; LIDE, 2009).

Assim, considerando a revisão apresentada tanto a forsterita-91 quanto a cisteína poderiam ser encontradas em ambientes prebióticos, o que faz o estudo de suas interações relevantes para compreender os processos evolutivos da origem da vida. Logo, este trabalho visa reproduzir condições prebióticas que possam ter existido na Terra primitiva,

estudando a interação entre forsterita-91, cisteína e água do mar artificial ou água destilada. Estas interações foram realizadas em meio aquoso em dois valores de pH, 2,0 e 8,0. E utilizaram-se diferentes técnicas, como: espectroscópicas, UV-Vis, FT-IR, Raman, RPE e Mössbauer; químicas, Potencial Zeta e PCZ; e mineralógicas, DRX e MEV-EDS. Para compreensão das reações e resultados obtidos.

Este trabalho busca descrever as interações entre a forsterita-91, cisteína e a água do mar artificial em diversas condições, estas são três das inúmeras substâncias que estiveram presentes na Terra Prebiótica. Portanto, os resultados aqui obtidos, obstantes de serem definitivos e conclusivos, poderão somar-se aos demais estudos sobre Química Prebiótica no intuito de, um dia, compreender os caminhos que levaram ao surgimento do primeiro ser vivo aqui na Terra ou em outro lugar.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a interação entre forsterita-91, cisteína e água do mar artificial simulando condições de Química Prebiótica.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o efeito do pH e da água do mar artificial na intemperização da forsterita-91 e na reação com cisteína;
- Quantificar a cisteína durante a interação com a forsterita-91;
- Estudar a interação entre forsterita-91, cisteína e água do mar artificial, utilizando as seguintes técnicas: espectroscópicas (UV-Vis, FT-IR, Raman, RPE e Mössbauer), químicas (Potencial Zeta e PCZ) e mineralógicas (DRX e MEV-EDS);
- Avaliar se as interações entre forsterita-91, cisteína e água do mar artificial são relevantes para o estudo de Química Prebiótica.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Água do Mar Artificial

A água do mar utilizada neste trabalho foi preparada com os principais sais encontrados nos oceanos modernos (BROWN et al., 2004; LIDE, 2009). As seguintes substâncias foram pesadas e dissolvidas em um balão volumétrico de 1,0 L com água destilada: 28,57 g de cloreto de sódio ( $0,49 \text{ mol L}^{-1}$ ); 3,89 g de cloreto de magnésio ( $0,042 \text{ mol L}^{-1}$ ); 1,79 g de sulfato de magnésio ( $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ); 1,31 g de sulfato de cálcio ( $0,013 \text{ mol L}^{-1}$ ); 0,83 g de sulfato de potássio ( $4,6 \text{ mmol L}^{-1}$ ); 0,103 g de brometo de potássio ( $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$ ); e 0,0282 g de ácido bórico ( $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ ).

##### 3.1.2 Forsterita-91

O mineral natural olivina ( $\text{FeMgSiO}_4$ ), procedente da *North Cape Minerals*, foi doado pelo Dr. Nils G. Holm, da Universidade de Stockholm-Suécia. A Tabela 1 mostra a análise química realizada por Anna Neubeck e Nils G. Holm, que caracterizaram esta olivina como uma forsterita-91, Fo91, ( $\text{Fe}_{0,18}\text{Mg}_{1,82}\text{SiO}_4$ ). Esta caracterização foi confirmada, neste estudo, utilizando-se a espectroscopia Raman, difratometria de Raios-X, MEV-EDS. Antes da utilização nos experimentos a forsterita-91 foi macerada e peneirada com uma peneira Granutest com abertura de  $53\mu\text{m}$ .

**Tabela 1** - Composição química da Forsterita-91.<sup>#</sup>

|                                    | <b>Concentração</b>           | <b>Método</b> |
|------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| <b>Sólidos Totais (ST)</b>         | 99,9%                         | Via Úmida     |
| <b>SiO<sub>2</sub></b>             | 41,2 ± 3,3%                   | ICP-AES*      |
| <b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b> | 0,213 ± 0,019%                | ICP-AES*      |
| <b>CaO</b>                         | <0,09%                        | ICP-AES*      |
| <b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b> | 9,03 ± 0,72%                  | ICP-AES*      |
| <b>K<sub>2</sub>O</b>              | <0,1%                         | ICP-AES*      |
| <b>MgO</b>                         | 52,1 ± 4,1%                   | ICP-AES*      |
| <b>MnO</b>                         | 0,111 ± 0,011%                | ICP-AES*      |
| <b>Na<sub>2</sub>O</b>             | <0,06%                        | ICP-AES*      |
| <b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>  | <0,01%                        | ICP-AES*      |
| <b>TiO<sub>2</sub></b>             | 0,0027 ± 0,0002%              | ICP-AES*      |
| <b>Soma</b>                        | 102,7%                        |               |
| <b>Cr</b>                          | 1620 ± 217mg Kg <sup>-1</sup> | ICP-AES*      |
| <b>Ni</b>                          | 3010 ± 733mg Kg <sup>-1</sup> | ICP-SFMS**    |

<sup>#</sup>Tabela adaptada da análise realizada gentilmente por Anna Neubeck e Nils G. Holm. \*Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (Espectroscopia de emissão em plasma acoplado indutivamente). \*\*Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometer (Espectroscopia de massa em plasma acoplado indutivamente).

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012).

### 3.1.3 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água destilada e reagentes de grau analítico (P.A.).

**Soluções de cisteína (720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500 µg mL<sup>-1</sup>)** foram pesados 104,1; 208,2; 312,3; 416,4; 520,5; 624,6; 1445,1; 2530 mg de cisteína (L-Cisteína.HCl.H<sub>2</sub>O, M.M.= 175,63 g mol<sup>-1</sup>), respectivamente, e transferidos para balões volumétricos de 100mL. Em seguida, o volume foi completado com água destilada ou água do mar artificial.

**Solução de cisteína (121,2 mg mL<sup>-1</sup>):** foram pesados 17,56 g de cisteína (L-Cisteína.HCl.H<sub>2</sub>O, M.M.= 175,63 g mol<sup>-1</sup>) e transferidos para um balão volumétrico de 100mL. Em seguida, o volume foi completado com água do mar.

**Solução de p-benzoquinona (0,10 mol L<sup>-1</sup>):** pesou-se 11,0 mg de *p*-benzoquinona para cada 1,0 mL de dimetilsulfóxido.

**Solução de ácido acético (0,10 mol L<sup>-1</sup>):** em um balão volumétrico diluiu-se 2,86 mL de ácido acético concentrado em água destilada e o volume completado para 500,0 mL.

**Solução de HCl (0,10 mol L<sup>-1</sup>):** em um balão volumétrico foram diluídos 8,26 mL de HCl em água destilada e o volume foi completado para 1,0 L.

**Solução de HCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>):** em um balão volumétrico foram diluídos 82,6 mL de HCl (37%) em água destilada e o volume foi completado para 1,0 L.

**Solução de NaOH (0,10 mol L<sup>-1</sup>):** foram pesados 4,00 g de NaOH e transferidos para um balão volumétrico de 1,0 L. Em seguida, o volume foi completado com água destilada.

**Solução de NaOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>):** foram pesados 40,00 g de NaOH e transferidos para um balão volumétrico de 1,0 L. Em seguida, o volume foi completado com água destilada.

**Solução de KOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>):** foram pesados 56,105 g de KOH e transferidos para um balão volumétrico de 1,0 L. Em seguida, o volume foi completado com água destilada.

**Solução de KOH (1,0 mmol L<sup>-1</sup>):** foram pesados 5,61 g de KOH e transferidos para um balão volumétrico de 1,0 L. Em seguida, o volume foi completado com água destilada.

### 3.1.4 Preparo de Amostras

#### 3.1.4a Amostras de Forsterita-91

As amostras de forsterita-91 foram preparadas em três séries diferentes de tubos Falcon de 15 mL (triplicadas), contendo 100,0 mg de forsterita-91, aos quais foram adicionados: 5,0 mL de água destilada; 5,0 mL de água do mar artificial; e 5,0 mL de solução de cisteína dissolvida em água do mar artificial, nas seguintes concentrações: 720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . O pH de todos os tubos foi ajustado para 2,0 e 8,0 pela adição de HCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>) ou NaOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>).

Os tubos foram agitados mecanicamente por 24h a temperatura ambiente. Em seguida, foram centrifugados por 15 min a 3000 rpm e a fase sólida foi separada do sobrenadante. E as fases sólidas e sobrenadantes foram liofilizadas e posteriormente utilizadas para análises de: espectroscopias FT-IR, Raman, Mössbauer e RPE; Difratomia de raios-X, MEV-EDS, Potencial Zeta e PCZ.

#### 3.1.4b Amostras de Cisteína a temperatura ambiente (25 °C)

A cisteína foi dissolvida em água destilada e em água do mar artificial, nas concentrações de 720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As amostras foram submetidas a três tratamentos para cada uma das concentrações de cisteína: no primeiro, em três séries diferentes de tubos Falcon de 15 mL foram adicionados 100,0 mg de forsterita-91 e 5,0 mL das soluções de cisteína em água do mar artificial; no segundo tratamento preparou-se outras três séries de tubos Falcon de 15 mL contendo 5,0 mL das soluções de cisteína dissolvida em água destilada; e no terceiro tratamento mais três séries de tubos Falcon de 15 mL foram preparadas com 5,0 mL das soluções de cisteína em água do mar artificial. O pH de todos os tubos foi ajustado para 2,0 e 8,0 pela adição de HCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>) ou NaOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>).

Todos os tubos foram agitados mecanicamente por 24h a temperatura ambiente, em seguida, foram centrifugados por 15 min a 3000 rpm. Os sólidos e sobrenadantes foram separados e a fase aquosa foi utilizada para análise da concentração de cisteína (UV-Vis). Posteriormente, as fases sólidas e sobrenadantes foram liofilizadas e utilizadas para análises de: espectroscopias FT-IR, Raman, Mössbauer e RPE; Difratomia de raios-X, MEV-EDS, Potencial Zeta e PCZ.

Após as análises por espectroscopia FT-IR e Raman, as amostras sólidas de forsterita-91 foram submetidas à lavagem com água destilada em um sistema de filtração com membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Em seguida, as amostras foram secas em um dessecador e as análises por espectroscopia FT-IR e Raman foram realizadas novamente.

#### 3.1.4c Amostras de Cisteína a 8 °C

Soluções de cisteína foram preparadas em água destilada e água do mar artificial nas concentrações de 720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Preparou-se três séries de tubos Eppendorfs contendo 2,0mL das soluções de cisteína em água do mar artificial (quarto tratamento) e outra série de tubos Eppendorfs, quinto tratamento, contendo 2,0 mL das soluções de cisteína em água destilada. O pH de todos os tubos foi ajustados para 2,0 ou 8,0 pela adição de HCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>) ou NaOH (1,0 mol L<sup>-1</sup>).

Os tubos foram armazenados em um refrigerador a 8 °C por 24h, posteriormente, foram centrifugados por 15 min a 3000 rpm. A fase aquosa foi utilizada para análise da concentração final de cisteína (UV-Vis). Posteriormente as fases (sólida e aquosa) foram liofilizadas e ambas foram utilizadas para análises de espectroscopias FT-IR e Raman.

#### 3.1.5 Equipamentos

Utilizaram-se os seguintes equipamentos para aquisição de dados: espectrofotômetros UV-VIS 1203 e FT-IR 8300 ambos da Shimadzu; espectrômetro Mössbauer convencional; espectrômetro JEOL (JES-PE- 3X); espectrógrafo micro-Raman Renishaw modelo in-Via e um micro-Raman Delta Nu, lasers em 633 e 532nm; difratômetro de raios-X Shimadzu D6000; microscópio Quanta 200 (FEI) Philips acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva de raios-x (EDS) modelo INCA 200; agitador mecânico para tubos (movimento em vertical, 360°); liofilizador Liobras-L101; potenciômetro CQA-pH 2000; e balança analítica AND-HR 200.

Após os processos descritos no item 3.1.4 (Preparo de Amostras) as amostras foram armazenadas em um dessecador e encaminhadas, posteriormente, para cada uma das análises descritas abaixo.

As análises, utilizando-se as espectroscopias UV-Vis, FT-IR, Raman (2ª Parte) e determinação do ponto de carga zero (PCZ), foram realizadas no Departamento de Química, enquanto as análises de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no

Laboratório de Microscopia e Micro análise no Departamento de Biologia e as análises de RPE foram realizadas no Departamento de Física. Todos os laboratórios citados estão localizados na Universidade Estadual de Londrina.

Os experimentos de difratometria de Raios-X foram realizados no COMCAP e espectroscopia de Mössbauer no Departamento de Física, ambos localizados na Universidade Estadual de Maringá.

As análises de espectroscopia Raman foram realizadas (1ª parte) no departamento de Química da Universidade Estadual Paulista, campus de Presidente Prudente-SP. O Potencial Zeta foi medido no Departamento de Química na Universidade Estadual de Santa Catarina (INCT catálise).

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Determinação do Ponto de Carga Zero (PCZ)

Foram preparadas duas séries de tubos, em triplicadas: na primeira 1,0 g de amostra, de forsterita-91 pura e após os tratamentos, sólida liofilizada e 2,5 mL de solução KCl 1.0 mol L<sup>-1</sup>; e na segunda 1,0 g de amostra, de forsterita-91 pura e após os tratamentos, sólida mais 2,5mL de água destilada. Os tubos foram agitados por 24h a temperatura ambiente e em seguida o pH foi medido.

O pH no ponto de carga zero foi calculado através da seguinte equação (UEHARA, 1979):

$$\mathbf{pH}_{\text{pcz}} = 2 \mathbf{pH}_{\text{(KCl 1,0 mol L}^{-1}\text{)}} - \mathbf{pH}_{\text{(água destilada)}} \quad (3)$$

### 3.2.2 Potencial Zeta ( $\zeta$ )

Utilizou-se um Zetaplus Analyzer (Zetaplus, Brookhaven, NY, USA) para realizar as medidas do Potencial Zeta das amostras sólidas em  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . As amostras, de forsterita-91 pura e após os tratamentos, sólidas liofilizadas foram previamente dispersadas em soluções aquosas e posteriormente em solução de KCl (1,0 mmol L<sup>-1</sup>) na proporção de 0.01 m/m%. O pH foi variado de 1,9 a 11,4 utilizando-se soluções de HCl (0,1 mol L<sup>-1</sup>) ou NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>). O pH do ponto isoelétrico (pH<sub>iep</sub>) foi determinado graficamente (Potencial Zeta vs pH).

### 3.2.3 Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

A concentração de cisteína foi determinada por meio do método da *p*-benzoquinona como descrito por ZAIA et al., 1999. A quantidade de espécie adsorvida na argila foi calculada pela seguinte equação:

$$C_{\text{adsorvida}} = C_{\text{inicial}} - C_{\text{solução}}$$

$$C_{\text{solução}} = [(C_{\text{branco}})(\text{Abs}_{\text{amostra}})/(\text{Abs}_{\text{branco}})] \quad (4)$$

Onde, **C** = concentração e **Abs** = absorbância.

### 3.2.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros FT-IR foram obtidos utilizando-se pastilhas de KBr contendo as amostras. Aproximadamente 10 mg de amostra sólida liofilizada e 200 mg de KBr foram pesados e triturados, com um pistilho e um almofariz de ágata, até a completa homogeneização, seguida do preparo de pastilhas. Os espectros foram obtidos na faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ , sendo que cada espectro foi obtido após 98 aquisições.

### 3.2.5 Espectroscopia de espalhamento Raman

Os espectros Raman foram obtidos para as amostras sólidas liofilizadas utilizando-se um espectrógrafo micro-Raman Renishaw in-Via com laser linha 633 nm e um espectrógrafo micro Raman Delta nu com laser linha 532nm, ambos em resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.2.6 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As análises de RPE foram realizadas em espectrômetro JEOL operando em banda-X (9 GHz). O equipamento utilizado consiste basicamente de uma fonte de microonda (Klystron), um eletroímã, uma cavidade ressonante, onde foram introduzidas as amostras sólidas liofilizadas e um sistema de aquisição de dados.

Todas as análises foram realizadas a temperatura ambiente ( $T \approx 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), varredura de 0 a 5130 e modulação de 20 Gauss. Para a calibração do campo magnético utilizou-se um padrão de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), que é um radical livre, com  $g \approx 2,0036$  não associado com as amostras.

### 3.2.7 Espectroscopia Mössbauer

A espectroscopia Mössbauer foi realizada em geometria de transmissão, utilizando-se um espectrômetro Mössbauer convencional operando em modo de aceleração constante. Os raios foram obtidos de uma fonte  $^{57}\text{Co}(\text{Rh})$ . Os espectros Mössbauer foram analisados por uma rotina de mínimos quadrados linear com forma de linha Lorentzianas. Todos os deslocamentos isômeros foram medidos em relação ao  $\alpha\text{-Fe}$ .

### 3.2.8 Difractometria de Raios-X (DRX)

Os Difractogramas de Raios-X foram obtidos em um XRD-6000 Shimadzu, utilizando-se radiação  $\text{CuK}\alpha$  e filtro de níquel, operando a 30mA e 40kV. Os parâmetros de varredura foram fixados em  $0,02 \text{ }^\circ 2\theta$  por 0,6s e amplitude de  $5$  a  $65 \text{ }^\circ 2\theta$ . As amostras sólidas liofilizadas foram colocadas sobre uma lâmina de vidro. Os Difractogramas de raios-X foram analisados pelo software Grams/386 v 4.0 (Galactic Ind. Corp.).

### 3.2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em um microscópio modelo Quanta 200 (FEI) Philips acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva de raios-X (EDS) modelo INCA 200 em 30 KeV. As amostras sólidas liofilizadas foram fixadas sobre o porta amostras em fitas adesivas de carbono e revestidas com uma camada de ouro de 30 nm de espessura.

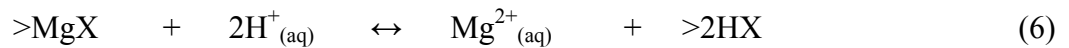
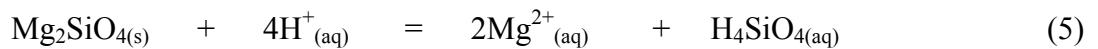
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 INTERAÇÃO DA FORSTERITA-91 COM ÁGUA DESTILADA E ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

#### 4.1.1 pH, pH<sub>pcz</sub> e pH<sub>iep</sub>

A Tabela 2 apresenta os valores de pH das soluções contendo forsterita-91 agitadas por 24h, os valores de pH no ponto de carga zero (pH<sub>pcz</sub>) e os valores do pH no ponto isoelétrico (pH<sub>iep</sub>).

Após a agitação por 24h as amostras de forsterita-91 em água destilada e água do mar artificial inicialmente em pH 2,0 mostraram uma significativa variação nos valores de pH final de 6,70 e 6,53, respectivamente. POKROVSKY e SCHOTT (2000) sugerem que estas elevações nos valores de pH são devido a dissolução congruente estequiométrica (Equação 5); troca estequiométrica entre 2 íons H<sup>+</sup> e um íon Mg<sup>2+</sup> (Equação 6); e adsorção/penetração de íons H<sup>+</sup> nas camadas superficiais da forsterita-91 (Equação 7).



Onde, X=forsterita-91.

POKROVSKY e SCHOTT (2000) omitem o Fe nas reações 5 e 6, entretanto o espectro RPE, das amostras do sobrenadante da forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 e 8,0 (Discussão no item 4.1.5), mostra que Fe<sup>3+</sup>, e não Fe<sup>2+</sup>, está presente na solução.

Para as amostras de forsterita-91 agitadas com água destilada e água do mar artificial inicialmente em pH 8,0 não foram observadas grandes diferenças nos valores do pH final (Tabela 2).

A Tabela 2 mostra que não houve mudanças significativas entre os valores de pH<sub>pcz</sub> da forsterita-91 pura (pH<sub>pcz</sub> = 9,85) e os valores pH<sub>pcz</sub> das amostras de forsterita-91

agitadas com água destilada e água do mar artificial. Isto significa que, mesmo após estes processos, a forsterita-91 manteve a carga superficial positiva para valores de  $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pcz}}$ .

**Tabela 2** - Valores de pH, pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e pH no ponto isoelétrico ( $\text{pH}_{\text{iep}}$ ) das amostras de forsterita-91.

| Amostras                        | Tratamento             | *pH final | ** $\text{pH}_{\text{pcz}}$ | *** $\text{pH}_{\text{iep}}$ |
|---------------------------------|------------------------|-----------|-----------------------------|------------------------------|
| <b>Forsterita-91</b>            | -                      | -         | 9,85                        | 2,30                         |
| <b>Forsterita-91<br/>pH 2,0</b> | H <sub>2</sub> O       | 6,70      | 9,40                        | 3,60                         |
|                                 | Água do mar artificial | 6,53      | 8,65                        | 2,60                         |
| <b>Forsterita-91<br/>pH 8,0</b> | H <sub>2</sub> O       | 8,96      | 9,59                        | 2,72                         |
|                                 | Água do mar artificial | 7,53      | 9,86                        | -                            |

\*pH após as amostras terem sido agitadas por 24 h. \*\*O  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  foi medido como descrito por UEHARA (1979). \*\*\* $\text{pH}_{\text{iep}}$  foi medido como descrito na metodologia.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012).

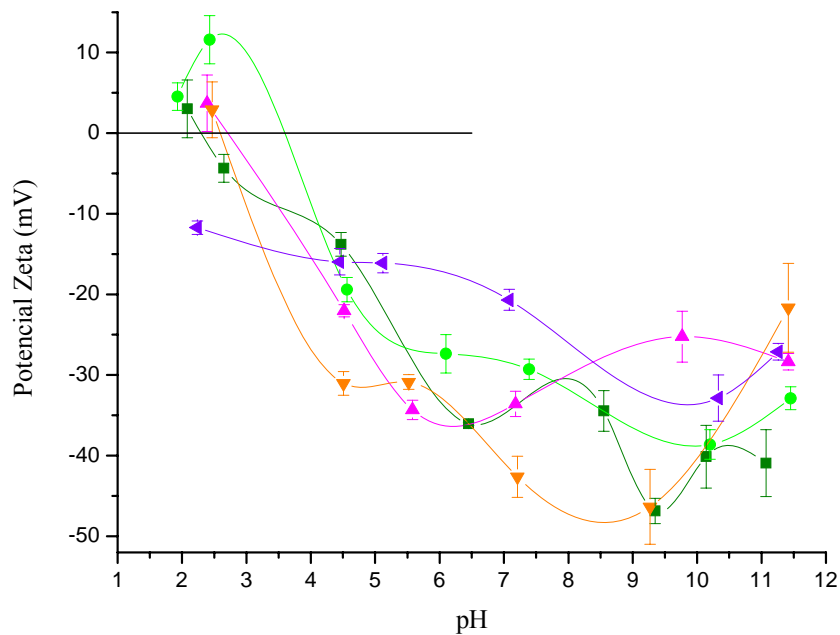
A Figura 3 mostra os gráficos do Potencial Zeta ( $\zeta$ ) em função do pH para amostras de forsterita-91 sólida; forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 e pH 8,0; e forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 e 8,0. Utilizando-se os dados gráficos do Potencial Zeta foi possível determinar o pH no ponto isoelétrico ( $\text{pH}_{\text{iep}}$ ), ou seja pH no qual a carga elétrica do mineral (primeira camada da superfície) é nula (SPOSITO, 2004). Como pode ser observado na Figura 3, com exceção da amostra de forsterita-91 agitada com água do mar em pH 8,0 (que apresentou valores negativos de Potencial Zeta em todo o gradiente de pH, 2,0-11,0), as amostras apresentaram valores positivos de Potencial Zeta em baixos valores de pH. No entanto estes valores de Potencial Zeta diminuíram com o aumento do pH.

Para a forsterita-91 pura, o valor do  $\text{pH}_{\text{iep}}$  encontrado foi de 2,30 (Tabela 2). Esse valor é diferente dos encontrados na literatura de POKROVSKY e SCHOTT, 2000 ( $\text{pH}_{\text{iep}} = 4,4$  a 25 °C), DEJU e BHAPPU, 1966 ( $\text{pH}_{\text{iep}} = 4,1$  a 25 °C) e ISHIDO e MIZUTANI, 1981 ( $\text{pH}_{\text{iep}} = 5,3$  a 40 °C). O item 4.1.6 discutirá a presença de impurezas na forsterita-91, estas impurezas (zeólita P e clinoclóro) podem contribuir para o menor valor do  $\text{pH}_{\text{iep}}$

encontrado para a forsterita-91(2,30), visto que a zeólita P e o clinocloro possuem: carga permanente negativa e valor de  $pH_{iep} < 3$ , respectivamente (ALVAREZ-SILVA et al., 2010).

Já as amostras de forsterita-91 agitadas com água destilada (pH 8,0) e com água do mar artificial (pH 2,0) apresentaram um leve aumento para os valores do  $pH_{iep}$  (2,72 e 2,60). Para a amostra de forsterita-91 agitada com água destilada pH 2,0 o  $pH_{iep}$  foi de 3,60, mostrando um aumento em relação a forsterita-91 pura (Tabela 2). POKROVSKY e SCHOTT (2000) analisaram a forsterita após tratamento ácido e observaram um decréscimo no valor do  $pH_{iep}$  de 4,4 para 2,1.

**Figura 3** - Gráficos do Potencial Zeta ( $\zeta$ ) em função do pH para as amostras de: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-.-.-.-) e 8,0 (-.-.-.-) e forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-.-.-.-) e 8,0 (-.-.-.-). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais água destilada ou água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambos foram liofilizados.



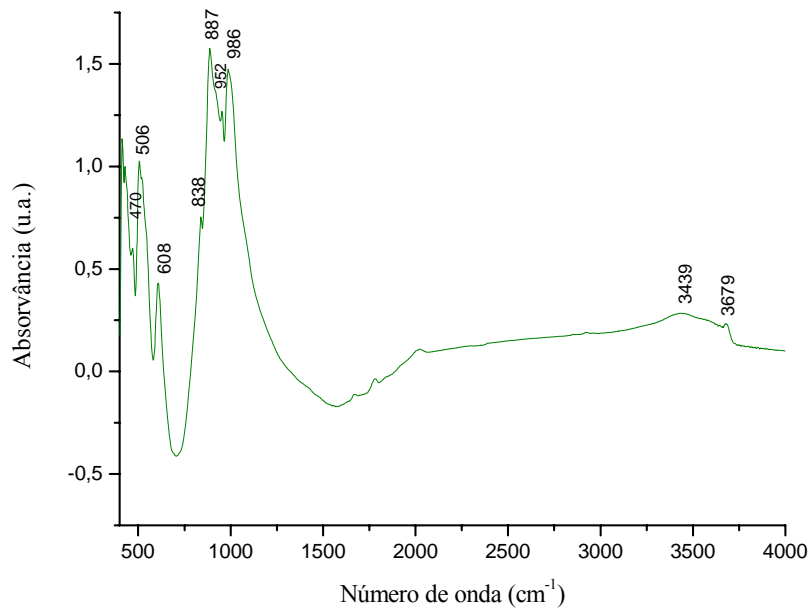
Fonte: Elaborada pelo autor (2012).

#### 4.1.2 Espectroscopia Infravermelho (FT-IR)

Os espectros FT-IR das amostras de forsterita-91 pura e forsterita-91s agitadas com água destilada e água do mar artificial (pH 2,0 e 8,0) são mostrados nas Figuras 4, 5A e 5B.

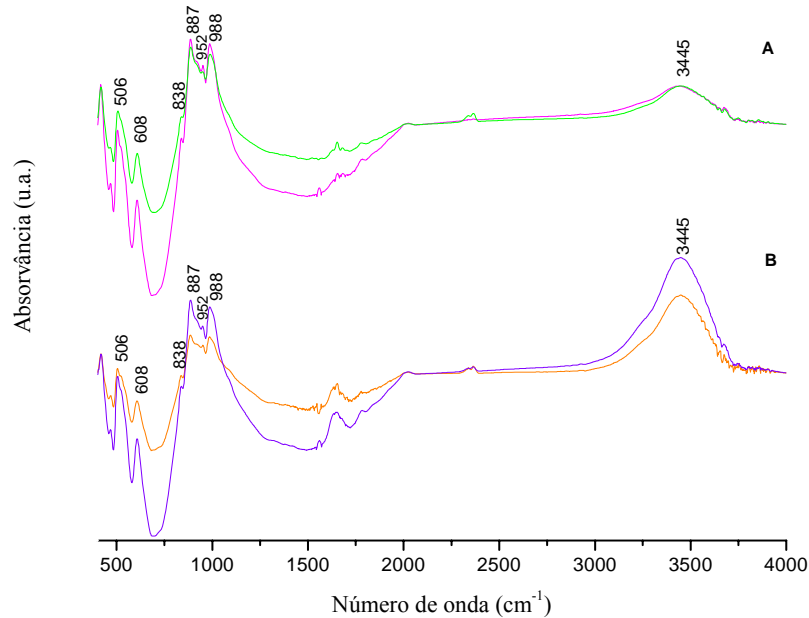
O espectro da forsterita-91 pura mostra bandas em 839, 887, 953 e 987 $\text{cm}^{-1}$ , que são atribuídas aos estiramentos assimétricos Si-O e as bandas em 470, 506 e 608 $\text{cm}^{-1}$  atribuídas as deformações angulares do grupo Si-O (HAMILTON, 2010). Os espectros das amostras de forsterita-91 agitadas com água destilada e água do mar artificial não mostram diferenças ou deslocamentos de bandas em relação ao espectro da forsterita-91 pura, indicando que não houve modificações nas ligações entre os átomos da forsterita-91 após os tratamentos.

**Figura 4.** Espectro FT-IR da forsterita-91 pura (-----).



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

**Figura 5** - Espectros FT-IR das amostras de forsterita-91 agitadas em água destilada pH 2,0 (- - - -) e 8,0 (- - - -). E amostras de forsterita-91 agitadas em água do mar artificial em pH 2,0 (- - - -) e 8,0 (- - - -). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais água do mar artificial (5,0mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.

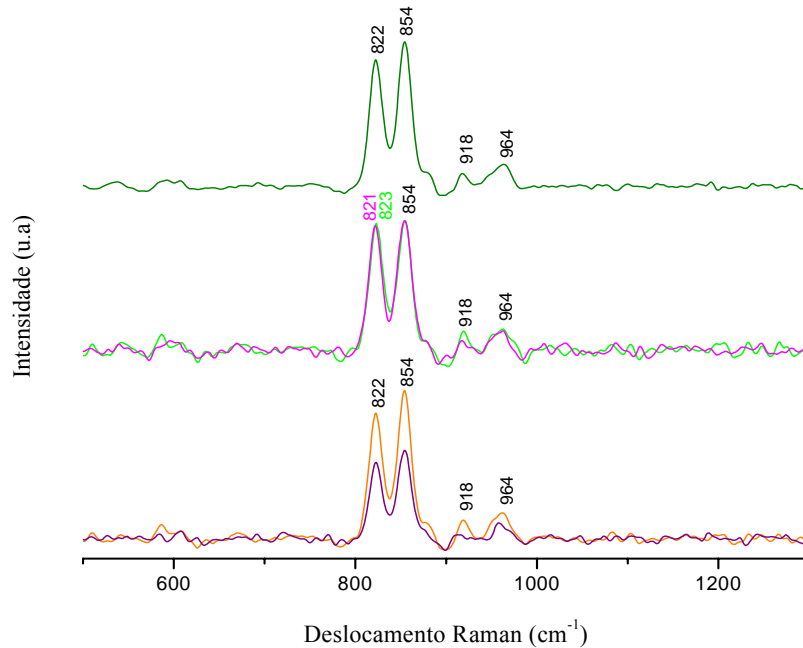


**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.1.3 Espectroscopia Raman

A figura 6 mostra os espectros Raman da forsterita-91, das amostras de forsterita-91 agitadas com água destilada e com água do mar artificial. O espectro Raman da forsterita-91 apresentou duas bandas em 822 e 854  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas aos estiramentos assimétricos Si-O (KOLESOV e GEIGER, 2004; KUEBLER et al., 2006). De acordo com KUEBLER (2006) os deslocamentos destas duas bandas em olivinas são dependentes da razão  $\text{Mg}/(\text{Mg} + \text{Fe})$ . Quando esta razão aumenta, a posição das bandas é deslocada para maiores números de onda. Um pequeno deslocamento foi observado para a amostra de forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (Figura 6), mas não é suficiente para caracterizar uma alteração na razão  $\text{Mg}/(\text{Mg} + \text{Fe})$ .

**Figura 6** - Espectros Raman das amostras: forsterita-91 pura (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-.-.-.-) e 8,0 (-.-.-.-); forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-.-.-.-) e 8,0 (-.-.-.-). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais água destilada e água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separados sólidos dos sobrenadantes e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

O espectro RPE mostrou  $\text{Fe}^{3+}$  no sobrenadante da amostra de forsterita-91 agitada com água do mar artificial (Figura 3b). Além disso, a microanálise utilizando MEV-EDS mostrou Fe e Mg no sobrenadante desta amostra (Tabela 3), indicando que estes íons saem do mineral para a solução. No entanto os espectros Raman destas amostras não apresentaram deslocamento das bandas em 822 e 854  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 6), principalmente, por estas bandas serem atribuídas aos estiramentos Si-O, não permitindo verificar se houve alteração na razão  $\text{Mg}/(\text{Mg} + \text{Fe})$ , como sugerido por KUEBLER et al., 2006.

#### 4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

A Tabela 3 fornece o resultado de microanálises de diversos elementos químicos utilizando MEV-EDS. A microanálise das amostras de forsterita-91 agitadas com água do mar artificial (sólido e sobrenadante) fornecem os seguintes elementos: Na, Cl, S, Ca e K. A presença destes elementos pode ser atribuída à água do mar artificial utilizada nestes experimentos. Os elementos Si, Mg, Fe e Al foram detectados em quase todas as amostras dos

sobrenadantes, devido a dissolução da forsterita-91 (POKROVSKY e SCHOTT, 2000). Os dados estão apresentados na Tabela 3, e em relação à forsterita-91 pura, estão de acordo com os resultados obtidos por Anna Neubeck e Nils G. Holm mostrados na Tabela 1.

A Figura 7 mostra as micrografias de MEV para a forsterita-91 pura (a), forsterita-91 em água destilada pH 2,0 (b) e 8,0 (c) e forsterita-91 em água do mar artificial pH 2,0 (d) e 8,0 (e), todas as imagens foram obtidas por elétrons secundários, com ampliação de 4000x, e energia de 20,0kV. A imagem (c) mostra um intenso processo de dissolução da partícula de forsterita-91. Nota-se que ocorre uma dissolução preferencial em sítios específicos da forsterita-91, resultados semelhantes aos obtidos por WILSON, (2004) e GRANDSTAFF, (1978). AWAD et al. (2000) sugere que, dependendo do plano que é exposto ao intemperismo, ocorre a dissolução de determinados elementos da estrutura da forsterita-91 dando origem a dissolução em sítios e direções específicas. Já no caso das amostras (d) e (e) observa-se que houve precipitações sobre a forsterita-91, provavelmente, Halita (NaCl), que também foi identificada por DRX (Figura 9).

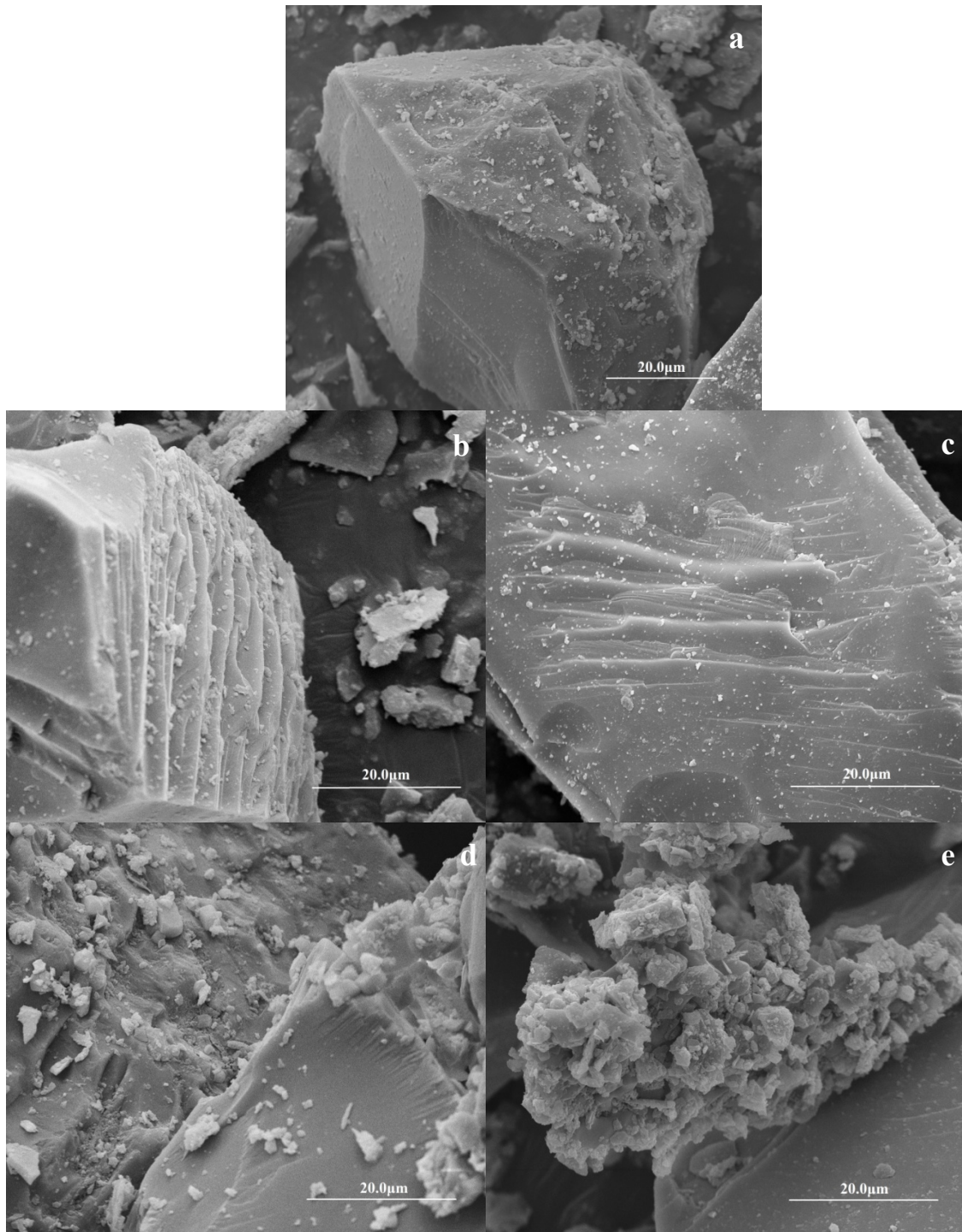
**Tabela 3:** Composição química elementar da forsterita-91 utilizando MEV-EDS.

| Amostras                            | pH Inicial | Estado das amostras | Elementos |   |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |    |   |
|-------------------------------------|------------|---------------------|-----------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|----|---|
|                                     |            |                     | Si        | O | Mg | Fe | Mn | Al | Ni | Na | Cr | Cl | S | Ca | Br | K |
| Olivina                             | -          | Sólido              | +         | + | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +  | -  | - | +  | -  | + |
| Olivina +<br>Água destilada         | 2,00       | Sólido              | +         | + | +  | +  | -  | +  | +  | -  | +  | -  | - | -  | -  | - |
|                                     |            | Sobrenadante        | +         | + | +  | +  | -  | -  | +  | +  | -  | +  | - | -  | -  | - |
|                                     | 8,00       | Sólido              | +         | + | +  | +  | -  | +  | +  | -  | +  | -  | - | -  | -  | - |
|                                     |            | Sobrenadante        | +         | + | +  | +  | -  | +  | -  | -  | -  | +  | - | +  | -  | + |
| Olivina +<br>Água do mar artificial | 2,00       | Sólido              | +         | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +  | + | -  | +  | - |
|                                     |            | Sobrenadante        | +         | + | +  | -  | -  | +  | -  | +  | -  | +  | + | +  | -  | + |
|                                     | 8,00       | Sólido              | +         | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | + | +  | -  | + |
|                                     |            | Sobrenadante        | +         | + | +  | -  | -  | +  | -  | +  | -  | +  | + | +  | -  | + |

Todas as amostras de Olivina (100mg) mais água destilada ou água do mar artificial (5,0 mL) com o pH ajustado em 2,0 ou 8,0 (NaOH 1,0mol L<sup>-1</sup> ou HCl 1,0mol L<sup>-1</sup>) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambas foram liofilizadas.

Fonte: Elaborada pelo autor (2012)

**Figura 7** - Micrografias de microscópio eletrônico de varredura (MEV) das amostras: a) Forsterita-91 pura; b) Forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0; c) Forsterita-91 agitada com água destilada em pH 8,0; d) Forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0; e) Forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 8,0. Com exceção da forsterita-91 pura, todas as amostras foram agitadas por 24h, centrifugadas, separados sólidos dos sobrenadantes e a parte sólida foi liofilizada.

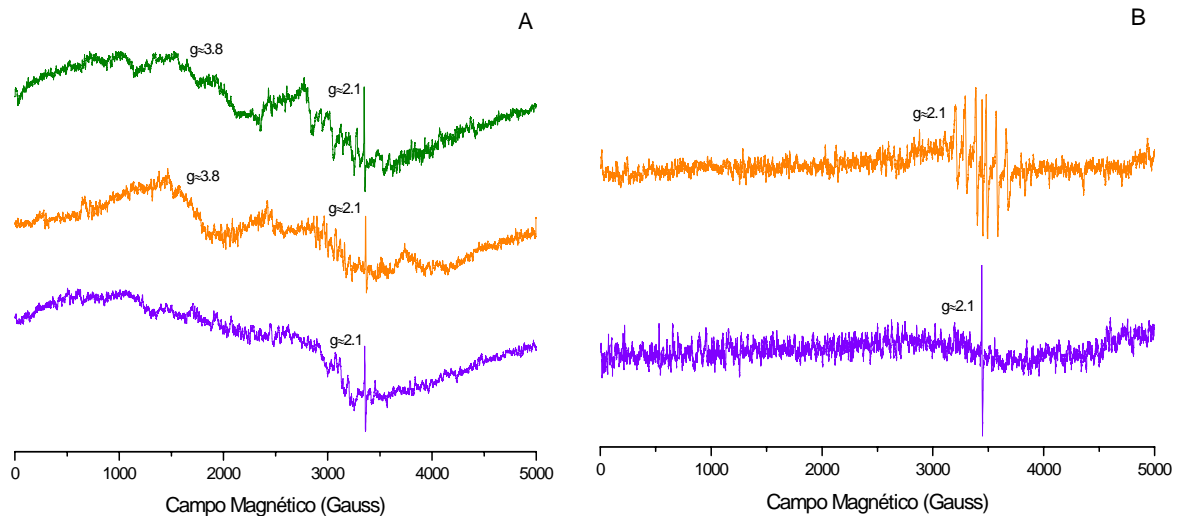


**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.1.5 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As Figuras 8A e 8B mostram os espectros RPE para as amostras de forsterita-91 pura; forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 e pH 8,0; e sobrenadantes das amostras sólidas de forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 e pH 8,0. Em todos os espectros observa-se a presença da linha de ressonância em  $g \approx 2.1$  devido a hidróxidos e óxidos de  $Fe^{3+}$  (GUSKOS et al. 2002; CARBONE et al. 2005; MOTA et al. 2009). O fato da forsterita-91 ser um mineral natural pode explicar a presença de  $Fe^{3+}$  no espectro de RPE (Figura 8A).

**Figura 8** - Espectros EPR: A: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----); B: Sobrenadantes das amostras sólidas de forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambos foram liofilizados.



Fonte: Elaborada pelo autor (2012).

Na Tabela 4 pode-se observar nas amostras sólidas um aumento dos valores de intensidade das linhas de ressonância do  $Fe^{3+}$ , portanto um aumento da quantidade de  $Fe^{3+}$  em relação à forsterita-91 pura e que este aumento é maior nas amostras em pH inicial 2,0. No entanto, a forsterita-91 não contém  $Fe^{3+}$  em sua composição química ( $FeMgSiO_4$ ). Logo a presença de  $Fe^{3+}$  indica que ocorrem processos dissolução e, posteriormente, oxidação do  $Fe^{2+}$  presentes na forsterita-91 e que estes processos são intensificados na presença de água do mar artificial. A presença da linha de ressonância em  $g \approx 2,1$  nos espectros dos sobrenadantes mostra que ocorre a solubilização de Fe nas soluções de água do mar artificial e,

consequentemente, a dissolução da forsterita-91. A dissolução parcial da forsterita-91 é confirmada pela difratometria de raios-X (Item 4.1.6).

**Tabela 4** - Valores de intensidade de linhas de ressonância do  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ .

| <b>Amostras Sólidas</b>           | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 2) | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 3,8) | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 8) | $\text{Mn}^{2+}$ (g $\approx$ 2) |
|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Forsterita-91                     | 0,40                             | 0,30                               | 0,00                             | 0,00                             |
| *Forsterita-91<br>pH 2,0          | 1,34                             | 1,79                               | 0,00                             | 0,00                             |
| *Forsterita-91<br>pH 8,0          | 0,58                             | 0,00                               | 0,00                             | 0,00                             |
| <b>Amostras dos sobrenadantes</b> | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 2) | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 3,8) | $\text{Fe}^{3+}$ (g $\approx$ 8) | $\text{Mn}^{2+}$ (g $\approx$ 2) |
| *Forsterita-91<br>pH 2,0          | 0,35                             | 0,00                               | 0,00                             | 1,08                             |
| *Forsterita-91<br>pH 8,0          | 0,21                             | 0,00                               | 0,00                             | 0,00                             |

\* Amostras de forsterita-91 agitadas com água do mar artificial. Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais solução de água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambas foram liofilizadas.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012).

O espectro, da amostra do sobrenadante da forsterita-91 agitada com água do mar em pH inicial 2,0, mostra a presença de seis linhas de ressonância características do  $\text{Mn}^{2+}$  em g  $\approx$  2, indicando que durante o processo de agitação  $\text{Mn}^{2+}$  é retirado da estrutura da forsterita-91. A presença de Mn na forsterita 91 também foi confirmada nas análises de EDS (Tabela 3) e por ICP (Tabela1).

#### 4.1.6 Difratometria de Raios-X (DRX)

Os difratogramas de raios-X (Figura 9) mostram que a amostra de olivina é uma forsterita-91,  $\text{Mg}_{1,82}\text{Fe}_{0,18}\text{SiO}_4$ , com picos de difração característicos de outros dois minerais: Zeólita P,  $\text{Na}_6(\text{Al}_6\text{Si}_{10}\text{O}_{32})(\text{H}_2\text{O})_{12}$ , e Clinocloro  $(\text{Mg}, \text{Fe}, \text{Al})_6(\text{Si}, \text{Cr})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$ . O aparecimento destes minerais é explicado pela origem natural da forsterita utilizada neste estudo. Forsterita-91 foram caracterizadas como 95% forsterita e 5% outros minerais acessórios (Clinocloro, Piroxênios, Fe-Cr-óxidos, Magnesita, talco, etc.) (CHOPRA e

PATERSON, 1981; NEUBECK et al., 2011). Todos os elementos que compõe os minerais encontrados na forsterita-91 também foram identificados por outras técnicas, ICP-AES (Tabela1) e MEV-EDS (Tabela 3).

Na amostra da forsterita-91 sem tratamento (Figura 9) foram indexados três picos característicos da zeólita P, em 14,4; 20,3 e 32,9 °2θ referentes aos planos 101, 200 e 301, respectivamente (HAKANSSON et al., 1990). Após a agitação da forsterita-91 em água destilada, em pH inicial 2,0 e 8,0, por 24h não houve alterações nas intensidades destes picos. Entretanto, após o processo de agitação da forsterita-91 em água do mar artificial, em pH inicial 2,0 e 8,0, houve decréscimo e desaparecimento destes picos. Este fato indica que ocorre um processo de dissolução da zeólita P na presença de água do mar artificial e que este processo é independente do valor inicial de pH.

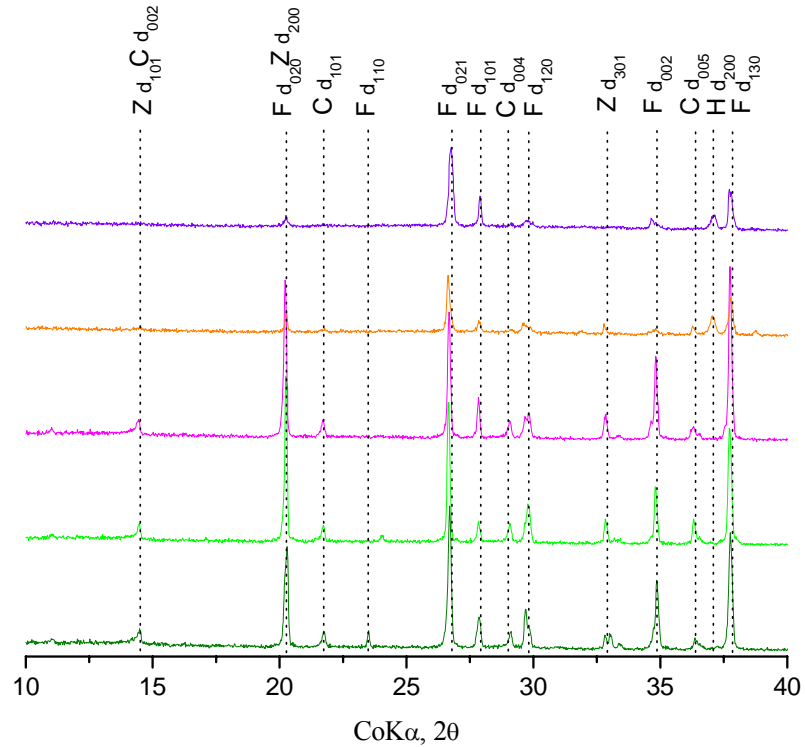
Também foram identificados três picos característicos do clinocloro, na amostra de forsterita-91 sem tratamento, em 14,4; 21,7; 29,1 e 36,4 °2θ. Estes picos são referentes aos planos 002, 101, 004 e 005, respectivamente (LAPHAM, 1958). E, assim como ocorreu com os planos relativos à zeólita P, houve o desaparecimento dos planos do clinocloro após o processo de agitação da forsterita-91 em água do mar artificial por 24h. Portanto, indicando a dissolução do clinocloro em água do mar artificial (pH 2,0 e 8,0). E para ambos os minerais (zeólita e clinocloro) o processo de agitação em água destilada (em ambos os pHs) não culminou na dissolução destes.

Segundo BAÚ et al. (2011) ocorre a total dissolução de zeólita A e um decréscimo da cristalinidade para as zeólitas ZSM- 5 e Y quando estas são agitadas com água do mar artificial em pH inicial 2,0, cujos processos de dissoluções podem ser intensificados ou reduzidos por biomoléculas adsorvidas sobre estes minerais.

Em relação à forsterita-91, observam-se na Figura 9 picos em 20,3; 23,5; 26,8; 27,9; 29,8; 34,8 e 37,9 °2θ referentes aos planos 020, 110, 021, 101, 120, 002 e 130 (YU, 1997). Ao contrário do que ocorreu com a zeólita P e o clinocloro não houve o desaparecimento completo dos picos da forsterita-91, houve apenas uma diminuição em suas intensidades após os processos de agitação com água destilada e água do mar artificial em ambos os pHs. Com exceção do pico em 23,5 °2θ que desapareceu completamente após ambos os tratamentos.

Após o processo de agitação da forsterita-91 em água do mar artificial, em ambos os pHs, houve o aparecimento de um pico em 37,1 °2θ referente ao plano 200 característico de Halita (NaCl), devido a precipitação do NaCl contido na água do mar.

**Figura 9** - Difractogramas de raios-X das amostras de: forsterita-91 sólida (-----); forsterita-91 agitada com água destilada em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----) e forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 2,0 (-----) e 8,0 (-----). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais água destilada ou água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambos foram liofilizados. Onde Z: Zeólita P, C: Clinocloro, H: Halita e F: Forsterita-91.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.1.7 Espectroscopia Mössbauer

Os resultados obtidos, por espectroscopia Mössbauer, para as amostras de forsterita-91 pura e forsterita-91 agitada com água do mar artificial (pH 2,0 e 8,0) são apresentados na Tabela 5. Os resultados mostram a presença somente de  $Fe^{2+}$  em todas as amostras. A não detecção de  $Fe^{3+}$  foi, possivelmente, devido à baixa sensibilidade da técnica ou associado às baixas concentrações de  $Fe^{3+}$  presentes nestas amostras.

**Tabela 5** - Parâmetros hiperfinos de Mössbauer e áreas subspectrais para as amostras de forsterita-91.

|                          | $\Gamma$ (mm/s) | $\delta$ (mm/s) | $\Delta E$ (mm/s) | Bhf (T) | A (%) |
|--------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------|-------|
| Forsterita-91            | 0,31            | 1,14            | 3,01              | -----   | 100   |
| Forsterita-91<br>pH= 2,0 | 0,29            | 1,15            | 2,98              | -----   | 100   |
| Forsterita-91<br>pH= 8,0 | 0,29            | 1,14            | 3                 | -----   | 100   |

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

## 4.2 INTERAÇÃO DA CISTEÍNA COM FORSTERITA-91, COM ÁGUA DESTILADA E COM ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

### 4.2.1 Resultados Quantitativos

A análise quantitativa da recuperação de cisteína foi dividida em cinco partes ou tratamentos para melhor compreensão dos resultados obtidos. Seguem-se as descrições dos tratamentos e resultados.

Primeiramente, a Tabela 6 mostra os valores das concentrações de cisteína recuperadas após o processo de agitação por 24h. As soluções de cisteína dissolvidas em água do mar artificial, com concentrações iniciais de 720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , foram agitadas com 100 mg de forsterita-91 em dois valores de pHs iniciais, 2,0 e 8,0.

Os resultados mostram que somente para a concentração mais alta (17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) houve recuperação de cisteína para os dois valores de pH iniciais, pH 2,0 ( $12,74 \pm 0,63\%$ ) e pH 8,0 ( $8,27 \pm 4,18$ ). Contudo, para os outros valores de concentrações iniciais não houve recuperação de cisteína em ambos os valores de pHs e análises de FT-IR (Item 4.2.3) mostram que a cisteína reagiu formando cistina.

Outro dado relevante, presente na Tabela 6, é a variação do pH inicial de 2,0 para valores de, aproximadamente, 6,0. POKROVSKY e SCHOTT (2000) sugerem que esse aumento nos valores de pH para forsterita-91 em solução são devidos a três efeitos: dissolução congruente estequiométrica (Equação 5); troca estequiométrica entre 2 íons  $\text{H}^+$  e um íon  $\text{Mg}^{2+}$  (Equação 6); e adsorção/penetração de íons  $\text{H}^+$  nas camadas superficiais da forsterita-91 (Equação 7).

**Tabela 6** - Forsterita-91 + cisteína em água do mar artificial agitada por 24h a 25 °C.

| [Cys] Inicial<br>( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) | Cys*<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final*       | Cys**<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final**      |
|--|-----------------------------------|-----------------|------------------------------------|-----------------|
| 1440                                       | nd (3)                            | 5,74 $\pm$ 0,13 | nd (3)                             | 8,78 $\pm$ 0,07 |
| 2160                                       | nd (3)                            | 6,37 $\pm$ 0,25 | nd (3)                             | 8,66 $\pm$ 0,1  |
| 2880                                       | nd (3)                            | 6,35 $\pm$ 0,2  | nd (3)                             | 8,61 $\pm$ 0,02 |
| 3600                                       | nd (3)                            | 6,32 $\pm$ 0,23 | nd (3)                             | 8,66 $\pm$ 0,03 |
| 4320                                       | nd (3)                            | 6,09 $\pm$ 0,28 | nd (3)                             | 8,70 $\pm$ 0,03 |
| 10000                                      | nd (3)                            | 6,13 $\pm$ 0,26 | nd (3)                             | 8,85 $\pm$ 0,03 |
| 17500                                      | 12,74 $\pm$ 0,63                  | 6,05 $\pm$ 0,16 | 8,27 $\pm$ 4,18                    | 9,26 $\pm$ 0,03 |

nd = não detectado. \*pH Inicial 2,0. \*\* pH Inicial 8,0. <sup>#</sup> Média  $\pm$  desvio da média, o número de repetições é dado entre parênteses.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

No segundo tratamento, soluções de cisteína dissolvidas em água do mar artificial (720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), foram agitadas por 24h (sem forsterita-91) em dois valores de pHs iniciais, 2,0 e 8,0.

A Tabela 7 mostra os valores de cisteína recuperados após a agitação. Para as amostras com pH inicial 2,0 não houve variações significativas nos valores de pH final, porém houve quase total recuperação da cisteína. Isto pode ter ocorrido devido a uma proteção no grupo sulfidríla da cisteína, já que para valores de pH em torno de 2,0 o grupo

sulfidrila da cisteína encontra-se protonado e, portanto, indisponível para reagir e formar cistina. A Figura 10 mostra os valores de pKas da cisteína e suas respectivas estruturas).

**Tabela 7 -** Cisteína em água do mar artificial agitada por 24h a 25 °C.

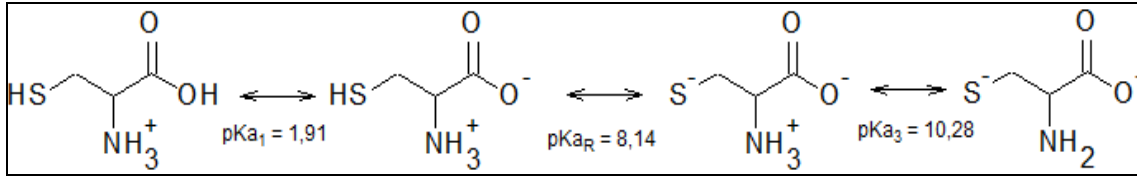
| [Cys] Inicial<br>( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) | Cys*<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final        | Cys**<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final        |
|--|-----------------------------------|-----------------|------------------------------------|-----------------|
| 1440                                       | 106,6 $\pm$ 1,4 (3)               | 2,25 $\pm$ 0,25 | nd (3)                             | 8,57 $\pm$ 0,1  |
| 2160                                       | 105,4 $\pm$ 1,02 (3)              | 2,25 $\pm$ 0,31 | nd (3)                             | 8,53 $\pm$ 0,1  |
| 2880                                       | 101,9 $\pm$ 0,5 (3)               | 2,30 $\pm$ 0,31 | nd (3)                             | 8,49 $\pm$ 0,07 |
| 3600                                       | 110,4 $\pm$ 6,94 (3)              | 2,16 $\pm$ 0,30 | nd (3)                             | 8,62 $\pm$ 0,08 |
| 4320                                       | 99,1 $\pm$ 3,50 (3)               | 2,20 $\pm$ 0,32 | nd (3)                             | 8,80 $\pm$ 0,03 |
| 10000                                      | 105,1 $\pm$ 3,37(3)               | 2,18 $\pm$ 0,32 | nd (3)                             | 9,04 $\pm$ 0,01 |
| 17500                                      | 102,0 $\pm$ 1,21 (3)              | 2,23 $\pm$ 0,3  | 6,53 $\pm$ 3.60 (3)                | 9,22 $\pm$ 0,02 |

nd = não detectado. \*pH Inicial 2,0. \*\* pH Inicial 8,0. <sup>#</sup> Média  $\pm$  desvio da média, o número de repetições é dado entre parênteses.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Já em pH 8,0 houve recuperação de cisteína somente para a amostra de concentração mais alta (17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), de 6,53  $\pm$  3.60% de cisteína. Os valores dos pHs finais das amostras com pH inicial 8,0 não sofreram alterações significativas. E a formação de cistina foi confirmada nas análises FT-IR (Item 4.2.3).

**Figura 10** - Valores de pKa para a Cisteína. Ponto isoelétrico da cisteína é de 5,07 (LIDE, 2009).



Fonte: Elaborada pelo autor (2012)

Os resultados de recuperação da cisteína em água do mar artificial na presença e ausência de forsterita-91 e mostrou diferenças significativas nas amostras com pH inicial 2,0, uma vez que na presença de forsterita-91 não houve recuperação de cisteína (pH final entre 5,74 e 6,37), e que na ausência do mineral (pH final entre 2,16 e 2,30) houve recuperação total da cisteína em solução.

Este resultado ocorreu devido a influência da forsterita-91 sobre o pH do sistema, pois o mineral eleva o pH do sistema desprotonando o grupo sulfidríla da cisteína (Figura 10) e permitindo a oxidação da cisteína à cistina.

As amostras com pH inicial e final em torno de 8,0, em ambos os tratamentos, não obtiveram recuperações de cisteína, o que indica a influência do pH básico na formação da cistina. Outro ponto considerável, em ambos os tratamentos, foram as amostras de concentração inicial  $17500 \mu\text{g mL}^{-1}$  com pH inicial 8,0, que apresentaram discretas recuperações de cisteína, indicando, provavelmente, um efeito da concentração no equilíbrio da reação de oxidação de cisteína à cistina.

No tratamento três, as soluções de cisteínas foram dissolvidas em água destilada (ao invés de água do mar artificial como nos dois primeiros tratamentos) nas concentrações iniciais de 720; 1440; 2160; 2880; 3600; 4320; 10000 e  $17500 \mu\text{g mL}^{-1}$  e agitadas por 24h (sem forsterita-91) em dois valores de pH iniciais, 2,0 e 8,0.

Os resultados (Tabela 8) mostram que, em pH inicial 2,0, houve a recuperação quase total da cisteína, assim como no segundo tratamento e que em pH inicial 8,0 houve recuperações não lineares entre 20% a 70% de cisteína. Na amostra com concentração inicial de  $17500 \mu\text{g mL}^{-1}$  obteve-se, proporcionalmente, a menor recuperação de cisteína ( $23,84 \pm 4,67\%$ ) e a amostra com concentração inicial de  $2160 \mu\text{g mL}^{-1}$  obteve, proporcionalmente, a maior recuperação de cisteína ( $71,11 \pm 2,43\%$ ). Em relação aos valores de pHs não houve diferenças significativa entre os valores de pHs iniciais (2,0 e 8,0) e finais.

**Tabela 8** - Amostras de cisteína em água destilada agitada por 24h a 25 °C

| [Cys] Inicial<br>( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) | Cys*<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final           | Cys**<br>após 24h (%) <sup>#</sup> | pH Final        |
|--|-----------------------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------|
| 1440                                       | 97,0 $\pm$ 2,68 (3)               | 2,54 $\pm$<br>0,38 | 58,78 $\pm$ 7,41 (3)               | 8,58 $\pm$ 0,32 |
| 2160                                       | 95,66 $\pm$ 2,03 (3)              | 2,45 $\pm$<br>0,41 | 71,11 $\pm$ 2,43 (3)               | 8,43 $\pm$ 0,25 |
| 2880                                       | 99,17 $\pm$ 3,35 (3)              | 2,41 $\pm$<br>0,28 | 36,59 $\pm$ 3,57 (2)               | 8,99 $\pm$ 0,05 |
| 3600                                       | 102,7 $\pm$ 7,18 (3)              | 2,55 $\pm$<br>0,25 | 43,35 $\pm$ 7,68 (2)               | 8,72 $\pm$ 0,32 |
| 4320                                       | 96,44 $\pm$ 1,22 (3)              | 2,41 $\pm$<br>0,29 | 34,95 $\pm$ 5,58 (2)               | 8,74 $\pm$ 0,19 |
| 10000                                      | 95,93 $\pm$ 2,24 (3)              | 2,18 $\pm$<br>0,34 | 31,48 $\pm$ 3,51 (3)               | 8,97 $\pm$ 0,18 |
| 17500                                      | 87,82 $\pm$ 4,87 (3)              | 2,31 $\pm$<br>0,46 | 23,84 $\pm$ 4,67 (2)               | 9,17 $\pm$ 0,24 |

nd = não detectado. \*pH Inicial 2,0. \*\* pH Inicial 8,0. <sup>#</sup> Média  $\pm$  desvio da média, o número de repetições é dado entre parênteses.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Na comparação dos resultados obtidos, do terceiro com os dois primeiros tratamentos com forsterita-91 em água do mar e somente em água do mar, observa-se que além do efeito da forsterita-91 e do pH final do sistema (discutido acima) também ocorre um efeito dos sais contidos na água do mar artificial, pois nas amostras sem água do mar artificial, houve recuperação de cisteína para as amostras com pH inicial 8,00, enquanto que nos tratamentos um e dois esta recuperação foi nula.

Já nas amostras com pH inicial 2,0 ocorreu uma ligeira diminuição nos valores de recuperação de cisteína em relação ao segundo tratamento. Portanto, os sais presentes na água do mar artificial alteram a força iônica do sistema e podem agir como catalisadores para a oxidação de cisteína à cistina (ISON et al., 2006).

A interação entre cisteína e  $\text{Na}^+$  (um dos principais componentes da água do mar artificial utilizada neste estudo) foi estudada por KISH et al., 2003, que mostra que existe uma baixa afinidade entre o íon  $\text{Na}^+$  (ácido duro) e o grupo S-H da cisteína (base mole). Segundo PEARSON, 1963 ácidos duros interagem preferencialmente com bases duras e o mesmo princípio é aplicado aos ácidos e bases moles. Este fato indica que, mesmo na presença da água do mar artificial o grupo S-H da cisteína pouco interagem com o íon  $\text{Na}^+$  (maior constituinte) ficando disponível para interagir e formar a cistina.

No quarto e quinto tratamentos as soluções que foram utilizadas no segundo e terceiro tratamentos, respectivamente, foram armazenadas por 24h (o mesmo tempo de agitação para os tratamentos dois e três) em um refrigerador a temperatura de 8 °C sem agitação.

Os resultados da recuperação de cisteína e os valores finais dos pHs, para os tratamentos quatro e cinco, são mostrados nas Tabelas 9 e 10. Assim como ocorreu para os tratamentos dois e três, não houve alteração entre os valores de pHs iniciais e finais. Tanto para o quarto quanto para o último tratamento as amostras em pH inicial 2,0 apresentaram recuperação total das concentrações de cisteína iniciais. Este fato mostra que, sem agitação e a 8 °C, a cisteína não reagiu, independente do meio em que se encontra (presença ou ausência de sais) em pH 2,0.

Em relação aos tratamentos quatro e cinco, as amostras com pH inicial 8,0 apresentaram um decréscimo nos valores das concentrações recuperadas, cujo decréscimo foi maior nas amostras com água do mar artificial. Este fato indica que há uma influência dos sais contidos nas soluções de água do mar artificial, além da influência do pH básico e mesmo em baixa temperatura e sem agitação ocorre a reação da cisteína formando cistina.

Um modo para explicar a reatividade da cisteína em pHs neutro e básico está presente na Figura 10, a qual apresenta os valores de pKa para a cisteína. Nota-se, que quanto mais próximos os valores de pH de 8,33 (pKa do grupo tiol, S-H) mais moléculas de cisteínas terão o grupo tiol desprotonado, isto é, livre para reagir (oxidação) e formar cistina. Este dado também pode explicar, para todos os tratamentos discutidos, o porquê dos menores valores de recuperação de cisteína obtidos somente nas amostras com pH final e inicial em torno de 8,0.

Outro fato que pode ter uma grande influência sobre a reação da cisteína formando cistina é a solubilidade, pois solubilidade da cistina é muito baixa em solução aquosa,  $7,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , LIDE, 2009.

KÖNIGSBERGER et al. (2000) relatam que a solubilidade da cistina em soluções de NaCl ( $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ) é de  $0,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a 25 °C e de  $0,83 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a 40 °C,

e que estes valores de solubilidade são dependentes do pH, diminuindo para pHs entre 3,5 e 7,0. APRUZZESE et al. (2002) também estudaram a solubilidade da cistina em soluções de NaCl e observaram que a solubilidade da cistina é dependente da concentração de NaCl. Em soluções de NaCl 0,15; 0,50 e 3,0 mol L<sup>-1</sup> os valores de solubilidade para a cistina são de 8,32 x 10<sup>-4</sup>; 9,55 x 10<sup>-4</sup> e 1,62 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>. Logo, mesmo com o aumento da solubilidade da cistina na presença de sais, a precipitação de cistina poderia deslocar o equilíbrio e aumentar o consumo de cisteína.

**Tabela 9** - Cisteína em água do mar artificial refrigerada (8 °C) sem agitação por 24h.

| [Cys] Inicial<br>(µg mL <sup>-1</sup> ) | Cys*<br>após 24h (%)# | pH Final    | Cys**<br>após 24h (%)# | pH Final    |
|---|-----------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 1440                                    | 105,7 ± 2,35 (3)      | 2,96 ± 0,08 | 70,44 ± 9,47<br>(2)    | 8,63 ± 0,17 |
| 2160                                    | 105,12 ± 2,38<br>(3)  | 2,96 ± 0,02 | 45,98 ± 9,10<br>(3)    | 8,4 ± 0,19  |
| 2880                                    | 104,56 ± 2,46<br>(3)  | 2,96 ± 0,07 | 73,51 ± 16,51<br>(3)   | 8,61 ± 0,05 |
| 3600                                    | 110,47 ± 6,57<br>(3)  | 2,84 ± 0,08 | 58,37 ± 7,44<br>(3)    | 8,1 ± 0,19  |
| 4320                                    | 104,07 ± 2,14<br>(3)  | 2,81 ± 0,08 | 74,25 ± 1,77<br>(3)    | 8,68 ± 0,17 |
| 10000                                   | 101,40 ± 2,24<br>(3)  | 2,69 ± 0,12 | 76,95 ± 5,63<br>(3)    | 8,54 ± 0,09 |
| 17500                                   | 100,13 ± 1,62<br>(3)  | 2,64 ± 0,05 | 88,40 ± 2,07<br>(3)    | 8,98 ± 0,07 |

nd = não detectado. \*pH Inicial 2,0. \*\* pH Inicial 8,0. # Média ± desvio da média, o número de repetições é dado entre parênteses.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

**Tabela 10** - Amostras de cisteína em água destilada, refrigerada (8 °C) sem agitação por 24h.

| [Cys] Inicial<br>( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) | Cys*<br>após 24h (%)#    | pH Final           | Cys**<br>após 24h (%)#   | pH Final        |
|--|--------------------------|--------------------|--------------------------|-----------------|
| 1440                                       | 95,72 $\pm$ 1,92<br>(3)  | 3,28 $\pm$ 0,4     | 85,81 $\pm$ 0,81<br>(3)  | 8,04 $\pm$ 0,57 |
| 2160                                       | 100,20 $\pm$ 2,64<br>(3) | 3,06 $\pm$<br>0,26 | 91,44 $\pm$ 1,49<br>(2)  | 8,36 $\pm$ 0,17 |
| 2880                                       | 100,93 $\pm$ 3,99<br>(3) | 2,94 $\pm$<br>0,08 | 74,15 $\pm$ 7,52<br>(3)  | 8,55 $\pm$ 0,17 |
| 3600                                       | 105,39 $\pm$ 7,02<br>(3) | 3,0 $\pm$ 0,02     | 79,29 $\pm$ 13,36<br>(3) | 8,65 $\pm$ 0,37 |
| 4320                                       | 98,70 $\pm$ 2,75<br>(3)  | 2,8 $\pm$ 0,11     | 82,26 $\pm$ 1,22<br>(2)  | 8,32 $\pm$ 0,02 |
| 10000                                      | 99,94 $\pm$ 4,25<br>(3)  | 2,39 $\pm$<br>0,03 | 83,11 $\pm$ 2,32<br>(3)  | 8,8 $\pm$ 0,13  |
| 17500                                      | 99,77 $\pm$ 3,86<br>(3)  | 2,32 $\pm$<br>0,13 | 89,85 $\pm$ 2,18<br>(3)  | 9,07 $\pm$ 0,03 |

nd = não detectado. \*pH Inicial 2,0. \*\* pH Inicial 8,0. # Média  $\pm$  desvio da média, o número de repetições é dado entre parênteses.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.2.2 $\text{pH}_{\text{pcz}}$ e $\text{pH}_{\text{iep}}$

Os valores de  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  e  $\text{pH}_{\text{iep}}$  foram obtidos para as amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água destilada e água do mar artificial e para as amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína ( $121,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial estão apresentados na Tabela 11.

A Figura 11 mostra os gráficos de Potencial Zeta versus pH para as amostras citadas acima. Através desse gráfico pôde-se determinar os valores de  $\text{pH}_{\text{iep}}$ , em que a mobilidade eletroforética do coloide é nula. Além de permitir uma visualização do comportamento das amostras em relação ao gradiente de pH, pois para valores positivos e

negativos de Potencial Zeta, têm-se coloides com cargas positivas e negativas na interface da dupla camada elétrica (SPOSITO, 2004).

**Tabela 11** - Valores de pH final, pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e pH no ponto isoelétrico ( $\text{pH}_{\text{iep}}$ ) das amostras de forsterita-91 e cisteína.

| Amostra  | Meio                   | *pH final | ** $\text{pH}_{\text{PCZ}}$ | *** $\text{pH}_{\text{iep}}$ |
|--|------------------------|-----------|-----------------------------|------------------------------|
| <b>Forsterita-91 + Cys</b><br><b>[0.720 mg mL<sup>-1</sup>]</b><br><b>pH 2,0</b> | H <sub>2</sub> O       | 6,92      | 8,94                        | 2,86                         |
|  | Água do mar artificial | 5,46-6,12 | 8,55                        | -                            |
| <b>Forsterita-91 + Cys</b><br><b>[0.720 mg mL<sup>-1</sup>]</b><br><b>pH 8,0</b> | H <sub>2</sub> O       | 8,47      | 9,22                        | 2,80                         |
|  | Água do mar artificial | 8,50-8,90 | 9,35                        | 3,17                         |
| <b>Forsterita-91 + Cys</b><br><b>[121.2 mg mL<sup>-1</sup>]</b><br><b>pH 2,0</b> | Água do mar artificial | 5,47-5,52 | 5,20                        | -                            |
| <b>Forsterita-91 + Cys</b><br><b>[121.2 mg mL<sup>-1</sup>]</b><br><b>pH 8,0</b> | Água do mar artificial | 7,98-8,09 | 8,34                        | -                            |

\*pH após as amostras terem sido agitadas por 24 h. \*\*O  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  foi medido como descrito por UEHARA (1979).  
\*\*\* $\text{pH}_{\text{iep}}$  foi medido como descrito na metodologia.

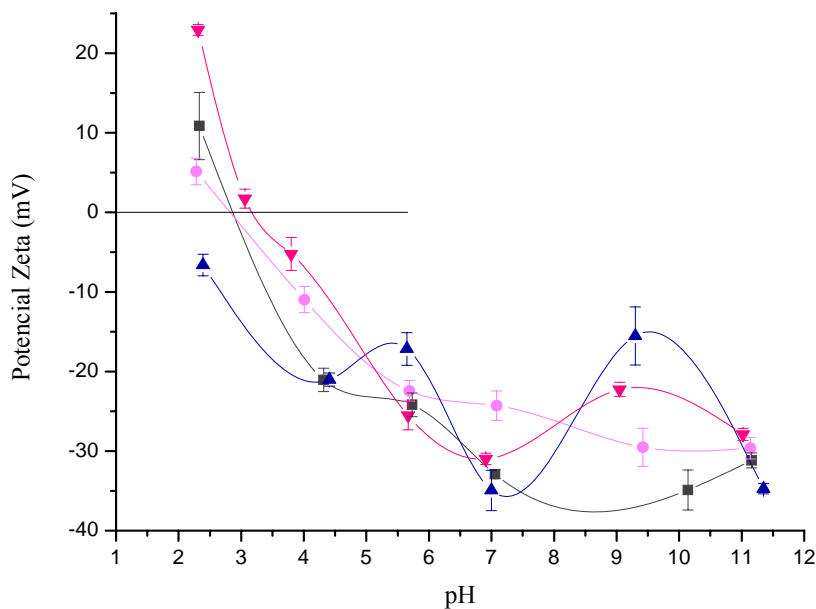
Fonte: Elaborada pelo autor (2012)

Os valores do  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  não apresentaram mudanças significativas nas amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial e água destilada para ambos os valores de pHs iniciais. Em relação ao  $\text{pH}_{\text{iep}}$  da forsterita-91 pura (Tabela 2) houve um leve aumento nos valores do  $\text{pH}_{\text{iep}}$  obtidos nestas amostras, com exceção da amostra de forsterita-91 agitada com cisteína em água do mar artificial, pH inicial 8,0, que não apresentou valor de  $\text{pH}_{\text{iep}}$  e tem valores negativos de potencial Zeta para todo o gradiente de pH, 2,0 a 11,0. Este fato pode ser visto mais claramente na Figura 11, que mostra a variação do potencial Zeta em função do pH e o ponto no qual o potencial Zeta é nulo.

Nos resultados das amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína ( $121,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial, os valores de  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  (Tabela 11) mostram que houve uma significativa redução para a amostra com pH inicial 2,0 em relação ao  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  da forsterita-91 pura de 9,85 para 5,20. Este resultado indica que nesta amostra houve um aumento da faixa de pH ( $\text{pH} > 5,20$ ), cuja amostra tem partículas com carga superficial negativa. Em relação ao

$\text{pH}_{\text{iep}}$  estas amostras não apresentaram valores de  $\text{pH}_{\text{iep}}$ , indicando que para todo o gradiente de pH (2 à 11) estas apresentam valores negativos de potencial Zeta.

**Figura 11** - Gráfico do Potencial Zeta em função do pH para as amostras de: forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água destilada ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 (----) e pH 8,0 (-----) e com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (-----). Todas as amostras de Forsterita-91 (100,0 mg) mais soluções de cisteína em água destilada e água do mar artificial (5,0mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambas foram liofilizadas.

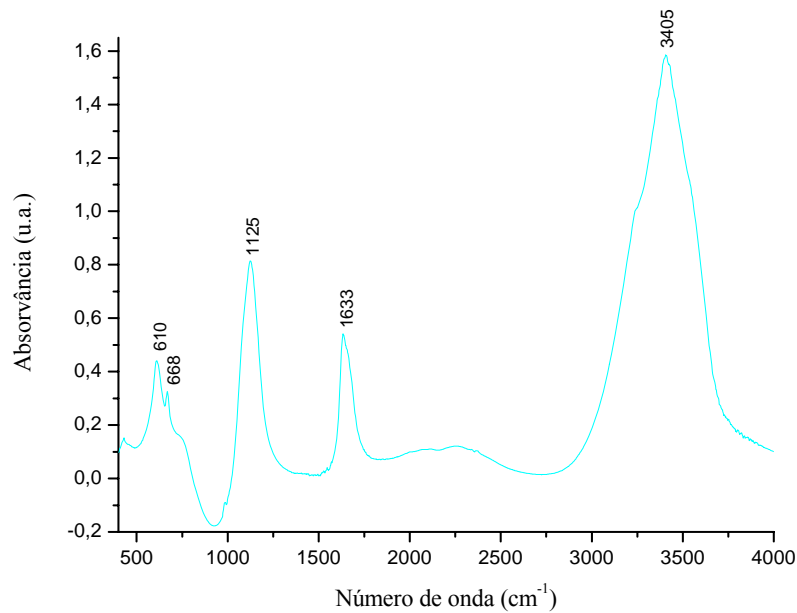


**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.2.3 Espectroscopia Infravermelho (FT-IR)

O espectro FT-IR da amostra de água do mar artificial liofilizada (Figura 12) mostra as bandas em  $610$ ,  $668$  e  $1125 \text{ cm}^{-1}$ , que são atribuídas aos íons sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), presente na composição da água do mar artificial na forma dos sais  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaSO}_4$  e  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (COLTHUP, 1964). Conhecer a localização das bandas destes sais facilita a discussão sobre as amostras sobrenadantes que contenham água do mar artificial, permitindo a distinção destas e as bandas da cisteína ou cistina.

**Figura 12** - Espectro FT-IR da amostra de água do mar artificial liofilizada.

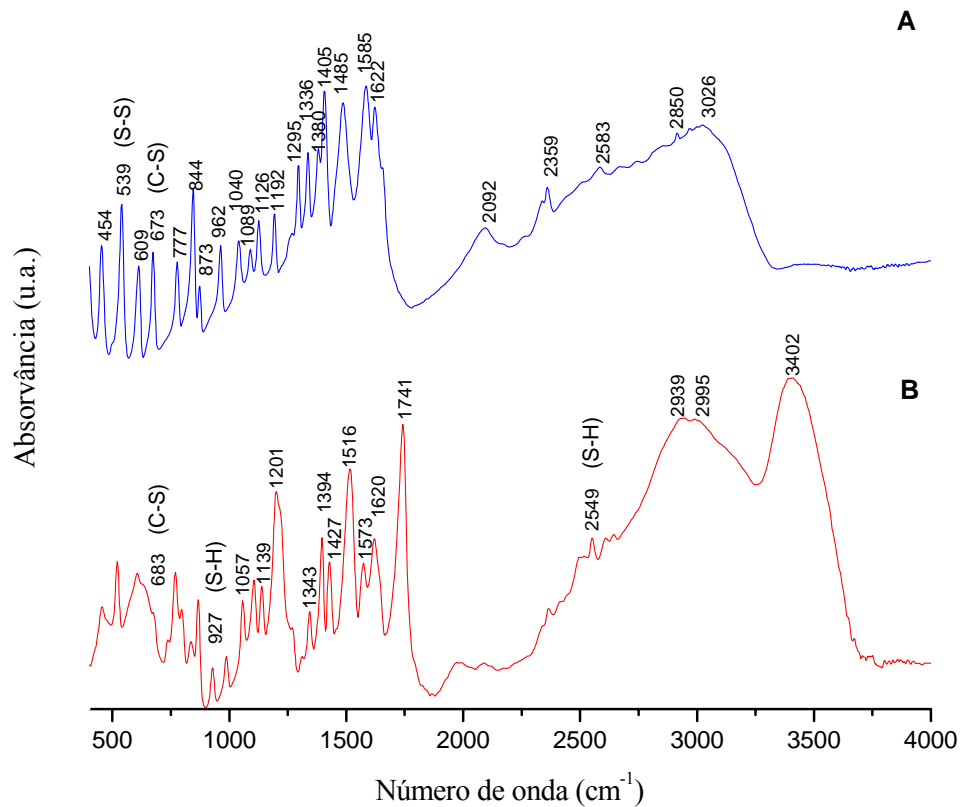


**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

O espectro FT-IR da cistina está ilustrado na Figura 13A. As seguintes bandas foram identificadas neste espectro, 539, 673, 777, 844, 1336, 1380, 1405, 1622, 3026  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas aos estiramentos S-S e C-S, deformação angular fora do plano e no plano N-H, estiramento simétrico C-C, deformação angular C-H, deformação angular C-H + estiramento  $\text{COO}^-$ , deformação angular  $\text{NH}_2$  e estiramento C-H, respectivamente (GIRIJA et al., 1995; CHURCH e EVANS, 2008).

Já o espectro FT-IR, Figura 13B, mostra as bandas características da cisteína em 683, 939, 1057, 1139, 1343, 1394, 1573/1620, 1741, 2549, 2939/2995 e 3402  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas aos seguintes modos vibracionais: estiramento C-S, deformação angular S-H,  $\text{NH}_3$  rock, deformação angular simétrica  $\text{NH}_3$ , estiramento simétrico  $\text{CO}_2$ , deformação angular assimétrica  $\text{NH}_3$ , estiramento assimétrico  $\text{CO}_2$ , estiramento S-H, estiramentos assimétricos  $\text{CH}_2$  e estiramento assimétrico  $\text{NH}_3$ , respectivamente (PAWLUKOJĆ et al., 2005; WOLPERT e HELLWIG, 2006).

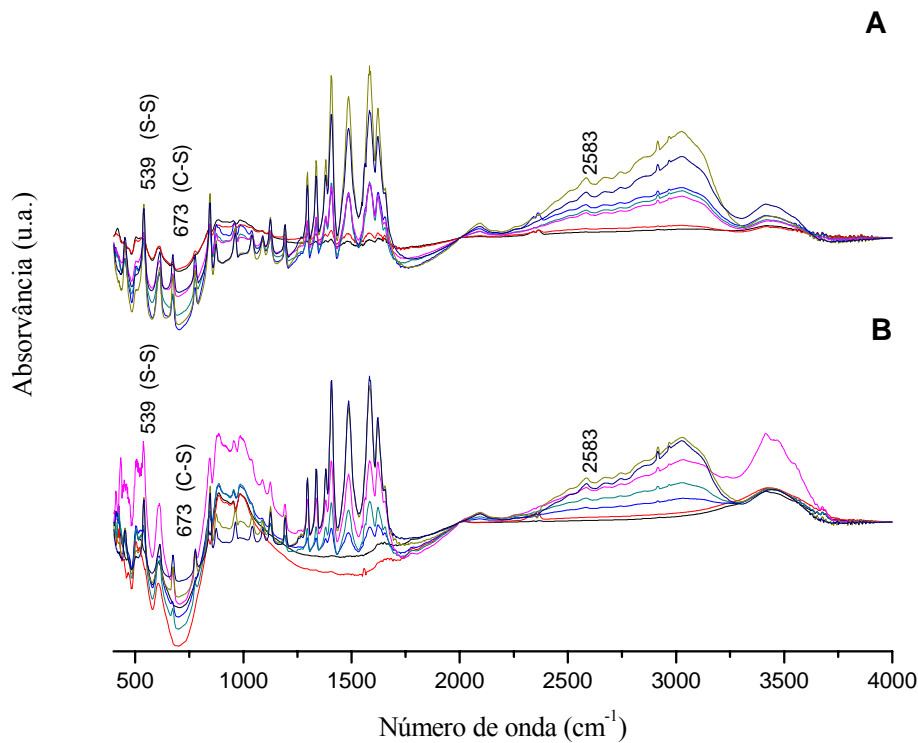
**Figura 13** - Espectros FT-IR das amostras de Cistina (---) e Cisteína (---).



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

A Figura 14 mostra os espectros das amostras sólidas da forsterita-91 agitadas com cisteína em água do mar em pH 2,0 (Figura 14A) e pH 8,0 (Figura 14B). Estes espectros não apresentam bandas características da cisteína (como as bandas em 939 e 2549  $\text{cm}^{-1}$ ), entretanto, as bandas que apareceram nestes espectros são idênticas ao espectro da cistina (Figura 13A), por exemplo, as bandas em 539  $\text{cm}^{-1}$  (S-S) e 673  $\text{cm}^{-1}$  (C-S). Pode-se notar, também, que nos espectros (ambos os pHs) das amostras com concentrações iniciais menores ocorre o aparecimento de bandas, além das bandas características da cistina, na região entre 800 e 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Estas bandas são características da forsterita-91 (Item 4.1.2).

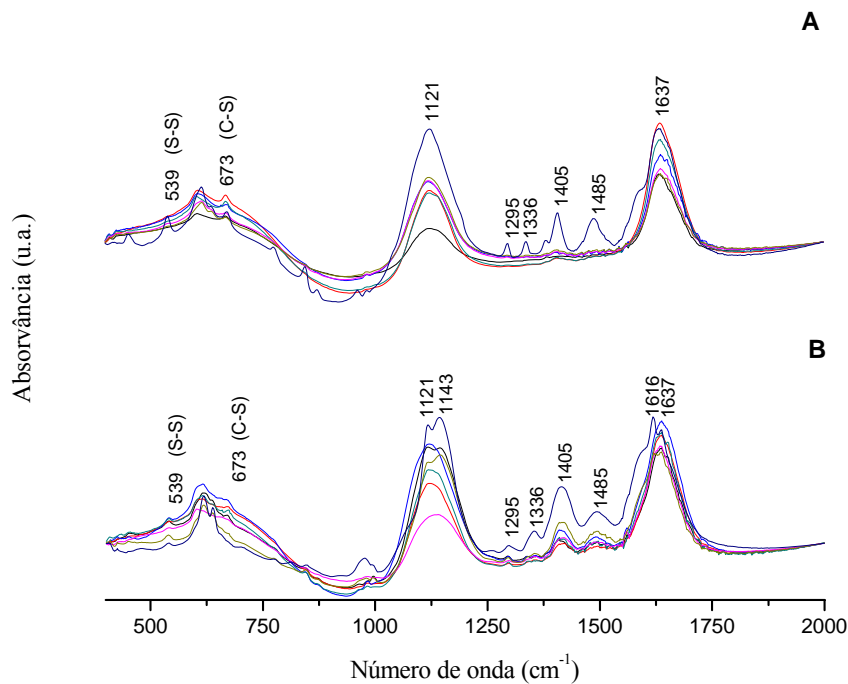
**Figura 14 -** Espectros FT-IR das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----) 1440; (- - - - -) 2160; (- - - - -) 2880; (- - - - -) 3600; (- - - - -) 4320; (- - - - -) 10000; e (- - - - -) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de Forsterita-91 (100,0 mg) mais soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Os espectros dos sobrenadantes das amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína em água do mar artificial (pH 2,0 e 8,0) são mostrados na Figura 15. Observa-se que os espectros são semelhantes ao da água do mar liofilizada (Figura 12), com exceção das bandas em 539 e 673  $\text{cm}^{-1}$  e bandas na região entre 1250 e 1500  $\text{cm}^{-1}$ , que são características do espectro da cistina (Figura 13A). Estes fatos indicam que além do aparecimento de cistina nas amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com cisteína em água do mar, ocorreu o aparecimento de cistina também nos sobrenadantes destas amostras.

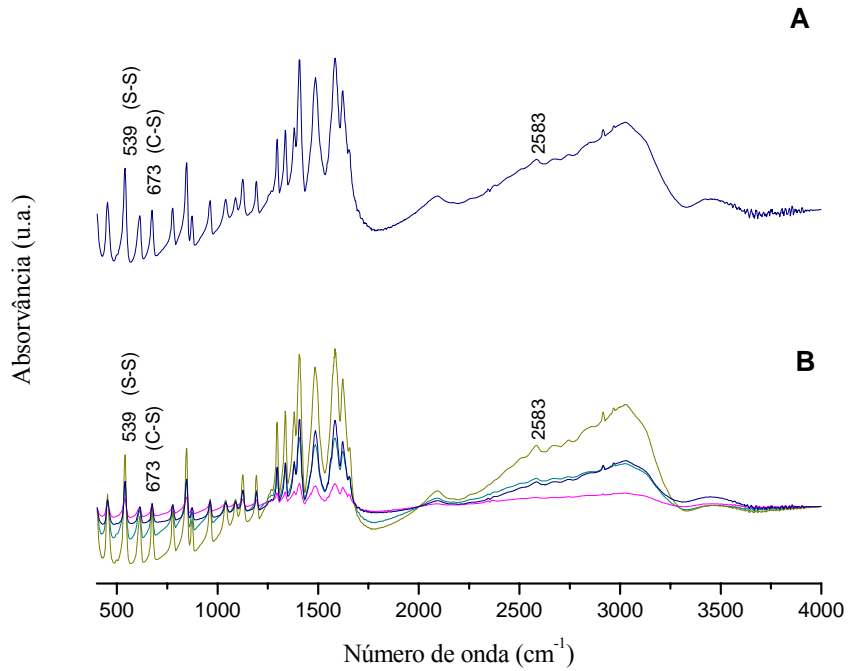
**Figura 15** - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de forsterita-91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----) 1440; (- - - - -) 2160; (- - - - -) 2880; (- - - - -) 3600; (- - - - -) 4320; (- - - - -) 10000; e (- - - - -) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sólidos e liofilizadas.



Fonte: Elaborada pelo autor (2012)

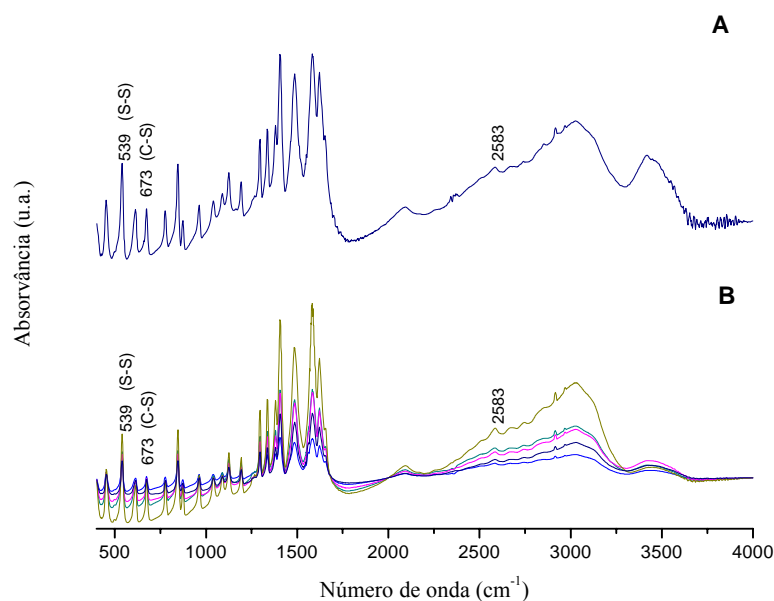
Os espectros FT-IR das amostras dos sólidos que precipitaram durante a agitação (sem forsterita-91) das amostras de cisteína (pH 2,0 e 8,0), em água destilada e em água do mar artificial, são mostrados nas Figuras 16 e 17, respectivamente. Nas amostras com pH inicial 2,0 (Figuras 16A e 17A), em ambos os tratamentos, somente houve o aparecimento de precipitados nas amostras com concentração inicial de 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Já nas amostras com pH inicial 8,0 (Figuras 16B e 17B), em ambos os tratamentos, houve o aparecimento de precipitados para as concentrações acima de 2160  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (água do mar artificial) e 2880  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (água destilada). Os espectros FT-IR de todos os precipitados formados são idênticos ao espectro da cistina (Figura 13A), apresentando as bandas em 539 e 673  $\text{cm}^{-1}$ .

**Figura 16** - Espectros FT-IR dos sólidos precipitados das amostras de soluções de cisteína em água destilada: (-----) 3600; (-----) 4320; (-----) 10000; e (-----) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de soluções de cisteína em água destilada (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

**Figura 17** - Espectros FT-IR dos sólidos precipitados das amostras de soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----) 2880; (- - - - -) 3600; (- · - · -) 4320; (- - - - -) 10000; e (- - - - -) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.



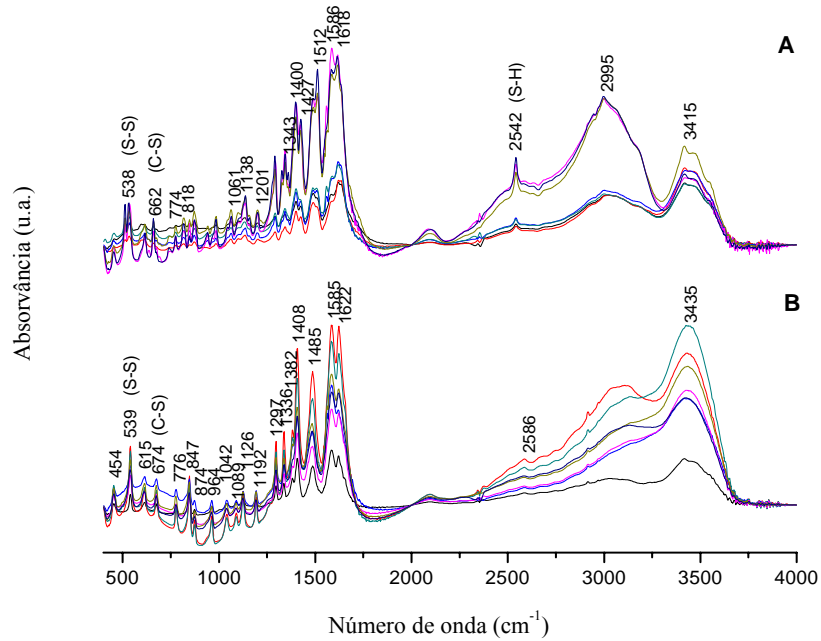
**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Em relação aos espectros dos sobrenadantes das amostras de cisteína (pH 2,0 e 8,0) em água destilada (Figura 18) e em água do mar artificial (Figura 19), pôde-se notar diferenças significativas entre os resultados obtidos para ambos os tratamentos em pH inicial 2,0.

Primeiramente, os espectros dos sobrenadantes das soluções de cisteína agitadas em água destilada com pHs iniciais 2,0 e 8,0 mostram que novamente cistina é formada. Este fato é confirmado pelo aparecimento das bandas em 539 e 673  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas aos estiramentos S-S e C-S. Entretanto, o espectro da amostra em pH inicial 2,0 mostra uma banda em 2542  $\text{cm}^{-1}$ , que é atribuída ao estiramento S-H da cisteína. Logo, estes fatos indicam, que ambas as substâncias estão presentes nesta amostra, mostrando que em pH a reação da cisteína formando cistina não é completa em pH 2,0 e água destilada.

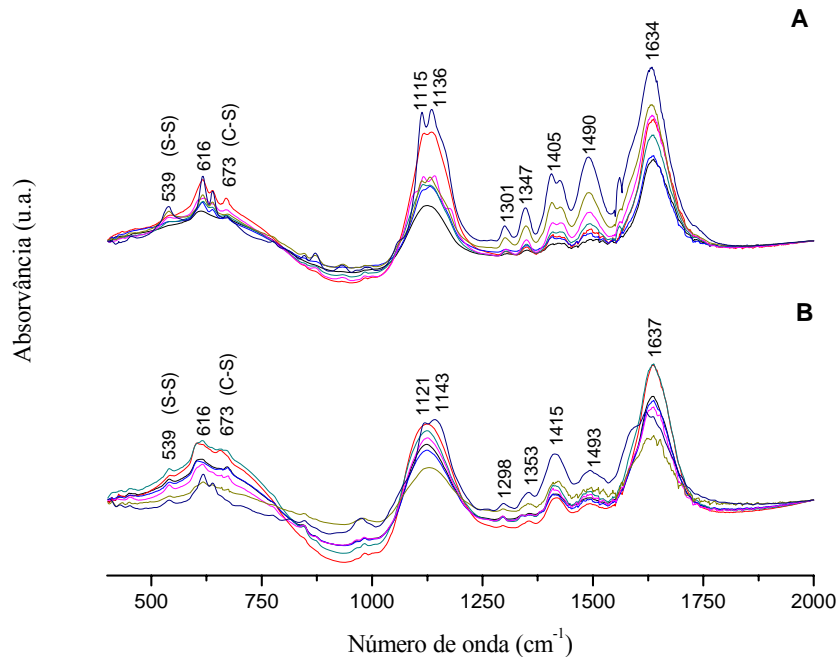
Por outro lado, os espectros dos sobrenadantes das soluções de cisteína agitadas em água do mar artificial (pH 2,0 e 8,0) apresentaram um comportamento semelhante ao das amostras que foram agitadas com forsterita-91 mais cisteína (Figura 15), com o aparecimento de bandas que indicam a formação de cistina e uma predominância das bandas características da água do mar artificial.

**Figura 18** - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de soluções de cisteína em água destilada: (-----) 1440; (-.-.-.-) 2160; (-.-.-.-) 2880; (-.-.-.-) 3600; (-.-.-.-) 4320; (-.-.-.-) 10000; e (-.-.-.-) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de soluções de cisteína em água destilada (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sólidos e liofilizadas.



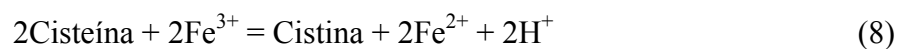
**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

**Figura 19** - Espectros FT-IR dos sobrenadantes liofilizados das amostras de soluções de cisteína em água do mar artificial: (-----) 1440; (-.-.-.-) 2160; (-.-.-.-) 2880; (-.-.-.-) 3600; (-.-.-.-) 4320; (-.-.-.-) 10000; e (-----) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) pH 2,0 e (B) pH 8,0. Todas as amostras de soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sólidos e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Em todos os espectros FT-IR observou-se que a cisteína é transformada em cistina e que esta reação (Equação 8) ocorre independentemente do meio (forsterita-91, água do mar artificial e água destilada) e principalmente em pH básico. Entretanto, AMIRBAHMAN et al. (1997), DOONG e SCHINK (2002), BENETOLI et al. (2007), COHEN et al. (2008), MANTION et al. (2008), DE SANTANA et al. (2010) e VIEIRA et al. (2011) estudaram a interação entre cisteína e minerais contendo  $\text{Fe}^{3+}$  e observaram a formação de cistina, envolvendo a redução de metais, por exemplo,  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , e a oxidação de cisteína para cistina.



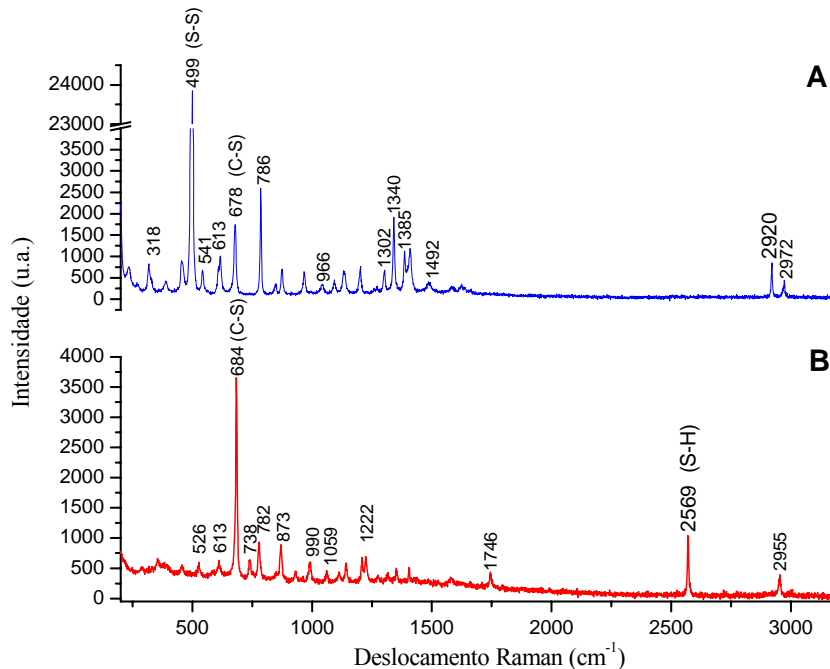
Contudo, observou-se neste trabalho, que as amostras de cisteína agitadas em água do mar artificial, sem forsterita-91, não continham o elemento  $\text{Fe}^{3+}$ ; o mesmo ocorreu para as amostras de cisteína agitadas em água destilada, que além de não conterem  $\text{Fe}^{3+}$ , não continham nenhum metal ou íon. Mesmo assim observou-se a formação de cistina,

tanto nas amostras precipitadas (Figuras 16 e 17) quanto nas amostras dos sobrenadantes (Figuras 18 e 19), influenciada por fatores como, pH (valores básicos), força iônica e catalisação (presença de sais) e equilíbrio (excesso de cisteína e baixos valores de solubilidade da cistina), discutidos no item 4.2.1.

#### 4.2.4 Espectroscopia Raman

As figuras 20A e 20B mostram os espectros Raman da cistina e cisteína, respectivamente. O espectro da cistina (Figura 20A) mostra picos em 499 e 678 que são característicos dos modos vibracionais de estiramentos S-S e C-S (ZHU et al., 2011). O espectro da figura 20B exhibe os deslocamentos Raman característicos da cisteína em 526, 684, 990, 1059, 1222, 1746, 2569 e 2955  $\text{cm}^{-1}$  e podem ser atribuídos aos modos vibracionais rock  $\text{CO}_2$ , estiramento C-S, Rock  $\text{NH}_3$ , torção angular  $\text{CH}_2$ , estiramento assimétrico  $\text{CO}_2$ , estiramento S-H e estiramento C-H (PAWLUKOJC et al., 2005).

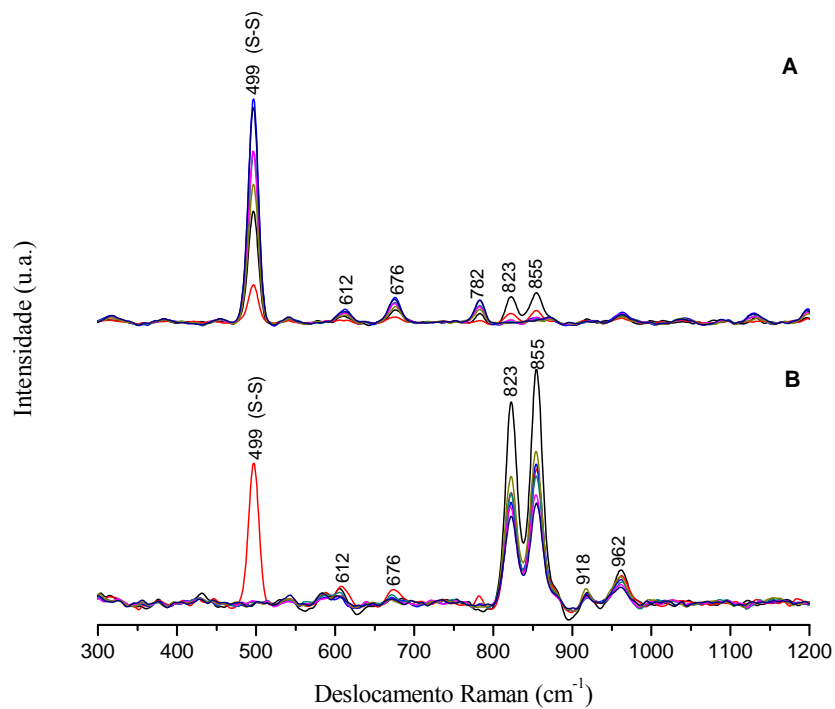
**Figura 20** - Espectros Raman das amostras de cisteína (---) e cistina (----).



Os espectros Raman das amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína em água do mar artificial pH 2,0 (Figura 21A) e 8,0 (Figura 22A) apresentaram bandas características da cistina em 499 e 676  $\text{cm}^{-1}$  (estiramentos S-S e C-S) e bandas características da forsterita-91 823 e 855  $\text{cm}^{-1}$  (estiramentos Si-O). Mas, após o processo de lavagem com

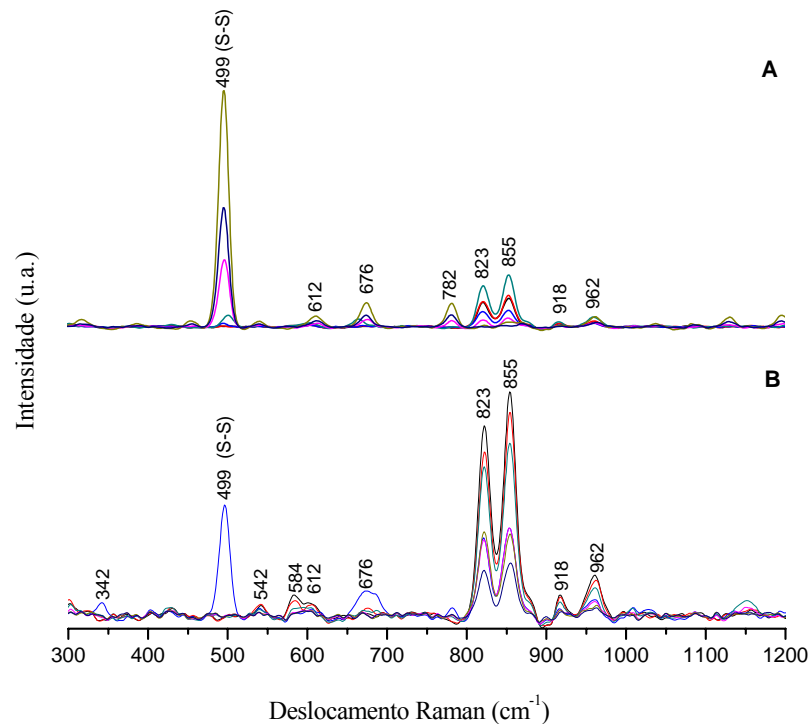
água destilada (pH 2,0, Figura 21B e 8,0, Figura 22B) ocorre o desaparecimento das bandas características da cisteína, principalmente em  $499\text{cm}^{-1}$ , restando apenas bandas características da forsterita-91. Isto ocorreu em ambos os pHs e para todas as amostras, com exceção das amostras com concentração inicial de  $2160\ \mu\text{g mL}^{-1}$  (pH 2,0) e  $2880\ \mu\text{g mL}^{-1}$  (pH 8,0) que ainda exibiram a banda em  $499\text{cm}^{-1}$ . Atribui-se este fato a uma lavagem ineficiente destas duas amostras.

**Figura 21** - Espectros Raman das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial, em pH 2,0: (-----) 1440; (- - - - -) 2160; (- - - - -) 2880; (- - - - -) 3600; (- - - - -) 4320; (- - - - -) 10000; e (- - - - -) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) Sem lavar e (B) Após lavagem com água destilada. Todas as amostras de Forsterita-91 (100,0 mg) mais soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

**Figura 22** - Espectros Raman das amostras sólidas de forsterita-91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial, em pH 8,0: (-----) 1440; (-.-.-.-) 2160; (-.-.-.-) 2880; (-.-.-.-) 3600; (-.-.-.-) 4320; (-.-.-.-) 10000; e (-.-.-.-) 17500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . (A) Sem lavar e (B) Após lavagem com água destilada. Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais soluções de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, separadas dos sobrenadantes e liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

No entanto, o resultado global do processo de lavagem foi a solubilização da cistina que estava presente sobre a forsterita-91. Como não foi observado pelas demais técnicas nenhum indicio de ligação ou adsorção da cistina sobre a forsterita-91, conclui-se através da espectroscopia Raman e MEV (ver 4.1.5) que a cistina estava, apenas, precipitada sobre a forsterita-91 e foi solubilizada após o processo de lavagem com água destilada.

Este processo de lavagem de materiais em estudos de Química Prebiótica é controverso e bastante discutido, pois há aproximadamente 4 bilhões de anos este sistema (minerais + biomoléculas) estariam sujeitos a diversos tipos de intempéries e condições adversas, como chuvas, secas, bombardeamentos, altas temperaturas, raios UV, entre outros (CHIBA, 1993; KOBAYASHI et al., 2001). E a precipitação ao invés da adsorção física/química de biomoléculas sobre minerais poderia desfavorecer a proteção, pré-concentração e condições para a formação de moléculas mais complexas (LAMBERT, 2008).

#### 4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

A Figura 23 mostra as micrografias das amostras de: a) cisteína dissolvida em água destilada; b) cistina dissolvida em água destilada; c) amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 2,0; d) amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em pH 8,0; e) Amostra (c) após processo de lavagem com água destilada; e f) amostra (d) após processo de lavagem com água destilada. Todas as imagens foram obtidas por elétrons secundários, com ampliação de 4000x e energia de 20,0 kV.

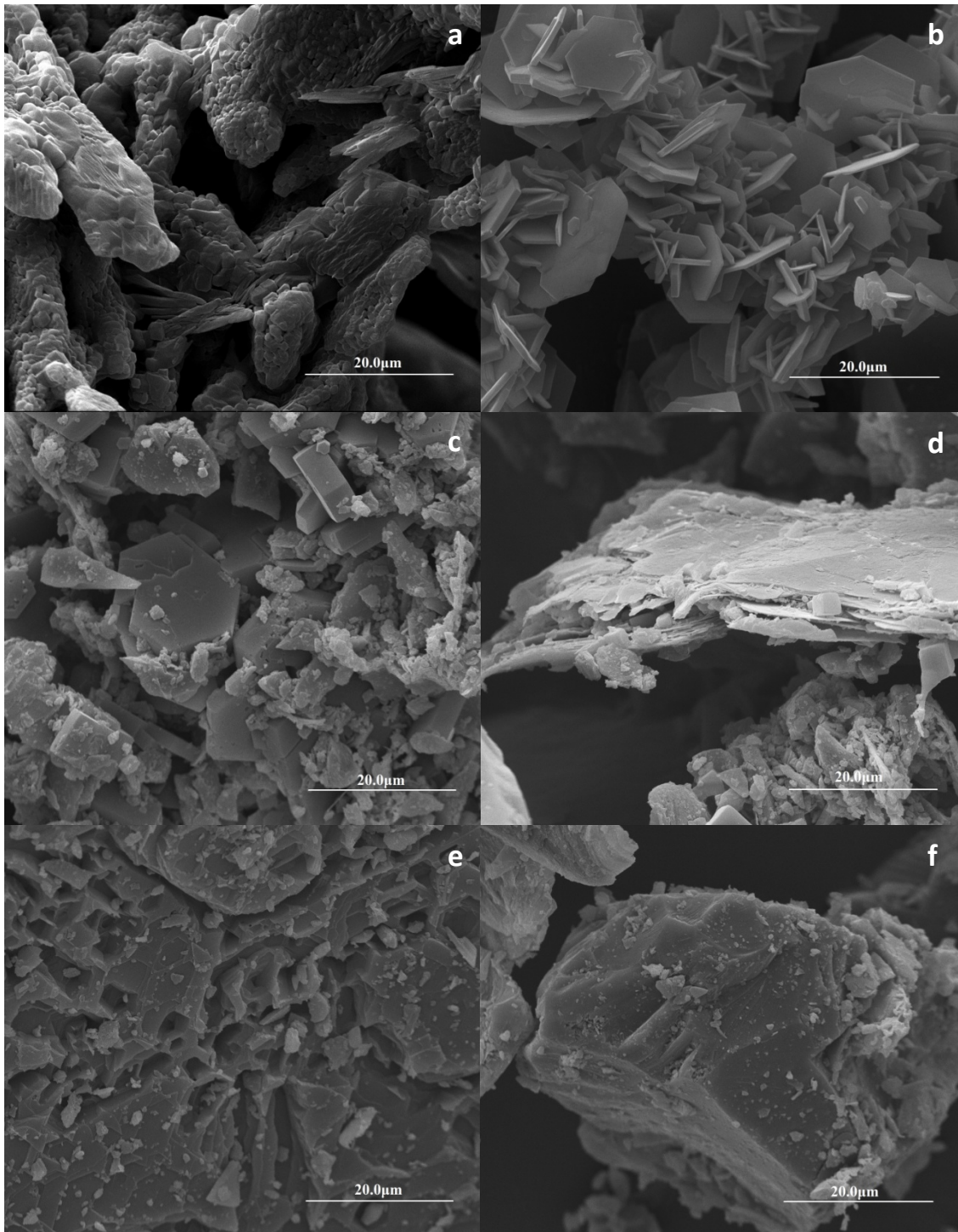
Comparando as imagens (a) e (b) nota-se a maior simetria das moléculas de cistina, que formam estruturas hexagonais em relação à cisteína. GIRIJA et al., (1995) estudou a cristalização de cistina e observou que esta cristaliza em diversas estruturas (cúbica, hexagonal e bipiramidal), mas principalmente em hexagonais. Já a cisteína, aparentemente não tem uma estrutura bem definida, formando conglomerados de pequenas moléculas.

A micrografia (c) confirma a formação de cistina nas amostras de forsterita-91 em água do mar artificial pH 2,0, pois observa-se claramente cristais hexagonais, assim como foram observados para a cistina em (b). Para as amostras em pH 8,0 (d) houve a formação de conglomerados laminares e alguns cristais cúbicos, que poderiam ser de cistina (GIRIJA et al., 1995).

Após as amostras (c) e (d) terem sido lavadas com água destilada e liofilizadas foram obtidas as micrografias para estas amostras (e) e (f). Nas amostras em pH 2,0 pode-se observar que foram removidas estruturas com ângulos reto e até mesmo a remoção de estruturas hexagonais inteiras, indicando que a cistina, que estava presente previamente, foi removida (como discutido no item 4.2.4). Comparando esta amostra com a forsterita-91 pura [MEV forsterita-91s (a)] houve uma significativa alteração da superfície da forsterita-91, após a interação com a cistina.

Já a comparação das micrografias (d) e (e), revelam que após a lavagem com água destilada não se observa mais os conglomerados laminares, apenas cristais de forsterita-91 recobertos, possivelmente, com sais da água do mar.

**Figura 23** - Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras: a) Cisteína dissolvida em água destilada; b) Cistina dissolvida em água destilada; c) Amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial pH 2,0; d) Amostra de forsterita-91 agitada com cisteína ( $1440 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial pH 8,0; e) Amostra (c) após processo de lavagem com água destilada; e f) Amostra (d) após processo de lavagem com água destilada. Todas as amostras foram liofilizadas.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

#### 4.2.6 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

Todos os valores das intensidades das linhas de ressonância para as amostras de forsterita-91 agitadas com cisteína ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em água do mar artificial são apresentados na Tabela 12.

Os espectros de RPE das amostras sólidas de forsterita-91, forsterita-91 agitada com água do mar artificial em dois diferentes pHs, 2,0 e 8,0 (Figura 3A) e forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar artificial em pH 8,0 (Figura 24A) apresentaram a linha de ressonância em  $g \approx 2.1$  devido a presença de hidróxidos e óxidos de  $\text{Fe}^{3+}$  (GUSKOS et al., 2002; CARBONE et al., 2005; MOTA et al., 2009). A presença de  $\text{Fe}^{3+}$  nas amostras sólidas de forsterita-91, forsterita-91 agitada com água do mar artificial em dois diferentes pHs, 2,0 e 8,0 (Figura 3A) foi discutida no Item 4.1.5.

**Tabela 12** - Valores de intensidade de linhas de ressonância do  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  das amostras de forsterita-91 e cisteína.

| <b>Amostras Sólidas</b>               | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 2$ ) | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 3,8$ ) | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 8$ ) | $\text{Mn}^{2+}$ ( $g \approx 2$ ) |
|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Forsterita-91                         | 0,40                               | 0,30                                 | 0,00                               | 0,00                               |
| *Forsterita-91 + Cys<br>pH 2,0        | 0,00                               | 0,74                                 | 0,66                               | 1,20                               |
| *Forsterita-91 + Cys<br>pH 8,0        | 2,63                               | 1,37                                 | 0,00                               | 0,00                               |
| <b>Amostras dos<br/>sobrenadantes</b> | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 2$ ) | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 3,8$ ) | $\text{Fe}^{3+}$ ( $g \approx 8$ ) | $\text{Mn}^{2+}$ ( $g \approx 2$ ) |
| *Forsterita-91 + Cys<br>pH 2,0        | 0,00                               | 0,00                                 | 0,00                               | 1,29                               |
| *Forsterita-91 + Cys<br>pH 8,0        | 0,00                               | 0,00                                 | 0,00                               | 0,00                               |

\*Amostras de forsterita-91 agitadas com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e o pH ajustado para 2,0 e 8,0. Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais solução de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambos foram liofilizados.

**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

Diversos autores observaram a formação de cistina quando cisteína interage com minerais contendo  $\text{Fe}^{3+}$  (AMIRBAHMAN et al., 1997; DOONG e SCHINK, 2002; BENETOLI et al., 2007; COHEN et al., 2008; MANTION et al., 2008; DE SANTANA et al., 2010 e VIEIRA et al., 2011). Entretanto, a forsterita-91 ( $\text{MgFeSiO}_4$ ) não tem  $\text{Fe}^{3+}$  em sua

composição química original e mesmo assim a cisteína interagiu com forsterita-91 ou sem forsterita-91 e formou cistina, indicando que outros fatores, além da presença de  $\text{Fe}^{3+}$ , podem influenciar na formação de cistina.

O espectro (Figura 24A) da amostra de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína ( $121.2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 não apresenta a linha de ressonância  $g \approx 2,1$ , provavelmente porque a cisteína pode ter reagido com os átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  contidos na forsterita-91 formando cistina e  $\text{Fe}^{2+}$ , como representado na Equação 8 (AMIRBAHMAN et al., 1997; BENETOLI et al., 2007 e DE SANTANA et al., 2010).

Os espectros FT-IR (Figura 14) mostram que a cistina é formada quando cisteína interage com forsterita-91 em pH 8,0, porém a Figura 24a mostra a linha de ressonância em  $g \approx 2,1$  devido a hidróxidos e óxidos de  $\text{Fe}^{3+}$ . Provavelmente, neste caso o alto valor do pH pode ter favorecido a formação de um composto de ferro estável indisponibilizando o  $\text{Fe}^{3+}$  para a reação com a cisteína.

Com exceção do espectro RPE da amostra de forsterita-91 agitada com água do mar artificial em pH 8,0, os demais espectros das amostras sólidas apresentaram a linha de ressonância em  $g \approx 3,8$  devido, possivelmente, a interação do  $\text{Fe}^{3+}$  com os silicatos presentes na forsterita-91 (Figuras 3A e 24A) (SIQUEIRA et al., 2011).

A linha de ressonância  $g \approx 8,0$  aparece somente no espectro RPE da amostra de forsterita-91 agitada com solução de cisteína em água do mar ( $121,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em pH 2,0 indicando a presença de  $\text{Fe}^{3+}$  interagindo com silicatos (Figura 24A) (SIQUEIRA et al., 2011).

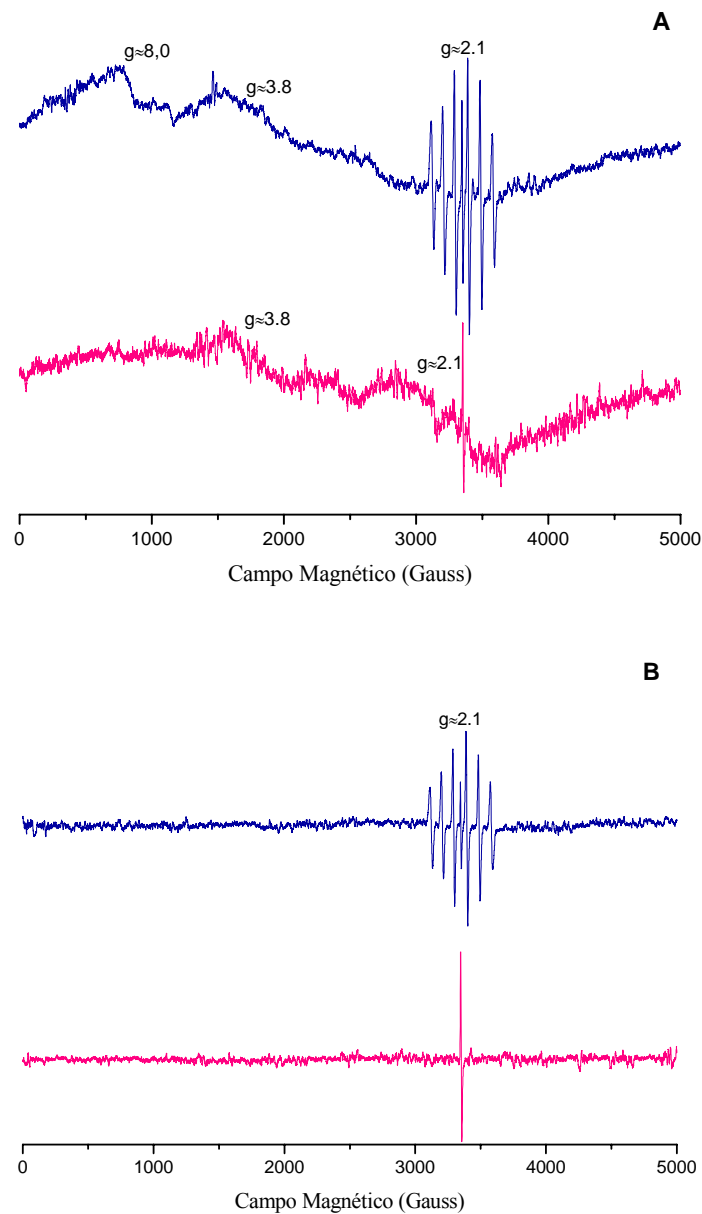
Além disso, pôde-se observar o aparecimento de seis linhas de ressonância em  $g \approx 2$ . Essas linhas são características de  $\text{Mn}^{2+}$  e também estão presentes nos espectros RPE das amostras dos sobrenadantes da forsterita-91 agitada com água do mar artificial e da forsterita-91 agitada com solução de cisteína em água do mar ( $121,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) ambas as amostras com pH inicial 2,0. (Figura 3B e 24B).

As análises de MEV-EDS (Tabela 3) mostram que a forsterita-91 contém traços de Mn em sua composição química e a análise realizada pelo grupo do Prof<sup>o</sup> Holm também mostra que Mn está presente, representando  $0,137 \pm 0,013\%$  da amostra (Tabela 1).

A figura 3B mostra os espectros de RPE dos sobrenadantes das amostras de forsterita-91 agitada com água do mar artificial em dois pHs (2,0 e 8,0). Nestes espectros pôde-se observar a presença da linha de ressonância em  $g \approx 2$  devido a hidróxidos e óxidos de  $\text{Fe}^{3+}$ . Entretanto, os espectros RPE dos sobrenadantes das amostras de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar ( $121.2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em dois pHs (2,0 e 8,0) não

apresentaram linha de ressonância devido ao  $\text{Fe}^{3+}$ , após a solução ser agitada por 24h (Figura 24B). Isto ocorreu, provavelmente, devido ao fato da cisteína reduzir todo o  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  formando cistina, como mostrado pelos espectros FT-IR (Figura 14A e 14B).

**Figura 24** - Espectros EPR: A: amostras sólidas de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ): em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (---); B: sobrenadantes das amostras sólidas de forsterita-91 agitada com soluções de cisteína em água do mar artificial ( $121,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ): em pH 2,0 (-----) e pH 8,0 (---). Todas as amostras de forsterita-91 (100,0 mg) mais solução de cisteína em água do mar artificial (5,0 mL) foram agitadas por 24h, centrifugadas, sólidos e sobrenadantes separados e ambos foram liofilizados.



**Fonte:** Elaborada pelo autor (2012)

## 5 CONCLUSÕES

As técnicas utilizadas neste trabalho permitiram elucidar as alterações da forsterita-91, a formação da cistina e a influência nestes processos, tanto do meio reacional quanto do pH (inicial e final).

Os dados de difratometria de raios-X identificaram a olivina utilizada neste trabalho como forsterita-91 e mais dois minerais, zeólita P e clinocloro, como impurezas. E utilizando-se DRX e MEV-EDS foi verificado que a forsterita-91 não é estável nos ambientes estudados e que sofre dissolução tanto das impurezas (zeólita e clinocloro) quanto da própria forsterita-91, principalmente na presença da água do mar artificial.

Nas amostras de forsterita-91 em pH inicial 2,0 houve uma elevação significativa no valor do pH final e uma maior dissolução da forsterita-91, devido ao envolvimento dos íons  $H^+$  em processos de troca iônica, dissolução estequiométrica e adsorção/penetração, com a superfície da forsterita-91.

A reação entre a cisteína e forsterita-91 mostrou-se efetiva, com recuperação nula de cisteína. Observou-se ainda que esta reação é dependente da presença do mineral, que funcionou como um tampão, elevando o pH do sistema e permitindo a formação da cistina.

As técnicas espectroscópicas FT-IR e Raman permitiram verificar a formação da cistina a partir da cisteína e que, tanto cistina quanto cisteína, não adsorveram sobre a forsterita-91.

Apesar de diversos autores sugerirem que a formação de cistina é dependente da interação de cisteína com minerais contendo  $Fe^{3+}$ , os dados quantitativos mostraram que a formação da cistina pode ocorrer na ausência de  $Fe^{3+}$ , por influência de diversos fatores, como a presença de sais da água do mar artificial, reação em pHs básicos e soluções com elevadas concentrações de cisteína.

Ao mesmo tempo em que muitas questões foram respondidas, outras surgiram. Por exemplo, a respeito da influência dos minerais nos processos prebióticos, pois a grande maioria dos trabalhos envolvendo minerais sugere que estes tiveram uma participação direta nas reações com biomoléculas. No entanto os resultados aqui expostos indicaram que a forsterita-91 tem um papel secundário na transformação da cisteína em cistina, devido ao fato de que a própria forsterita-91 foi modificada no decorrer do processo. E outros fatores, como pH, catálise por sais e/ou minerais e agitação, mostraram-se importantes para processos envolvendo Química Prebiótica.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-SILVA, M.; URIBE-SALAS, A.; MIRNEZAMI, M.; FINCH, J. A. The point of zero charge of phyllosilicate minerals using the Mular–Roberts titration technique. **Miner Eng**, v. 23, p. 383–389, 2010.
- AMIRBAHMAN, A.; SIGG, L.; VON GUNTEN, U. Reductive dissolution of Fe(III) (hydr) oxides by cysteine: kinetics and mechanism. **J Colloid Interf Sci**, v. 194, p. 194–206, 1997.
- APRUZZESE, F.; BOTTARI, E.; FESTA, M. R. Protonation equilibria and solubility of cysteine. **Talanta**, v. 56, p. 459-469, 2002.
- ARYAL, S.; REMANT, B. K. C.; DHARMARAJ, N.; BHATTARAI, N.; KIM, C. H.; KIM, H. Y. Spectroscopic identification of S–Au interaction in cysteine capped gold nanoparticles. **Spectrochim Acta A**, v. 63, p. 160-163, 2006
- AWAD, A.; KOSTER, A. F.; GROOS, V.; GUGGENHEIM, S. Forsteritic olivine: Effect of crystallographic direction on dissolution kinetics. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 64, n. 10, 1765-1772, 2000.
- AUFDENKAMPE, A. K.; HEDGES, J. I.; RICHEY, J. E.; KRUSCHE, A. V.; UERENA, A. V. Sorptive fractionation of dissolved organic nitrogen and aminoacids onto fine sediments within the Amazon Basin. **Limnol Oceanogr**, v. 46, p. 1921-1935, 2001.
- BAKER, M. B., ALVES, S.; STOLPER, E. M. Petrography and petrology of the Hawaii Scientific Drilling Project lavas: Inferences from olivine phenocryst abundances and compositions. **J Geophys Res**, v. 101, 11715-11727, 1996.
- BASIUK, V. A.; GROMOVOY, T. Yu. Comparative study of amino acid adsorption on bare and octadecyl silica from water using high-performance liquid chromatography. **Colloid Surface A**, v. 118, p. 127-140, 1996.
- BASIUK, V. A.; Adsorption of biomolecules on silica. **In: Encyclopedia of surface and colloid science**. New York: Marcell Dekker Inc., 2002. P. 277- 293.
- BÁU, J.P.T.; CARNEIRO, C.E.A.; DE SOUZA JUNIOR, I.G.; DE SOUZA, C.M.D.; COSTA, A.C.S.; DI MAURO, E.; ZAIA, C.T.B.V.; CORONAS, J.; CASADO, C.; DE SANTANA, H.; ZAIA, D.A.M. Adsorption of Adenine and Thymine on Zeolites: FT-IR and RPE Spectroscopy and X-Ray Diffractometry and SEM Studies. **Orig Life Evol Biosph**, 2011(Published Online).
- BEBIÉ, J.; SCHOONEN, M. A. A. **Geochem Trans**, p. 1-47, 2000.
- BECKER, R. S.; HONG, K.; HONG, J. H. Hot hydrogen atoms reactions of interest in molecular evolution and interstellar chemistry. **J. Mol. Evol.**, v. 4, p. 157-172, 1974.
- BEN-TALEB, A.; VERA, P.; DELGADO, A. V.; GALLARDO, V. Electrokinetic studies of monodisperse hematite particles: effects of inorganic electrolytes and amino acids. **Mater Chem Phys**, v. 37, p. 68-75, 1994.

BENETOLI, L. O. B.; DE SOUZA, C. M. D.; DA SILVA, K. L.; DE SOUZA JUNIOR, I. G.; DE SANTANA, H.; PAESANO JR, A.; DA COSTA, A. C. S.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. Amino acid interaction with and adsorption on clays: FT-IR and Mössbauer spectroscopy and X-ray diffractometry investigations. **Orig Life Evol Biosph**, v. 37, p. 479-493, 2007.

BENETOLI, L.O.B.; DE SANTANA, H.; ZAIA, C.T.B.V.; ZAIA, D.A.M. Adsorption of nucleic acid bases on clays: an investigation using Langmuir and Freundlich isotherms and FT-IR spectroscopy **Monatsh Chem**. V. 139, p. 753-761, 2008.

BERNAL, J.D. **The physical basis of life**. London: Routledge and Kegan Paul, v. 357, p. 537-558, 1951.

BRIGATTI, M. F.; LUOLI, C.; MONTORSI, S.; POPPI, L. Effects of exchange cations and layer-charge location on cysteine retention by smectites. **Clay Clay Miner**, v. 47, p. 664-667, 1999.

BROWN, E.; COLLING, A.; PARK, D.; PHILLIPS, J.; ROTHERY, D.; WRIGHT, J. Seawater: its composition, properties and behavior. **The Open University, Oxford**.2004.

BURNS, R. G. Rates and mechanisms of chemical weathering of ferromagnesian silicate minerals on Mars. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 57, p. 4555-4574, 1993.

CAIRNS-SMITH, A. G. **Genetic takeover and the mineral origins of life**. Cambridge: Cambridge University Press, 1982.

CARBONE, C.; DI BENEDETTO, F.; MARESCOTTI, P.; SANGREGORIO, C.; SORACE, L.; LIMA, N.; ROMANELLI, M.; LUCHETTI, G.; CIPRIANI, C. Natural Fe-oxide and -oxyhydroxide nanoparticles: on EPR and SQUID investigation. **Miner Petrol**, v. 85, p. 19-32, 2005.

CARNEIRO, C. E. A.; DE SANTANA, H.; CASADO, C.; CORONAS, J.; ZAIA, D. A. M. Adsorption of Amino Acids (Ala, Cys, His, Met) on Zeolites: Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopy Investigations. **Astrobiology**, v. 11, p. 409-418, 2011.

CARNEIRO, C.E.A.; BERNDT, G.; DE SOUZA JUNIOR, I.G.; DE SOUZA, C.M.D.; PAESANO JUNIOR; A. DA COSTA, A.C.S.; DI MAURO, E.; DE SANTANA, H.; ZAIA, C.T.B.; ZAIA, D.A.M. Adsorption of adenine, cytosine, thymine and uracil on original and modified (na<sub>2</sub>s) montmorillonites: FT-IR, Mössbauer and EPR spectroscopy and X-ray diffractometry studies. **Orig Life Evol Biosph** v. 41, p. 453-468, 2011.

CHIBA, C. F. The violent environment of the origin of life: Progress and uncertainties. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 57, p. 3351-3358, 1993.

CHOPRA, P. N., PATERSON, M. S. The Experimental Deformation of Dunitite. **Tectonophysics**, v.78, p. 453-473, 1981.

CHURCH, J. S.; EVANS, D. J. A spectroscopic investigation into the reaction of sodium tetrathionate with cysteine. **Spectrochim Acta A**, v. 69, p. 256-262, 2008.

CHURCHILL, H.; TENG, H.; HAZEN, R. M.; Correlation of pH-dependent surface interaction forces to amino acid adsorption: implications for the origin of life. **Am Mineral**, v. 89, p. 1048-1055, 2004.

COHEN, H.; GEDANKEN, A.; ZHONG, Z. One step synthesis and characterization of ultrastable and amorphous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> colloids capped with cysteine molecules. **J Phys Chem C**, v. 112, p. 15429-15438, 2008.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. **Introduction to Infrared and Raman spectroscopy**. New York and London: Academic Press, 1964.

DE DUVE, C. **Poeira vital: a vida como imperativo cósmico**. Rio de Janeiro: Editora Campus, 1997.

DE MARAIS, D. J.; NUTH III, J. A.; ALLAMANDOLA, L. J.; BOSS, A. P.; FARMER, J.D.; HOEHLER, T.M.; JAKOSKY, B. M.; MEADOWS, V.S.; POHORILLE, A.; RUNNEGAR, B.; SPORMANN, A. M. The NASA Astrobiology Roadmap. **Astrobiology**, v. 8, n. 4, p. 715-730, 2008.

DE RONDE, C.E.J.; CHANNER, D.M.D.; FAURE, K.; BRAY, C.J.; SPOONER, E.T.C. Fluid chemistry of Archean sea-floor hydrothermal vents: implications for the composition of circa 3.2 Ga seawater. **Geochim. Cosmochim. Acta** v. 61, p. 4025-4042, 1997.

DE SANTANA, H.; PAESANO JR, A.; DA COSTA, A. C. S.; DI MAURO, E.; DE SOUZA JUNIOR, I. G.; IVASHITA, F. F.; DE SOUZA, C. M. D.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. Cysteine, thiourea and thiocyanate interactions with clays: FT-IR, Mössbauer and RPE spectroscopy and X- ray diffractometry. **Amino Acids**, v. 38, p. 1089-1099, 2010.

DEER, W. A.; HOWIE, R. A.; e ZUSSMAN, J. **Rock-Forming Minerals Volume 1A: Orthosilicates**. v. 1. 2. ed. London: Longman, 1982. p. 2-179

DEJU, R. A.; BHAPPU, R. B. A chemical interpretation of surface phenomena in silicates minerals. **Trans. A.I.M.E.** v. 235, p. 329-332, 1966.

DING, X.; HENRICHS, S. M. Adsorption and desorption of proteins and poly aminoacids by clay minerals and marine sediments. **Mar Chem**, v. 77, p. 225-237, 2002.

DOONG, R. A.; SCHINK, B. Cysteine mediated reductive dissolution of poorly crystalline iron(III) oxides by *Geobacter sulfurreducens*. **Environ Sci Technol**, v. 36, p. 2939-2945, 2002.

DRAINE, B. T. Interstellar dust grains. **Annu. Rev. Astron. Astr.**, v. 41, p. 241-89, 2003.

FERRIS, J. P. Catalysis and prebiotic RNA synthesis. **Orig Life Evol Biosph**, v. 23, p. 307-315, 1993.

FROST, B. R.; BEARD, J. S. On Silica Activity and Serpentinization. **J Petrol**, v. 48, n. 7, p. 1351-1368, 2007.

GIRIJA, E. K.; LATHA, C.; KALKURA, S. N.; SUBRAMANIAN, C.; RAMASAMY, P. Crystallization of cystine. **J Mat Sci**, v. 6, p. 617-619, 1995.

GRANDSTAFF D. E. Changes in surface area and morphology and the mechanism of forsterite dissolution. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 42, p. 1899-1901, 1978.

GUSKOS, N.; PAPADOPOULOS, G. J.; LIKODIMOS, V.; PATAPIS, S.; YARMIS, D.; PRZEPIERA, A.; PRZEPIERA, K.; MAJSZCZYK, J.; TYPEK, J.; WABIA, M.; AIDINIS, K.; e DRAZEK, Z. Photoacoustic, EPR and electrical conductivity investigations of three synthetic mineral pigments: hematite, goethite and magnetite. **Mater Res Bull**, v. 37, p. 1051-1061, 2002.

HAKANSSON, U.; FAELTH, L.; HANSEN, S. Structure of a high-silica variety of zeolite NA-P. **Acta Crystallo C**. v. 46, p.1363, 1990.

HAMILTON, V. E. Thermal infrared (vibrational) spectroscopy of Mg–Fe olivines: A review and applications to determining the composition of planetary surfaces. **Chemie Erde-Geochem**, v. 70, p. 7-33, 2010.

HANNER, M. S. The silicate material in comets. **Space Sci Rev**, v. 90, p. 99-108, 1999.

HAZEN, R. M., PAPINEAU, D.; BLEEKER, W.; DOWNS, R.T.; FERRY, J.; MCCOY, T.; SVERJENSKY D. and YANG H. Mineral evolution. **Am Miner.**, v. 93, p. 1693-1720, 2008.

HENNET, R. J. C.; HOLM, N. G.; E ENGEL, M. H. Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: A perpetual phenomenon? **Naturwissenschaften**, v. 79, n. 8, p. 361-365, 1992.

HENRICHS, S. M.; SUGAI, S. F.; Adsorption of amino acids and glucose by sediments of Resurrection Bay, Alaska, USA-Functional groups effects. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 57, p. 823–835, 1993.

HOLM, N. G.; DOWLER, M. J.; WADSTEN, T.; ARRHENIUS, G.  $\beta$ -FeOOH. Cln (akaganéite) and Fe<sub>1-x</sub>O (wüstite) in hot brine from Atlantis II Deep (Red Sea) and uptake of aminoacids by syntentic  $\beta$ -FeOOH. Cln. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 47, p. 1465-1470, 1993.

ISHIDO, T.; MIZUTANI, H. Experimental and theoretical basis os electrokinetic phenomena in rock-water systems ans its application to geophysics. **J Geophys Res**, v. 86, n. B3, p. 1763-1775, 1981.

ISON, A.; ODEH, I. N.; MARGERUM, D.W. Kinetics and Mechanisms of Chlorine Dioxide and Chlorite Oxidations of Cysteine and Glutathione. **Inorg Chem**, v. 45, p. 8768-8775, 2006.

IZAWA, M.R.M.; NESBITT, H.W.; MACRAE, N.D.; HOFFMAN, E.L. Composition and evolution of the early oceans: Evidence from the Tagish Lake meteorite Earth and **Planet Sci Lett**, v. 298, p.443–449, 2010.

KING, R. J. Minerals explained 50: Group Olivine. **Geology Today**, v. 25, p. 193-197, 2009.

KISH, M. M.; OHANESSIAN, G.; WESEMIOTIS, C. The Na<sup>+</sup> affinities of  $\alpha$ -amino acids: side-chain substituent effects. **Int J Mass Spectrom**, v. 227, p. 509–524, 2003.

KOBAYASHI, K.; MASUDA, H.; USHIO, K. I.; OHASHI, A.; YAMANASHI, H.; KANEKO, T.; TAKAHASHI, J. I.; HOSOKAWA, T.; HASHIMOTO, H.; SAITO, T. Formation of bioorganic compounds in simulated planetary atmospheres by high energy particles or photons. **Adv Space**, v. 27, p. 207-215, 2001.

KOLESOV, B. A.; GEIGER, C. A. A Raman spectroscopy study of Fe-Mg olivines. **Phys Chem Miner**, v. 31, p. 142-154, 2004.

KOMIYA, T.; HIRATA, T.; KITAJIMA, K.; YAMAMOTO, S.; SHIBUYA, T.; SAWAKI, Y.; ISHIKAWA, T.; SHU, D.; LI, Y.; HAN, J. Evolution of the composition of seawater through geologic time, and its influence on the evolution of life. **Gondwana Res** v. 14, p.159-174, 2008.

KÖNIGSBERGER, E.; WANG, Z.; KÖNIGSBERGER, L.C. Solubility of L- cystine in NaCl and artificial urine solutions. **Monatsh Chem**, v. 131, p. 39-45, 2000.

KUEBLER, K. E.; JOLLIFF, B. L.; WANG, A.; HASKIN, L. A. Extracting olivine (Fo-Fa) compositions from Raman spectral peak positions. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 70, p. 6201-6222, 2006.

LAHAV, N. Minerals and the origin of life: Hypotheses and experiments in heterogeneous chemistry. **Heterogen Chem Rev**, v. 1, p. 159-179, 1994.

LAMBERT, J. F. Adsorption and polymerization of amino acids on minerals surfaces: a review. **Orig Life Evol Biosph**, v. 38, p.211-242, 2008.

LAPHAM, D. M. Structural and chemical variation in chromium chlorite. **Am Miner**, v. 43, p. 921-956, 1958.

LARRY, A. *et al.* Water alteration of rocks and soils on Mars at the Spirit rover site in Gusev crater. **Nature**, v. 436, p. 66-69, 2005.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; e COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. Editora Sarvier, 4a. Ed, 2007.

LIDE, D. R. **CRC Handbook Of Chemistry And Physics**. 85th ed. CRC Press, 2009. p. 15-16.

MANTION, A.; GOZZO, F.; SCHMITT, B.; STERN, W. B.; GERBER, Y.; ROBIN, A. Y.; FROMM, K. M.; PAINSI, M.; TAUBERT, A. Amino acids in iron oxide mineralization: (incomplete) crystal phase selection is achieved even with single amino acids. **J Phys Chem C**, v. 112, p. 12104-12110, 2008.

MARTI, E. M.; METHIVIER, C. H.; PRADIER, C. M. (S)-cysteine chemisorptions on Cu (110), from the gas or liquid phase: an FT-RAIRS and XPS study. **Langmuir**, v. 20, p. 10223-10230, 2004.

MELLERSH, A.; WILKINSON, A. S. RNA bound to a solid phase can select an amino acid and facilitate subsequent amide bond formation. **Orig Life Evol Biosph**, v. 30, p. 3-7, 2000.

MENCK, C. F.; e OLIVEIRA, M. C. O mundo do RNA e a origem da complexidade da vida. Em: sérgio matioli (org). **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão preto: holos editora ltda — me, p. 11-14, 2001.

MILLER, S. L. A production of amino acids under possible primitive earth conditions. **Science**, v. 117, p. 528-529, 1953.

MOJZSIS, S. J.; ARRHENIUS, G.; MCKEEGAN, K. D. Evidence for life on earth before 3,800 million years ago. **Nature**, v. 384, p. 55-59, 1996.

MONTLUÇON, D. B.; LEE, C. Factors affecting lysine sorption in a coastal sediment. **Org Geochem**, v. 32, p. 933-942, 2001.

MORRIS, R. V.; GOLDEN, D. C.; BELL, J. F.; SHELFER, T. D.; SCHEINOST, A. C.; HINMAN, N. W.; FURNISS, G.; MERTZMAN, S. A.; BISHOP, J. L.; MING D. W.; ALLEN, C. C.; BRIT, D. T. Mineralogy, composition, and alteration of Mars Pathfinder rocks and soils: Evidence from multispectral, elemental, and magnetic data on terrestrial analogue, SNC meteorite, and Pathfinder samples. **J Geophys Res**, v. 105, p. 1757-1817, 2000.

MOTA, L.; TOLEDO, R.; FARIA JR, R. T.; DA SILVA, E. C.; VARGAS, H.; DELGADILLO-HOLTFORT, I. Thermally treated soli clays as ceramic raw materials: characterization by x-ray diffraction, photoacoustic spectroscopy and electron spin resonance. **Appl Clay Sci**, v. 43, p. 243-247, 2009.

NASA. The Astrobiology Primer: An Outline of General Knowledge-Version 1. **Astrobiology**, v. 6, p. 735-813, 2006.

NEUBECK, A. ; DUC, N. T.; BASTVIKEN, D.; CRILL, P.; e HOLM, N. G. Formation of H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> by weathering of olivine at temperatures between 30 and 70 degrees C. **Geochem Trans**, v. 12, n. 6, 2011.

NGUYEN, A. N.; ZINNER, E. Discovery of Ancient Silicate Stardust in a Meteorite. **Science**, v. 303, p. 1496-1499, 2004.

PAECHT-HOROWITZ, M. Clay catalysed polymerization of amino acid adenylates and its relationship to biochemical reactions. **Orig Life Evol Biosph**, p. 289-295, 1978.

PAPIKE, J.J.; KARNER, J.M.; SHEARER, C.K.; BURGER P.V. Silicate mineralogy of martian meteorites. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 73, p. 7443-7485, 2009.

PAWLUKOJĆ, A.; LECIEJEWICZ, J.; RAMIREZ-CUESTA, A.J.; NOWICKA-SCHEIBE, J. L-cysteine: neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study. **Spectrochim Acta A**, v. 61, p. 2474-2081, 2005.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **J Am Chem Soc**, v.85, n. 22, p. 3533-3539, 1963.

POKROVSKY, O. S.; SCHOTT, J. Forsterite surface composition I aqueous solutions: A combined potentiometric, electrokinetic, and spectroscopic approach. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 64, p. 3299-3312, 2000.

POULET, F.; BIBRING, J.P.; MUSTARD J. F.; GENDRIN A.; MANGOLD N.; LANGEVIN Y.; ARVIDSON, R. E.; GONDET, B.; GOMEZ C.; e OMEGA TEAM. Phyllosilicates on Mars and implications for early martian climate. **Nature**, v. 438, p. 623-627, 2005.

ROGACHEVA, N. V.; BOBYRENKO, Yu. Ya. Adsorption of some amino acids on titanium dioxide surface. **Russian J Phys Chem.**, v. 59, p. 769-770, 1985.

SAGAN, C.; KHARE, B. N. Long-Wavelength Ultraviolet Photoproduction of Amino Acids on the Primitive Earth. **Science**, v. 173, n. 3995, p. 417-420, 1971.

SCHOONEN, M.; SMIRNOV, A.; COHN, C. A perspective on the role of minerals in prebiotic synthesis. **AMBIO**, v. 33, p. 539-551, 2004.

SIQUEIRA, R. E.; ANDRADE, M. M.; VALEZI, D.F.; CARNEIRO, C. E. A.; PINESE, J. P. P.; DA COSTA, A. C. S.; ZAIA, D. A. M.; RALISCH, R.; PONTUSCHKA W. M.; GUEDES, C. L. B.; DI MAURO, E. EPR, FT-IR and XRD investigation of soils from Paraná, Brazil. **Appl Clay Sci**, v. 53, p. 42-47, 2011.

SPOSITO, G. **The surface chemistry of natural particles**. New York: Oxford, 2004.

STEWART, S.; FREDERICKS, P. M. Surface-enhanced Raman spectroscopy of amino acids adsorbed on electrochemically prepared silver surface. **Spectrochim Acta A**, v. 55, p. 1641-1660, 1999.

STÖFFLER, D.; KEIL, K.; SCOTT, E. R. D. Shock metamorphism of ordinary chondrites. **Geochim Cosmochim Acta**, v. 45, p. 3845-3867, 1991.

TANAKA, H., MIYAJIMA, K., NAKAGAKI, M., SHIMABAY, S. Interaction of aspartic acid, alanine and lysine with hydroxyapatite. **Chem Pharm Bull**, v. 37, p. 2897-2901, 1989.

TIRARD, S. Origin of Life and Definition of Life, from Buffon to Oparin. **Orig Life Evol Biosph**, v. 40, p. 215-220, 2010.

UEHARA, G. **Mineral–chemical properties of oxisols**. International Soil Classification Workshop, Soil Survey Division— Land Development Department, Bangkok, Malaysia, v. 2, p. 45-60, 1979.

VIEIRA, A. P.; BERNDT, G.; DE SOUZA JUNIOR, I. G.; DI MAURO, E.; PAESANO JR, A.; DE SANTANA, H.; DA COSTA, A. C. S.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. Adsorption of cysteine on hematite, magnetite and ferrihydrite: FT-IR, Mössbauer, RPE spectroscopy and X-ray diffractometry Studies. **Amino Acids**, v. 40, p. 205-214, 2011.

WILSON, M. J. Weathering of the primary rock-forming minerals: processes, products and rates. **Clay Miner** v. 39, p. 233-266, 2004.

WINTER, D.; ZUBAY, G. **Binding of adenine and adenine-related compounds to the clay montmorillonite and the mineral hydroxylapatite.** *Orig. Life Evol. Biosph.* v. **25**, p. **61-81**, 1995.

WOLPERT, M.; HELLWIG, P. Infrared spectra and molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500 cm<sup>-1</sup>. *Spectrochim Acta A*, v. 64, p. 987-1001, 2006.

YU, S.C. *P Natl Sci Counc Rep* v: 21, p. 173, 1997.

ZAIA, D. A. M.; RIBAS, K. C.; ZAIA, C. T. B. V. Spectrophotometric determination of cysteine and/ or carbocysteine in a mixture of amino acids, shampoo, and pharmaceutical products using p-benzoquinone. *Talanta*, v. 50, p. 1003-1010, 1999.

ZAIA, D. A. M.; VIEIRA, H. J.; ZAIA, C. T. B. V. Adsorption of L-amino acids on sea sand. *J Braz Chem Soc*, v. 13, p. 679-681, 2002.

ZAIA, D. A. M. Da geração espontânea à química prebiótica. *Química Nova*, v. 26, n. 2, p. 260-264, 2003.

ZAIA, D. A. M. A review of adsorption of amino acids on minerals: was it important for origin of life. *Amino Acids*, v. 27, p. 113-118, 2004.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; DE SANTANA, H. Which amino acids should be used in prebiotic chemistry studies? *Orig Life Evol Biosph*, v. 38, p. 469-488, 2008.

ZAIA, D. A. M. Adsorption of amino acids and nucleic acid bases onto minerals: a few suggestions for prebiotic chemistry experiments. *Int J Astrobiology*. Submetido. 2012.

ZHU, G.; ZHU, X.; FAN, Q.; WAN, X. Raman spectra of amino acids and their aqueous solutions. *Spectrochim Acta A*, v. 78, p. 1187-1195, 2011.