



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CRISTINE ELIZABETH ALVARENGA CARNEIRO

**INTERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E BASES DE ÁCIDOS
NUCLÉICOS COM MINERAIS: UM ESTUDO DE QUÍMICA
PREBIÓTICA**

Londrina
2012

CRISTINE ELIZABETH ALVARENGA CARNEIRO

**INTERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E BASES DE ÁCIDOS
NUCLÉICOS COM MINERAIS: UM ESTUDO DE QUÍMICA
PREBIÓTICA**

Tese apresentada junto à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química – Área de concentração Físico-Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Dimas Augusto Morozim Zaia

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique de Santana

Londrina

2012

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

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C289i Carneiro, Cristine Elizabeth Alvarenga.
Interação de aminoácidos e bases de ácidos nucléicos com minerais : um estudo de química prebiótica / Cristine Elizabeth Alvarenga Carneiro. – Londrina, 2012.
142 f. : il.

Orientador: Dimas Augusto Morozin Zaia.
Co-orientador: Henrique de Santana.
Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Química prebiótica – Teses. 2. Aminoácidos – Teses. 3. Minerais – Teses. 4. Biomoléculas – Teses. I. Zaia, Dimas Augusto Morozin. II. Santana, Henrique de. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 541.1



Programa de Pós-Graduação em Química
CURSO DE DOUTORADO EM QUÍMICA – ASSOCIAÇÃO AMPLA
UEL/UEPG/UNICENTRO

CRISTINE ELIZABETH ALVARENGA CARNEIRO

INTERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E BASES DE
ÁCIDOS NUCLEÍCOS COM MINERAIS: UM ESTUDO
DE QUÍMICA PREBIÓTICA

Orientador

Prof. Dr. DIMAS AUGUSTO MOROZIM ZAIA

Co-orientador

Prof. Dr. HENRIQUE DE SANTANA

Tese apresentada junto à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química – Área de concentração Físico-Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, para a obtenção do título de Doutor.

Londrina, 13 de agosto de 2012

CRISTINE ELIZABETH ALVARENGA CARNEIRO

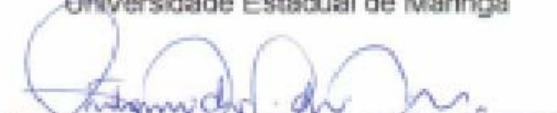
**INTERAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E BASES DE ÁCIDOS NUCLÉICOS
COM MINERAIS: UM ESTUDO DE QUÍMICA PREBIÓTICA**

Tese apresentada junto à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química – Área de concentração Físico-Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, para a obtenção do título de Doutor.


BANCA EXAMINADORA


Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia (Orientador)
Universidade Estadual de Londrina


Dr. Andrea Paesano Júnior
Universidade Estadual de Maringá


Dr. Antonio Carlos Saraiva da Costa
Universidade Estadual de Maringá


Dr. Eduardo Di Mauro
Universidade Estadual de Londrina


Dr. Fauze Jacó Anaissi
Universidade Estadual do Centro-Oeste

Londrina, 13 de agosto de 2012

*Guardei aqui para fazer a você essa dedicatória,
Pois é esse momento para mim muito especial, assim como você.*

*Ao meu querido esposo geraldo, pela paciência,
Companheirismo e eterno amor.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo Professor Dr. Dimas A. M. Zaia pela confiança e paciência depositada em mim e pela dedicação demonstrada durante a realização deste trabalho.

À Professora Dra. Cássia Thais B. V. Zaia, do Dep. de Ciências Fisiológicas da UEL, por todo apoio, paciência, ensinamentos e empréstimos.

Ao Professor Dr. Henrique de Santana, co-orientador por todas as vezes que me auxiliou e por todas as boas ideias de trabalho.

Ao Professor e amigo Dr. Antônio C. S. da Costa, do Dep. de Agronomia da UEM, pelos ensinamentos, ajuda com os experimentos e as análises de Raios-X.

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

Ao Professor Dr. Eduardo di Mauro, do Dep. de Física da UEL, pelas análises de RPE.

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

Aos funcionários do Dep. de Química e Bioquímica da UEL, em especial a Ivanira,

Nelson, Mauro e Sandra.

A todos os meus amigos do Grupo de Química Prebiótica pela amizade que se revelou durante estes anos.

A Capes pelo apoio financeiro.

E por último, a minha família, meu pai, meu esposo e minha filha, muito obrigada!

*Não sei... Se a vida é curta
Ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos tem sentido,
se não tocamos o coração das pessoas.*

Muitas vezes basta ser:

Colo que acolhe,

Braço que envolve,

Palavra que conforta,

Silêncio que respeita,

Alegria que contagia,

Lágrima que corre,

Olhar que acaricia,

Desejo que sacia,

Amor que promove.

E isso não é coisa de outro mundo,

É o que dá sentido à vida.

É o que faz com que ela

Não seja nem curta,

Nem longa demais,

Mas que seja intensa,

Verdadeira, pura... Enquanto durar.

Cora Coralina (1889 – 1985)

CARNEIRO, C. E. A. **Interação de aminoácidos e bases de ácidos nucléicos com minerais**: um estudo de química prebiótica 2012. 142 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

RESUMO GERAL

Nessa tese foi realizado um estudo de Química Prebiótica, na qual o objetivo é entender como surgiu à vida na Terra. O estudo foi conduzido a partir da hipótese de Bernal, de que, minerais podem ter desempenhado um papel de proteção contra degradação por hidrólise ou radiação ultravioleta, das moléculas orgânicas ou mesmo como catalisadores na formação de polímeros. A tese é apresentada em quatro capítulos, utilizando minerais e biomoléculas que poderiam ser encontrados no período de 3,8-4,0 bilhões de anos atrás, período em que surgiu a vida. O ambiente primitivo foi simulado nos experimentos utilizando uma água do mar artificial de composição média salina dos oceanos atuais. Foram utilizadas zeólitas, montmorillonita e goethita, assim como os aminoácidos glicina (Gly), α -alanina (α -Ala), β -alanina (β -Ala), ácido 2-aminoisobutírico (AIB), cisteína (Cys), histidina (His), metionina (Met) e as bases nitrogenadas adenina (A), timina (T), uracila (U) e citosina (C). As caracterizações e as análises químicas foram feitas utilizando as técnicas espectroscópicas de Infravermelho, Raman, RPE, Mössbauer, também a difratometria Raios X, a Microscopia Eletrônica de Varredura e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O capítulo 1 mostra a adsorção de aminoácidos (ala, cys, his, met) em zeólitas. A Cys foi o aminoácido mais adsorvido por todas as zeólitas, e a adsorção relativa (aminoácidos/Ala) foi próxima de 1,00. No capítulo 2 foi estudada a modificação da montmorillonita com sulfeto de sódio, para utilização em estudos de química prebiótica. A modificação da montmorillonita fez com que o Fe^{2+} , na composição do mineral, ficasse protegido após o contato do mineral com a água do mar artificial. O capítulo 3 mostra a adsorção de adenina, citosina, timina e uracila em montmorillonita modificada com sulfeto. A adenina e a citosina foram as bases mais adsorvidas pelo mineral. Os resultados de Mössbauer mostraram que as bases consomem quase que totalmente o Fe^{2+} . No capítulo 4 foi estudada a síntese e a caracterização de goethita em condição hidrotermal de química prebiótica, na presença de aminoácidos protéicos e não protéicos. Quando, presente na síntese aminoácidos não protéicos, foi obtida uma mistura de goethita e hematita. No entanto, na presença de aminoácidos protéicos, apenas goethita foi sintetizada. Os espectros Raman pelo efeito SERS mostraram a presença dos aminoácidos nos materiais sintetizados, assim como, amida, indicando uma possível formação de peptídeos. A formação de ligação peptídica, na presença dos óxidos-hidróxidos de ferro, obtidos nas sínteses, fazem deles importantes minerais para o estudo de química prebiótica.

Palavras-chave: Química prebiótica. Aminoácidos. Minerais. Bases nitrogenadas.

CARNEIRO, C. E. A. **Interação de aminoácidos e bases de ácidos nucleicos com minerais: um estudo de química prebiótica.** 2012. 142 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

ABSTRACT

In the present thesis a prebiotic chemistry study was done, which aim is understand how the life arose on Earth. The study was from Bernal's hypothesis conducted, which minerals could be used to protect organic molecules from degradation due to hydrolysis or UV radiation. The work is presented in four chapters, using minerals e biomolecules that could have found in 3.8-4.0 Ga, period in which life appeared. In experiments the primitive environment was simulated using a artificial seawater of media composition saline of actual oceans. In the studies were used the zeolites, montmorillonite e goethite as minerals e glycine (Gly), α -alanine (α -Ala), β -alanine (β -Ala), 2-aminoisobutyric acid (AIB), cysteine (Cys), histidine (His), methionine (Met) as amino acids e adenine (A), thymine (T), uracil (U) e cytosine (C) as nucleic acid bases. The Infrared, Raman, RPE, Mössbauer, X-ray diffractometry, SEM, e HPLC techniques were used to characterization e the analysis of the samples. The first chapter shows the adsorption amino acids (ala, cys, his, met) on zeolites. Cys was adsorbed in higher amount by all zeolites, and the relative concentrations of (amino acid/Ala) are closed to 1.00. The second chapter the modification of montmorillonite with sodium sulfide was studied to use this material in prebiotic chemistry. The Fe^{2+} , in mineral composition was protected in montmorillonite modified after the mix with seawater artificial. The third chapter shows adsorption of adenine, cytosine, thymine, e uracil on sulfide-modified montmorillonite. Adenine and cytosine were more adsorbed on clays. Mössbauer results showed that nucleic acid bases consumed nearly all Fe^{2+} . The fourth chapter was studied the synthesis e characterization of goethite under hydrothermal prebiotic chemistry conditions, with proteins amino acids and no proteins. When no proteins amino acids present in synthesis, the mix of goethite and hematite was obtained. However, in the presence of protein amino acids, only goethite was synthesized. The Raman SERS effect showed the presence of amino acids in synthesized materials, such as, amide, indicating the possibility the formation of peptide. The peptide bond formation in the presence of iron oxides-hydroxides obtained in the synthesis, make them important minerals for the study of prebiotic chemistry.

Key-words: Prebiotic chemistry. Amino acids. Minerals. Nucleic acid bases

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	20
Tabela 1- Sugestões para composições de água do mar	28
CAPÍTULO II	34
CAPÍTULO III	40
Tabela 1 - Propriedades das zeólitas	44
Tabela 2 - Propriedades dos aminoácidos*	47
Tabela 3 - pH das amostras depois de 24 horas de agitação	48
Tabela 4 - Quantidade de aminoácidos em nmol adsorvido em 25 mg de zeólita	49
Tabela 5 - Concentração relativa (Ala = 1,00) de aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) adsorvidos nas zeólitas	51
CAPÍTULO IV	63
Tabela 1 - Cátions Trocáveis $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$	67
Tabela 2 - Distância interplanar da montmorillonita original (M) e modificada (MM) com e sem água do mar artificial.	68
Tabela 3 - Concentração em mg L^{-1} de Fe e Al depois da extração com água do mar artificial em duas faixas de pH (2 e 7) para a montmorillonita original (M) e modificada (MM).....	69
Tabela 4 - Intensidade das linhas de ressonância do Fe^{3+}	70
Tabela 5 - Parâmetros hiperfinos Mössbauer e área sub-spectral para as amostras de montmorillonita	72
CAPÍTULO V	77
Tabela 1- Valores de pK_a para as bases nitrogenadas	81
Tabela 2 - Faixa de pH, carga das argilas e carga das bases nitrogenadas	84
Tabela 3 - Espaçamento basal d_{001} para as montmorillonitas não modificadas e modificadas com (Na_2S) depois da adsorção das bases nitrogenadas.	90
Tabela 4 - Intensidades das linhas de ressonância do Fe^{3+}	93

Tabela 5 - Parâmetros hiperfinos Mössbauer e áreas sub-spectrais para as amostras de montmorillonita.	95
CAPÍTULO VI	104
Tabela 1- Propriedades dos aminoácidos	108
Tabela 2 - Resultados do pH da solução após a síntese da goethita pura, goethita em água do mar, goethita pura mais aminoácido e goethita em água do mar mais aminoácido e o pH do ponto de carga zero (pH_{pcz}) para os materiais.	111
Tabela 3 - Resultados da espectroscopia Raman para as sínteses na presença ou ausência de água do mar e aminoácidos	112
Tabela 4 - Parâmetros hiperfinos de Mössbauer e área subspectral para as sínteses de goethita em água destilada e em água do mar, com e sem a adição de aminoácidos.	128

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	20
Figura1 - Esquema dos papéis dos minerais para a Química Prebiótica	24
CAPÍTULO II	34
Figura 1 - Linhas de absorção do MgO:Mn ²⁺ com o valor de g do quarto pico de absorção e a distância ΔH entre a 3 ^a e a 4 ^a linhas do espectro.	38
CAPÍTULO III	40
Figura 1 - Zeólita beta, plano [100] (A); zeólita Y, plano[111]; mordenita, plano [001] (C) e ZSM-5, plano [010]. As estruturas são da Associação Internacional de Bases de Dados de Zeólita (Baerlocher e McCusker).	45
Figura 2 - Microscopia Eletrônica de Varredura das zeólitas puras: zeólita Beta (Beta-720) (A); zeólita Y (B); mordenita (C) e ZSM-5 (D).	45
Figura 3 - Estrutura molecular dos aminoácidos estudados.....	46
Figura 4 - Espectro Infravermelho: zeólitas (linhas tracejadas), aminoácido sólido (linha sólida) e aminoácidos adsorvidos em zeólitas. Beta-720 (roxo); Beta-50 (vermelho); zeólita Y (verde); ZSM-5 (azul escuro); mordenita (azul claro). Sequência de aminoácidos usados: (a) Ala; (b) His; (c) Met; e (d) Cys. Zeólitas mais água do mar e zeólitas mais aminoácidos dissolvidos em água do mar em concentração saturada, todos agitados durante 24 h. O pH das amostras ficaram na faixa de 2,66 a 4,50. As amostras foram centrifugadas durante 15 min a 2000 rpm; a fase aquosa foi descartada e o sólido seco em estufa a 40°C for 24 h.	56
Figura 5 - Espectro Raman para a Cys sólida (a) e Cys adsorvida em zeólita Y (b) e ZSM-5 (c). Excitação em 633 nm. Zeólitas mais água do mar e zeólitas mais aminoácidos dissolvidos em água do mar em concentração saturada, todos agitados durante 24 h. O pH das amostras ficaram na faixa de 2,66 a 4,50. As amostras foram centrifugadas durante 15 min a 2000 rpm; a fase aquosa foi descartada e o sólido seco em estufa a 40°C for 24 h.	57

CAPÍTULO IV63

Figura 1 - Espectroscopia de RPE para a Montmorillonita original e Modificada nos dois pHs (2,0 e 7,0). Os espectros apresentam as linhas de absorção do MgO:Mn²⁺ com o valor de g do quarto pico de absorção e a distância ΔH entre a 3ª e a 4ª linhas do espectro conforme descrito no Material e Métodos.....71

CAPÍTULO V77

Figura 1 - Estrutura das bases nitrogenadas estudadas.....81

Figura 2 - Quantidade de bases adsorvidas em argilas em dois diferentes pH, (2,00, 7,00), As bases nitrogenadas foram dissolvidas em água mar artificial e misturadas com argila (M, MM) por 3 h, M = montmorillonita, MM = montmorillonita modificada, Os resultados estão apresentados como media ± desvio padrão da média, O número de repetições foram cinco com duas amostras em cada, Nas colunas SNK (p<0,05); Para a adenina: 600, 1200, 2400 e 3600 µg/5,00 mL ANOVA (F = 14,81, P = 0,000; F = 78,14, P =0,000; F =158,98, P = 0,000; F = 135,21, P =0,000), SNK (600 µg/5,00 mL) a/b e c/d; SNK (1200, 2400 e 3600 µg/5,00 mL) a/b, c/d e e/f, Para citosina: 600, 1200, 2400 e 3600 µg/5,00 mL ANOVA (F =6,57, P = 0,004; F = 30,79, P =0,000; F =35,97, P = 0,000; F = 30,12, P =0,000), SNK (600 µg/5,00 mL) a/b;, SNK (1200 e 3600 µg/5,00 mL) a/b e c/d; SNK (2400 µg/5,00 mL) a/b, c/d e e/f, Para Timina 600, 1200, 2400 e 3600 µg/5,00 mL ANOVA (F = 0,82, P = 0,500; F = 4,78, P =0,015; F =4,10, P = 0,025; F = 3,11, P =0,056); SNK (1200, 2400 e 3600 µg/5,00 mL) a/b, Para uracila ANOVA (F = 3,74, P = 0,033; F = 11,77, P =0,000; F = 10,96, P = 0,000; F = 10,25, P =0,000), SNK (600 e 2400 µg/5,00 mL) a/b; SNK (1200 e 3600 µg/5,00 mL) a/b e c/d.....82

Figura 3 - Taxa relativa Adenina/Timina adsorvida nas argilas. Montmorillonita (M) e Montmorillonita Modificada (MM) em dois diferentes pHs (2,00 e 7,00) para as quatro concentrações.....85

Figura 4 - Espectro de FT-IR: U-uracila sólida, 3-(a)-U; A-adenina sólida, 3-(a)-A; C-citosina sólida, 3-(a)-C; T-timina sólida, 3-(a)-T; M-montmorillonita sólida, 3-(a)-M; MM-montmorillonita modificada sólida, 3-(a)-MM; U adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-U; A adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-A; C adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-C; T adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-T; U adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-U; A adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-A; C adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-C; T adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-T; U adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-U; A adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-A; C adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-C; T adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-T; U adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-U; A adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-A; C adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-C; T adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-T. As bases nitrogenadas ($720 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram dissolvidas em água do mar artificial e misturada com as argilas (M, MM) por 3 h, depois as amostras foram centrifugadas por 15 min. a 2,000 r.p.m. e os sólidos secos a 60°C .	88
Figura 5 - Difração de Raios X para a montmorillonita não modificada e montmorillonita modificada com Na_2S , depois da adsorção da adenina e uracila nos dois pHs (2,00 e 7,00).	91
Figura 6 - Espectros Mössbauer para as montmorillonitas (M) e montmorillonitas modificadas (MM) após a adsorção das bases nitrogenadas, adenina (a), citosina (c), timina (t) e uracila (u) em pH 2,00.	97
Figura 7 - Espectros Mössbauer para as montmorillonitas (M) e montmorillonitas modificadas (MM) após a adsorção das bases nitrogenadas, adenina (a), citosina (c), timina (t) e uracila (u) em pH 7,00.	98
CAPÍTULO VI	104
Figura 1 - Estruturas químicas dos aminoácidos: a) α -Alanina, b) β -Alanina, c) Glicina, d) Cisteína e e) ácido 2-aminoisobutírico.	108
Figura 1a- Espectro FT-IR da goethita sintetizada com e sem a presença de água do mar e Cisteína. Gt = goethita, Cys=cisteína, am=água do mar.	113

- Figura 2 - Espectros Raman da goethita sintetizada em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos. (a)Gt =goethita, Hm = hematita, ,(b) Gly = glicina, (c) α -Ala = alanina, (d) β -Ala = β -alanina, (e)Cys = cisteína, Cis = cistina, (f) AIB = acido 2-aminoisobutirico, am = água do mar artificial 116
- Figura 3 - Espectro de RPE da goethita sintetizada em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos. () = intensidade de ressonância, linha $Fe^{3+} g \approx 2$, (a)Gt =goethita, ,(b) Gly = glicina, (c) α -Ala = alanina, (d) β -Ala = β -alanina, (e)Cys = cisteína, Cis = cistina, (f) AIB = acido 2-aminoisobutirico, am = água do mar artificial. 119
- Figura 4 - Difractogramas de raios X das sínteses em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos, mostrando a variação na mineralogia promovida pela adição dos diferentes aminoácidos. ad= água destilada, am = água do mar artificial, Gly = glicina, α -Ala = alanina, β -Ala = β -alanina, Cys = cisteína, AIB = ácido 2-aminoisobutírico. As fases estão indicadas pelas siglas, Gt = goethita, Hm = hematita, S= enxofre..... 121
- Figura 5 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada, b) goethita sinteitzada em água do mar artificial, c) goethita sintetizada em água destilada mais glicina e d) goethita sintetizada em água destilada mais glicina..... 123
- Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) e b) goethita sintetizada em água destilada mais cisteína, em duas intensificações, c) e d) goethita sinteitzada em água do mar artificial mais cisteína, em duas intensificações. 124
- Figura 7 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada mais α -alanina, b) goethita sinteitzada em água do mar artificial mais α - alanina, c) goethita sintetizada em água destilada mais mais β -alanina e d) goethita sintetizada em água do mar artificial mais β -alanina. 125
- Figura 8 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada mais AIB, b) e c) goethita sinteitzada em água do mar artificial mais AIB. 126

Figura 9 - Espectros Mössbauer para as sínteses de goethita em água destilada e em água do mar, com e sem a adição de aminoácidos Gt = goethita, am = água do mar artificial, Gly = glicina, α -Ala = α -alanina, β -Ala = β -alanina, Cys = cisteína, AIB = ácido 2-aminoisobutirico	129
---	-----

APÊNDICE 138

Figura 1 - Espectros de FT-IR para os aminoácidos puros em pastilha de KBr.....	140
---	-----

Figura 2 - Espectro de FT-IR do experimento de diluição da cisteína (A) e glicina (B) em goethita. As concentrações de aminoácido em goethita são 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18%	141
--	-----

Figura 3 - Espectro Raman do experimento de diluição da cisteína e glicina em goethita. As concentrações de aminoácido em goethita são 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18%	142
---	-----

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	20
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.2 QUÍMICA PREBIÓTICA.....	21
2.3 A TERRA	22
2.4 MINERAIS	23
2.5 ÁGUAS DO OCEANO.....	25
2.6 MOLÉCULAS ORGÂNICAS PREBIÓTICAS	28
3 REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO II - TÉCNICAS QUÍMICAS, ESPECTROSCÓPICAS E MINERALÓGICAS PARA PREPARAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	34
1 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL.....	34
1.2 REAGENTES	34
1.3 PREPARO DA ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL.....	34
2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC	35
3 ANÁLISE DE METAIS – ICP (ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA POR PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE).....	35
4 ESPECTROFOTOMETRIA DE UV.....	35
5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO.....	36
6 ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	36
7 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)	37
8 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER.....	38
9 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X.....	39
10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	39
11 MEDIDAS DE PH.....	39

CAPÍTULO III - ADSORÇÃO DE AMINOÁCIDOS (ALA, CYS, HIS, MET) EM ZEÓLITAS: UMA INVESTIGAÇÃO USANDO MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE INFRAVERMELHO E RAMAN		40
1	RESUMO	40
2	ABSTRACT.....	41
3	INTRODUÇÃO.....	42
4	OBJETIVO GERAL.....	44
	4.1 Objetivos Específicos.....	44
5	MATERIAL E MÉTODOS	44
	5.2 AMINOÁCIDOS	45
	5.3 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL	46
	5.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	46
	5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÕES.....	58
8	REFERÊNCIAS	59
 CAPÍTULO IV -MODIFICAÇÃO DA MONTMORILLONITA COM SULFETO DE SÓDIO PARA ESTUDOS DE QUÍMICA PREBIÓTICA: CARACTERIZAÇÃO UTILIZANDO MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS E DIFRATOMETRIA DE RAIOS X		63
1	RESUMO	63
2	ABSTRACT.....	63
3	INTRODUÇÃO.....	64
4	OBJETIVO.....	64
5	MATERIAL E MÉTODOS	65
	5.1 MONTMORILLONITA MODIFICADA	65
	5.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA.....	65
	5.3 CAPACIDADE DE TROCA DE CÁTIOS (CTC).....	65
	5.4 DETERMINAÇÃO DO PONTO ISOELÉTRICO (PH _{IEP}).....	66
	5.5 CÁTIOS TROCÁVEIS (NA ⁺ , K ⁺ , CA ²⁺ , MG ²⁺).....	66
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
7	CONCLUSÕES.....	73
8	REFERÊNCIAS	74

CAPÍTULO V - ADSORÇÃO DE ADENINA, CITOSINA, TIMINA E URACILA EM MONTMORILLONITA MODIFICADA COM SULFETO: ESPECTROSCOPIA FT-IR, MÖSSBAUER E RPE E DIFRATOMETRIA DE RAIOS X	77
1 RESUMO	77
2 ABSTRACT.....	78
3 INTRODUÇÃO.....	79
4 OBJETIVO.....	80
5 MATERIAL E MÉTODOS	80
5.1. ADSORÇÃO DAS BASES NITROGENADAS À MONTMORILLONITA	80
5.2 PONTO DE CARGA ZERO.....	81
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	81
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
7 CONCLUSÕES.....	97
8 REFERÊNCIAS	100
CAPÍTULO VI -SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE GOETHITA EM AMBIENTE PREBIÓTICO: UMA INVESTIGAÇÃO UTILIZANDO AMINOÁCIDOS PROTÉICOS E NÃO PROTÉICOS	104
1 RESUMO.....	104
2 ABSTRACT	105
3 INTRODUÇÃO	105
4 OBJETIVO.....	107
5 MATERIAL E MÉTODOS	108
5.1 AMINOÁCIDOS.....	108
5.2 PREPARO DA ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL.....	108
5.3 SÍNTESES.....	109
5.3.1 Goethita em Água Destilada.....	109
5.3.2 Goethita em Água do Mar Artificial, em Água Destilada Mais Aminoácidos e em Água do Mar Artificial Mais Aminoácidos	109
5.4 PONTO DE CARGA ZERO.....	109
5.5 MEDIDA DE PH	110
5.6 CARACTERIZAÇÕES.....	110

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	110
7 CONCLUSÕES	131
8 REFERÊNCIAS.....	132
1 CONCLUSÃO GERAL.....	136
2 PERSPECTIVA PARA FUTUROS TRABALHOS	137
APÊNDICE.....	138
1 Experimento para verificar o limite de detecção das bandas características dos aminoácidos em FT-IR e Raman.	139

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

Desde a década de 60 os estudos em química prebiótica têm crescido e as novas pesquisas vêm mostrando diferentes hipóteses para se pensar sobre origem da vida. Essa tese teve como objetivo compreender as interações entre aminoácidos e bases nucleicas do DNA/RNA, moléculas fundamentais a vida, com minerais, em ambiente prebiótico. Os aminoácidos ou bases nucleicas foram dissolvidos em de água do mar artificial, cuja composição é a mesma de uma água do mar natural, no que se refere ao conteúdo da composição salina. O uso dos minerais neste estudo se justifica, pois esses estão presentes desde a formação do sistema solar. No período de formação do sistema solar esses não passavam de aproximadamente 12 tipos, no entanto, nos dias atuais chegam a mais de 4400 tipos. O aumento dos tipos de minerais vem crescendo desde a presença de água (lagos e oceanos), aumento da concentração de oxigênio e mudanças gasosas da atmosfera e também o aparecimento das moléculas orgânicas.

A hipótese dos minerais estarem envolvidos nos processos de catálise na química prebiótica está sendo estudada há aproximadamente cinco décadas, desde que eles foram descobertos como excelentes materiais para serem utilizados nas catálises industriais. No entanto, a questão de degradação envolvendo os processos em química prebiótica, hoje, também é discutida. Pois a mesma energia que pode converter moléculas simples em mais complexas, pode ser utilizada para sua quebra e degradação.

No presente estudo foram utilizadas técnicas como Infravermelho, Raman, Mössbauer, Ressonância Eletrônica Paramagnética, Raios X e Microscopia Eletrônica de Varredura para estudar as interações entre aminoácidos/bases nucleicas do DNA/RNA e minerais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2 QUÍMICA PREBIÓTICA

Há mais de 2.000 anos a teoria da geração espontânea, elaborada por Aristóteles, ou seja, a formação dos seres vivos a partir de matéria inanimada foi plausível para explicar a origem da vida. No entanto, essa teoria foi provada ser totalmente errada após os experimentos de Pasteur e Tyndall no século XIX. A comunidade científica, diante dos novos relatos, então vê a necessidade da criação de novas tecnologias que possibilitem ampliar os conhecimentos para fornecer à sociedade explicações lógicas sobre a grande questão sobre a origem da vida. No entanto, somente os cientistas Alexander Oparin em 1924 e J. B. Haldane em 1928, influenciados pela teoria Darwniana, propuseram uma hipótese para estudar novamente a questão da origem da vida. Com desenvolvimento e o amadurecimento científico, surgiram várias abordagens para elucidar a origem da vida na Terra, iniciando os estudos de química prebiótica. Esse ramo da ciência envolve o estudo das reações que poderiam ter contribuído para o surgimento da vida em nosso planeta (Zaia e Zaia, 2008), sendo que tais estudos são desenvolvidos simulando os possíveis ambientes e condições que poderiam ter existido na chamada Terra Primitiva.

A química prebiótica baseia-se no fato de que a partir de moléculas simples como CO_2 , NO , CH_4 , H_2 , H_2S , HCN , NH_3 , H_2O e moléculas mais complexas, como aminoácidos, poderiam ser formadas, conseqüentemente, ocorreria a complexação destes originando peptídeos, os quais continuariam a se polimerizar até chegar à organização de uma estrutura celular (Miller, 1953; Zaia e Zaia, 2008).

O maior desafio no estudo de química prebiótica é o tempo. A variável tempo, nos experimentos atuais de prebiótica é insignificante quando comparada ao período exigido para que pudesse haver qualquer indício de vida na Terra. Estima-se que o surgimento da vida na Terra tenha sido por volta de 3,8 bilhões de anos atrás. Considerando o tempo de formação do planeta, o evento para o aparecimento da vida necessitou de aproximadamente de um período de 300 a 800 milhões de anos. Experimentos de longa duração tiveram um período de aproximadamente de 30 anos. As demais variáveis envolvidas no estudo de química prebiótica são em sua maioria baseadas em estudos geológicos, pois é,

praticamente impossível saber com exatidão as reais condições que existiram na Terra primitiva.

2.3 A TERRA

O sistema Solar surgiu há aproximadamente, 4,6 bilhões de anos, quando uma nuvem interestelar colapsou, provavelmente advinda de uma onda de choque causada pela explosão de uma supernova (Oró, 2004). O material consistia principalmente de hidrogênio e hélio, com traços de outros elementos e temperatura estimada em 15 K (Rauchfuss, 2008). O primeiro milhão de anos foi repleto de colisões de planetesimais e cometas com corpos maiores. Então os materiais precursores do planeta Terra foram rochas de planetesimais e poeira interestelar. A acreção desses materiais iria compor o planeta e continham em grande parte água e compostos orgânicos, formando a Terra Primitiva.

O planeta passou por vários estágios envolvendo o processo de formação de muitos minerais, dos quais muitos eram novos e outros apenas transformações (Hazen, 2010). Na era da acreção planetária, por volta de 4,55 bilhões de anos, os minerais presentes não eram mais que uma dúzia. Já na era da alteração e diferenciação planetesimal, os minerais acumulavam mais ou menos 250 espécies e hoje já passam de 4.400 espécies.

No período de acreção do planeta o conteúdo de água foi um importante fator, pois se considera que ela resfrie o sistema, retirando o excesso de energia livre no processo de colapso protoestelar (Rauchfuss, 2008). A água pode existir na forma gasosa, líquida ou sólida nas partículas interestelares. A água que se acumulou ou se formou na terra deu origem aos rios, mares e oceanos. A formação dos oceanos na Terra e sua composição ainda são bastante discutidas e merece atenção. Os oceanos primitivos tiveram sua formação na era Hadean, após o período de acreção entre 4,5 e 4,4 bilhões de anos, quando então o magma dos oceanos começava a se solidificar devido ao resfriamento pela presença da água (Hazen et al, 2008). Nesse período ainda havia intenso bombardeamento de meteoros e é sugerido que quando houve a formação da Lua devido a um forte impacto, esses oceanos primitivos foram perdidos e foram novamente regenerados mais tarde no período de 4,2 a 3,7 bilhões de anos (Izawa et al., 2010).

Uma hipótese para a formação dos oceanos é de que os corpos das colisões planetesimais eram compostos em sua grande parte por água no estado sólido. A composição básica desses cometas e asteróides eram de silicatos hidratados (Rauchfuss 2008). Uma consideração bastante importante é a de que o oxigênio é o terceiro elemento depois do hidrogênio e o hélio, o que possibilitaria a formação de gelo nos corpos planetesimais (Cyr et al., 1998). Esses corpos ao atingirem a Terra foram se acumulando até formar os oceanos. Portanto uma boa parte da água existente hoje nos oceanos é exógena. Os cometas têm em média 40% de água e a hipótese de que os oceanos foram formados por esse tipo de água é aceita observando a relação de dois isótopos de hidrogênio. O D/H no Cometa Halley e em condritos carbonáceos está entre 0,6 a $4,8 \times 10^{-4}$ e, em água do mar terrestre existe uma magnitude semelhante para o valor da relação D/H que é de $1,6 \times 10^{-4}$ (Robert, 2001). De acordo com Raymond et al., (2003) mais de 10% da água veio de cometas.

Outra hipótese é a presença da atmosfera gasosa depois do período de acreção da Terra. Após esse período a Terra era muito quente e então ocorria à emissão de gases que formavam a atmosfera nesse período, qual era composta por vapor d'água em sua maior composição. Com o passar do tempo e o resfriamento da Terra essa água no estado de vapor se condensou e precipitou na superfície do planeta. De qualquer maneira há que se considerar que parte dessa água que formava uma atmosfera gasosa era composta por água exógena. Pois na acreção do planeta, os corpos que faziam parte dessa composição continham água em valores apreciáveis.

2.4 MINERAIS

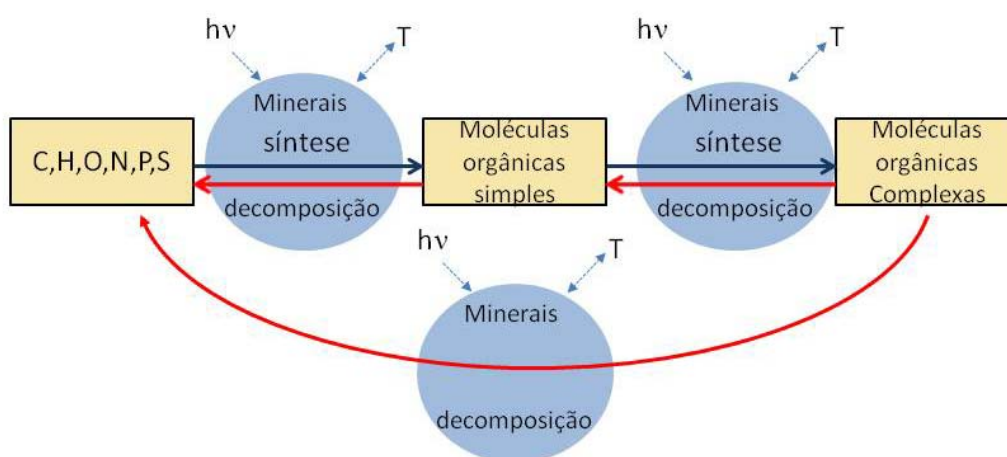
Bernal (1951) foi o primeiro a sugerir que minerais poderiam ter desempenhado um importante papel na origem da vida na Terra. Os minerais teriam participado na pré-concentração de biomoléculas no mar da Terra primitiva, assim como na sua posterior condensação para a formação de biopolímeros (Ferris et al. 1996; Zamaraev et al., 1997; Hill Jr. e Orgel, 1999; Ferris, 2002).

Os minerais são moléculas que exibem atividade catalítica e especificidade para determinadas reações (Schoonen et al., 2004), de maneira que ao mesmo tempo que podem auxiliar a síntese de moléculas, podem também

decompor as mesmas. Industrialmente e na química ambiental, suas propriedades catalíticas são bem conhecidas. Portanto, é plausível que os minerais teriam participação ativa na síntese de moléculas orgânicas complexas na Terra primitiva. Os minerais agem como catalisadores por reduzirem a energia de ativação das reações envolvidas na formação de moléculas orgânicas complexas.

No período de acreção (4,55 bilhões de anos) com aproximadamente doze tipos de minerais, ainda não havia indício de vida ou células como conhecemos hoje, portanto a presença desses talvez não tenha sido de importância para o aparecimento da vida. Já no período de 4,0 a 3,5 bilhões de anos, a evolução mineral foi significativa, pois já eram encontrados aproximadamente 500 tipos de minerais (Hazen et al., 2008) e junto com essa gama de diferentes minerais os primeiros organismos vivos. Os minerais encontrados nesse estágio eram dos grupos dos filossilicatos, carbonatos, sulfatos e hidróxidos. A presença de água foi também um dos principais fatores contribuintes para o intemperismo dos minerais assim como o vulcanismo. Então, o grande número de novos minerais e suas diferentes características faz com que a hipótese de Bernal seja aceitável. Pois, teríamos cada mineral com sua própria característica, como a presença de poros, carga permanente, carga variável, capacidade de adsorção, etc. E cada um, contribuiria de maneira determinada de acordo com sua característica. Então, poderíamos encontrar no ambiente, minerais que estariam contribuindo em diferentes graus para o aumento da complexidade das moléculas orgânicas.

Figura1 - Esquema dos papéis dos minerais para a Química Prebiótica



Alguns trabalhos mostram claramente a participação dos minerais na adsorção de aminoácidos e formação de peptídeos e outras moléculas de maior complexidade (Zaia et al., 2002, Plekan et al., 2007, Noren et al., 2008; Lambert et al., 2009). De acordo com Lahav, (1994) a montmorillonita promove a oligopolimerização de bases nucleicas. Vieira et al., (2010) mostraram a adsorção de cisteína por óxidos de ferro como, hematita, magnetita e ferrihidrita. Baú et al., (2011) adsorveram adenina e timina em várias zeólitas e que a adsorção não depende somente do tamanho de poro, relação Si/Al, mas que além da interação eletrostática, outras interações devam ser consideradas, como força de van der Waals. Arnarson e Keil, (2000) também mostraram que as forças de van der Waals são importantes para explicar a adsorção de matéria orgânica em montmorillonita e que os íons também têm influência significativa no processo de adsorção. Os autores colocam que a presença de sulfato reduz o teor de matéria orgânica adsorvida e que Ca^{2+} e Na^+ intensificam a adsorção, inferindo que ligações em ponte estão sendo formadas.

2.5 ÁGUAS DO OCEANO

Os primeiros povos a estudar e relatar características salinas das águas dos oceanos foram os Gregos. Aristóteles (384-322) B.C. descreveu as características físicas e químicas de vários mares como: Mar Morto, Mar Vermelho, Mar Negro, Mar Aegean, Mediterrâneo e também o Atlântico, qual ele considerava ser o maior de todos (Wallace, 1974).

A composição da água do oceano tem variado desde a formação do mesmo e essa alteração tem sido atribuída ao intemperismo que as rochas tem sofrido ao longo dos períodos. Os estudos dos processos de alterações rochosas (formação e decomposição) que a Terra tem sofrido são importantes para elucidar as possíveis variações químicas dos oceanos. As hipóteses e comprovações das diferentes composições das águas têm sido feitas baseadas nas composições dos sedimentos marinhos, dos condritos e dos acondritos. Geralmente os estudos simulam processos de lixiviação (Izawa et al. 2010), que pode ser realizado sob uma determinada temperatura ou em temperatura ambiente, assim como variando a pressão parcial de CO_2 (Schoonen et al., 2004). Os Condritos são variedades de meteoritos rochosos que se formaram no início do sistema solar, portanto sua

composição mineralógica deve diferir dos acondritos que são condritos que já sofreram alteração por intemperismo. De acordo com Izawa, et al. (2010) os condritos carbonados são os materiais mais comuns, por isso são tidos como os principais contribuintes para a formação dos oceanos, sendo em sua composição ricos em voláteis. É importante ter em mente que nos estudos de química prebiótica a perfeita simulação do ambiente primitivo é impossível. No entanto, contando com boas ferramentas (programas computacionais, modelos e a moderna dinâmica química e física), a predição de resultados chega muito próxima da realidade.

Em química prebiótica, o interesse sobre a composição das águas do oceano está em média, no período de 4,0 a 3,5 bilhões de anos. Esse período é considerado ter sido o início da vida na Terra e, portanto de acordo com estudos geológicos, já havia se estabelecido o novo oceano permanente primitivo (Chyba, 1987). Segundo de Ronde et al., (1997) o cenário do oceano permanente primitivo era muito variável. A temperatura da água era $< 100^{\circ} \text{C}$, existiam regiões ácidas ou extremamente alcalinas, decorrente do intemperismo dos minerais presentes e dos gases expelidos pelos vulcões, assim como dos gases presentes na atmosfera. A composição das águas poderia variar de aproximadamente em cem elementos, mas seis íons sempre foram os maiores constituintes, como o Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , Na^{+} , Cl^{-} e SO_4^{2-} (Morse e Mackenzie, 1998). Alguns autores (de Ronde et al., 1997, Morse e Mackenzie, 1990, Knauth, 1998) mostram que a concentração salina das águas seriam mais elevadas com relação ao conteúdo de NaCl, podendo ser em média duas vezes maior do que a atual. Também existe uma grande contradição em relação aos teores de Ca^{2+} e Mg^{2+} . Se realmente a concentração dos principais íons considerados fosse mais elevada do que as atuais, certamente a salinidade seria mais elevada (Izawa et al. 2010). No entanto, se a concentração dos principais íons fosse devida somente ao intemperismo de materiais contendo SO_4^{2-} , como principal constituinte, essa água teria baixa salinidade, pois sais de sulfato exibem baixos valores de condutividade. A salinidade atual dos oceanos é em média de 35 PSU (Unidades Práticas de Salinidade), podendo variar de 33 a 38 quando se tratar de águas superficiais ou profundas respectivamente (Wallace, 1974). Em regiões de grande evaporação esses valores podem ser maiores, assim como próximo de minas salinas (NaCl ou KCl) (Stewart, 2008). A salinidade em águas superficiais é menor devido ao influxo de água doce dos rios e da precipitação.

Morse e Mackenzie, (1990) propuseram que a atmosfera primitiva (de 4,0 a 3,8 bilhões de anos) era deficiente em oxigênio e que prevaleciam ambientes anaeróbicos no oceano, com pressões de CO_2 de cerca de dez vezes maior do que hoje, portanto, existindo uma tendência do pH ser menor do que nos dias atuais, o qual pode variar de 6,5 a 7,5. Várias hipóteses para composições de água do mar têm mostrado que elas seriam mais salinas do que nos dias atuais. Essa salinidade poderia ser representada não só pelos teores de cátions monovalentes, mas principalmente pelos bivalentes como Ca^{2+} e Mg^{2+} . Zaia, (2012) reproduzindo a composição das águas propostas por Ronde et al., (1997) obteve os pHs de 12,0 para água hidrotermal e 6,5 para água de superfície. Nas duas águas as concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} estão bem acima da água do mar atual. No entanto, Zaia, (2012) não conseguiu atingir a concentração de Na^+ e K^+ proposta por Ronde et al., (1997), pois nas condições ambientais atuais ocorre a precipitação de fases minerais, quando se reproduz as mesmas concentrações dos cátions Na^+ e K^+ . Ries, (2009) destaca que é de suma importância a taxa de Mg/Ca nas águas dos oceanos, pois essa relação controla o polimorfismo e então a formação de CaCO_3 . Segundo Ries (2009), as flutuações a que cada período está submetido influencia na calcificação e crescimento dos organismos presentes no ambiente marinho e que essas modificações foram importantes no período do surgimento da vida, para os organismos que tinham em sua composição básica o CaCO_3 e MgCO_3 . No entanto, Ronde et al., (1997) em seu trabalho não inclui Mg^{2+} em sua composição da água hidrotermal.

Hoje, muitos experimentos são feitos em água do mar simulando ambientes primitivos (Lahav, 1994; Prabakar e Ferris, 1997; Ferris, 2002; Benetoli et al., 2007, Carneiro et al., 2011, Baú et al., 2011). Atualmente, a composição de água do mar utilizada em experimentos de química prebiótica simula uma água moderna, aproximadamente a partir de 3,2 bilhões de anos, mantendo-se um pH próximo à neutralidade, baixa concentração de cátions bivalentes e uma concentração média de NaCl , quando comparado a possíveis valores primitivos. Zaia, (2012) em sua revisão mostra algumas variações na concentração salina e na composição da água do mar (Tabela 1), simulando vários períodos, e que essas variações poderiam desempenhar importante papel para a química prebiótica.

Tabela 1 - Sugestões para composições de água do mar

Período (Ga)	*Composição da água do mar (g L ⁻¹)	Ph	Referência
0	NaCl (28,57 g), MgCl ₂ 6H ₂ O (3,88 g), KBr (0,103 g), CaSO ₄ (1,308 g), K ₂ SO ₄ (0,832 g), H ₃ BO ₃ (0,028 g), MgSO ₄ (1,787 g),	≈ 8,0	Brown et al. (2004)
3,20 (hidrotermal)	NaCl (37,05 g), KBr (0,310 g), KI (0,010 g), NH ₄ Cl (0,610 g), SrCl ₂ 6H ₂ O (0,040 g), CaCl ₂ 2H ₂ O (6,26 g), KOH (1,07 g), NaOH (0,200 g),	≈ 12,0	de Ronde et al. (1997)
3,20 (água do mar)	CaCl ₂ 2H ₂ O (34,12 g), MgCl ₂ . 6H ₂ O (10,35 g), KBr (0,268 g), NaCl (19,90 g), KI (0,006 g), NH ₄ Cl (0,273 g), SrCl ₂ 6H ₂ O (1,205 g), Na ₂ SO ₄ (0,333 g)	≈ 6,5	de Ronde et al. (1997)
4,00	Na ₂ SO ₄ (0,271 g), MgCl ₂ .6H ₂ O (0,500 g), CaCl ₂ 2H ₂ O (2,50 g), KBr (0,050 g), K ₂ SO ₄ (0,400 g), H ₃ BO ₃ (0,028 g), MgSO ₄ (15,00 g)	≈ 6,0	Izawa et al (2010)

*Cada sal deve ser adicionado na ordem mostrada.

Fonte: Zaia, 2012.

2.6 MOLÉCULAS ORGÂNICAS PREBIÓTICAS

Os aminoácidos são moléculas orgânicas essenciais para a vida, suas estruturas básicas contêm carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. A partir da policondensação são obtidas estruturas bioativas, as proteínas, de suma importância para os organismos vivos. A grande maioria das reações químicas que ocorrem em todos os seres vivos do nosso planeta de alguma forma envolve proteínas, peptídeos e aminoácidos (Darnell e cols., 1990).

Na Terra prebiótica supõe-se a existência de duas fontes de aminoácidos: exógena sendo os aminoácidos sintetizados fora da Terra e endógenos os aminoácidos sintetizados na Terra. Os aminoácidos exógenos eram sintetizados no meio ambiente interestrelar ou interplanetário ou sobre cometas e meteoros. Os aminoácidos endógenos poderiam ter sido sintetizados por diversas

fontes na Terra prebiótica: perto de vulcões submarinos, solução aquosa, substâncias em estado sólido aquecidas por lava de vulcões terrestres ou impactos de cometas/meteoros ou radiação e mistura de gases (Holm e Ersson 2005; Brack 2007). Zaia et al., (2008) propuseram abundâncias relativas de aminoácidos fornecidos por fontes endógenas e exógenas. Para as fontes endógenas temos a seguinte relação de aminoácidos (massa de Gly é igual 1,00): Gly [1,00] / Ala [0,300–2,00] / β -Ala = Ile = Val [0,050–0,300] / Ser = Glu = Pro = Asp = α -ABA = homo-Ser [0,020–0,150] / Leu = Phe = Thr = Cys = Met = Arg = Lys = Nor-Leu = His = γ -ABA [0,010–0,05]. As fontes exógenas fornecem a seguinte relação de aminoácidos (massa da Gly é igual 1,00): Gli [1,00] / AIB [3,00–0,500] / γ -ABA = β -Ala = Ala [1,50–0,500] / Glu = Ser = Iva [1,00–0,500] / β -ABA = Asp [0,800–0,200] / α -ABA = Val [0,300–0,100]*. Como se verifica, a composição química de aminoácidos fornecidos pelas duas fontes à Terra prebiótica são muito diferentes entre si. As fontes exógenas poderiam ter fornecido à Terra prebiótica diversos aminoácidos não protéicos, enquanto que as fontes endógenas fornecem uma composição química de aminoácidos mais parecidos com os existentes atualmente. Segundo Zaia et al., (2008), a quantidade de aminoácidos fornecidos à Terra prebiótica por ambas as fontes foram equivalentes.

No entanto, os L-enantiômeros são mais comuns do que os D-enantiômeros em seres vivos. Os D-enantiômeros podem ser encontrados em algumas paredes de células bacterianas, biomassa bacteriana e peptídeos de antibióticos (Lee e Bada, 1977, Dittmar et al., 2001) ou também em seres humanos em importantes funções do sistema nervoso central (Silva e Silva, 2009).

Assim, os D-aminoácidos ocorrem em todos os tipos de organismos, procariotas e eucariotas, unicelulares e pluricelulares, mas com participação inferiores a 1% dos L-aminoácidos, e somente em alguns casos podem atingir teores significativos nas suas frações solúveis (Silva e Silva, 2009). Os aminoácidos D-alanina, D-glutamato, D-aspartato, D-serina, D-treonina são exemplos de enantiômeros encontrados em organismos vivos, com funções antimicrobianas até neuromoduladores (Silva e Silva, 2009).

* Gly=glicina, Ala=alanina, β -Ala = β -alanina, Ile= isoleucina, Val=valina, Ser=serina, Glu=ácido glutâmico, Pro=prolina, Asp=asparagina, α -ABA= aminoácido n-butírico, Leu=leucina, Phe=fenilalanina, Thr=treonina, Cys=cistina, Met=metionina, Arg=arginina, Lys=lisina, Nor=norvalina, Leu=leucina, His=histidina

Muitos estudos avaliam os teores de aminoácidos e a relação D/L encontrados próximos a fontes hidrotermais, na tentativa de explicar a origem destes aminoácidos, seja se foram formados via abiogênese ou via biogênese (Ingmanson e Dowler 1980, Yanagawa e Kobayashi, 1992; Hennes et al., 1992; Marshall, 1994; Islam et al., 2001). Horiuchi et al., (2004) em seu trabalho, encontraram uma baixa taxa entre D/L aminoácidos formados em fontes hidrotermais. Enquanto, se estes aminoácidos fossem formados abioticamente, essa razão deveria ser igual a 1. Portanto, concluiu com os resultados que os aminoácidos presentes em fontes hidrotermais não são de origem abiótica, mas sim de origem biológica e que próximo a esses sistemas podem então ser encontradas comunidades microbióticas ativas. Hoje, possivelmente devido à evolução do sistema biológico e às condições atuais, seria impossível a obtenção abiótica de aminoácidos em um sistema natural. Ainda que nas condições atuais a formação de aminoácidos abioticamente origine maiores teores de L-aminoácidos, não se justifica a produção de D-aminoácidos, uma vez que não fazem parte da maioria das reações nos organismos vivos.

Quanto à questão da formação de peptídeos, segundo Zaia e Zaia, (2006) não existe dúvida de que os minerais podem pré-concentrar aminoácidos, assim como catalisar sua reação. A importante pergunta é como esses minerais contribuíram para a polimerização dos aminoácidos e quais minerais estavam envolvidos nas reações assim como os ambientes envolvidos.

A formação de peptídeos em água, em condições de temperatura de 25° C, é impossível, pois não é favorecida termodinamicamente. De acordo com Dick et al., (2006) e Kitadai et al., (2011) a dimerização da glicina, o aminoácido mais simples, requer um $\Delta_r G^\circ$ 28,3 kJ e a constante de equilíbrio é $1,1 \times 10^{-5}$, indicando que se 1 mol L⁻¹ de glicina estiver em solução apenas formará $1,1 \times 10^{-5}$ de GlyGly. Extrapolando essa concentração para o volume de água em um oceano, isso seria considerado infinitamente pequeno. Portanto, dessa forma não seria possível encontrar qualquer peptídeo em água. No entanto, a existência de ciclos de secagem ou molhamento, variação de temperatura, variação de gradientes de concentração e a presença de minerais poderiam favorecer tais processos para a obtenção de moléculas mais complexas (Ferris, 2006).

3 REFERÊNCIAS

- Arnarson, T.S. e Keil, R.G. Mechanisms of pore water organic matter adsorption to Montmorillonite. **Marine Chemistry**, 71 309–320, 2000.
- Baú, J. P. T., Carneiro, C. E. A., Souza Junior, I. G., Souza, C. M. D., Costa, A. C. S., di Mauro, E., Zaia, C. T. B. V., Coronas, J., Casado, C., Santana, H., Zaia, D. A. M. Adsorption of Adenine e Thymine on Zeolites: FT-IR e RPE Spectroscopy e X-Ray Diffractometry e SEM Studies. **Orig Life Evol Biosph**, 2011.
- Cyr, K. E., Sears, W. D., Lunine, J. I. Distribution e Evolution of Water Ice in the Solar Nebula: Implications for Solar System Body Formation. **ICARUS** 135, 537–548, 1998.
- 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** 61, 4025–4042, 1997.
- Dick J. M., LaRowe D. E. e Helgeson H. C. Temperature, pressure, e electrochemical constraints on protein speciation: group additivity calculation of the steard molal thermodynamic properties of ionized unfolded proteins. **Biogeosciences** 3, p.311–336, 2006.
- Ferris, J. P. Montmorillonite-catalysed formation of RNA oligomers: the possible role of catalysis in the origins of life. **Philosophical Transactions Royal Society B**, v.361, p. 1777–1786, 2006.
- Hazen, R. Evolution of Minerals. **Scientific American**, p.58-65, 2010.
- Hazen, R. M.; Papineau, D.; Bleeker, W.; Downs, R. T.; Ferry, J. M.; McCoy, T. J.; Sverjensky, D. A.; Yang, H. **Mineral evolution American Mineralogist** 93, p. 1693–1720, 2008.
- Hennet, R.J.C., Holm, N.G., Engwl, M.H. Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions e the origin of life. **Naturwissenschaften** 79, p.361–365, 1992.
- Horiuchi, T.; Takano, Y.; Ishibashi, J.; Marumo, K.; Urabe, T.; Kobayashi, K. Amino acids in water samples from deep sea hydrothermal vents at Suiyo Seamount, Izu-Bonin Arc,Pacific. **Ocean Organic Geochemistry**, 35,p.1121–1128, 2004.
- Ingmanson, D.E., Dowler, M.J., Unique amino acid composition of Red Sea 20 brine. **Nature** 286, 51–52, 1980.
- Islam, M.N.; Kaneko, T.; Kobayashi, K. Determination of amino acids formed in a supercritical water flow reactor simulating submarine hydrothermal systems. **Analytical Sciences** 17, p.1631–1634, 2001.
- Izawa, M.R.M.; Nesbitt, H.W.; MacRae, N.D.; Hoffman, E.L. Composition e evolution of the early oceans: Evidence from the Tagish Lake meteorite Earth e Planetary. **Science Letters** 298, p.443–449, 2010.

Kitadai, N.; Yokoyama, T.; Nakashima, S. Hydration–dehydration interactions between glycine e anhydrous salts: Implications for a chemical evolution of life **Geochimica et Cosmochimica Acta** 75, p.6285–6299, 2011.

Knauth, L.P. Salinity history of the Earth's early ocean. **Nature** 395, 544–555, 1998.

Lambert, JF., Stievano, L., Lopes, I., Gharsallah, M., Piao, L. The fate of amino acids adsorbed on mineral matter. **Planet. Space Sci.** 57, 460-467, 2009.

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

Morse, J. W. e Mackenzie, F. T. Hadean Ocean Carbonate Geochemistry. **Aquatic Geochemistry**, 4: 301–319, 1998.

Morse, J. W. e Mackenzie, F. T. GEOCHEMISTRY OF SEDIMENTARY CARBONATES. ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., 707p., 1990.

Marshall, W.L., Hydrothermal synthesis of amino acids. **Geochimica et Cosmochimica Acta** 58, 2099–2106, 1994.

Noren, K., Loring, J.S., Persson, P. Adsorption of alpha amino acids at the water/goethite interface **J. Coll. Interf. Sci.** 319, 416-428, 2008.

Oró, J. Comets e the origin of life on the primitive earth. IN: ORIGINS: GENESIS, EVOLUTION E DIVERSITY OF LIFE, Kluwer Academic Publishers, 2004, p.551-567.

Plekan O, Feyer V, Šutara F, Skála T, Švec M, Cháb V, Matolín V, Prince KC The adsorption of adenine on mineral surfaces: iron pyrite e silicon dioxide. **Surf Sci** 601:1973–1980, 2007.

Raymond, S. N., Quinn, T.R., Lunine, J.I. Making other Earths: Dynamical Simulations of Terrestrial Planet Formation e Water Delivery. Astrophysics, arXiv:astro-ph/0308159v1, 2003.

Rauchfuss, R. CHEMICAL EVOLUTION E THE ORIGIN OF LIFE. Springer, 2008, 354p.

Robert, F. The Origin of Water on Earth. **Science** v.293, p.1056-1058, 2001.

Schoonen, M., Smirnov, A., Cohn C. A Perspective on the Role of Minerals in Prebiotic Synthesis. **Ambio** 33, 539-551, 2004.

Stewart, R. H. INTRODUCTION TO PHYSICAL OCEANOGRAPHY. Texas A & M University, 344p., 2008.

Silva, J. J. R. F. e Silva, J. A. L. D-aminoácidos em biologia – mais do que se julga. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 2, 554-561, 2009.

Vieira AP, Berndt G, de Souza Junior IG, Di Mauro E, Paesano A Jr, de Santana H, da Costa ACS, Zaia CTBV, Zaia DAM Adsorption of cysteine on hematite, magnetite e ferrihydrite: FT-IR, Mössbauer. RPE spectroscopy e X-ray diffractometry. **Studies. Amino Acids** 40:205–214, 2010.

Wallace, W. J. THE DEVELOPMENT OF THE CHLORINITY/SALINITY CONCEPT IN OCEANOGRAPHY Elsevier Scientific Publishing Company, 1974, 227p.

Yanagawa, H., Kobayashi, K. An experimental approach to chemical evolution in submarine hydrothermal systems. **Origins of Life e Evolution of the Biosphere** 22, 147–159, 1992.

Zaia, D.A.M., Adsorption of amino acids e nucleic acid bases onto minerals: a few suggestions for prbebiotic chemistry experiments, **International Journal of Astrobiology**, in press, 2012.

Zaia, D.A.M., Vieira, H.J., Zaia, C.T.B.V. Adsorption of L-amino Acids on Sea Se **J. Braz. Chem. Soc.** 13, 579– 581, 2002.

CAPÍTULO II

TÉCNICAS QUÍMICAS, ESPECTROSCÓPICAS E MINERALÓGICAS PARA PREPARAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

O presente capítulo destina-se a apresentação das técnicas utilizadas para o desenvolvimento dos trabalhos que compõe essa tese.

1 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

Todo o trabalho de tese foi desenvolvido simulando um ambiente de química prebiótica. Esse ambiente é caracterizado pela presença de água do mar. A água do mar utilizada nos experimentos é uma solução artificial com composição semelhante às águas dos mares e oceanos existentes atualmente segundo (Brown et al., 2004).

1.2 REAGENTES

Foram usados os seguintes reagentes: cloreto de sódio (Nuclear), cloreto de magnésio (Nuclear), sulfato de magnésio (Synth), sulfato de cálcio (Nuclear), sulfato de potássio (Nuclear), brometo de potássio (Merck), ácido bórico (Merck), sulfeto de sódio (Merck), cloreto de potássio (Nuclear), ácido clorídrico (Nuclear), hidróxido de sódio (Biotec) e acetato de cálcio (Synth). Todos os reagentes foram de grau analítico.

1.3 PREPARO DA ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

As seguintes substâncias foram pesadas e dissolvidas em 1,0 L de água destilada: 28,57 g cloreto de sódio, 3,88 g cloreto de magnésio, 1,787 g sulfato de magnésio, 1,308 g sulfato de cálcio, 0,832 g sulfato de potássio, 0,103 g brometo de potássio e 0,0282 g ácido bórico.

2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC

A técnica faz a separação e quantificação de misturas que contém um grande número de compostos similares. Na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), também denominada Cromatografia Líquida de Alto Desempenho a fase móvel é um líquido enquanto a fase estacionária pode ser um sólido ou um líquido sorvido, imobilizado ou quimicamente ligado na superfície do suporte sólido. A CLAE (em inglês, High Performance Liquid Chromatography-HPLC) abrange todas as técnicas de Cromatografia que requerem pressões elevadas para forçar a passagem de uma fase móvel líquida pelo leito cromatográfico da fase estacionária.

Essa técnica foi aplicada para a quantificação dos aminoácidos usando o método de derivação com NDA (2,3-Naftalenodicarboxaldeído) como descrito por Siri et al. (2006). Os aminoácidos derivados foram injetados e separados em coluna ODS - C18 (250 mm x 4.6 mm) com fluxo da fase móvel de 1,0 mL min⁻¹. Foi utilizado o detector de fluorescência com excitação/emissão em 420 e 483 nm respectivamente.

3 ANÁLISE DE METAIS – ICP (ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA POR PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE)

Para as análises dos elementos (Al, Ca, Fe, Mg) foi usado o ICP Perkin Elmer. As amostras foram acidificadas com 100 µL de HCl (0,10 mol L⁻¹) e os elementos foram analisados.

4 ESPECTROFOTOMETRIA DE UV

A absorbância foi lida em um espectrofotômetro, Spectronic Genesys. As bases nitrogenadas foram determinadas lendo a absorbância na região UV (260– 265 nm). A seguinte equação foi usada para calcular a quantidade de base adsorvida nas argilas. $C_{\text{adsorvida}}/\mu\text{g}=(C_{\text{inicial}} - C_{\text{solução}})$, onde $C_{\text{solução}}=[(C_{\text{inicial}}) (\text{Abs}_{\text{amostra}}/\text{Abs}_{\text{inicial}})]$.

5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

A espectroscopia de infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. Tais frequências dependem da forma da superfície, da energia potencial da molécula, da geometria molecular e das massas dos átomos.

A molécula, ao receber radiação eletromagnética com exatamente a mesma energia de uma vibração de um grupo que a compõe, absorverá a luz desde que sejam atendidas a determinadas condições. Para que uma vibração apareça no espectro de infravermelho, a molécula precisa sofrer uma variação no seu momento dipolar durante essa vibração.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um FT-IR 8300 Shimadzu com pastilha de KBr, resolução espectral de 4 cm^{-1} na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} após 95 aquisições. Foram tirados os espectros dos minerais puros, dos aminoácidos puros e dos minerais tratados com solução de aminoácidos em água do mar. As amostras foram pesadas (10 mg) e misturadas com 200 mg de KBr. A mistura foi macerada em almofariz e pistilo de ágata até a completa homogeneização e então prensada para obter a pastilha. Os espectros foram analisados pelo programa Origin (5.0, 2001).

6 ESPECTROSCOPIA RAMAN

A espectroscopia Raman é uma técnica baseada na detecção da luz espalhada quando uma substância é irradiada, com essa detecção pode-se determinar a composição química e estrutural do material irradiado. Essa técnica pode ser considerada pouco sensível, no entanto, moléculas de interesse na presença de superfícies metálicas nanoestruturadas apresenta a propriedade de intensificar o sinal Raman por fatores da ordem de 10^6 - 10^8 vezes. Essa intensificação é chamada de efeito Raman intensificado pela superfície, ou SERS (“Surface Enhanced Raman Scattering”).

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 DeltaNu's com laser linha 532nm, ambos em resolução de 4 cm^{-1} .

Para promover o efeito SERS nas amostras foi utilizado o coloide Ag borohidreto de sódio.

Coloide de Ag borohidreto: Foi preparada uma solução de nitrato de Ag em água deionizada de $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, pesando-se 8,4 mg do sal e solubilizando em 50 mL de água. Separadamente outra solução, de borohidreto de sódio a $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ também foi preparada em água deionizada, pesando-se 11,4 mg do sal e solubilizando em 150 mL de água. Em seguida as soluções foram resfriadas a 10°C em banho de gelo. A solução de borohidreto foi mantida em banho de gelo sob agitação e a solução de nitrato de prata foi adicionada gota-gota sobre o borohidreto (tempo estimado de reação, 30 minutos). A solução final foi guardada sob refrigeração e protegida da luz sob o tempo máximo de estocagem de uma semana.

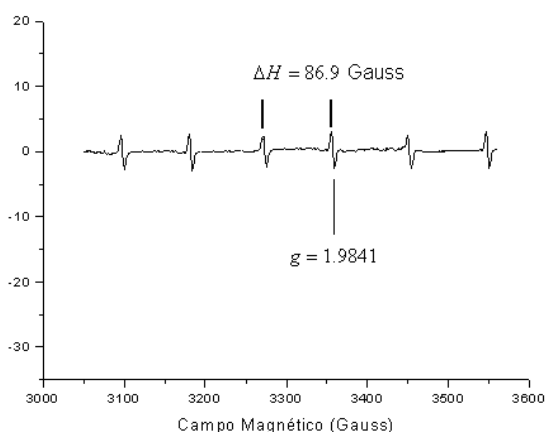
7 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)

Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é uma espectroscopia de alta resolução, que consiste na absorção da energia de microonda pelo *spin* do elétron na presença de um campo magnético. Em materiais paramagnéticos, os átomos possuem momentos de dipolo magnéticos permanentes associados ao *spin* e ao movimento orbital dos elétrons. O que caracteriza o paramagnetismo é a tendência destes momentos magnéticos se alinharem a um campo magnético aplicado. Em átomos de subcamadas cheias, os momentos de dipolo magnéticos orbitais se cancelam aos pares. Somente as subcamadas parcialmente cheias podem ter elétrons não emparelhados, de modo que o paramagnetismo só deve ser observado em materiais cujos átomos possuam subcamadas parcialmente cheias.

As análises de RPE foram realizadas em espectrômetro JEOL (JES-PE-3X), operando em banda-X (9 GHz). O equipamento utilizado consiste basicamente de uma fonte de microonda (Klystron), um eletroímã, uma cavidade ressonante onde são introduzidas as amostras, e um sistema de aquisição de dados. As condições de análise foram a temperatura ambiente ($T \approx 25^\circ\text{C}$), varredura de 0 a 5130 e modulação de 20 Gauss.

Para a calibração do campo magnético para determinar com maior precisão os fatores espectroscópicos (valores de g), foram utilizados dois padrões não associados com as amostras: o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), um radical livre com $g \approx 2,0036$ e o MgO:Mn^{2+} , pois estes apresentam linhas de RPE bem definidas em campo magnético distinto dos espectros em estudo. A Figura 1 mostra as linhas de absorção do MgO:Mn^{2+} com o valor de g do quarto pico de absorção e a distância ΔH entre a 3ª e a 4ª linhas do espectro. Sendo a condição de ressonância dada pela equação $h\nu = g\beta H$, a relação entre as absorções em um mesmo espectro é $g_1 H_1 = g_2 H_2$, pois a frequência de microonda incidente nas duas amostras, padrão de manganês e amostra, é a mesma.

Figura 1 - Linhas de absorção do MgO:Mn^{2+} com o valor de g do quarto pico de absorção e a distância ΔH entre a 3ª e a 4ª linhas do espectro.



8 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER

A espectroscopia Mössbauer foi realizada em geometria de transmissão, usando um espectrômetro convencional, operando em modo de aceleração constante. Foi usada uma fonte de $^{57}\text{Co}(\text{Rh})$ para gerar os raios γ , com uma atividade nominal inicial de 50 mCi. Os espectros Mössbauer foram ajustados por uma rotina numérica que aplica o critério dos mínimos quadrados, com formas de linha Lorentzianas. Todos os deslocamentos isoméricos foram medidos em relação ao α -Fe.

9 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

Os difratogramas de Raios-X foram obtidos em um XRD-6000 Shimadzu, utilizando-se radiação $\text{CuK}\alpha$ e filtro de níquel e $\text{CoK}\alpha$ e filtro de ferro operando a 30mA e 40kV. Os parâmetros de varredura foram fixados em $0,02^\circ 2\theta$ por 0,6s. As amplitudes foram de 2 a $30^\circ 2\theta$ e de 5 a $65^\circ 2\theta$ para as diferentes amostras estudadas. As amostras foram analisadas em lâminas não orientadas, na forma de pó e também em lâminas orientadas dependendo do tipo de material. Os Difratogramas de raios-X foram analisados pelo software Grams/386 v 4.0 (Galactic Ind. Corp.)

10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As imagens foram obtidas em um microscópio Philips modelo Quanta 200 (FEI), no Laboratório de microscopia eletrônica e microanálise da UEL, equipado com Raios X modelo INCA 200 a 30 keV. As amostras foram fixadas usando fita de carbono e revestidas com uma camada de ouro.

11 MEDIDAS DE PH

Para as medidas de pH foi utilizado um potenciômetro CQA-pH 2000.

CAPÍTULO III

ADSORÇÃO DE AMINOÁCIDOS (Ala, Cys, His, Met) EM ZEÓLITAS: UMA INVESTIGAÇÃO USANDO MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE INFRAVERMELHO E RAMAN

1 RESUMO

Minerais adsorvem mais aminoácidos com grupo R carregados do que com grupos não carregados. Então os peptídeos que se formam da condensação de aminoácidos na superfície de minerais deveriam ser compostos de resíduos de aminoácidos que são carregados. Entretanto, a maioria dos aminoácidos (74%) que compõe as proteínas de hoje tem grupos não carregados. Para resolver este paradoxo, uma alternativa seria a utilização de minerais organofílicos, tais como zeólitas que possuem caráter hidrofóbico. Esse trabalho teve o objetivo de estudar as interações entre as zeólitas e os aminoácidos histidina, alanina, cisteína e metionina em água do mar, uma condição de química prebiótica. No intervalo de pH (pH 2,66-4,50) utilizado nesse experimento, o grupo R da histidina (His) está carregado positivamente e da alanina (Ala), cisteína (Cys), e metionina (Met) estão neutros. Em ambientes hidrotermais ácidos, o pH, poderia ainda, ser menor do que o utilizado nesse estudo. As zeólitas são carregadas negativamente e para a faixa de pH estudada a carga de todos os aminoácidos foi positiva. O resultado mais importante encontrado nesse estudo é que a concentração relativa de cada aminoácido ($X = \text{His, Met, Cys}$) em relação à alanina (X/Ala) foi de 1. Esse é um importante resultado para a química prebiótica, porque isso poderia ser uma solução para o paradoxo referido anteriormente. Os tamanhos dos poros das zeólitas não afetaram a adsorção da Cys e Met e a taxa de Si/Al não afetou a adsorção de Cys, His, e Met. A zeólita ZSM-5 poderia ser usada para a purificação de Cys da mistura de outros aminoácidos e a Mordenita poderia ser usada para a separação um do outro. Como mostrado no espectro de infravermelho, a Ala interage com as zeólitas através do grupo NH_3^+ , já a interação da metionina envolve os grupos COO^- , NH_3^+ e CH_3 . O espectro de infravermelho mostrou que a interação entre as zeólitas e His foi fraca. A Cys mostrou maior capacidade de adsorção em todas as zeólitas, no entanto a interação de van der Waals entre zeólitas e Cys é muito fraca para produzir mudanças estruturais nos grupos da Cys (amino, carboxílico, sulfidril, etc.), e por isso o espectro Raman foram os mesmos da Cys sólida.

Palavras-chave: Zeólitas. Aminoácidos. Adsorção. Cadeias laterais, Química Prebiótica

2 ABSTRACT

Minerals adsorb more amino acids with charged R-groups than amino acids with uncharged R-groups. Thus, the peptides that form from the condensation of amino acids on the surface of minerals should be composed of amino acid residues that are more charged than uncharged. However, most of the amino acids (74%) in today's proteins have an uncharged R-group. One mechanism with which to solve this paradox is the use of organophilic minerals such as zeolites. Over the range of pH (pH 2.66–4.50) used in these experiments, the R-group of histidine (His) is positively charged & neutral for alanine (Ala), cysteine (Cys), & methionine (Met). In acidic hydrothermal environments, the pH could be even lower than those used in this study. For the pH range studied, the zeolites were negatively charged, & the overall charge of all amino acids was positive. The conditions used here approximate those of prebiotic Earth. The most important finding of this work is that the relative concentrations of each amino acid ($X = \text{His, Met, Cys}$) to alanine (X/Ala) are close to 1.00. This is an important result with regard to prebiotic chemistry because it could be a solution for the paradox stated above. Pore size did not affect the adsorption of Cys & Met on zeolites, & the Si/Al ratio did not affect the adsorption of Cys, His, & Met. ZSM-5 could be used for the purification of Cys from other amino acids (Student-Newman-Keuls test, $p < 0.05$), & Mordenita could be used for separation of amino acids from each other (Student-Newman-Keuls test, $p < 0.05$). As shown by Fourier transform infrared (FT-IR) spectra, Ala interacts with zeolites through the NH_3^+ group, & methionine-zeolite interactions involve the COO, NH_3^+ , & CH_3 groups. FT-IR spectra show that the interaction between the zeolites & His is weak. Cys showed higher adsorption on all zeolites; however, the hydrophobic van der Waals interaction between zeolites & Cys is too weak to produce any structural changes in the Cys groups (amine, carboxylic, sulfhydryl, etc.); thus, the FT-IR & Raman spectra are the same as those of solid Cys.

Key Words: Zeolites. Amino acids. Adsorption. Side chains. Prebiotic chemistry

3 INTRODUÇÃO

Como proposto por Bernal (1951), a adsorção de aminoácidos em minerais seria um importante processo para a pré-concentração dessas moléculas na terra primitiva, muitos trabalhos demonstram essa capacidade (Lahav e Chang, 1976; Lahav, 1994; Zaia, 2004; Hazen, 2006; Lambert, 2008).

A primeira zeólita foi descoberta na Suécia por Cronstedt Baron em 1756 (Braga e Morgon, 2007). Zeólitas são minerais aluminossilicatos porosos, com arranjos de gaiolas e canais e são sintetizados em ambientes hidrotermais assim como em outros ambientes (rochas sedimentares, ígneas) Coombs et al., 1959; Shock, 1992; Smith 1998; Mumpton, 1999). A extração de zeólitas naturais no mundo é aproximadamente 2,5-3,0 milhões de toneladas por ano e os grandes produtores são China, Coreia, Japão, EUA, Cuba, Hungria, Turquia, Eslováquia, Nova Zelândia, Bulgária, África do Sul, Austrália, Geórgia, Canadá, Grécia e Itália (Virta, 2008). Assim, as zeólitas estão amplamente distribuídas ao redor do mundo. As zeólitas poderiam ter desempenhado um importante papel na origem da vida na terra concentrando biomoléculas e formando biopolímeros e células primitivas (Smith, 1998; Parsons et al.,1998). Também deveria ser levado em consideração que (Compact Reconnaissance Imaging Spectrometer) para Mars-CRISM detectou zeólita em Marte, assim como outros minerais que poderiam somente ter sido sintetizado em Marte se tivesse ocorrido processo de intemperismo em sua história geológica (Bishop et al., 2008; Ehlmann et al., 2008; Spray et al., 2010). É bem conhecido que zeólitas são, em geral, materiais organofílicos, então esses minerais poderiam ser usados para concentrar aminoácidos hidrofóbicos. Tem também sido sugerido que relativamente alto teor de sílica em zeólitas desempenhou um importante papel na evolução bioquímica que ocorreu durante a história da Terra com a incorporação de aminoácidos em uma proteína primitiva (Lethbridge et al., 2005). As zeólitas deveriam estar presentes durante a era Archaean, ou quando apareceram as primeiras formas de vida (Nisbet e Sleep, 2001).

A adsorção de aminoácidos em minerais foi revisada por vários autores (Lahav e Chang, 1976; Zaia, 2004; Hazen, 2006; Benetoli et al., 2007; Lambert, 2008). Muitas dessas revisões mostram que aminoácidos com grupos carregados positivamente ou negativamente adsorvem mais eficientemente em minerais do que aminoácidos não carregados. Entretanto, um estudo publicado por

Klapper (1977) os aminoácidos de aproximadamente 200 proteínas mostraram a seguinte composição: 40,1% de aminoácidos com grupo R alifático não polar; 8,1% com grupos R aromáticos; 25,9% com grupos R não carregados; 11,7% com grupos carregados negativamente e 13,8% com grupos carregados positivamente. Como descrito acima a concentração de aminoácidos em minerais deveria produzir peptídeos cuja composição seria principalmente aminoácidos com grupos R carregados. Assim, de acordo com Zaia (2004), deveriam ser estudados mecanismos que pudessem explicar peptídeos com alta quantidade de grupos não carregados em suas composições.

No presente trabalho, foi estudada a adsorção dos aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) na zeólitas (Beta-50, Beta-720, Zeolite Y, ZSM-5, Mordenita). As zeólitas ZMS-5 e Beta foram escolhidas porque são análogas as naturais como a mutinaita (Galli et al., 1997) e a tschernichita (Lethbridge et al., 2005), respectivamente. A Mordenita é a zeólita natural mais abundante e encontrada na Islândia, Índia, Itália e Estados Unidos (Tschernich, 1992). A zeólita Y é um mineral sintético amplamente usado para o craqueamento de petróleo, é um análogo sintético da zeólita natural faujasita (Hatay e Oo, 2008). Vários autores estudaram a adsorção de aminoácidos em zeólitas (Smith, 1998; Munsch et al., 2001; Titus et al., 2003; Krohn e Tsapatsis, 2005 e 2006; Braga e Morgon, 2007; Lambert, 2008). Entretanto, muitos estudos focam somente o uso de zeólitas para separação de aminoácidos. Nosso principal objetivo foi estudar a adsorção de aminoácidos em zeólitas sobre condições simulando o ambiente da Terra prebiótica. A quantidade de aminoácidos adsorvidos sobre as zeólitas foi medida e a interação aminoácidos zeólitas foi estudada usando espectroscopia de infravermelho e Raman. Os aminoácidos foram dissolvidos em água do mar artificial, o pH foi ajustado para 3, simulando ambientes hidrotermais e de lagos da terra primitiva em condições ácidas. Lagos ácidos são usados como modelos de lagos para estudos em Marte (Mormile et al., 2009). Devemos destacar que ambientes hidrotermais são comuns hoje e foi provavelmente mais comum na Terra prebiótica (Massoth et al., 1989; Shock, 1992; Martin et al., 2008). A água do mar usada nesse experimento contém os principais elementos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^- e SO_4^{2-}). Como revisado por Zaia et al. (2008) todos os aminoácidos usados nesse trabalho poderiam ser encontrados na Terra prebiótica.

4 OBJETIVO GERAL

Estudar o comportamento dos aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) na presença das seguintes zeólitas (Beta-50, Beta-720, Zeólita Y, ZSM-5, Mordenita) simulando um ambiente prebiótico.

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar a adsorção dos aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) nas zeólitas (Beta-50, Beta-720, Zeólita Y, ZSM-5, Mordenita)

Estudar a interação aminoácidos com zeólitas utilizando as espectroscopias de infravermelho e Raman.

Relacionar a quantidade de aminoácidos adsorvidos com a ocorrência dos mesmos nos seres vivos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ZEÓLITAS

A zeólita 4A foi cedida pelas Indústrias Químicas del Ebro (Zaragoza, Spain), a ZSM-5, a Y e os dois tipos de zeólita Beta foram adquiridas da Zeolyst International (Valley Forge, PA, USA). A Mordenita foi obtida Tosoh Corporation (Tokyo, Japan). Veja tabela 1, propriedades das zeólitas e figuras 1 e 2 estruturas e microscopia eletrônica de varredura.

Tabela 1- Propriedades das zeólitas

Zeólita	Taxa Si/Al	A_{BET} (m^2/g)	Tamanho de partícula (μm)
Beta-720	720	481±9	0,72±0,23
Beta-50	50	-	-
Zeólita Y	60	700±20	0,92±0,16
ZSM-5	25	367±7	0,70±0,30
Mordenita	5,1	486±12	1,34±0,41

Figura 1 - Zeólita beta, plano [100] (A); zeólita Y, plano [111]; mordenita, plano [001] (C) e ZSM-5, plano [010]. As estruturas são da Associação Internacional de Bases de Dados de Zeólita (Baerlocher e McCusker).

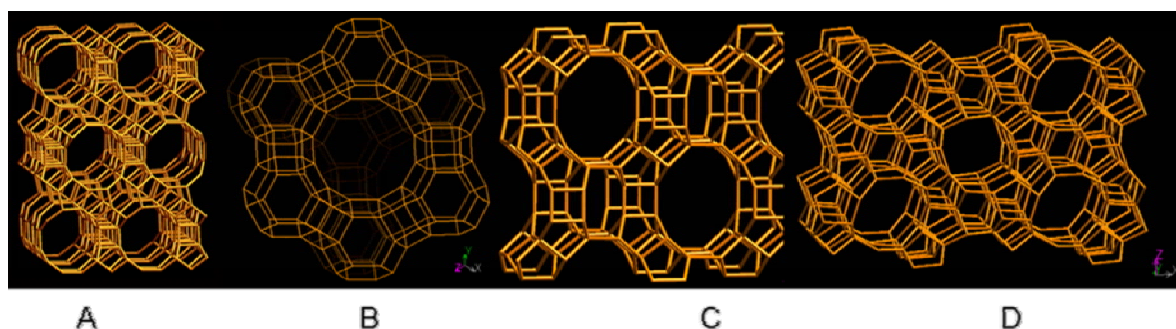
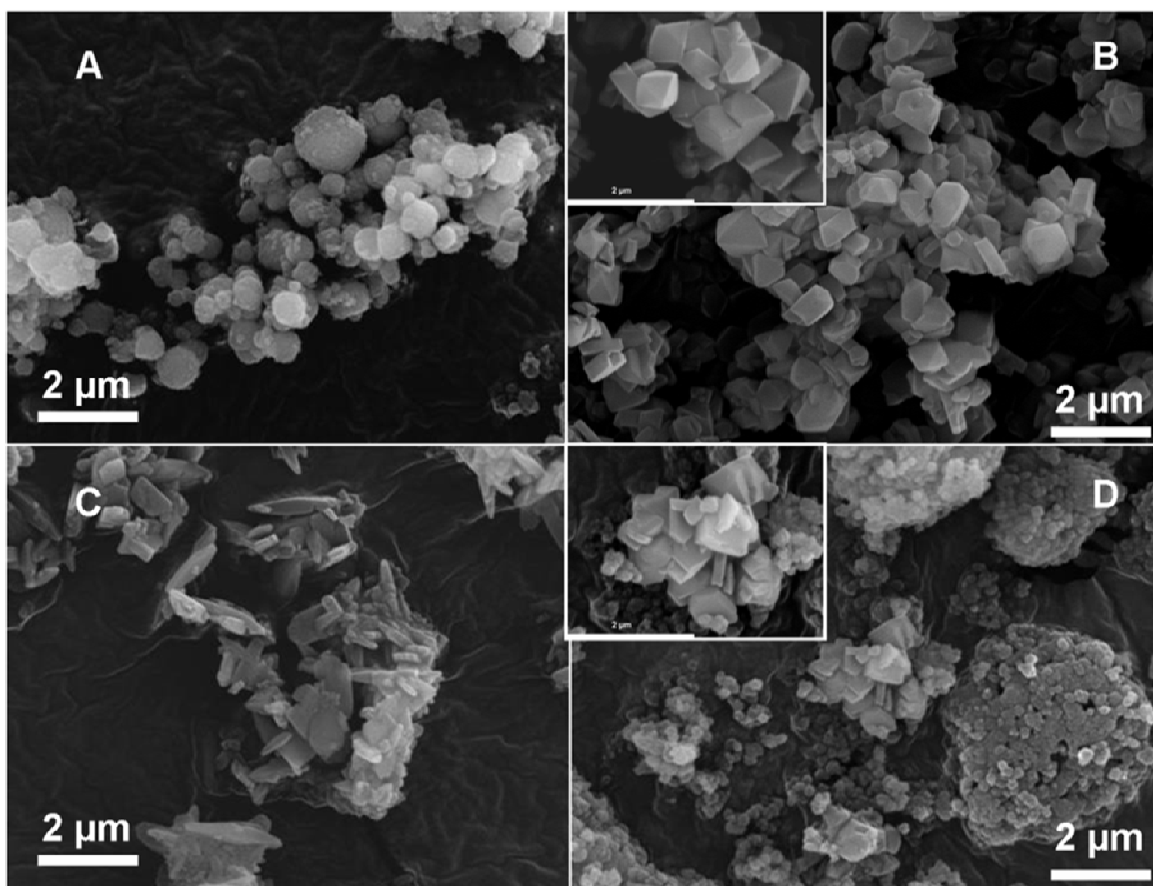


Figura 2 - Microscopia Eletrônica de Varredura das zeólitas puras: zeólita Beta (Beta-720) (A); zeólita Y (B); mordenita (C) e ZSM-5 (D).

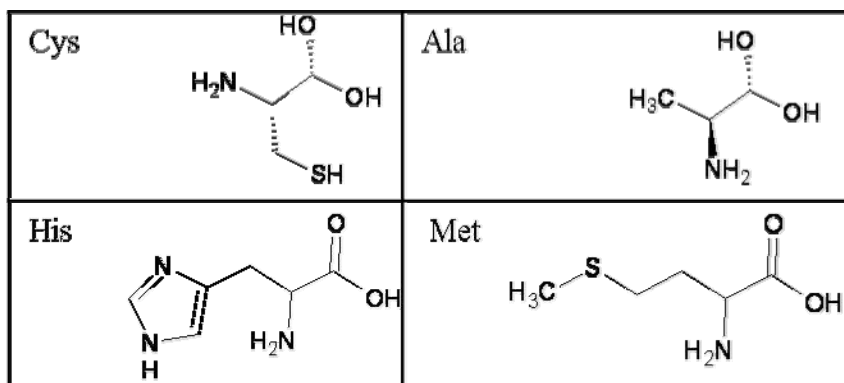


5.2 AMINOÁCIDOS

Todos os aminoácidos foram adquiridos da Synth ou Nuclear de grau P.A. As abreviações foram dadas de acordo com as recomendações da IUPAC-IUB

(Commission on Biochemical Nomenclature): Ala, alanina; Met, metionina; Cys, cisteína e His, histidina, Figura 3.

Figura 3 - Estrutura molecular dos aminoácidos estudados



5.3 ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

A água do mar foi preparada como descrito no capítulo I.

5.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) foram dissolvidos em água do mar artificial na concentração de $60 \mu\text{g mL}^{-1}$ e em uma solução saturada. Cada zeólita, 25 mg, foi colocada em tubos de endorf (1,5 mL) contendo: (a) 1,0 mL de água do mar artificial, (b) 1,0 mL de água do mar artificial com $60 \mu\text{g mL}^{-1}$ de aminoácido (Ala, Cys, His, Met) ou (c) água do mar artificial saturada com aminoácido (Ala, Cys, His, Met). O pH foi ajustado para 3 com a adição de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Os tubos foram agitados por 24 horas e em seguida centrifugados durante 15 minutos a 2.000 rpm. O sobrenadante foi usado para a análise cromatográfica dos aminoácidos e o sólido foi seco a 40°C durante 24 horas e analisados por espectroscopia de infravermelho e Raman. As técnicas estão descritas no capítulo I.

5.5 Análise Estatística

Comparação entre médias foram avaliadas usando teste: ANOVA e Student- Newman-Keuls (Teste SNK) ao nível de significância de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como revisado por Holm e Eersson (2005) e Holm et al. (2006) o pH em ambientes hidrotermais são até mais ácidos do que os usados nesse trabalho. Para todos os valores de pHs medidos nesse trabalho as zeólitas estão carregadas negativamente (Lambert, 2008). Baseado no PI (Ponto Isoelétrico) de literatura dos aminoácidos (Tabela 2), a carga global de todos os aminoácidos foi positiva (Tabela 3) quando medido os pHs das amostras. Portanto, é esperada uma interação eletrostática entre as zeólitas e os aminoácidos estudados. A Tabela 2 e 3 mostram as propriedades dos aminoácidos, o pH das amostras depois da agitação e a carga dos aminoácidos respectivamente. Para todas as zeólitas, os aminoácidos foram adsorvidos em uma faixa de pH de 2,66 até 4,50 (Tabela 3).

Tabela 2 - Propriedades dos aminoácidos*

Aminoácidos	Cys	Ala	His	Met
Peso Molecular (g)	121	89	155	149
pK ₁ (-COOH)	1,96	2,34	1,82	2,28
pK ₂ (-NH ₃ ⁺)	8,18	9,69	9,17	9,21
pK _R (R group)	10,28	-	6,00	-
pl	5,07	6,01	7,59	5,74
Índice de Hidropaticidade	2,5	1,8	-3,2	1,9

pl-ponto isoelétrico

Fonte:Lehninger et al. (1993)

Tabela 3 - pH das amostras depois de 24 horas de agitação

Zeólitas	Cys	Ala	His	Met
	pH			
Beta-720	3,40±0,04	3,69±0,04	4,16±0,02	3,68±0,03
Beta-50	4,23±0,15	4,20±0,02	4,50±0,02	4,46±0,07
Zeólita Y	3,47±0,04	3,54±0,03	3,59±0,02	3,56±0,02
ZSM-5	3,47±0,07	3,58±0,01	3,62±0,03	3,59±0,01
Mordenita	2,66±0,02	2,76±0,02	2,80±0,06	2,71±0,15

Os resultados são apresentados como médias \pm erro padrão, N=4. Baseado nos valores de pH e pI (Tabela 2), a carga dos aminoácidos foi positiva para as amostras. aa= aminoácido. Os aminoácidos ($60 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram dissolvidos em água do mar artificial como descrito no "Material e métodos".

A Tabela 4 mostra a adsorção dos aminoácidos (Cys, Ala, His, Met) sobre as zeólitas em água do mar artificial. A quantidade de Cys adsorvida nas zeólitas não foram estatisticamente diferentes entre si (Teste SNK, $p > 0,05$), então a adsorção não foi influenciada pelo tamanho de poro ou taxa de Si/Al nas zeólitas (Tabela 4) uma vez que as zeólitas utilizadas tinham características diferentes. A Ala mostrou baixa adsorção na zeólita ZSM-5 quando comparada com a Beta-720, a Y e a Beta-50 (Teste SNK, $p < 0,05$) (Tabela 4). Uma grande quantidade de Met e His foi adsorvida na Mordenita e ZSM-5, respectivamente (Teste SNK, $p < 0,05$) (Tabela 4). A ZSM-5 tem pequeno tamanho de poro, mas teve grande adsorção de His.

Tabela 4 - Quantidade de aminoácidos em nmol adsorvido em 25 mg de zeólita

Zeólita	Tamanho		Cys	Ala	His	Met
	de poro	Si/Al				
Beta-720	0,64 x 0,76	720	431,7±11,1 ^A (6)	401,3±29,5 ^{b,C} (4)	293,8±16,5 ^{b,B,D} (6)	326,3±18,6 ^{b,d,B,D} (6)
Zeólita Y	0,74	60	468,2±3,9 ^A (6)	438,3±52,2 ^{b,C} (4)	248,1±6,8 ^{b,B,D} (6)	197,2±57,3 ^{a,B,D} (6)
Beta-50	0,64 x 0,76	50	440,4±17,2 ^A (6)	461,4±81,9 ^{b,C} (4)	291,9±13,0 ^{b,B,D} (6)	225,2±8,8 ^{c,B,D} (4)
ZSM-5	0,55	25	447,0±10,3 ^A (6)	190,3±34,9 ^{a,B,C} (6)	346,1±12,9 ^{a,B,D} (6)	381,3±5,9 ^{b,d,B,D} (6)
Mordenita	0,65 x 0,7	5,1	436,0±3,4 ^A (4)	306,2±7,1 ^{B,D,F} (4)	252,6±11,7 ^{b,B,D,E} (6)	386,1±1,7 ^{b,d,B,C} (6)

Os resultados são apresentados como médias \pm erro padrão. O número de experimentos está em parênteses. Os aminoácidos ($60 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram dissolvidos em água do mar, isso equivale a ($495,9 \text{ nmol mL}^{-1}$, $674,2 \text{ nmol mL}^{-1}$, $387,1 \text{ nmol mL}^{-1}$ e $402,7 \text{ nmol mL}^{-1}$ para Cys, Ala, His e Met respectivamente) Colunas: SNK ($p < 0,05$) para a Cys ANOVA ($F=1,68$, $P=0,192$); para a Ala ANOVA ($F=6,64$, $p=0,002$) SNK a/b; para a His ANOVA ($F=9,89$, $P=0,000$) SNK a/b; para a Met ANOVA ($F=8,91$, $P=0,000$) SNK a/b e c/d, Linhas: SNK ($p < 0,05$) para a Beta-720 ANOVA ($F=12,99$, $P=0,000$) SNK A/B e C/D; para a Zeólita Y ANOVA ($F=13,87$, $P=0,000$) SNK A/B e C/D; para a Beta-50 ANOVA ($F=10,08$, $P=0,000$) SNK A/B e C/D; para a ZSM-5 ANOVA ($F=31,12$, $P=0,000$) SNK A/B e C/D; para a mordenita ANOVA ($F=108,1$, $P=0,000$) SNK A/B, C/D e E/F.

A Ala foi mais adsorvida pelas zeólitas com alta taxa Si/Al. Deve ser ressaltado que a taxa Si/Al caracteriza a hidrofiliidade/hidrofobicidade desses minerais (Payara e Dutta, 2003). Titus et al. (2003) não observaram a adsorção de Ala em zeólita NaZSM-5. De acordo com os autores, isso foi devido à zeólita ser hidrofóbica e a Ala hidrofílica. Os resultados para a adsorção da Ala nas zeólitas não estão de acordo com Titus et al. (2003) (Tabela 4). Ao contrário os dados revelam que quanto mais hidrofóbica a zeólita maior é a adsorção. A condição experimental foi de simular um ambiente prebiótico, essa condição foi a presença de água do mar artificial com composição salina de uma água do mar atual. Portanto a presença dos sais da água do mar pode alterar a relação entre a adsorção dos aminoácidos e a taxa Si/Al. Deve ser salientado que a ZSM-5 tem o maior tamanho de poro em

relação às demais zeólitas utilizadas no estudo (Tabela 4). Os dados indicam que o tamanho de poro não afetou a adsorção da Cys e Met nas zeólitas (Tabela 4). A taxa Si/Al também não afeta a adsorção de Cys, His e Met nas zeólitas (Tabela 4). Esses resultados são diferentes daqueles obtidos por outros autores (Munsch et al., 2001; Krohn e Tsapatsis, 2005, 2006; Wijntje et al., 2007). Os íons Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} são conhecidos por poderem afetar a adsorção de biomoléculas (ATP, ácidos nucleicos, aminoácidos) em minerais (pirita, montmorillonita, caulinita, sílica) (Tessis et al. 1999; Franchi et al. 2003; Gao et al., 2008). A água do mar utilizada em nossos experimentos tem uma considerável concentração desses íons quando comparada com as soluções que foram utilizadas por outros autores. Essa composição salina explica porque foram obtidos diferentes resultados.

A baixa adsorção da His na zeólitas Beta-720 e 50, Zeólita Y e Mordenita, (Teste SNK $p < 0,05$) foi um importante resultado para a química prebiótica, pois como salientado por Zaia et al. (2002), Zaia (2004) e Benetoli et al. (2007) minerais em geral adsorvem mais aminoácidos com grupo R carregados do que não carregados. Na faixa de pH do experimento (pH 2,66-4,50), o grupo R da His está positivamente carregado, o que deveria proporcionar uma elevada adsorção. Entretanto, a maioria dos aminoácidos (74%) em proteínas consiste de aminoácidos com grupos R não carregados (Klapper, 1977; Jordan et al., 2005). Deve ser também salientado que a adsorção relativa da Cys na zeólita Beta-720, Beta-50 e a Y não foi estatisticamente diferente (Teste SNK, $p > 0,05$) da adsorção da Ala nestas zeólitas. Nesse caso os grupos R para a Ala, Cys e Met estão neutros. Esse é também um importante resultado desde que em geral a Cys é adsorvida em uma grande quantidade em minerais (Lahav e Chang, 1976; Zaia, 2004; Benetoli et al., 2007). Então as zeólitas tiveram um importante papel na adsorção dos aminoácidos na Terra prebiótica, pois podem ser notadas diferenças na preferência de adsorção entre os aminoácidos do experimento.

Duas forças tiveram um papel importante na adsorção de aminoácidos (Cys, Ala, His, Met) na Mordenita: (i) a carga oposta entre o aminoácido (+) e a zeólita (-), e (ii) as interações hidrofóbicas entre aminoácidos e a zeólita (Munsch et al., 2001; Titus et al., 2003).

A Tabela 5 mostra a concentração relativa de aminoácidos (Ala=1,00) (Ala, Cys, His Met) nas zeólitas. A mais elevada e a menor concentração relativa foram obtidas para a Cys e Met com a ZSM-5 (2,349) e a zeólita Y (0,451),

respectivamente. No geral, a concentração relativa na Tabela 5 está em 1,00. A análise estatística mostrou que para as zeólitas Beta-720, Y e Beta-50 a adsorção relativa de His e Met foi menor que 1,00 (Teste SNK, $p < 0,05$). Para a ZSM-5 a adsorção relativa de Cys, His e Met foram sempre maiores do que 1,00 (Teste SNK, $p < 0,05$) e para a His menor do que 1,00 (Teste SNK, $p < 0,05$). A His adsorve menos em zeólitas do que outros aminoácidos estudados (Tabela 4 e 5). O grupo R da His está positivamente carregado, seu pK_R é 6,00 (Tabela 2) e o pH do experimento ficou na faixa de 2,80 a 4,50 (Tabela 3), assim valores de pH abaixo do valor de pK_R proporcionam cargas positivas em superfície.

Tabela 5 - Concentração relativa (Ala = 1,00) de aminoácidos (Ala, Cys, His, Met) adsorvidos nas zeólitas

Zeólita	Tamanho de poro [nm]	Si/A I	Cys	Ala	His	Met
Beta-720	0,64 x 0,76	720	1,076±0,028 ^a (6)	1,000±0,074 ^c (4)	0,733±0,04 ^{b,d} (6)	0,813±0,046 ^{b,d} (6)
Zeólita Y	0,74	60	1,068±0,009 ^a (6)	1,000±0,119 ^c (4)	0,567±0,01 ^{b,d} (6)	0,451±0,136 ^{b,d} (6)
Beta-50	0,64 x 0,76	50	0,954±0,037 ^a (6)	1,000±0,178 ^c (4)	0,633±0,02 ^{b,d} (6)	0,488±0,019 ^{b,d} (4)
ZSM-5	0,55	25	2,349±0,054 ^a (6)	1,000±0,183 ^{b,c} (6)	1,821±0,06 ^{b,d} (6)	2,003±0,031 ^{b,d} (6)
Mordenit a	0,65 x 0,7	5,1	1,424±0,009 ^a (4)	1,000±0,023 ^{b,c} (4)	0,826±0,03 ^{b,d,e} (6)	1,261±0,005 ^{b,d,f} (6)

Os resultados são apresentados como médias \pm erro padrão. O número de experimentos está em parênteses. Linhas: SNK ($p < 0,05$) para a Beta-720 ANOVA ($F=12,95$, $P=0,000$) SNK a/b e c/d; para a Zeólita Y ANOVA ($F=13,01$, $P=0,000$) SNK a/b e c/d; para a Beta-50 ANOVA ($F=10,04$, $P=0,000$) SNK a/b e c/d; para a ZSM-5 ANOVA ($F=31,21$, $P=0,000$) SNK a/b e c/d; para a mordenita ANOVA ($F=110,4$, $P=0,000$) SNK a/b, c/d e e/f.

O efeito do pH na adsorção dos aminoácidos (com e sem o grupo R carregado) nas zeólitas foi estudado por vários autores (Munsch et al., 2001; Krohn e Tsapatsis, 2005, 2006). Em geral eles observaram que os aminoácidos com grupos R não carregados ou negativamente carregados foram mais adsorvidos em zeólitas em pH ácido do que em pH básico e uma tendência oposta foi observada para

aminoácidos com grupos R carregados positivamente. Esse fato é explicado quando se observa a solubilização de zeólitas em pH ácido. Algumas zeólitas são facilmente solubilizadas em meio ácido, principalmente as que possuem em sua composição maior teor de alumínio. A solubilização proporciona uma superfície carregada positivamente nos grupos alumínicos que estão saindo das estruturas das zeólitas e esses são então capazes de adsorver moléculas carregadas negativamente. No entanto quando o pH do meio está se tornando básico existe uma solubilização dos grupos silanóis e nesse ambiente a carga gerada na superfície desse grupo é negativa, o que faz com que se adsorva grupos carregado positivamente.

Embora o principal objetivo desse trabalho seja estudar a adsorção de aminoácidos em zeólitas sobre condições semelhantes aquelas encontradas na Terra prebiótica, não se pode excluir a possibilidade de usar essas zeólitas para a purificação de aminoácidos. A ZSM-5 poderia ser utilizada na purificação da Cys de outros aminoácidos (Ala, His, Met) (Teste SNK, $p < 0,05$) (Tabela 4). A grande adsorção da Cys na zeólita ZSM-5 poderia ser por causa do alto índice de hidropaticidade (Tabela 2), assim interações hidrofóbicas poderia ter sido o principal fator. Também deve ser considerado que em geral His mostrou baixa adsorção em zeólitas Quando comparada a outros aminoácidos (Tabela 4) e que ela tem o menor índice de hidropaticidade (Tabela 2). A Mordenita mostrou a seguinte ordem de adsorção Cys > Met > Ala > His, (Teste SNK, $p < 0,05$) (Tabela 4). As outras zeólitas não poderiam ser usadas para a separação de aminoácidos porque elas não mostraram uma preferência por qualquer aminoácido utilizado no estudo (Tabela 4).

Um estudo sistemático de espectroscopia de infravermelho e Raman foram feitos para melhor entender as interações entre zeólitas e aminoácidos. A Figura 4(a) mostra o espectro de infravermelho das zeólitas, Ala sólida e Ala adsorvida em zeólitas. O espectro da Ala sólida mostra bandas em 1305, 1362, 1412, 1455, e 1518 cm^{-1} , atribuídas a deformação do grupo CH e deformação de NH_3 , a deformação simétrica do CH_3 e ao estiramento COO^- , a deformação do CH_3 e ao estiramento simétrico do COO^- , a deformação assimétrica do CH_3 e a deformação simétrica do NH_3^+ , e a deformação assimétrica do NH_3^+ , respectivamente (Rosado et al., 1997; Cao e Fischer, 1999; Stewart e Fredericks, 1999; Meng et al., 2004; Wolpert e Hellwig, 2006). Quando a Ala foi adsorvida na zeólita Beta-720 a banda 1362 cm^{-1} desapareceu, e duas novas bandas foram observadas em 1347 e 1375 cm^{-1} e a banda em 1305 cm^{-1} deslocou para 1300 cm^{-1} .

Quando ocorre o desaparecimento de uma banda isso significa que a interação que está ocorrendo entre os determinados grupos de interesse é de uma intensa grandeza, pois essa interação está impedindo a vibração característica desse grupo. Já para o deslocamento existe uma forte interação entre os grupos, no entanto essas ainda não estão impedindo completamente os modos vibracionais característicos. Para a Ala adsorvida na Beta-50 a banda 1362 cm^{-1} foi mantida e os ombros em 1347 e 1374 cm^{-1} foram observados. Em todos os espectros a banda em 1455 cm^{-1} desapareceu. A banda em 1591 cm^{-1} qual é atribuída a deformação assimétrica do NH_3^+ e estiramento assimétrico do COO^- (Cao e Fischer, 1999; Wolpert e Hellwig, 2006), quase desapareceu para a amostra Ala adsorvida na Beta-720 e para outras amostras mudanças foram observadas.

O espectro da Ala adsorvida na Beta-720 mostrou que a interação da Ala com esta zeólita foi maior do que a interação entre Ala e outras zeólitas. As duas zeólitas (Beta-720, Beta-50) com o maior tamanho de poro (Tabela 4) mostraram as maiores diferenças em seu espectro de infravermelho (Figura 4a). Os resultados dos espectros de infravermelho mostraram que a interação entre Ala e zeólita é através do grupo NH_3^+ . Isso é esperado uma vez que a carga da Ala é positiva e da zeólita negativa (Tabela 3). Entretanto outros grupos (COO^- e CH_3) também estão envolvidos. Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos por outros autores, sendo que a interação da Ala com bentonita e Ala com coloide de prata, foram através dos grupos NH_3^+ e COO^- , respectivamente (Suh e Moskovits, 1986; Benetoli et al., 2007). A interação da Gly com sílica também é através do grupo NH_3^+ (Meng et al., 2004).

A figura 4 (b) mostra os espectros para a zeólitas, His sólida e His adsorvida em zeólita. Em geral, com uma exceção, a amostra de His adsorvida na Beta-720, os espectros da His adsorvida na zeólita e o espectro da His sólida são muito similares. Para a amostra da His adsorvida na beta-720, as bandas em 1571 e 1588 cm^{-1} desapareceram. Essas bandas são atribuídas a deformação assimétrica de COO^- , estiramento C-C (do anel), estiramento de N-C e estiramento de C-N (do anel) (Wolpert e Hellwig, 2006). Os espectros da His adsorvida nas zeólitas mostraram uma fraca interação. Essa fraca interação entre His e zeólita é devido ao fato de que zeólitas são hidrofóbicas e His é hidrofílica como mostrado pelo baixo índice de hidropatia na Tabela 2. A interação da His com cobre foi através do grupo NH (anel imidazol) e COO^- (Martusevičius et al., 1996). Com a prata as interações

foram pelos grupos CH₂, CH (anel imidazol) e COO⁻. Em outro trabalho, a interação da His com a bentonita e caulinita foi pelo grupo NH₃⁺ (Benetoli et al., 2007).

A Figura 4(c) mostra os espectros para as zeólitas, Met sólida e Met adsorvida nas zeólitas. O espectro da Met sólida mostra bandas em 1318, 1351, 1410, 1448, 1510, 1584 e 1613 cm⁻¹ as quais são atribuídas a CH₂ 'wagging', deformação de CH e deformação simétrica do CH₃, estiramento simétrico COO⁻, deformação assimétrica do CH₃, deformação assimétrica do NH₃⁺ deformação NH₂, e deformação do NH₃⁺ e estiramento assimétrico COO⁻, respectivamente (Stewart e Fredericks, 1999; Wolpert e Hellwig, 2006). Para as amostras de Met adsorvida nas zeólitas, novas bandas foram observadas em 1338 e na região de 1730 cm⁻¹ assim como o deslocamento de várias bandas.

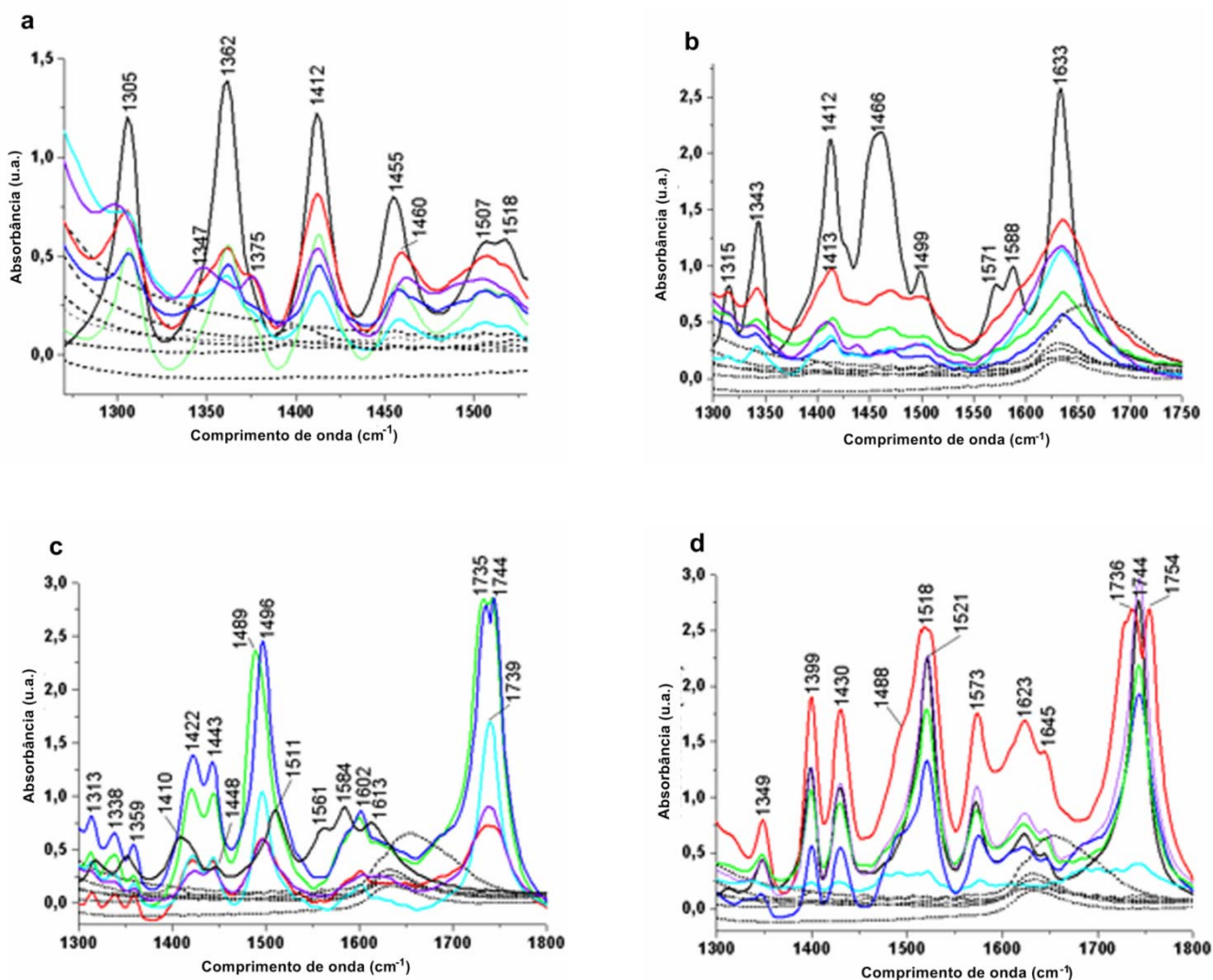
O espectro da Met adsorvida nas zeólitas mostrou varias diferenças, quando comparado ao espectro da Met sólida ou do espectro das zeólitas puras. Em geral os espectros da Met adsorvida nas zeólitas revelaram que as interações foram pelos grupos COO⁻, NH₃⁺ e CH₃. No entanto, não foi possível correlacionar essas mudanças com o tamanho de poros ou a taxa Si/Al ou até a quantidade de Met adsorvida (Tabela 4). A interação da Met com bentonita e caulinita foi através do amino grupo (Benetoli et al., 2007).

A figura 4(d) mostra os espectros de infravermelho das zeólitas, Cys sólida e Cys adsorvida em zeólitas. O espectro da Cys sólida mostra bandas em 1347, 1400, 1430, 1521/1572/1623/1645, 1744 e 563 cm⁻¹ as quais são atribuídas deformação do CH, estiramento simétrico COO⁻, deformação do CH₂, deformação assimétrica e 'rocking' do NH₃⁺ e estiramento assimétrico do COO⁻, estiramento do C=O e estiramento do S-H, respectivamente (Brigatti et al., 1999; Stewart e Fredericks, 1999; Pawlukojć et al., 2005; Aryal et al., 2006; Wolpert e Hellwig, 2006). Para a Cys adsorvida na Beta-50, a banda em 1744 cm⁻¹ do espectro da Cys sólida atribuída ao estiramento do C=O, foi observada em 1736/1754 cm⁻¹. O espectro para todas as outras amostras e o espectro da Cys sólida são os mesmos.

Na adsorção da Cys nas zeólitas, foi verificado que a forma da Cys na superfície é a zwitterionica e que a interação é fraca. As bandas em 1429 e 1272 cm⁻¹ são devidas aos grupos COO⁻ e NH₃⁺. A Cys foi o aminoácido mais adsorvido por todas as zeólitas (Tabela 4). Os espectros dessas amostras mostraram que a interação foi fraca, provavelmente feita por pontes de van der Waals. Isso significa que não é forte o suficiente para fazer as mudanças estruturais que afetam o

momento de dipolo da Cys adsorvida (ou grupos da Cys, tais como amina, sulfidril e carboxílico) quando comparado a cisteína sólida, podendo causar deslocamento ou desaparecimento de bandas. O resultado dessa adsorção é que o espectro é o mesmo da Cys sólida. Apesar da carga da Cys ser positiva (Tabela 3) e das zeólitas negativa (Lambert, 2008) a interação entre elas parece não envolver cargas. Somente interação do tipo Van der Waals ocorrem devido ao alto índice de hidropaticidade da Cys (Tabela 2) e as zeólitas são hidrofóbicas. A interação da Cys com nanopartículas de ouro, de prata, esmectitas saturadas com cátions (Na^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+}) foi estudada por vários autores (Brigatti et al., 1999; Stewart e Fredericks, 1999; Aryal et al., 2006; Benetoli et al., 2007; de Santana et al., 2010). Esses estudos demonstraram que vários grupos estariam envolvidos na interação (NH_3^+ , COO^- e S-H). No entanto uma forte interação foi observada entre o grupo S-H e metais e em alguns casos cistina foi sintetizada (Brigatti et al., 1999; de Santana et al., 2010).

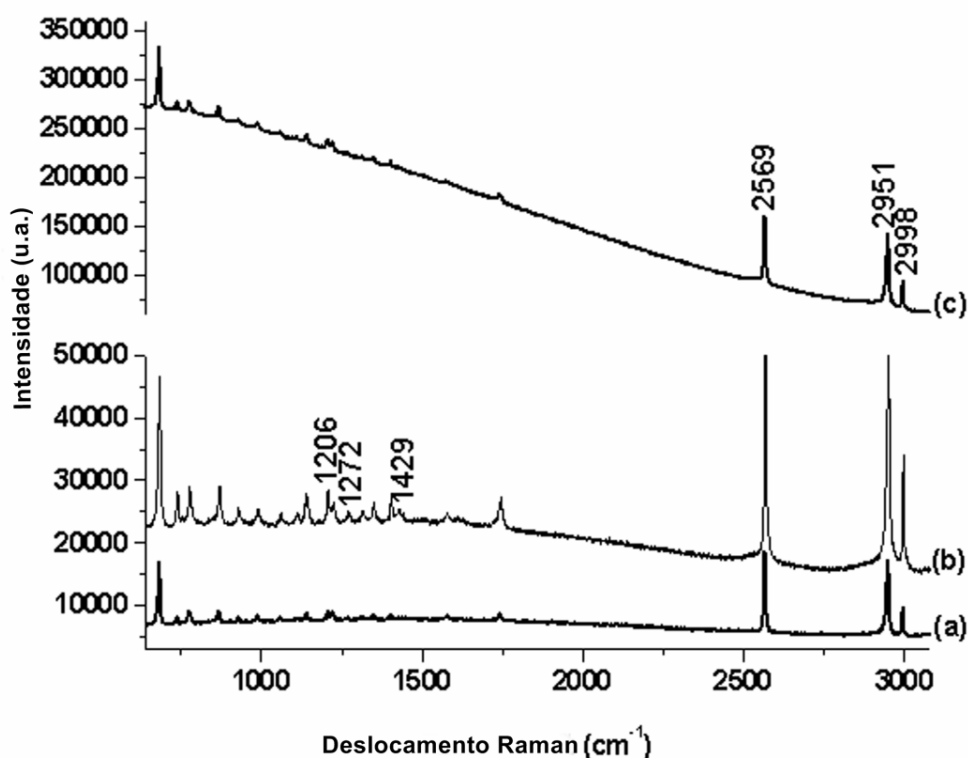
Figura 4 - Espectro Infravermelho: zeólitas (linhas tracejadas), aminoácido sólido (linha sólida) e aminoácidos adsorvidos em zeólitas. Beta-720 (roxo); Beta-50 (vermelho); zeólita Y (verde); ZSM-5 (azul escuro); mordenita (azul claro). Sequência de aminoácidos usados: (a) Ala; (b) His; (c) Met; e (d) Cys. Zeólitas mais água do mar e zeólitas mais aminoácidos dissolvidos em água do mar em concentração saturada, todos agitados durante 24 h. O pH das amostras ficaram na faixa de 2,66 a 4,50. As amostras foram centrifugadas durante 15 min a 2000 rpm; a fase aquosa foi descartada e o sólido seco em estufa a 40°C for 24 h.



A Figura 5 mostra o espectro Raman da Cys sólida, o espectro da Cys adsorvida nas zeólitas Y e ZSM-5. Para a Cys, as bandas em 2569 e 2951-2998 cm⁻¹ são atribuídas aos grupos S-H e CH₂, respectivamente (Pawlukojé et al., 2005; Aryal et al., 2006; Wolpert e Hellwig, 2006) (Figure 5). Para essas bandas nenhuma

mudança foi observada na intensidade ou no deslocamento das frequências, assim a interação desses grupos com as zeólitas não ocorreu (Figura 5). O espectro da cisteína sólida e o espectro da cisteína adsorvida nas zeólitas não são diferentes um do outro. Não foi observado deslocamento ou desaparecimento de bandas, o que caracteriza fortes interações entre grupos. O espectro Raman da Cys adsorvida na zeólita Y e ZSM-5 mostrou novas bandas em 1429 e 1272 cm^{-1} e o aumento de intensidade da banda em 1206 cm^{-1} em relação a banda em 1223 cm^{-1} .

Figura 5 - Espectro Raman para a Cys sólida (a) e Cys adsorvida em zeólita Y (b) e ZSM-5 (c). Excitação em 633 nm. Zeólitas mais água do mar e zeólitas mais aminoácidos dissolvidos em água do mar em concentração saturada, todos agitados durante 24 h. O pH das amostras ficaram na faixa de 2,66 a 4,50. As amostras foram centrifugadas durante 15 min a 2000 rpm; a fase aquosa foi descartada e o sólido seco em estufa a 40°C for 24 h.



7 CONCLUSÕES

No estudo da adsorção da Cys, Ala, His e Met em várias zeólitas (Beta, Y, ZSM-5 e Mordenita) os valores da adsorção relativa (aminoácidos/Ala) foram próximos 1,00. Esse é um importante resultado para a química prebiótica, desde que minerais, em geral, adsorvem mais aminoácidos com grupos R carregados do que com grupos não carregados. Entretanto, muitos dos aminoácidos (74%) nas proteínas consistem de aminoácidos com grupos R não carregados.

A Cys foi o aminoácido mais adsorvido por todas as zeólitas estudadas. A ZSM-5 adsorveu menor quantidade de Ala, quando comparada a Beta-720, zeólita Y e Beta-50. A His e a Met foram mais adsorvidas pelas zeólitas ZSM-5 e Mordenita, respectivamente. O tamanho de poro não afetou a adsorção da Cys e Met nas zeólitas. A taxa Si/Al não afetou a adsorção de Cys, His e Met nas zeólitas. Quando a zeólita foi mantida na faixa de pH (pH 2,66-4,50), o grupo R da His ficou carregado positivamente e a Ala, Cys e Met ficaram neutros.

A ZSM-5 poderia ser usada para purificar Cys de outros aminoácidos (Ala, His, Met), enquanto a Mordenita poderia ser usada para separar os aminoácidos uns dos outros (Met, Cys, His e Ala).

A interação entre a Ala e Met nas zeólitas foi através dos grupos NH_3^+ e através dos grupos COO^- , NH_3^+ e CH_3 , respectivamente. Os espectros mostraram que a interação entre as zeólitas e His foi fraca, provavelmente porque as zeólitas são hidrofóbicas e a His é hidrofílica. A Cys mostrou uma grande adsorção em todas as zeólitas. Em contraste as interações hidrofóbicas/van der Waals entre as zeólitas e Cys é fraca para causar uma apreciável mudança na conformação da Cys adsorvida. Dessa forma os espectros de infravermelho e Raman da Cys adsorvida foram os mesmos da Cys sólida.

8 REFERÊNCIAS

- Aryal, S., Remant, B.K.C., Dharmaraj, N., Bhattarai, N., Kim, C.H., e Kim, H.Y. Spectroscopic identification of SAu interaction in cysteine capped gold nanoparticles. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc** 63:160–163. 2006.
- Benetoli, L.O.B., de Souza, C.M.D., da Silva, K.L., de Souza, I.G., Jr., de Santana, H., Paesano, A., Jr., da Costa, A.C.S., Zaia, C.T.B.V., e Zaia, D.A.M. Amino acid interaction with e adsorption on clays: FTIR e Mössbauer spectrometry e X-ray diffractometry investigations. **Orig Life Evol Biosph** 37:479–493. 2007.
- Bernal, J.D. **The Physical Basis of Life**, Routledge e Kegan Paul, London. 1951.
- Bishop, J.L., Dobrea, E.Z.N., McKeown, N.K., Parente, M., Ehlmann, B.L., Michalski, J.R., Milliken, R.E., Poulet, F., Swayze, G.A., Mustard, J.F., Murchie, S.L., e Bibring, J.P. Phyllosilicate diversity e past aQuandous activity revealed at Mawrth Vallis, Mars. **Science** 321:830–833. 2008.
- Braga, A.A.C. e Morgon, N.H. Descriptions of crystalline structures of zeolites. **Quim Nova** 30:178–188. 2007.
- Brigatti, M.F., Lugli, C., Montorsi, S., e Poppi, L. Effects of exchange cations e layer-charge location on cysteine retention by smectites. **Clays Clay Miner** 47:664–671. 1999.
- Brunauer, S., Emmett, P.H., e Teller, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **J Am Chem Soc** 60:309–319. 1938.
- Cao, X. e Fischer, G. New infrared spectra e the tautomeric studies of purine e aL-alanine with an innovative sampling technique. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc** 55:2329–2342. 1999.
- Coombs, D.S., Ellis, A.J., Fyfe, W.S., e Taylor, A.M. The zeolite facies, with comments on the interpretation of hydrothermal syntheses. **Geochim Cosmochim Acta** 17:53–107. 1959.
- de Santana, H., Paesano, A., Jr., da Costa, A.C.S., di Mauro, E., de Souza, I.G., Ivashita, F.F., de Souza, C.M.D., Zaia, C.T.B.V., e Zaia, D.A.M. Cysteine, thiourea e thiocyanate interactions with clays: FT-IR, Mössbauer e RPE spectroscopy e X-ray diffractometry studies. **Amino Acids** 38:1089–1099. 2010.
- Ehlmann, B.L., Mustard, J.F., Swayze, G.A., Wray, J.J., Barnouin- Jha, O.S., Bishop, J.L., Des Marais, D.J., Poulet, F., Roach, L.H., Milliken, R.E., Clark, R.N., Murchie, S.L. e the MRO CRISM team Phyllosilicates, zeolites e carbonate near Nili Fossae Mars: evidence for distinct environments of aQuandous alteration. In WORKSHOP ON MARTIAN PHYLLOSILICATES: RECODERS OF AQUANDOUS PROCESSES? Held October 21–23, 2008, Paris, LPI contribution number 1441, pp 33–34. 2008.
- Franchi, M., Ferris, J.P., e Gallori, E. Cations as mediators of the nucleic acids on clay surfaces in prebiotic environments. **Orig Life Evol Biosph** 33:1–16. 2003.

Galli, E., Vezzalini, G., Quartieri, S., Alberti, A., e Franzini, M. Mutinaite, a new zeolite from Antarctica: the natural counterpart of ZSM-5. **Zeolites** 19:318–322. 1997.

Gao, Q., Xu, W., Xu, Y., Wu, D., Sun, Y., Deng, F., e Shen, W. Amino acid adsorption on mesoporous materials: influence of types of amino acids, modification of mesoporous materials, e solution conditions. **J Phys Chem** 112:2261–2267. 2008.

Hatay, M.M. e Oo, M.M. Preparation of zeolite Y catalyst for petroleum cracking. **World Acad Sci Eng Technol** 48:114–120. 2008.

Hazen, R.M. Mineral surfaces e the prebiotic selection e organization of biomolecules. **Am Mineral** 91:1715–1729. 2006.

Holm, N.G. e Eersson, E. Hydrothermal simulation experiments as a tool for studies of the origin of life on Earth e other terrestrial planets: a review. **Astrobiology** 5:444–460. 2005.

Holm, N.G., Dumont, M., Ivarsson, M., e Konn, C. Alkaline fluid circulation in ultramafic rocks e formation of nucleotide constituents: a hypothesis. **Geochem Trans** 7, doi:10.1186/1467-4866-7-7. 2006.

Jordan, I.K., Kondrashov, F.A., Adzhubei, I.A., Wolf, Y.I., Koonin, E.V., Kondrashov, A.S., e Sunyaev, S. A universal trend of amino acid gain e loss in protein evolution. **Nature** 433:633–638. 2005.

Klapper, M.H. Independent distribution of amino acids near neighbor pairs into polypeptides. **Biochem Biophys Res Commun** 78:1018–1024. 1977.

Krohn, J.E. e Tsapatsis, M. Amino acid adsorption on zeolite b. **Langmuir** 21:8743–8750. 2005.

Krohn, J.E. e Tsapatsis, M. Phenylalanine e arginine adsorption in zeolites X, Y e b. **Langmuir** 22:9350–9356. 2006.

Lahav, N. Minerals e the origin of life: hypotheses e experiments in heterogeneous chemistry. **Heterogeneous Chemical Reviews** 1:159–179. 1994.

Lahav, N. e Chang, S. The possible role of solid surface area in condensation reactions during chemical evolution. **J Mol Evol** 8:357–380. 1976.

Lambert, J.F. Adsorption e polymerization of amino acids on mineral surfaces: a review. **Orig Life Evol Biosph** 38:211–242. 2008.

Lehninger, A.L., Nelson, D.L., e Cox M.M. **Principles of Biochemistry**, Worth, New York, p 113. 1993.

Lethbridge, Z.A.D., Williams, J.J., Walton, R.I., Evans, K.E., e Smith, C.W. Methods for the synthesis of large crystals of silicate zeolites. **Microporous Mesoporous Mater** 79:339–352. 2005.

Martin, W., Baross, J., Kelley, D., e Russel, M.J. Hydrothermal vents e the origin of life. **Nat Rev Microbiol** 6:805–818. 2008.

Martusevičius, S., Niaura, G., Talaikytė, Z., e Razumas, V. Adsorption of L-histidine on copper surface as evidenced by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. **Vib Spectrosc** 10:271–280. 1996.

Massoth, G.J., Butterfield, D.A., Lupton, J.E., McDuff, R.E., Lilley, M.D., e Jonasson, I.R. Submarine venting of phase separated hydrothermal fluids at axial volcano, Juan de Fuca Ridge. **Nature** 340:702–705. 1989.

Meng, M., Stievano, L., e Lambert, J.F. Adsorption e thermal condensation mechanisms of amino acids on oxide supports. 1. Glycine on silica. **Langmuir** 20:914–923. 2004.

Mormile, M.R., Hong, B.Y., e Benison, K.C. Molecular analysis of the communities of Mars analog lakes in western Australia. **Astrobiology** 9:919–930. 2009.

Mumpton, F.A. La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture e industry. **Proc Natl Acad Sci USA** 96:3463–3470. 1999.

Munsch, S., Hartmann, M., e Ernst, S. Adsorption e separation of amino acids from aqueous solutions on zeolites. **Chem Commun (Camb)** 1978–1979. 2001.

Nisbet, E.G. e Sleep, N.H. The habitat e nature of early life. **Nature** 409:1083–1091. 2001.

Parsons, I., Lee, M.R., e Smith, J.V. Biochemical evolution II: Origin of life in tubular microstructures on weathered feldspar surfaces. **Proc Natl Acad Sci USA** 95:15173–15176. 1998.

Pawlukojć, A., Leciejewicz, J., Ramirez-Cuesta, A.J., e Nowicka-Scheibe, J. L-Cysteine: neutron spectroscopy, Raman, IR e ab initio study. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc** 61:2474–2481. 2005.

Payra, P. e Dutta, P.K. **Zeolites: a primer**. In **Handbook of Zeolite Science e Technology**, edited by S.M. Auerbach, K.A. Carrado, e P.K. Dutta, Marcel Dekker, New York, pp 1–19. 2003.

Rosado, M.T.S., Duarte, L.R.S., e Fausto, R. Vibrational spectra (FT-IR, Raman, MI-IR) of α - e β -alanine. **J Mol Struct** 410–411:343–348. 1997.

Shock, E.L. Chemical environments of submarine hydrothermal systems. **Orig Life Evol Biosph** 22:67–102. 1992.

Siri, N., Lacroix, M., Garrigues, J.C., e Couderc, F. HPLC-fluorescence detection e MEKC-LIF detection for the study of amino acids e catecholamines labeled with naphthalene-2,3-dicarboxyaldehyde. **Electrophoresis** 27:4446–4455. 2006.

Smith, J.V. Biochemical evolution I. Polymerization on internal, organophilic silica surfaces of dealuminated zeolites e feldspars. **Proc Natl Acad Sci USA** 95:3370–3375. 1998.

Spray, J.G., Thompson, L.M., Biren, M.B., e O'Connell- Cooper, C. The Manicouagan impact structure as terrestrial analogue site for lunar e martian planetary science. **Planet Space Sci** 58:538–551. 2010.

Stewart, S. e Fredericks, P.M. Surface-enhanced Raman spectroscopy of amino acids adsorbed on an electrochemically prepared silver surface. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc** 55:1641–1660. 1999.

Suh, J.S. e Moskovits, M. Surface enhanced Raman spectroscopy of amino acids e nucleotide bases adsorbed on silver. **J Am Chem Soc** 108:4711–4718. 1986.

Tessis, A.C., Penteado-Fava, A., Pontes-Buarque, M., de Amorin, H.S., Bonapace, J.A.P., de Souza-Barros, F., e Vieyra, A. Pyrite suspended in artificial sea water catalyzes hydrolysis of adsorbed ATP: enhancing effect of acetate. **Orig Life Evol Biosph** 29:361–374. 1999.

Titus, E., Kalkar, A.K., e Gaikar, V.G. Equilibrium studies of amino acids on NaZSM-5 zeolite. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp** 223:55–61. 2003.

Tschernich, R.W. Zeolites of the World, Geoscience Press Inc., Phoenix, AZ. 1992.

Virta, R.L. Zeolites (natural). U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, January 2011, U.S. Geological Survey, Reston, VA. Available online at <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/zeolites/mcs-2011-zeoli.pdf>. 2008.

Wijntje, R., Bosch, H., Haan, A.B., e Bussmann, P.J.T. Influencing the selectivity of zeolite Y for triglycine adsorption. **J Chromatogr A** 1142:39–47. 2007.

Wolpert, M. e Hellwig, P. Infrared spectra e molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500 cm⁻¹. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc** 64:987–1001. 2006.

Zaia, D.A.M. A review of adsorption of amino acids on minerals: was it important for origin of life? **Amino Acids** 27:113–118. 2004.

Zaia, D.A.M., Vieira, H.J., e Zaia, C.T.B.V. Adsorption of L-amino acids on sea se. **J Braz Chem Soc** 13:679–681. 2002.

Zaia, D.A.M., Zaia, C.T.B.V., e de Santana, H. Which amino acids should be used in prebiotic chemistry studies? **Orig Life Evol Biosph** 38:469–488. 2008.

CAPÍTULO IV

MODIFICAÇÃO DA MONTMORILLONITA COM SULFETO DE SÓDIO PARA ESTUDOS DE QUÍMICA PREBIÓTICA: CARACTERIZAÇÃO UTILIZANDO MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS E DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

1 RESUMO

No presente trabalho a montmorillonita e montmorillonita modificada (sulfeto de sódio) agitadas com e sem água do mar artificial foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e difratometria de Raios X. A montmorillonita mostrou um aumento do pH do ponto isoelétrico (pH_{iep}) provavelmente devido a adsorção de Na^+ da solução de Na_2S . Um decréscimo na distância interplanar para todas as amostras tratadas foi observado e isso foi devido à troca de cátions da argila pelo Na^+ da água do mar artificial ou Na_2S . Devido à retirada do Fe^{3+} pela solução foi observado também um decréscimo da intensidade das linhas do espectro de RPE em $g \approx 7 - 8$ e $g \approx 2$ para todas as amostras. Os espectros de Mössbauer mostraram três dubletos. Um decréscimo de quase 50% na quantidade de Fe^{2+} foi observado para a montmorillonita original agitada em água do mar. Para a montmorillonita modificada, a água do mar artificial não alterou a quantidade Fe^{2+} . Quando a montmorillonita modificada foi agitada com água do mar artificial, foi observado um aumento da área do dubleto Fe^{3+} e a da linha de $g = 4.1$ do espectro de RPE Quando comparada a montmorillonita original.

Palavras-chave: Espectroscopia, Minerais de argila, Origem da vida, Química prebiótica

2 ABSTRACT

In the present paper original e modified (sodium sulfide) montmorillonites mixed with e without artificial seawater were characterized by spectroscopy methods e X-ray diffractometry. The modified montmorillonite showed an increase in the pH of isoelectric point (pH_{iep}) probably due to the sorption of Na^+ from the solution of Na_2S . A decrease of the interplanar distances for all treated samples was observed e this could be due to the exchange of cations from the clay samples by Na^+ from artificial sea water or Na_2S solution. Due to the withdrawn of Fe^{3+} by the solutions it was also observed a decrease of $g \approx 7 - 8$ e $g \approx 2$ intensity lines of RPE spectra for all samples. The Mössbauer spectra were fitted with three Dubletos. A decrease of almost 50 % of the amount of Fe^{2+} was observed for the original montmorillonite mixed with artificial seawater. For the modified montmorillonite, artificial seawater did not change the amount the Fe^{2+} . When modified montmorillonite was mixed with artificial seawater, it showed an increase of the área of the Dubleto 2 Fe^{3+} e the line $g = 4.1$ of RPE spectra when compared to the original montmorillonite.

Keywords: Spectroscopy. Clay minerals. Origin of life. Prebiotic chemistry.

3 INTRODUÇÃO

Bernal (1951) foi o primeiro a propor que minerais poderiam ter desempenhado um papel importante na origem da vida na Terra, uma vez que eles poderiam ter participado em importantes processos como a seleção e concentração de biomoléculas assim como a formação de biopolímeros. São encontrados na literatura, trabalhos que mostram que ocorre a adsorção de biomoléculas em minerais e a subsequente formação de biopolímeros (Lahav e Chang, 1976; Zaia, 2004; Lambert, 2008; Hazen e Sverjensky, 2010). Portanto é importante para a química prebiótica identificar quais minerais existiram na Terra primitiva assim como as reações que eles poderiam participar.

Minerais de argila poderiam ter existido na Terra primitiva (4,55-4,00 bilhões de anos) como resultado de interações gasosas vulcânicas e fluidos rochosos associados com a formação da atmosfera e hidrosfera (Hazen et al., 2008). Sulfeto pode ser encontrado em vulcões submarinos assim como em cometas (Aloisi et al., 2004; Llorca, 2004). Então argilas e sulfetos foram compostos que poderiam ser facilmente encontrados na Terra primitiva e as interações entre eles provavelmente tenham ocorrido. Montmorillonita é um mineral de argila 2:1 com duas folhas tetraédricas e uma octaédrica. Esse mineral é um dos mais estudados em química prebiótica e tem sido usado para estudos de adsorção de biomoléculas (Lahav e Chang, 1976; Zaia, 2004; Lambert, 2008) assim como para a formação de biopolímeros (Paecht-Horowitz, 1988; Bujdák et al., 1996).

Nesse trabalho, foi feita a modificação da montmorillonita com o sulfeto de sódio em pH alcalino. As montmorillonitas, original e modificada, foram caracterizadas por espectroscopia de Infravermelho, RPE e Mössbauer além da difração de raios X. A montmorillonita original e modificada foram agitadas com água do mar artificial em dois pHs e foram também caracterizadas pelos métodos espectroscópicos e difratometria de raios X.

4 OBJETIVO

Modificar a Montmorillonita com sulfeto de sódio e caracterizar esse material modificado para o uso em estudos de Química Prebiótica.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A montmorillonita foi adquirida da Acros Organics-NJ, USA sob a especificação de KSF-Montmorillonite. Com composição química: $\text{SiO}_2 = 54\%$, $\text{Al}_2\text{O}_3 = 17\%$, $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 5,2\%$, $\text{CaO} = 1,5\%$, $\text{MgO} = 2,5\%$, $\text{Na}_2\text{O} = 0,4\%$, $\text{K}_2\text{O} = 1,5\%$ com área superficial específica $10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

Água do Mar Artificial

A água do mar artificial foi preparada como descrita no capítulo I.

5.1. MONTMORILLONITA MODIFICADA

Uma solução de Na_2S ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionada a montmorillonita na proporção de 1:10 m/v. A mistura foi agitada durante 24 horas. Então o material foi centrifugado por 15 minutos a 2,000 rpm e o sólido foi seco a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h. A fase aquosa foi utilizada para análise de Al, Ca, Mg e Fe. A montmorillonita original e a modificada foram caracterizadas por espectroscopia FT-IR, RPE, Mössbauer e difratometria de Raios X.

5.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Montmorillonita original e modificada foram processadas da seguinte forma: dois conjuntos de tubos em duplicata (15 mL) contendo 50 mg das argilas foram adicionados 5,00 mL de água do mar artificial. O pH foi ajustado para 2,00 ou 7,00 com HCl ou NaOH. Esses tubos foram agitados durante 3 h, em seguida foram centrifugados por 15 min a 2,000 rpm. A fase aquosa foi utilizada para análise de Al, Ca, Mg e Fe. A montmorillonita original e a modificada foram caracterizadas por espectroscopia FT-IR, RPE, Mössbauer e difratometria de Raios X.

5.3 CAPACIDADE DE TROCA DE CÁTIOS (CTC)

As argilas (0,250 g) foram agitadas com 100 mL of HCl ($0,50 \text{ mol L}^{-1}$) durante 30 minutos e após foram filtradas e lavadas com 400 mL de água destilada, sendo esses sobrenadantes descartados. Em seguida as argilas foram lavadas com 100 mL de acetato de cálcio ($0,50 \text{ mol L}^{-1}$) e o sobrenadante foi recolhido. Após a lavagem com acetato de cálcio, a argila foi lavada com mais 300 mL de água

destilada. Esses 300 mL de água destilada foram coletados depois da lavagem das argilas. A solução de acetato de cálcio mais os 300 mL de água destilada da lavagem foram homogeneizados e essa solução foi titulada com NaOH ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) (Williams, 1984; Rodella e Alcarde, 1994).

5.4 DETERMINAÇÃO DO PONTO ISOELÉTRICO (pH_{IEP})

O pH do ponto isoelétrico (pH_{IEP}) foi determinado pela –difusão do potencial com aproximadamente 1% da amostra sólida em água deionizada. A força eletromotiva (EMF) medida foi realizada com Zeta Sizer, nano series, model Zen 3600.

5.5. CÁTIONS TROCÁVEIS (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})

Os cátions trocáveis Ca^{2+} e Mg^{2+} foram extraídos usando uma solução de KCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o Na^+ e K^+ usando uma solução de HCl ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Os cátions Na^+/K^+ e $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ foram quantificados usando o fotômetro de chama e o espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente (EMBRAPA, 1997).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH do ponto isoelétrico (pH_{IEP}) para a montmorillonita original e modificada foi de 2,04 e 6,64, respectivamente. O pH_{IEP} para a montmorillonita original está de acordo com valores da literatura (Kosmulski, 2002, 2004). A capacidade de troca de cátions da montmorillonita original e da modificada foi de 518,6 e 370,7 mmol kg^{-1} , respectivamente. A CTC medida para a montmorillonita modificada foi menor do que o medido para a montmorillonita original. Esses resultados são esperados uma vez que um aumento no pH_{IEP} cria mais cargas positivas na superfície do mineral, fazendo a CTC diminuir. A quantidade de cátions trocáveis (K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+}) da montmorillonita original para a modificada não mudou com o tratamento com Na_2S (Tabela 1). Houve um aumento de seis vezes na quantidade de Na^+ trocável depois que a montmorillonita original foi tratada com sulfeto de sódio (Tabela 1).

Tabela 1 - Cátions Trocáveis $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$

	Na⁺	K⁺	Ca²⁺	Mg²⁺
Montmorillonita Original	1,17	1,97	18,71	8,57
Montmorillonita	7,56	1,41	19,34	7,64

Cada resultado é media de duas análises.

A análise do sobrenadante após o tratamento da montmorillonita mostrou a seguinte quantidade de metais liberados da montmorillonita: Al = 370 $\mu\text{g/g}$, Ca = 4290 $\mu\text{g/g}$, Mg = 4920 $\mu\text{g/g}$ e Fe = 6 $\mu\text{g/g}$. O pH dessa solução depois da agitação com a montmorillonita original foi de 12,78. Deve-se salientar que conforme revisado por Holm e Eersson (2005) e Holm et al. (2006) o pH alcalino pode ser encontrado em ambientes hidrotermais. Além da extração de metais da montmorillonita pelo sulfeto de sódio assim como a adsorção de sulfeto na montmorillonita um aumento no pH_{IEP} foi observado. O aumento do pH_{IEP} da montmorillonita modificada poderia ser devido a sorção de Na^+ (Tabela 1) do sulfeto de sódio. O aumento ou decréscimo do pH_{IEP} depende da quantidade de cátions ou ânions adicionados durante a adsorção de moléculas/ions em minerais. No experimento o pH_{IEP} da montmorillonita aumentou com o aumento da adsorção de Na^+ (Tabela 1).

O espectro infravermelho da montmorillonita original mostrou as seguintes bandas 467, 524, 622 e 677, atribuídas à deformação Si-O; 920, estiramento Al-OH; 1045 e 1116, deformação Si-O no plano e fora do plano; 3376 e 3630 cm^{-1} , OH estiramento do grupo hidroxil estrutural na argila e de moléculas de água presentes na intercamada (Colthup et al., 1964; Bineesh et al., 2010). Os tratamentos da montmorillonita (sulfeto de sódio, água do mar, sulfeto de sódio/água do mar) não causaram mudanças no espectro de FT-IR para essas amostras quando comparadas à montmorillonita original.

A Tabela 2 mostra a distância interplanar d_{001} da montmorillonita original e modificada nos dois pHs estudados. A montmorillonita original mostrou uma grande distância interplanar quando comparada às amostras com tratamento.

Tabela 2 - Distância interplanar da montmorillonita original (M) e modificada (MM) com e sem água do mar artificial.

Água do mar artificial*	Faixa de pH	Distância Interplanar (d_{001} , Å)	
		(M)	** (MM)
sem	-	15,39	12,86
Com	1,82–2,11/2,21–3,22	12,72	12,87
	5,35–6,37/5,93–6,80	13,04	13,41

*A composição da água do mar está descrita no Material e Métodos. **Montmorillonita foi modificada com Na_2S como descrito no Material e Métodos.

O decréscimo da distância interplanar d_{001} após a agitação da montmorillonita original com sulfeto de sódio/água do mar foi devido à troca de cátions interlamelar (Tabela 2). Deve-se salientar que o Na é um cátion de alta concentração na água do mar artificial. Quando a montmorillonita original e a modificada foram agitadas com água do mar a pH básico a distância interplanar foi maior do que para as amostras a pH ácido (Tabela 2). Como descrito por Siffert e Kessaissia (1978) e Benincasa et al. (2000) o espaçamento basal d_{001} aumenta na seguinte ordem para a montmorillonita: $\text{Na}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Cu}^{2+}$. Nguyen-Thanh et al. (2005) obtiveram para Na-montmorillonita a distância interplanar de 12.3 Å e essa distância foi ligeiramente maior no nosso experimento (Tabela 2).

Tabela 3 - Concentração em mg L^{-1} de Fe e Al depois da extração com água do mar artificial em duas faixas de pH (2 e 7) para a montmorillonita original (M) e modificada (MM).

Elemento	Argila	Tratamento		Concentração (mg L^{-1})
		pH	Faixa de pH	
Fe	M	2	1,82–2,11	5,80±0,80
		7	5,35–6,37	5,50±1,50
	MM	2	2,21 – 3,22	11,78±0,38
		7	5,93 – 6,80	0,65±0,05
Al	M	2	1,82–2,11	108,6±7,2
		7	5,35–6,37	40,5±0,5
	MM	2	2,21 – 3,22	108,0±2,0
		7	5,93 – 6,80	36,5±0,5

Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Cada resultado é a média de duas análises. Para todas as amostras 50 mg de M ou MM mais 5,0 mL de água do mar foram agitados durante 3 horas, depois as amostras foram centrifugadas por 15 min a 4.000 rpm e o sobrenadante foi usado para a análise dos elementos.

Tabela 4 mostra as intensidades de linha do RPE para a montmorillonita original e modificada com e sem a agitação em água do mar artificial. O espectro de RPE mostra três linhas de ressonância $g \approx 7 - 8$, $g = 4.1$ e $g \approx 2$. A linha de ressonância em $g \approx 2$ mostrou alta intensidade e essa linha é devido a hidróxidos e óxidos de Fe^{3+} (Guskos et al., 2002; Carbone et al., 2005; Mota et al., 2009).

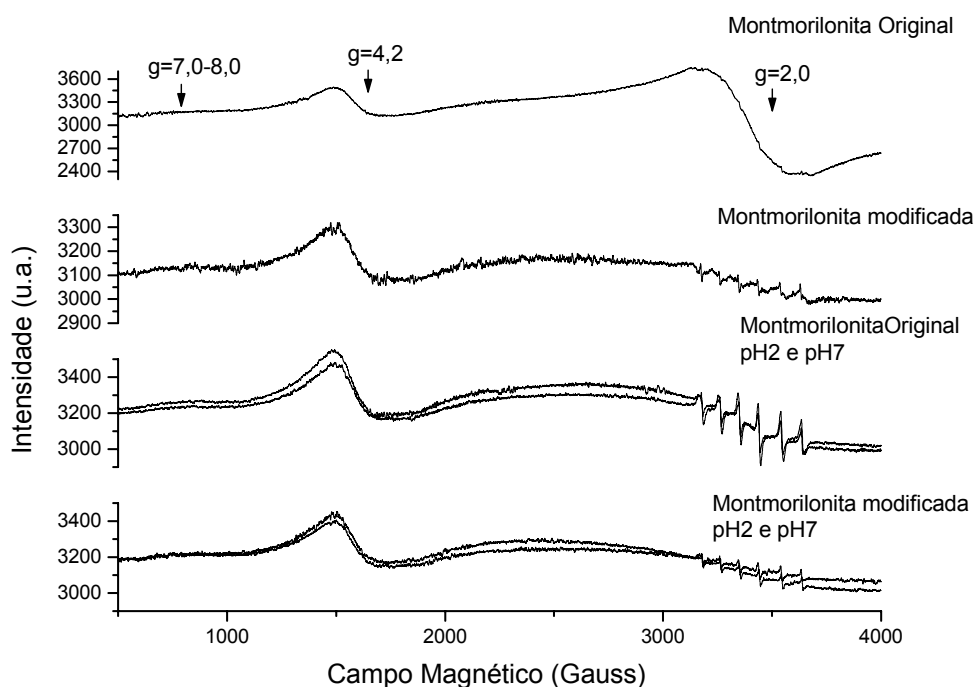
Tabela 4 - Intensidade das linhas de ressonância do Fe^{3+}

Argila	Água do Mar	Tratamento pH	Faixa de pH	Linha 1 Fe^{3+} (g \approx 7 - 8)	Linha 2 Fe^{3+} (g = 4,1)	Linha 3 Fe^{3+} (g \approx 2)
M*	sem	—	—	1,28	2,73	5,63
MM**	sem	—	—	0,13	3,27	2,68
M*	com	2	1,82–2,11	0,13	2,36	2,04
		7	5,35–6,37	0,10	1,33	2,80
MM**	com	2	2,21 – 3,22	0,12	3,25	3,36
		7	5,93 – 6,80	0,05	2,98	2,61

*M = Montmorillonita, **MM = Montmorillonita Modificada (Na_2S) como descrito no Material e Métodos.

Para todas as amostras, com exceção da montmorillonita original, foi possível visualizar as linhas do marcador $\text{Mn}^{2+}:\text{MgO}$ (padrão para a intensidade de linha) (Figura 1). O decréscimo da intensidade de linha em g \approx 2 (Tabela 4) para todas as amostras tratadas com água do mar ou sulfeto de sódio foi devido à retirada do Fe^{3+} pelas soluções, as quais permaneceram em contato com a argila original durante três horas (Tabela 3). A linha de ressonância em g = 4,1 é devida ao Fe^{3+} com simetria rômbrica assim como a interação do Fe^{3+} com matéria orgânica (Guskos et al., 2002; Carbone et al., 2005; Mota et al., 2009). No entanto, o sulfeto não é uma substância orgânica, então a linha observada e o aumento da intensidade desta para todas as amostras tratadas com sulfeto de sódio caracteriza a presença de Fe^{3+} com simetria rômbrica (Tabela 4).

Figura 1 - Espectroscopia de RPE para a Montmorillonita original e Modificada nos dois pHs (2,0 e 7,0). Os espectros apresentam as linhas de absorção do $\text{MgO}:\text{Mn}^{2+}$ com o valor de g do quarto pico de absorção e a distância ΔH entre a 3ª e a 4ª linhas do espectro conforme descrito no Material e Métodos.



Em geral, de Santana et al (2010) e Vieira et al. (2011) observaram um aumento na intensidade da linha $g \approx 4$, quando a cisteína foi adsorvida nas argilas e em óxidos de ferro, respectivamente. Já linha de ressonância $g \approx 7 - 8$ pode ser atribuída ao Fe^{3+} com simetria romboédrica distorcida (Budziak et al., 2007). A intensidade da linha de ressonância $g \approx 7 - 8$ mostrou um grande decréscimo quando as amostras foram agitadas com sulfeto de sódio ou água do mar artificial (Tabela 4). Esse decréscimo foi devido à retirada do Fe^{3+} pela solução do sulfeto de sódio ou pela água do mar artificial quando usadas (Tabela 3). A intensidade dessa linha foi à mesma para todos os tratamentos (Tabela 4). A adsorção de cisteína em argilas e óxidos de Fe não teve nenhum efeito nessa linha de ressonância (de Santana et al., 2010; Vieira et al., 2011).

Para todas as amostras, o espectro Mössbauer apresentou três dubletos, dois deles correspondendo ao Fe^{3+} e o terceiro ao Fe^{2+} . A Tabela 5 mostra os parâmetros hiperfinos e as áreas sub-espectral.

Tabela 5 - Parâmetros hiperfinos Mössbauer e área sub-espectral para as amostras de montmorillonita

Amostra	Sítio Sub-espectro	IS ^a (mm/s)	QS ^b (mm/s)	Γ ^c (mm/s)	Área (%)
M	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,50	0,50	61,7
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	0,97	0,79	27,9
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,14	2,70	0,53	10,4
MM	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,35	0,52	0,45	46,4
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,37	0,92	0,60	42,0
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,17	2,72	0,45	11,6
M / *água do mar / faixa de pH 1,82–2,11	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,49	0,55	69,8
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,37	1,25	0,30	23,8
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,17	2,72	0,62	6,4
M / *água do mar / faixa de pH 5,35–6,37	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,52	0,57	71,6
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,26	0,31	22,9
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,20	2,72	0,64	5,5
MM / *água do mar / faixa de pH 2,21–3,22	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,51	0,45	55,3
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,37	1,00	0,66	33,6
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,18	2,72	0,47	11,1
MM / água do mar / faixa de pH 5,93–6,80	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,35	0,55	0,48	52,8
	Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	0,95	0,67	35,1
	Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,13	2,72	0,43	12,1

M=montmorillonita, MM= montmorillonita modificada*Montmorillonita foi modificada com Na₂S como descrito no Material e Métodos; ^aDeslocamento Isomérico, relativo ao α-Fe a temperatura ambiente; ^bDeslocamento Quadrupolar; ^cLargura de linha

Observou-se que os tratamentos (sulfeto de sódio, água do mar artificial, sulfeto de sódio/água do mar artificial) não alteraram significativamente os parâmetros hiperfinos das amostras. Os parâmetros hiperfinos obtidos são consistentes com (de Santana et al., 2010). No entanto, foi observado o decréscimo próximo de 50 % na quantidade de Fe^{2+} , para as amostras de montmorillonita agitadas em água do mar artificial, quando comparada a amostra original. A explicação para essa observação é que o oxigênio dissolvido na água do mar está oxidando o Fe^{2+} , pois, a modificação da montmorillonita com o sulfeto de sódio não alterou a quantidade de Fe^{2+} . Esse resultado era esperado uma vez que a reação foi realizada em pH alcalino (12,78) e sob essa condição, o composto observado é Fe_2S_3 (Vogel, 1981). Após a montmorillonita ter sido tratada com água do mar artificial, não foi observado aumento da quantidade de Fe^{3+} . É plausível que o sulfeto esteja formando um composto com Fe^{2+} , ficando protegido da oxidação pelo oxigênio dissolvido na água do mar artificial. Para a montmorillonita modificada, foi observado um aumento de 15 % na área do dubleto quando comparado a montmorillonita original. Mesmo depois que a montmorillonita modificada foi agitada com água do mar, a área do dubleto 2 foi maior do que para a montmorillonita original. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos pela espectroscopia de RPE, desde que um aumento na intensidade da linha $g = 4,1$ foi observado para as amostras tratadas com sulfeto de sódio (Tabela 4).

7 CONCLUSÃO

Um aumento no pH_{IEP} foi observado quando a montmorillonita foi modificada com o sulfeto de sódio. Esse aumento foi devido à sorção do sódio da solução de sulfeto de sódio.

Os tratamentos não alteraram os espectros de FT-IR das amostras de montmorillonita.

A distância interplanar da montmorillonita original é maior do que para as amostras agitadas com sulfeto de sódio, água do mar artificial e sulfeto de sódio/água do mar artificial. Esse resultado foi devido à troca dos cátions das argilas pelo sódio da água do mar artificial ou do sulfeto de sódio.

O espectro de RPE mostrou três linhas de ressonância $g \approx 7 - 8$, $g = 4.1$ e $g \approx 2$, sendo que a linha em $g \approx 2$ apresentou maior intensidade. Um

decréscimo das linhas em $g \approx 7 - 8$ e $g \approx 2$ foram observadas para todas as amostras tratadas com água do mar e/ou sulfeto de sódio o que foi devido à retirada de Fe^{3+} pelas soluções usadas. A linha de ressonância $g = 4,1$ aumentou para todas as amostras tratadas com sulfeto de sódio.

O espectro Mössbauer para todas as amostras apresentaram três dubletos, dois deles correspondendo ao Fe^{3+} e o terceiro ao Fe^{2+} . Os tratamentos da montmorillonita original não mudaram significativamente os parâmetros hiperfinos de todas as amostras. Quando a montmorillonita modificada foi tratada com água do mar, um decréscimo do Fe^{2+} não foi observado, entretanto um decréscimo de quase 50 % da quantidade de Fe^{2+} foi observado para as amostras da montmorillonita original agitada em água do mar. Então sulfeto está formando um composto com Fe^{2+} , protegendo esse da oxidação pelo oxigênio dissolvido da água do mar. Para todas as amostras da montmorillonita modificada um aumento da área do dubleto 2, Fe^{3+} foi observado quando comparado a montmorillonita original. Esses resultados estão de acordo com os resultados obtidos no RPE, uma vez que o aumento na intensidade da linha em $g = 4,1$ foi observado para as amostras tratadas com sulfeto de sódio.

8 REFERÊNCIAS

Aloisi, G., Drews, M., Wallmann, K., Bohrmann, G., Fluid expulsion from the Dvurechenskii mud volcano (Black Sea): Part I. Fluid sources e relevance to Li, B, Sr, I e dissolved inorganic nitrogen cycles. **Earth Planet. Sci. Lett.** 225, 347-363, 2004.

Benincasa, E., Brigatti, M.F., Lugli, C., Médici, L., Poppi, L. Interaction between glycine e Na^- , Ca^- , e Cu-rich smectites. **Clay Miner.** 35, 635–641, 2000.

Bernal, J.D. **The physical basis of life.** Routledge e Kegan Paul Ltd., London, 1951.

Bineesh, K.V., Kim, D.K., Cho, D.W., Cho, H.J., Park, D.W. Selective catalytic oxidation of H_2S to elemental sulfur over $\text{V}_2\text{O}_5/\text{Zr}$ -pillared montmorillonite clay. **Energy Environ. Sci.** 3, 302-310, 2010.

Budziak, C.R.F., Wypych, F., Mangrich, A.S. Use of Fe^{3+} ion probe to study the stability of urea- intercalated kaolinite by electron paramagnetic resonance. **J. Coll. Inter. Sci.** 313, 537–541, 2007.

Bujdák, J., Le Son, H., Rode, B.M. Montmorillonite catalyzed peptide bond formation: The effect of exchangeable cations. **J. Inorg. Biochem.** 63, 119-124, 1996.

Carbone, C., di Benedetto, F., Marescotti, P., Sangregorio, C., Sorace, L., Lima, N., Romanelli, M., Luchetti, G., Cipriani, C. Natural Fe-oxide e -oxyhydroxide nanoparticles: na RPE e SQUID investigation. **Mineral Petrol.** 85, 19–32, 2005.

Colthup, N.B., Daly, L.H., Wiberley, S.E. **Introduction to infrared e Raman spectroscopy.** Academic Press, New York, 1964.

de Santana, H., Paesano Jr, A., da Costa, A.C., Di Mauro, E., de Souza Junior, I.G., Ivashita, F.F., de Souza, C.M., Zaia, C.T.B.V., Zaia, D.A.M. Cysteine, thiourea e thiocyanate interactions with clays: FT-IR, Mossbauer e RPE spectroscopy e X- ray diffractometry. **Amino Acids** 38, 1089–1099, 2010.

EMBRAPA, **Manual de Métodos de Análise de Solo**, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, RJ, p. 93-94, 1997.

Guskos, N., Papadopoulos, G.J., Likodimos, V., Patapis, S., Yarmis, D., Przepiera, A., Przepiera, K., Majszczyk, J., Typek, J., Wabia, M., Aidinis, K., Drazek, Z. Photoacoustic, RPE e electrical conductivity investigations of three synthetic mineral pigments: hematite, goethita e magnetite. **Mater. Res. Bull.** 37, 1051–1061, 2002.

Hazen, R.M., Sverjensky, D.A. Mineral surfaces, geochemical complexities e the origins of life. **Cold Spring Harb. Perspect. Biol.** Doi: 10.1101/cshperspect.a002162, 2010.

Hazen, R.M., Papineau, D., Bleeker, W., Downs, R.T., Ferry, J.M., McCoy, T.J., Sverjensky, D.A., Yang, H. Mineral evolution. **Am. Mineral.** 93, 1693-1720, 2008.

Holm, N.G., Eersson, E. Hydrothermal simulation experiments as a tool for studies of the origin of life on earth e other terrestrial planets: a review. **Astrobiology** 5, 444–460, 2005.

Holm, N.G., Dumont, M., Ivarsson, M., Konn, C. Alkaline fluid circulation in ultramafic rocks e formation of nucleotide constituents: a hypothesis. **Geochem. Trans.** 7, 1-7, 2006.

Kosmulski, M. The pH-dependent surface charging e the points of zero charge. **J. Colloid Interface Sci.** 253, 77-87, 2002.

Kosmulski, M. pH-dependent surface charging e points of zero charge II. Update. **J. Colloid Interface Sci.** 273, 214-224, 2004.

Lahav, N., Chang, S. The possible role of solid surface área in condensation reactions during chemical evolution: reevaluation. **J. Mol. Evol.** 8, 357–380, 1976.

Llorca, J. Organic matter in meteorites. **Internat. Microbiol.** 7, 239–248, 2004.

Lambert, J.F. Adsorption e polymerization of amino acids on minerals surfaces: a review. **Orig. Life Evol. Biosph.** 38, 211–242, 2008.

Mota, L., Toledo, R., Faria Jr, R.T., da Silva, E.C., Vargas, H., Deladillo-Hotfort, I. Thermally treated soli clays as ceramic raw materials: characterization by x-ray

diffraction, photoacoustic spectroscopy e electron spin resonance. **Appl. Clay Sci.** 43, 243–247, 2009.

Nguyen-Thanh, D., Block, K., Beosz, T.J. Adsorption of hydrogen sulfide on montmorillonites modified with iron. **Chemosphere** 59, 343-353, 2005.

Paecht-Horowitz, M., Eirich, F.R. The polymerization of amino acid adenylates on sodium-montmorillonite with preadsorbed polypeptides. **Orig. Life Evol. Biosph.** 18, 359–387, 1988.

Rodella, A.A., Alcarde, J.C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Scientia Agric.** 51, 556-562, 1994.

Siffert, B., Kessaissia, S. Contribution au mecanisme d'adsorption des a-aminoacides par la montmorillonite. **Clay Miner.** 13, 255–270, 1978.

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 e ferrihydrite: FT-IR, Mössbauer, RPE spectroscopy e X-ray diffractometry Studies. **Amino Acids** 40, 205–214, 2010.

Vogel, A.I. *Química Analítica Qualitativa*, Editora Mestre Jou, São Paulo, 1981.

Williams, S., (Editor). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14 ed. Arlington, AOAC, p. 1141, 1984.

Zaia, D.A.M. Review of adsorption of amino acids on minerals: was it important for origin of life. **Amino Acids** 27, 113–118, 2004.

CAPÍTULO V
ADSORÇÃO DE ADENINA, CITOSINA, TIMINA E URACILA EM
MONTMORILLONITA MODIFICADA COM SULFETO: ESPECTROSCOPIA FT-IR,
MÖSSBAUER E RPE E DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

1 RESUMO

No presente trabalho foi estudada interação e a adsorção em dois pHs (2,00 e 7,00) dos bases nitrogenadas em argilas, usando diferentes técnicas. O mais importante resultado desse trabalho, como mostrado pelo uso das técnicas espectroscópicas de Mössbauer e RPE e da difratometria de Raios-X, foi que as bases nitrogenadas penetram na intercâmara das argilas e oxidam o Fe^{2+} a Fe^{3+} . Então a adsorção que ocorre entre as bases e o mineral, não pode ser considerada como uma simples adsorção física. Para os dois pHs a ordem de adsorção dos bases nitrogenadas nas argilas foi: adenina \approx citosina > timina > uracila. A adsorção da adenina e citosina nas argilas aumentou com o decréscimo do pH. Para a montmorillonita não modificada esse resultado poderia ser explicado pela força eletrostática, a adenina/citosina, com carga positiva e a argila com carga negativa. No entanto, para a montmorillonita modificada com Na_2S , provavelmente forças de Van der Waals também tiveram um papel importante, uma vez que, a adenina/citosina e a argila estavam positivamente carregadas. O espectro FT-IR mostrou que a interação entre bases nitrogenadas e argilas foi através dos grupos NH^+ ou NH_2^+ . Os difratogramas de raios-X mostraram que bases nitrogenadas adsorvidas nas argilas estavam distribuídas na intercâmara e na superfície externa dos grupos funcionais (aluminol e silanol). O espectro RPE mostrou que a intensidade da linha de $g \approx 2,0$ aumentou, provavelmente por causa da oxidação do Fe^{2+} to Fe^{3+} pelas bases nitrogenadas e a intensidade da linha em $g = 4,1$ aumentou devido a interação do Fe^{3+} com as bases. O espectro de Mössbauer mostrou um grande decréscimo na área do dubleto do Fe^{2+} das argilas, devido a reação das bases com o Fe^{2+} .

Palavras-Chave: Bases Nitrogenadas. Montmorillonita. Adsorção. Espectroscopia Mössbauer. RPE. Química prebiótica.

2 ABSTRACT

In the present work the interactions of nucleic acid bases with e adsorption on clays were studied at two pHs (2.00, 7.00) using different techniques. As shown by Mössbauer e RPE spectroscopies e X-ray diffractometry, the most important finding of this work is that nucleic acid bases penetrate into the interlayer of the clays e oxidize Fe^{2+} to Fe^{3+} , thus, this interaction cannot be regarded as a simple physical adsorption. For the two pHs the order of the adsorption of nucleic acid bases on the clays was: adenine \approx cytosine > thymine > uracil. The adsorption of adenine e cytosine on clays increased with decreasing of the pH. For unaltered montmorillonite this result could be explained by electrostatic forces between adenine/cytosine positively charged e clay negatively charged. However for montmorillonite modified with Na_2S , probably van der Waals forces also play an important role since both adenine/cytosine e clay were positively charged. FT-IR spectra showed that the interaction between nucleic acid bases e clays was through NH^+ or NH_2^+ groups. X-ray diffractograms showed that nucleic acid bases adsorbed on clays were distributed into the interlayer surface, edge sites e external surface functional groups (aluminol, silanol) RPE spectra showed that the intensity of the line $g \approx 2$ increased probably because the oxidation of Fe^{2+} to Fe^{3+} by nucleic acid bases e intensity of the line $g = 4.1$ increased due to the interaction of Fe^{3+} with nucleic acid bases. Mössbauer spectra showed a large decreased on the Fe^{2+} Doubleto área of the clays due to the reaction of nucleic acid bases with Fe^{2+} .

Keywords: Nucleic acid bases. Montmorillonite. Adsorption. Mössbauer spectroscopy. RPE spectroscopy. Prebiotic chemistry

3 INTRODUÇÃO

As argilas estão entre os minerais mais antigos no nosso planeta, são amplamente distribuídos no mundo e também são detectados na superfície de Marte (Ehlmann et al., 2008; Hazen et al., 2008). As bases nitrogenadas têm sido encontradas em meteoritos e sintetizadas em ambientes simulando a Terra prebiótica (Hua et al., 1995; Borquez et al., 2005; LaRowe e Regnier, 2008; Martins et al., 2008). Os cometas e os vulcões submarinos poderiam ter sido fonte de sulfeto de hidrogênio (Aloisi et al., 2004; Lhorca, 2005). Então, bases nitrogenadas, argilas e sulfeto de hidrogênio poderiam facilmente ser encontrados na Terra prebiótica, e então ter ocorrido as interações entre eles.

Diversos artigos descrevem a adsorção de bases nitrogenadas sobre minerais/metais. A adsorção de bases nitrogenadas foi estudada nos seguintes minerais: argilas (Lailach et al., 1968; Lailach e Brindley, 1969; Strašák, 1991; Weckhuysen et al., 1999; Perezgasga et al., 2005; Hashizume e Teng, 2007; Benetoli et al., 2008; Hashizume et al., 2010; Negron-Mendoza et al., 2010; Pucci et al., 2010), apatita (Winter e Zubay, 1995), dióxido de silício (Plekan et al., 2007), grafite (Sowerby et al., 2001a,b), sulfetos de metais (Sowerby et al., 1998; Bebié e Schoonen, 2000; Plekan et al., 2007; Hatton e Rickard, 2008) e rutila (Cleaves et al., 2010).

Em geral, foi observado que a adenina e/ou citosina são mais adsorvidos em minerais do que a timina e/ou a uracila (Lailach e Brindley, 1969; Perezgasga et al., 2005; Benetoli et al., 2008; Cleaves et al., 2010; Hashizume et al., 2010). A grande adsorção da adenina quando comparada a baixa adsorção da timina ou uracila levantam algumas questões sobre o papel desempenhado pelos minerais assim como a pré-concentração das bases nitrogenadas de soluções diluídas e também a possibilidade do código genético ser baseado de uma única base nitrogenada (Sowerby et al., 2001b; Benetoli et al., 2008).

Para a adenina e citosina, em muitos estudos, a adsorção depende do pH e isso poderia explicar como se processam as interações de minerais carregados com as bases carregadas ou com íons (Lailach e Brindley, 1969; Winter e Zubay, 1995; Weckhuysen et al., 1999; Perezgasga et al., 2005; Hashizume e Teng, 2007; Benetoli et al., 2008; Cleaves et al., 2010; Negron-Mendonza et al.,

2010; Pucci et al., 2010). No entanto, os autores Benetoli et al., (2008); Cleaves et al., (2010) não observaram dependência da adsorção da uracila e timina com o pH.

Também deve ser salientado que na literatura é descrito a formação da hipoxantina depois que a adenina foi adsorvida sobre montmorillonita modificada com Cu (Strašák, 1991). A hipoxantina é uma purina que pode ser encontrada como constituinte de ácidos nucleicos.

Nesse trabalho foi estudada a adsorção de adenina, citosina, uracila e timina em montmorillonita não modificada e modificada com sulfeto de sódio em dois diferentes pHs (2,00 e 7,00) em água do mar artificial. A quantidade de bases nitrogenadas adsorvida nas argilas foi medida por espectrofotometria no UV e a interação estudada por espectroscopia de FT-IR, RPE e Mössbauer assim como a difração de raios X.

4 OBJETIVO

Estudar a adsorção de bases nitrogenadas em Montmorillonita e Montmorillonita modificada com sulfeto de sódio, caracterizando os materiais através de métodos espectroscópicos FT-IR, RPE e Mössbauer e difratometria de raios X.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A montmorillonita usada nesse experimento assim como a modificação da argila foi a mesma descrita no capítulo III.

5.1 ADSORÇÃO DAS BASES NITROGENADAS À MONTMORILLONITA

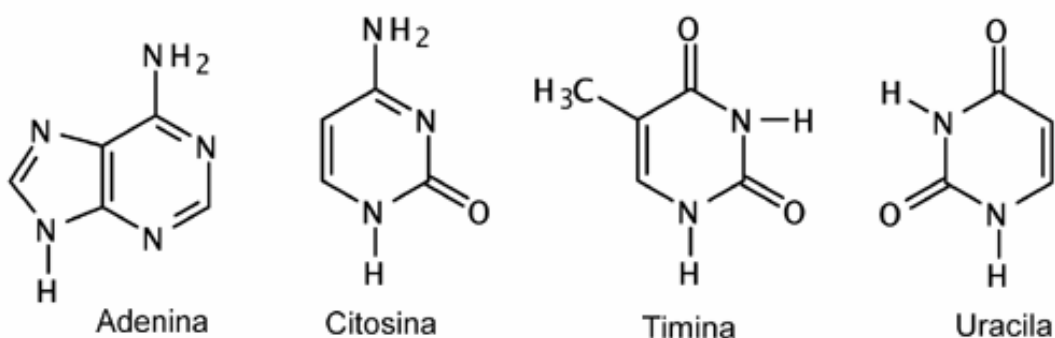
Montmorillonita não modificada (M) e a montmorillonita modificada (MM) foram processadas da seguinte forma: dois conjuntos de tubos em duplicata (15 mL) contendo 50 mg das argilas foram adicionados 5,00 mL de água do mar artificial mais base nitrogenada nas concentrações de 120, 240, 480 e 720 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O pH foi ajustado para 2,00 ou 7,00 com HCl ou NaOH. Esses tubos foram agitados durante 3 h, em seguida foram centrifugados por 15 min a 2,000 rpm. A fase aquosa foi usada para a determinação da concentração das bases por espectrofotometria de UV.

Para as caracterizações espectroscópicas de FT-IR, RPE e Mössbauer e a difratometria de raios X foram utilizadas as frações sólidas das argilas agitadas com a concentração de $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ de bases nitrogenadas, após secagem a 60°C .

Tabela 1 - Valores de pK_a para as bases nitrogenadas

Base	Valores de pK_a	
Adenina	4,1	9,8
Citosina	4,5	12,2
Timina	9,9	>13
Uracila	9,5	>13

Figura 1 - Estrutura das bases nitrogenadas estudadas.



5.2 PONTO DE CARGA ZERO

O ponto de carga zero foi determinado usando a equação $\text{pH}_{\text{pcz}} = 2\text{pH KCl} (1,0 \text{ mol L}^{-1}) - \text{pH água destilada}$ (Uehara, 1979).

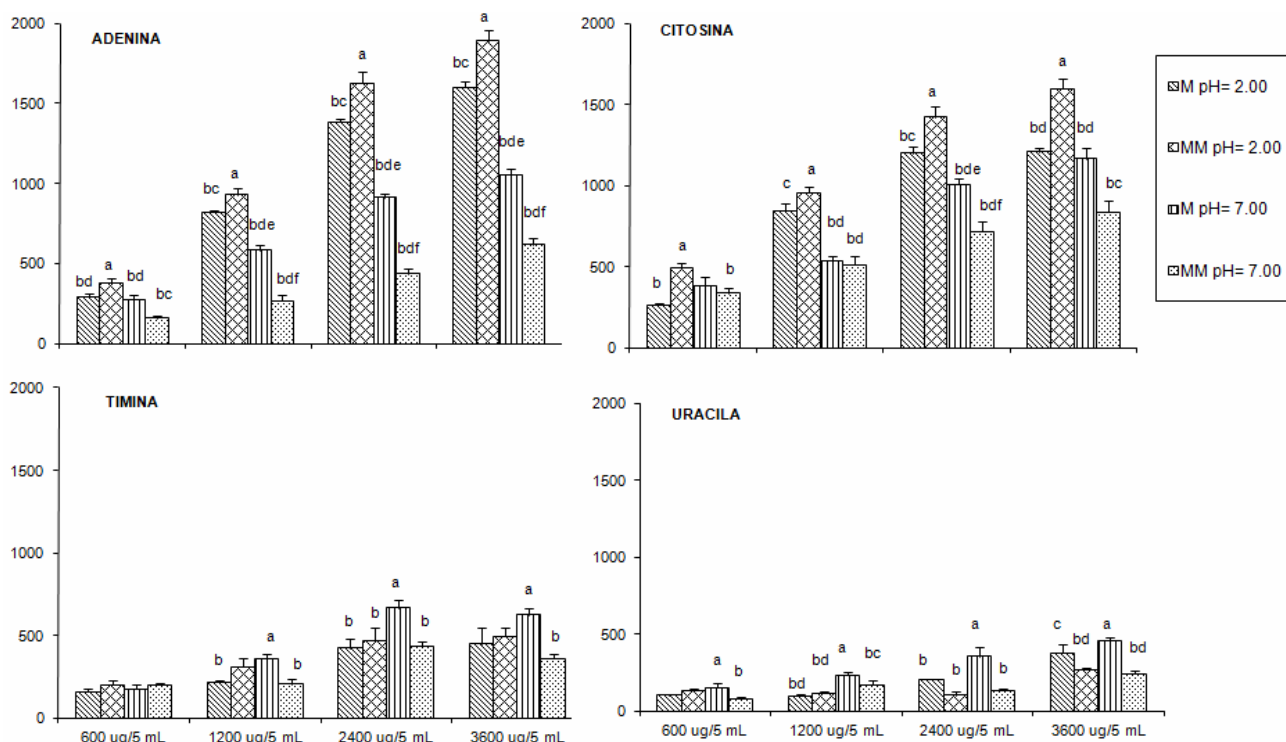
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Comparação entre médias foram avaliadas usando teste: ANOVA e Student- Newman-Keuls (Teste SNK) ao nível de significância de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 mostra a quantidade de bases nitrogenadas adsorvida nas argilas nos diferentes pHs (2,00 e 7,00). Em geral, para os dois pHs a ordem de adsorção das bases nitrogenadas foi: adenina \approx citosina > timina > uracila (Figura 2). Essa ordem de adsorção foi também observada por outros autores em trabalhos com argilas (Lailach et al., 1968; Lailach e Brindley, 1969; Winter e Zubay, 1995; Perezgasga et al., 2005; Benetoli et al., 2008; Hashizume et al. 2010).

Figura 2 - Quantidade de bases adsorvidas em argilas em dois diferentes pH, (2,00, 7,00), As bases nitrogenadas foram dissolvidas em água mar artificial e misturadas com argila (M, MM) por 3 h, M = montmorillonita, MM = montmorillonita modificada, Os resultados estão apresentados como media \pm desvio padrão da média, O número de repetições foram cinco com duas amostras em cada, Nas colunas SNK ($p < 0,05$); Para a adenina: 600, 1200, 2400 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$ ANOVA ($F = 14,81, P = 0,000; F = 78,14, P = 0,000; F = 158,98, P = 0,000; F = 135,21, P = 0,000$), SNK (600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b e c/d; SNK (1200, 2400 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b, c/d e e/f, Para citosina: 600, 1200, 2400 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$ ANOVA ($F = 6,57, P = 0,004; F = 30,79, P = 0,000; F = 35,97, P = 0,000; F = 30,12, P = 0,000$), SNK (600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b; SNK (1200 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b e c/d; SNK (2400 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b, c/d e e/f, Para Timina 600, 1200, 2400 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$ ANOVA ($F = 0,82, P = 0,500; F = 4,78, P = 0,015; F = 4,10, P = 0,025; F = 3,11, P = 0,056$); SNK (1200, 2400 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b, Para uracila ANOVA ($F = 3,74, P = 0,033; F = 11,77, P = 0,000; F = 10,96, P = 0,000; F = 10,25, P = 0,000$), SNK (600 e 2400 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b; SNK (1200 e 3600 $\mu\text{g}/5,00 \text{ mL}$) a/b e c/d.



A adsorção da adenina e citosina nas argilas é menor e são estatisticamente diferentes (Teste SNK $p < 0,05$) que o pH foi maior (Figura 3). Em pH ácido (2,00) e básico (7,00) a adenina e citosina tinham carga positiva e carga zero, respectivamente (Tabela 2). Uma vez que o valor de pH_{pcz} da montmorillonita não modificada foi de 1,42, ela apresentava um balanço de carga negativo nos dois pHs no estudo (2,00 e 7,00) (Tabela 2). Então, a força eletrostática entre montmorillonita não modificada (negativa) e as bases nitrogenadas (positiva) fez com que aumentasse a adsorção em pH ácido. Já para a montmorillonita modificada o pH_{pcz} foi de 5,26 e a pH 2,00 ambas, montmorillonita, adenina e citosina tinham carga positiva (Tabela 2). Nesse caso, a força eletrostática não pode ser usada para explicar a adsorção desta base nitrogenada em pH ácido. De acordo com vários autores (Lailach et al., 1969; Winter e Zubay, 1995; Weckhuysen et al., 1999; Perezgasga et al., 2005; Benetoli et al., 2008; Negrón-Mendonza et al., 2010) o aumento da adsorção da adenina /citosina com o decréscimo do pH foi devido a interação entre a carga negativa da argila e a carga positiva das bases nitrogenadas. No entanto, Hashizume e Theng (2007) observaram uma tendência inversa da adsorção da adenina em alofano com pHs (4,00, 6,00, 8,00). Os autores explicaram os resultados considerando as cargas líquidas do alofano e adenina. Cleaves et al. (2010) observaram que a adsorção da adenina em rutila, aumentou com o aumento de pH e uma tendência inversa para a citosina foi observada. A adsorção da citosina em pH ácido, foi explicada pelos autores devido a adsorção cooperativa dos tipos de pares de bases entre citosina-citosina.

Como observado por outros autores (Benetoli et al., 2008; Cleaves et al., 2010), em geral o pH não teve efeito na adsorção da timina e uracila nas argilas (Figura 3) (Teste SNK $p > 0,05$). A adenina e citosina, em pH ácido (2,00), foram mais adsorvidas na montmorillonita modificada do que na não modificada e uma tendência inversa foi observada em pH (7,00) (Figura 3) (Teste SNK $p < 0,05$). Esse comportamento em pH 2,00 foi uma indicação de que outras interações além da eletrostática estão desempenhando papel importante na adsorção das bases nitrogenadas.

Tabela 2 - Faixa de pH, carga das argilas e carga das bases nitrogenadas

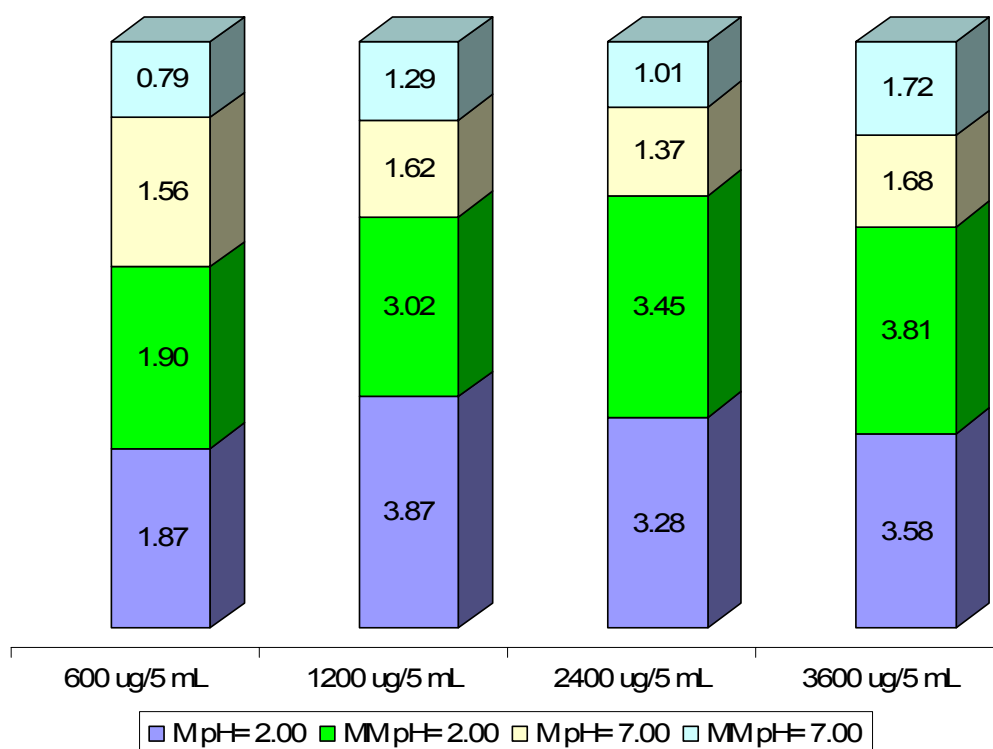
Bases Nitrogenadas	Argila	pH*	Concentração das bases nitrogenadas				
			120 µg mL ⁻¹	240 µg mL ⁻¹	480 µg mL ⁻¹	720 µg mL ⁻¹	
Adenina	M	2,0	1,71-1,82 -/+	1,72-1,84 -/+	1,75-1,89 -/+	1,79-1,95 -/+	
		7,0	6,47-7,17 -/0	6,66-6,94 -/0	6,74-7,17 -/0	6,81-7,35 -/0	
	MM	2,0	1,93-2,40 +/+	1,97-2,48 +/+	1,90-2,51 +/+	2,02-2,58 +/+	
		7,0	6,86-7,37 -/0	6,92-7,41 -/0	6,98-7,56 -/0	7,10-7,35 -/0	
	Timina	M	2,0	2,10-2,32 -/0	2,15-2,32 -/0	2,08-2,29 -/0	2,05-2,26 -/0
			7,0	6,82-7,05 -/0	6,79-7,10 -/0	6,95-7,06 -/0	6,97-7,15 -/0
MM		2,0	2,13-2,26 +/0	2,15-2,34 +/0	2,05-2,28 +/0	2,10-2,18 +/0	
		7,0	6,98-7,07 -/0	7,10-7,21 -/0	6,98-7,12/-/0	6,89-7,00/-/0	
Uracila		M	2,0	2,05-2,15 -/0	2,08-2,15 -/0	2,00-2,10 -/0	2,00-2,10 -/0
			7,0	6,98-7,21 -/0	6,94-7,11 -/0	6,91-7,10 -/0	6,85-7,07 -/0
	MM	2,0	2,16-2,28 +/0	2,08-2,18 +/0	2,01-2,15 +/0	1,93-2,05 +/0	
		7,0	6,88-7,03 -/0	6,89-7,08 -/0	6,85-7,01 -/0	6,88-7,10 -/0	
	Citosina	M	2,0	1,63-2,11 -/+	1,62-2,01 -/+	1,69-2,12 -/+	1,71-2,06 -/+
			7,0	6,95-7,35 -/0	6,90-7,31 -/0	6,93-7,27 -/0	6,93-7,31 -/0
MM		2,0	1,81-2,03 +/+	1,65-2,01 +/+	1,71-2,06 +/+	1,84-2,03 +/+	
		7,0	6,95-7,26 -/0	6,93-7,22 -/0	6,89-7,22 -/0	6,89-7,31 -/0	

M=montmorillonita MM= montmorillonita modificada *pH inicial, **faixa de pH final, C= A carga das argilas foi baseada no pH_{pcz} da M (1,42) e MM (5,26) como medido por Carneiro et al. (2010) e o pH da solução final, CBN= carga das bases nitrogenadas foi baseada no pKa como descrito por Dawson et al., (1986) e o pH da solução final.

A Figura 3 mostra a razão de adenina/timina adsorvida em montmorillonita não modificada e modificada em pH 2,00 e 7,00 que variaram de 0,79 a 3,87. Entretanto para muitos organismos vivos a razão adenina/timina é 1,00

(Lehninger, 1984). Se a adenina é mais adsorvida em minerais do que a timina, ela poderia ser concentrada de soluções diluídas, sendo protegida de hidrólise ou degradação por radiação UV, mas a timina não poderia. A adenina estaria disponível para evolução molecular, mas não a timina. Usando os dados de adsorção de vários autores, as seguintes razões foram obtidas: adenina/timina a razão varia de 3,26 a 114,5 (Lailach et al., 1969) e de 4,68 a 25,1 (Benetoli et al., 2008).

Figura 3 - Taxa relativa Adenina/Timina adsorvida nas argilas. Montmorillonita (M) e Montmorillonita Modificada (MM) em dois diferentes pHs (2,00 e 7,00) para as quatro concentrações.



A Figura 4 mostra o espectro de FT-IR das bases nitrogenadas sólidas e adsorvidas nas argilas nos dois pHs (2,00, 7,00). Na faixa de 1550-1800 cm^{-1} , principal região dos grupos característicos das bases nitrogenadas, a montmorillonita não modificada e modificada não mostraram nenhuma banda (Figura 4-a-M, 4-a-MM). O espectro FT-IR da adenina mostrou duas bandas em 1603 e 1672 cm^{-1} (Figura 4-a-A) as quais são atribuídas ao estiramento C=N e deformação do NH_2 , respectivamente (Colthup et al., 1964). Para as amostras de adenina

adsorvidas em pH (2,00, 7,00) a banda em 1603 cm^{-1} deslocou para 1637 cm^{-1} (banda larga) e na região de 1672 cm^{-1} deslocou para 1700 cm^{-1} . Benetoli et al. (2008) também obtiveram resultados similares com a adsorção da adenina em argilas e interpretaram seus resultados como sendo a interação do grupo NH_2^+ protonado com as argilas, resultando em uma fraca ligação com o grupo $\text{C}=\text{N}$. Entretanto, Strašák (1991) estudou a adsorção da adenina em montmorillonita modificada com Cu^{2+} e atribuíram a banda em 1700 cm^{-1} ao grupo $\text{C}=\text{O}$ devido a reação de formação da hipoxantina.

O espectro FT-IR da citosina mostra banda em 1615, 1633 e 1661 cm^{-1} que são atribuídas ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ assim como uma pequena contribuição da ligação NH (Figura 4-a-C) (Yamada et al., 2004). Os espectros FT-IR da citosina adsorvida na montmorillonita não modificada e modificada em pH 2,00 e 7,00 mostraram uma nova banda em 1730 cm^{-1} (Figure 3-b-C, 3-c-C, 3-d-C, 3-e-C), que foi atribuída ao grupo NH_2^+ (Benetoli et al., 2008; Pucci et al., 2010).

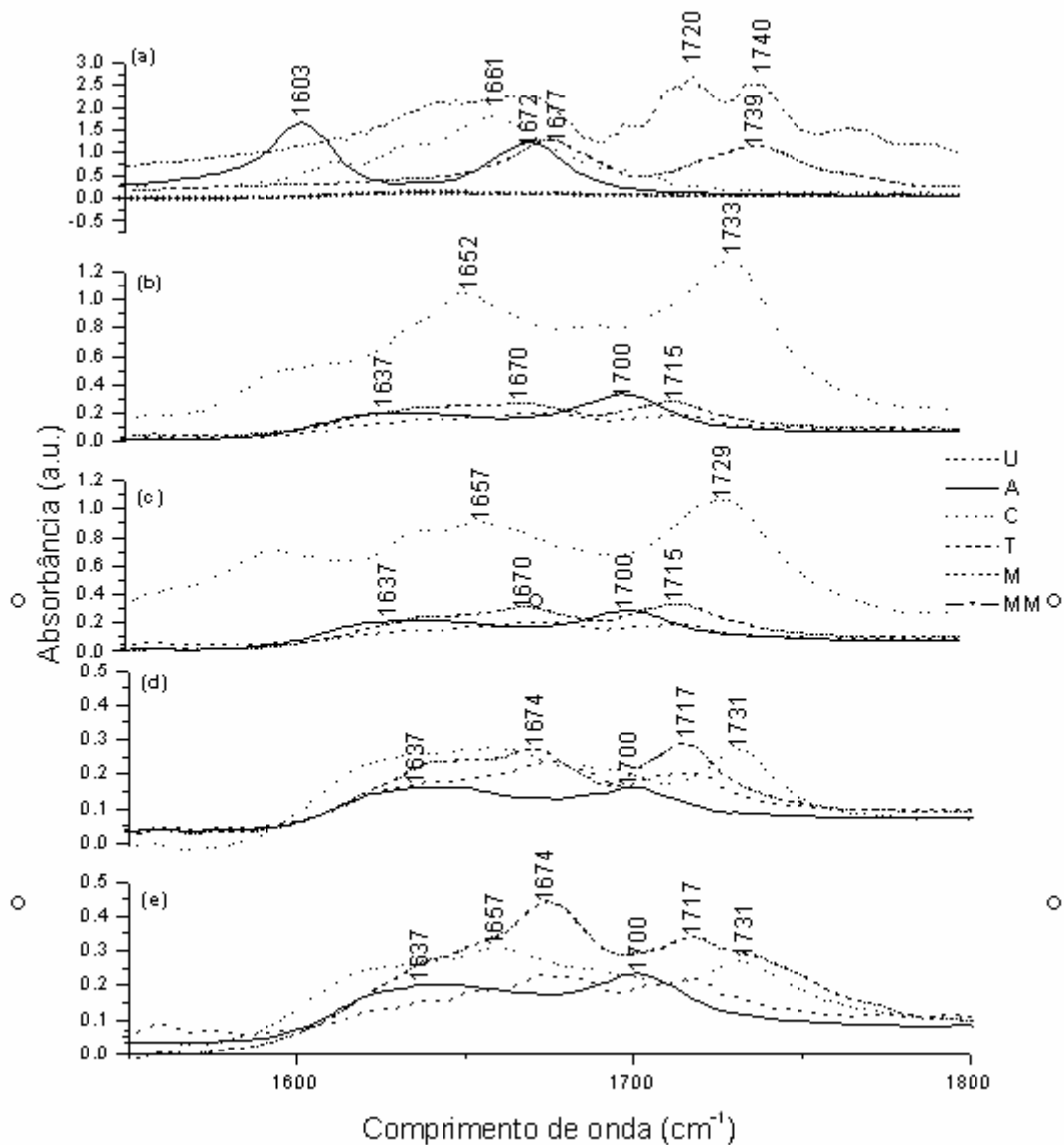
A uracila mostra um espectro com bandas nas regiões de 1644-1673 cm^{-1} e 1720-1742 cm^{-1} que são atribuídas ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{O}$, respectivamente (Figura 4-a-U) (Palafox et al., 2010). Os espectros FT-IR da uracila adsorvida na montmorillonita não modificada e modificada no pH 2,00 mostraram uma nova banda na região de 1600 cm^{-1} e a banda da região de 1720-1742 cm^{-1} apresentou um deslocamento para 1733 cm^{-1} para a montmorillonita modificada e para 1729 cm^{-1} na montmorillonita não modificada (Figura 4-b-U, 4-c-U). Como observado antes (Benetoli et al., 2008), a interação entre a uracila e argilas provavelmente ocorreu através do grupo NH^+ protonado, resultando em uma fraca interação das ligações nas argilas pelos grupos.

O espectro FT-IR para a timina mostra bandas em 1672 e 1739 cm^{-1} que são atribuídas ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{O}$, respectivamente (Figura 4-a-T) (Aroca e Bujalski, 1999). Os espectros de FT-IR da timina adsorvida na montmorillonita não modificada e modificada em pHs 2,00 e pH 7,00 mostraram uma nova banda em 1640 cm^{-1} e a banda em 1739 cm^{-1} deslocou para 1716 cm^{-1} (Figura 4-b-T, 4-c-T, 4-d-T, 4-e-T). Para as amostras de timina adsorvida na montmorillonita não modificada e modificada em pH 2,00, as bandas em $1404/1426\text{ cm}^{-1}$ devido a flexão do $\text{N}-\text{H}$ desapareceram. Entretanto, para a timina adsorvida nas argilas em pH 7,00 a banda em 1404 cm^{-1} desapareceu e a banda em 1426 cm^{-1} sofreu um

pequeno deslocamento, indicando que a interação da timina é também através do grupo NH^+ (Benetoli et al., 2008).

Os espectros de FT-IR das bases nitrogenadas adsorvidas nos minerais mostraram que a carga do grupo amino está envolvida nessa interação. Entretanto os resultados dos estudos de adsorção sugerem também uma interação do tipo van der Waals. O tipo de interação de van der Waals não pôde ser observada nos espectros, provavelmente por ser fraca. Uma explicação é que, a interação não é suficientemente forte para provocar mudanças estruturais nas bases. O que iria afetar o momento dipolo da base nitrogenada adsorvida, ou partes da base, assim como os grupos amino e carboxílico, comparadas à base sólida.

Figura 4 - Espectro de FT-IR: U-uracila sólida, 3-(a)-U; A-adenina sólida, 3-(a)-A; C-citosina sólida, 3-(a)-C; T-timina sólida, 3-(a)-T; M-montmorillonita sólida, 3-(a)-M; MM-montmorillonita modificada sólida, 3-(a)-MM; U adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-U; A adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-A; C adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-C; T adsorvida em MM a pH 2,00, 3-(b)-T; U adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-U; A adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-A; C adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-C; T adsorvida em M a pH 2,00, 3-(c)-T; U adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-U; A adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-A; C adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-C; T adsorvida em MM a pH 7,00, 3-(d)-T; U adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-U; A adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-A; C adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-C; T adsorvida em M a pH 7,00, 3-(e)-T. As bases nitrogenadas ($720 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram dissolvidas em água do mar artificial e misturada com as argilas (M, MM) por 3 h, depois as amostras foram centrifugadas por 15 min. a 2.000 r.p.m. e os sólidos secos a 60°C .



O estudo de difração de raios X indicou que as bases estão distribuídas na superfície da entre camada, nos sítios e na superfície externa, neutralizando as cargas permanentes e complexando grupos funcionais assim como aluminol ([Al-OH]) e silanol ([Si-OH]), respectivamente (Sposito, 1989).

Os dois fatores principais que influenciam a adsorção são: pH da solução e pKa dos adsorventes. As variações de pH das soluções dos experimentos alteraram a proporção relativa das espécies iônicas das moléculas dos adsorvatos de acordo com seu pKa (Tabela 3). A pH 2,00, por exemplo, a uracila não apresentava carga (Tabela 3) e é moderadamente adsorvida (Figura 3) devido a forças fracas de van der Waals. Enquanto a adenina apresentava cargas positivas (Tabela 3), e o principal mecanismo de adsorção nesse caso foi a troca iônica com um cátion presente na entre camada. Para os argilos minerais 2:1, a adsorção de moléculas orgânicas na região da entre camada pode ser melhorada através do coeficiente de partição ou sorção (Sposito, 1989) de um novo adsorvente em um adsorvato existente (Perezgasga et al., 2005).

A expansão média do plano de difração d_{001} para a montmorillonita foi maior para o pH=7,00 (13,04, 13,41 Å) que o comparado ao pH 2,00 (12,72, 12,87 Å) para a montmorillonita não modificada e modificada, respectivamente (Tabela 3). Essa expansão pode ser atribuída a maior quantidade de carga negativa total, maior afinidade para cátions presentes na solução (Grim, 1968; Perezgasga et al., 2005) e a superfície protonada dos grupos funcionais das bases, para altos valores de pHs.

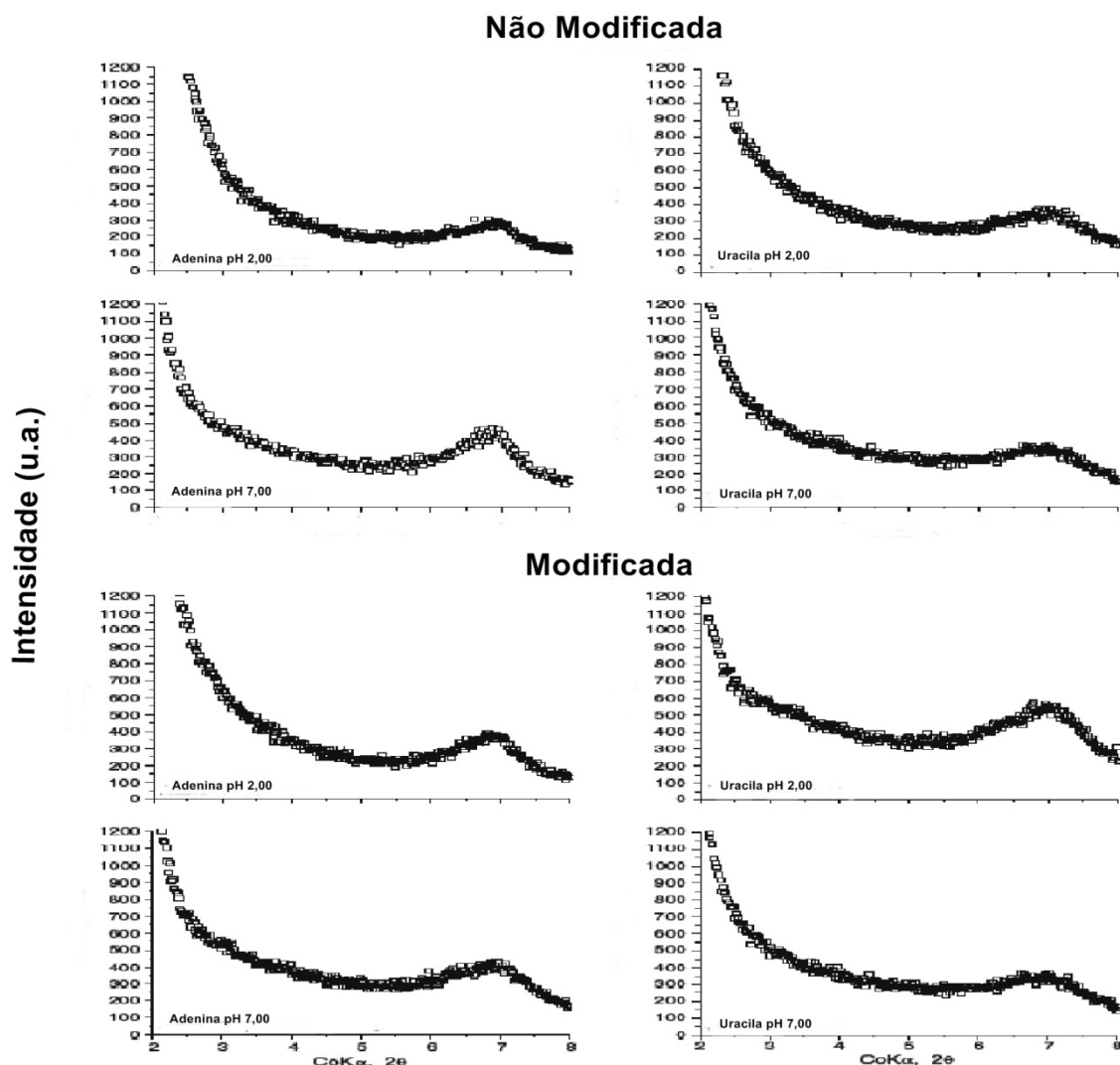
A modificação da montmorillonita com Na_2S é um fenômeno de superfície, como observado no capítulo III, com um pequeno efeito na expansão da montmorillonita (Tabela 3). Os valores médios para a expansão do plano d_{001} depois da adsorção das bases foi muito pequeno para o pH 2,00, então não foi possível diferenciar o comportamento de adsorção entre as bases, para esse pH, do mineral não modificado (Tabela 3, Figura 5). Para o pH 7,00, a média do valor de d_{001} na presença das bases foi menor na argila não modificada.

Tabela 3 - Espaçamento basal d_{001} para as montmorillonitas não modificadas e modificadas com (Na_2S) depois da adsorção das bases nitrogenadas.

Faixa de pH	Pura	Adenina	Citosina	Timina	Uracila
	Não modificada				
2,00	12,72	12,90	12,80	12,79	12,73
7,00	13,04	12,98	12,92	12,89	12,74
Modificada					
2,00	12,87	12,94	12,81	12,81	12,67
7,00	13,41	12,86	12,86	13,06	12,77

Para o pH 2,00 a grande expansão do plano d_{001} foi observada para a adenina na montmorillonita não modificada e para a modificada, mostrando que essas bases tem afinidade pelas cargas negativas da superfície interna. A média para o plano d_{001} em pH 7,00 (Tabela 3) foi menor para a montmorillonita modificada depois da adsorção das bases (12,89 Å) do que na sua ausência (13,14 Å). Esse comportamento mostra um determinado grau de penetração das bases, compensando parte das cargas internas do mineral em substituição do Na^+ e mantendo as folhas de sílica unidas mais fortemente. Perezgasga et al. (2005) observou que a uracila expandiu o plano d_{001} da Na^+ -montmorillonita para 12,56 Å. Robinson et al. (2007) concluíram que a formação de ligações de hidrogênio contribui para a estabilização das bases, timina e uracila, na superfície do mineral. Esses autores também observaram que a timina e a uracila são menos estáveis em superfície tetraédrica do que na octaédrica, ou seja, a adsorção mais energeticamente favorável, para essas bases, está prevista no caso para sistemas contendo superfícies octaédricas hidratadas. Montmorillonita não modificada ou modificada, mostraram a seguinte ordem de decréscimo na adsorção das bases: adenina \approx citosina > timina > uracila.

Figura 5 - Difração de Raios X para a montmorillonita não modificada e montmorillonita modificada com Na_2S , depois da adsorção da adenina e uracila nos dois pHs (2,00 e 7,00).



A figura 5 mostra a difração de raios X para a montmorillonita não modificada e montmorillonita modificada com Na_2S , depois da adsorção da adenina e uracila nos dois pHs (2,00 e 7,00). As argilas expansíveis são conhecidas por suas afinidades por compostos orgânicos, e em ambiente prebiótico elas poderiam ter fornecido proteção contra a alta energia de radiação para as moléculas adsorvidas (Guzman et al., 2002). No caso da adsorção de moléculas orgânicas entre as camadas de silicatos, variações do plano d_{001} estão associadas ao tamanho e geometria da molécula orgânica. Por exemplo, HDTMA adsorvido em argila alterou a reflexão basal d_{001} para 14,21 Å (Perezgasga et al., 2005) e para uma adsorção

adicional para 18,11 Å. Para a adenina, os mesmos autores observaram a expansão d_{001} para 11,5 Å, mas para uma adsorção adicional a HDTMA- Na^+ -montmorillonita foi expandida para 15,0 Å, ocupando os sítios disponíveis e/ou pela partição pelas moléculas HDTMA. Perezgasga et al. (2005) observaram que o espaçamento basal para uracila -HDTMA- Na^+ montmorillonita foi alterado para 14,09 Å, sendo que foi obtida uma expansão similar para a HDTMA-montmorillonita sozinha, o que indica interação da uracila e HDTMA no espaçamento entre camada.

A Tabela 4 mostra as intensidades normalizadas das linhas de RPE das amostras de bases adsorvidas nas argilas em dois diferentes pHs (2,00, 7,00). A linha de ressonância $g \approx 2$ é devido a hidróxidos e óxidos de ferro (Fe^{3+}) (Guskos et al., 2002; Carbone et al., 2005; Mota et al., 2009). A intensidade da linha $g \approx 2$ obtida para não modificada e modificada montmorillonita foi de 5,63 e 2,68, respectivamente (Carneiro et al., 2011), e após as argilas terem sido agitadas com água do mar artificial nos dois diferentes pHs, as intensidades mostraram uma variação de 2,04 para 3,36 (De Santana et al., 2010; Carneiro et al., 2011). O decréscimo nas intensidades da linha em $g \approx 2$ foi devido à extração do Fe^{3+} pela água do mar artificial ou pela solução de Na_2S (De Santana et al., 2010; Carneiro et al., 2011). Em geral, quando as bases nitrogenadas foram adsorvidas nas argilas um aumento na intensidade da linha foi observado (Tabela 4). No entanto, uma tendência inversa foi observada quando cisteína foi adsorvida em argilas e em óxidos de ferro (De Santana et al., 2010; Vieira et al., 2011). A linha de ressonância $g = 4,1$ foi devido ao Fe^{3+} com simetria rômica assim como a interação do Fe^{3+} com a matéria orgânica (Guskos et al., 2002; Carbone et al., 2005; Mota et al., 2009).

Tabela 4 - Intensidades das linhas de ressonância do Fe³⁺

Bases nitrogenadas	Argila	Faixa de pH	Linha 1 Fe ³⁺ (g ≈ 7 - 8)	Linha 2 Fe ³⁺ (g = 4,1)	Linha 3 Fe ³⁺ (g ≈ 2)
Adenina	M	1,79-1,95	0,04 ± 0,02	2,01 ± 0,23	2,85 ± 0,05
		6,81-7,35	0,15 ± 0,02	6,45 ± 4,72	5,75 ± 1,50
	MM	2,02-2,58	0,16 ± 0,03	6,39 ± 2,43	5,99 ± 0,99
		7,10-7,35	0,26 ± 0,11	12,24 ± 8,61	10,70 ± 7,80
Citosina	M	1,71-2,06	0,15 ± 0,10	4,53 ± 2,31	6,56 ± 1,63
		6,93-7,31	0,06 ± 0,02	3,50 ± 1,31	4,65 ± 0,27
	MM	1,84-2,03	0,12 ± 0,06	4,09 ± 0,02	3,45 ± 0,21
		6,89-7,31	0,25 ± 0,09	9,74 ± 6,25	7,74 ± 4,75
Timina	M	2,05-2,26	0,05 ± 0,01	2,52 ± 0,38	4,39 ± 1,71
		6,97-7,15	0,09 ± 0,07	1,52 ± 0,59	3,09 ± 2,08
	MM	2,10-2,18	0,19 ± 0,12	4,03 ± 0,17	3,93 ± 0,46
		6,89-7,00	0,09 ± 0,05	2,94 ± 0,26	2,56 ± 0,55
Uracila	M	2,00-2,10	0,65 ± 0,52	11,3 ± 8,95	11,13 ± 4,06
		6,85-7,07	0,41 ± 0,27	14,2 ± 12,22	15,6 ± 10,67
	MM	1,93-2,05	0,09 ± 0,02	4,36 ± 1,90	4,09 ± 1,50
		6,88-7,10	0,12 ± 0,06	4,49 ± 0,99	4,88 ± 0,87

M- montmorillonita e MM- montmorillonita modificada. Os resultados estão apresentados como média ± o erro padrão da média. Cada resultado é a média de duas análises. Para todas as amostras 50 mg of M ou MM mais 5,0 mL de água do mar com bases nitrogenadas (720 µg mL⁻¹) foram agitadas por 3 h, depois as amostras foram centrifugadas por 15 min a 4,000 rpm e o sólido seco a 60 °C.

A intensidade da linha g = 4,1 obtida para a montmorillonita não modificada e modificada foi 2,73 e 3,27 respectivamente, como descrito no capítulo III, e após as argilas terem sido agitadas em água do mar nos dois diferentes pHs, as intensidades mostraram uma variação de 1,33 para 3,28 (De Santana et al., 2010; Carneiro et al., 2011). Em geral como esperado a interação das bases com argilas aumentou a intensidade dessa linha (Tabela 4). De Santana et al. (2010) e Vieira et al. (2011) também observaram um aumento desta linha quando a cisteína foi adsorvida em argilas e óxidos de ferro.

A linha de ressonância $g \approx 7 - 8$ foi atribuída ao Fe^{3+} de simetria romboédrica distorcida (Budziak et al., 2007). A intensidade dessa linha para a montmorillonita é de 1,28 e um decréscimo foi observado quando a montmorillonita foi modificada com Na_2S , 0,13 (Carneiro et al., 2011). Para todas as bases nitrogenadas adsorvidas nas argilas, a tabela 4 mostra um decréscimo dessa linha quando comparada a montmorillonita sem tratamento. Um grande decréscimo dessa linha também foi observado quando a montmorillonita foi agitada com água do mar artificial ou água do mar artificial mais cisteína (De Santana et al., 2010). O decréscimo da linha foi atribuído ao Fe^{3+} retirado da montmorillonita após a agitação do mineral em solução de sulfeto de sódio ou da água do mar artificial (Carneiro et al., 2011). A intensidade dessa linha não depende da base nitrogenada adsorvida na argila (Tabela 4). A adsorção da cisteína nas argilas e óxidos de ferro não teve efeito nas intensidades das linhas de ressonância (De Santana et al., 2010; Vieira et al., 2011).

A Tabela 4 mostra os parâmetros hiperfinos Mössbauer e as áreas sub-espectral da montmorillonita não modificada e da modificada misturada com água do mar artificial mais bases nitrogenadas em dois pHs (2,00, 7,00). A adsorção das bases não mudaram os parâmetros hiperfinos Mössbauer, quando se compara as argilas não modificadas e modificadas sem qualquer preparação ou a agitada em água do mar (de Santana et al, 2010; Carneiro et al., 2011). O espectro Mössbauer para todas as amostras mostrou dois dubletos, dois deles correspondendo ao Fe^{3+} e o terceiro ao Fe^{2+} . Para a montmorillonita sem qualquer preparação a área do dubleto do Fe^{2+} foi de 10%, depois que a montmorillonita foi agitada com água do mar nos dois pHs (2,00, 7,00) a área caiu para 6%, como discutido no capítulo III (Carneiro et al., 2011). Para a montmorillonita modificada a área do dubleto para Fe^{2+} foi de 12% e esse valor não foi alterado mesmo quando agitado com água do mar artificial nos diferentes pHs (2,00, 7,00) (Carneiro et al., 2011). Entretanto, quando as bases foram adsorvidas nas argilas um grande decréscimo da área do dubleto do Fe^{2+} foi observado (Tabela 5). A reação entre substâncias orgânicas (adenina, cisteína, tiuréia) e metais (Fe^{3+} , Cu^{2+}) de argilas foi também observada por outros autores (Strašák, 1991; Benetoli et al., 2007; De Santana et al., 2010).

Para a timina adsorvida na montmorillonita, a quantidade de Fe^{2+} na montmorillonita não pôde ser identificada, pois ficou abaixo do limite de detecção da espécie por espectroscopia Mössbauer, significando que houve um consumo dessa

espécie pela timina (Tabela 5), aumentando então a quantidade da espécie de Fe^{3+} . O aumento da quantidade de Fe^{3+} devido à oxidação do Fe^{2+} pela timina afetou a intensidade da linha $g \approx 2$ do espectro de RPE (Tabela 4). O decréscimo da espécie de Fe^{2+} e o aumento de Fe^{3+} na montmorillonita provoca uma diminuição da carga permanente negativa, aumentando o caráter eletropositivo, conseqüentemente repelindo os íons positivos localizados entre camadas. Portanto a alteração das espécies de ferro provoca um decréscimo na capacidade de adsorção da montmorillonita pelas bases, timina e uracila, por causa da menor carga negativa permanente no mineral.

Tabela 5 - Parâmetros hiperfinos Mössbauer e áreas sub-spectrais para as amostras de montmorillonita.

Bases nitrogenadas	Argila	Faixa de pH	Sítio/Sub-espectro	IS ^a (mm/s)	QS ^b (mm/s)	Área (%)
Adenina	M	1,79-1,95	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,36	0,50	69,5
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,37	1,28	27,7
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,24	2,73	2,8
		6,81-7,35	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,36	0,48	63,9
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,39	1,29	32,8
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,20*	2,37	3,3
	MM	2,02-2,58	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,35	0,52*	63,0
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,39	1,05	29,6
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,20*	2,62	7,4
		7,10-7,35	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,35	0,58*	58,5
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,37	0,99	37,0
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,17	2,80*	4,5
Citosina	M	1,71-2,06	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,37	0,52	72,8
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,38	1,29	25,3
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,20*	2,84	1,9
		6,93-7,31	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,36	0,53	70,7
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,38	1,31	24,8
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,22	2,68	4,5
	MM	1,84-2,03	Dubleto 1 (Fe^{3+})	0,36	0,52*	61,1
			Dubleto 2 (Fe^{3+})	0,37*	1,09	32,0
			Dubleto 3 (Fe^{2+})	1,23	2,59	6,9
		6,89-7,31	Dubleto 1	0,35	0,52*	57,6

		(Fe ³⁺)					
		Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,35	1,07	35,1		
		Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,20*	2,65	7,3		
Timina	M	2,05-2,26	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,35	0,49	75,3	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,37	1,32	24,7	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	-	-	-	
		6,97-7,15	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,49	63,8	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,31	36,2	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	-	-	-	
		MM	2,10-2,18	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,35	0,49	76,5
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,37	1,32	23,5	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	-	-	-	
		6,89-7,00	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,49	64,3	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,30	35,7	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	-	-	-	
Uracila	M	2,00-2,10	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,50	72,6	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,27	23,0	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,20*	2,45	4,4	
		6,85-7,07	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,52*	73,5	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,31	22,7	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,20	2,65	3,8	
		MM	1,93-2,05	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,36	0,50	23,3
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,38	1,27	72,4	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,20*	2,46	4,3	
		6,88-7,10	Dubleto 1 (Fe ³⁺)	0,35	0,52*	55,6	
			Dubleto 2 (Fe ³⁺)	0,36	1,05	39,6	
			Dubleto 3 (Fe ²⁺)	1,18	2,82	4,8	

M=montmorillonita, MM=montmorillonita modificada, ^aIS=deslocamento isomérico, relativo a α -Fe em temperatura ambiente, ^bDesdobramento quadrupolar, Área = contribuição relativa de cada componente . Para todas as amostras 50 mg of M ou MM mais 5.0 mL de água do mar com bases nitrogenadas (720 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram agitadas por 3 h, depois as amostras foram centrifugadas por 15 min a 4,000 rpm e o sólido seco a 60 °C.

Figura 6 - Espectros Mössbauer para as montmorillonitas (M) e montmorillonitas modificadas (MM) após a adsorção das bases nitrogenadas, adenina (a), citosina (c), timina (t) e uracila (u) em pH 2,00.

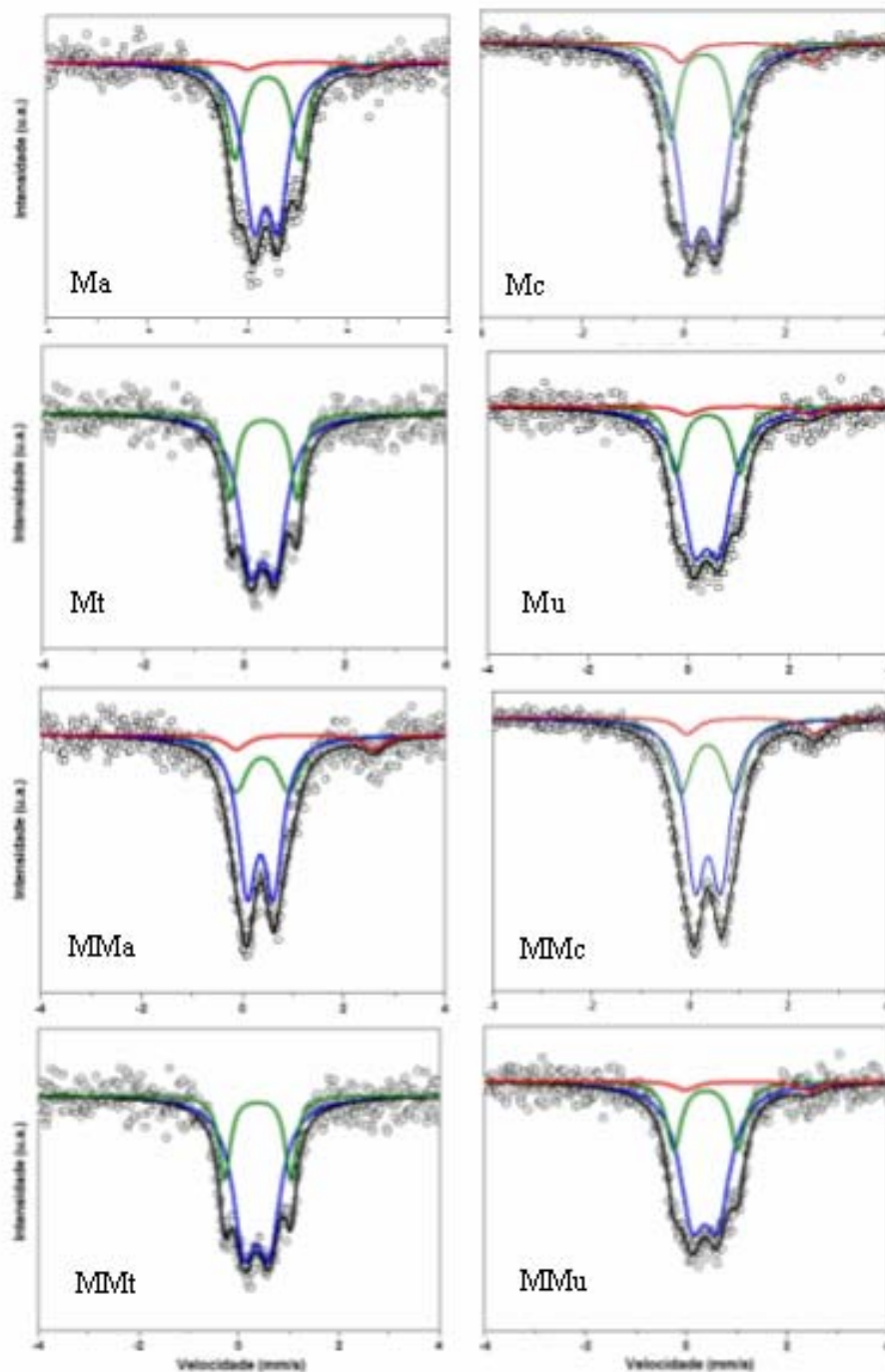
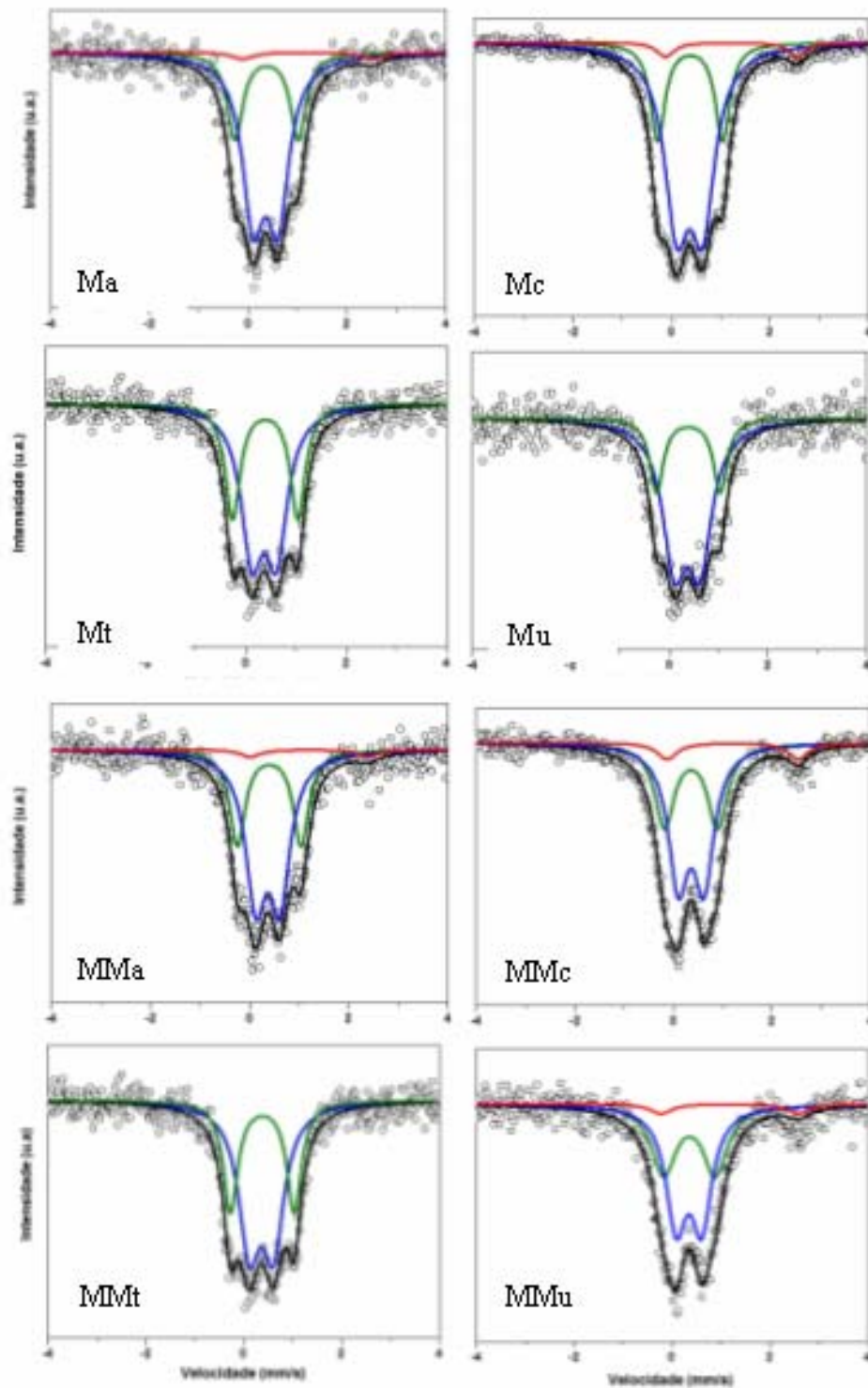


Figura 7 - Espectros Mössbauer para as montmorillonitas (M) e montmorillonitas modificadas (MM) após a adsorção das bases nitrogenadas, adenina (a), citosina (c), timina (t) e uracila (u) em pH 7,00.



7 CONCLUSÃO

A adenina e a citosina foram as bases mais adsorvidas nas montmorillonitas normal e modificada nos pHs 2,00 e 7,00 do que a timina e a uracila.

O pH 2,00 aumentou a adsorção da adenina e citosina nas montmorillonitas não modificada e modificada em relação ao pH 7,00. A adsorção da adenina e citosina na montmorillonita não modificada associada ao pH 2,00 foi relacionada a forças eletrostáticas entre as bases o mineral. Para a montmorillonita modificada com Na_2S outras forças (van der Waals) foram envolvidas na adsorção da adenina e citosina, assim como a manutenção do Fe^{2+} na estrutura do mineral favorecendo uma maior carga negativa permanente.

As adsorções de timina e uracila não tiveram relação com pHs avaliados no experimento.

As interações entre as bases e as montmorillonitas não modificadas e modificadas foram através dos grupos NH^+ ou NH_2^+ .

Os difratogramas de raios X mostraram que as bases adsorveram nas argilas distribuídas na entre camada, nos sítios e na superfície externa, complexando com os grupos funcionais como aluminol ($[\text{Al-OH}]$) e silanol ($[\text{Si-OH}]$).

Após a adsorção das bases nas montmorillonitas não modificadas e modificadas a intensidade das linhas de ressonância $g \approx 2$ e $g = 4,1$ aumentaram quando comparadas ao mineral sem bases adsorvidas. A intensidade da linha $g \approx 2$ aumentou devido a oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} pelas bases nitrogenadas e a intensidade da linha $g = 4,1$ aumentou por causa da interação do Fe^{3+} com as bases nitrogenadas, provocando alterações nas vizinhanças da espécie.

Quando as bases nitrogenadas foram adsorvidas nas argilas, um grande decréscimo da área do dubleto do Fe^{2+} foi observado. Esses resultados mostram que as bases estão reagindo com o Fe^{2+} das argilas.

Os resultados mostraram que as interações das bases com as montmorillonitas não modificadas e modificadas, não são somente um simples processo de adsorção física, mas também ocorrem complexas reações. Essas reações envolveram a redução e oxidação da espécie de ferro presente na estrutura do mineral, o que causou alteração na carga permanente e conseqüentemente na adsorção das bases. Na sequência da alteração da espécie de ferro, houve

alteração na estrutura entre camada. Dessa forma os grupos funcionais da montmorillonita, aluminol e silanol, interagiram com os grupos funcionais das bases nitrogenadas.

8 REFERÊNCIAS

Aloisi G, Drews M, Wallmann K, Bohrmann G. Fluid expulsion from the Dvurechenskii mud volcano (Black Sea): Part I. Fluid sources e relevance to Li, B, Sr, I e dissolved inorganic nitrogen cycles **Earth Planet. Sci. Lett.** 225:347-363, 2004.

Aroca R, Bujalski R. Surface enhanced vibrational spectra of thymine. *Vib. Spectrosc.* 19:11-21, 1999.

Bebié J, Schoonen MAA. Pyrite surface interaction with selected organic aQuandous species under anoxic conditions. **Geochem. Trans.** DOI: 10.1039/b005581f, 2000.

Benetoli LOB, de Souza CMD, da Silva KL, de Souza IG Jr, de Santana H, Paesano Jr A, da Costa ACS, Zaia CTBV, Zaia DAM. Amino acid interaction with e adsorption on clays: FT-IR e Mössbauer spectroscopy e X-ray diffractometry investigations. **Orig Life Evol Biosph** 37:479-493, 2007.

Benetoli LOB, de Santana H, Zaia CTBV, Zaia DAM. Adsorption of nucleic acid bases on clays: an investigation using Langmuir e Freundlich isotherms e FT-IR spectroscopy. **Monatsh Chem.** 139: 753-761, 2008.

Borquez E, Cleaves HJ, Lazcano A, Miller SL. An investigation of prebiotic purine synthesis from the hydrolysis of HCN polymers. **Orig Life Evol Biosph.** 35:79-90, 2005.

Budziak CRF, Wypych F, Mangrich AS Use of Fe³⁺ ion probe to study the stability of urea-intercalated kaolinite by electron paramagnetic resonance. **J. Coll. Inter. Sci.** 313:537-541, 2007.

Carbone C, di Benedetto F, Marescotti P, Sangregorio C, Sorace L, Lima N, Romanelli M, Luchetti G, Cipriani C Natural Fe-oxide e -oxyhydroxide nanoparticles: an RPE e SQUID investigation. **Mineral Petrol** 85:19–32, 2005.

Carneiro C.E.A, Machado C.F.C, de Souza Junior IG, Paesano Jr A, Di Mauro E, da Costa ACS, de Santana H, Zaia DAM Modification of montmorillonite with sodium sulfide for prebiotic chemistry studies: characterization using spectroscopy methods e x-ray diffractometry. **J. Serv. Chem. Soc.** Submitted. 2011.

Cleaves H.J, Jonsson C.M, Jonsson C.L, Sverjensky D.A, Hazen RM . Adsorption of nucleic acid components on rutile (TiO₂) surfaces. **Astrobiology** 10: 311-323, 2010.

Colthup N.B, Daly LH, Wiberly S.E. **Introduction to Infrared e Raman Spectroscopy.** Academic Press, New York, 1964.

Dawson RMC, Elliott DC, Elliott WH, Jones KM. **Data for Biochemical Research**, 3rd Ed., Clarendon Press, Oxford, 1986.

De Santana H, Paesano Jr. A, da Costa ACS, di Mauro E, de Souza Junior IG, Ivashita FF, de Souza CMD, Zaia CTB,. Zaia DAM Cysteine, thiourea e thiocyanate interactions with clays: FT-IR, Mössbauer e RPE spectroscopy e X-ray diffractometry Studies. **Amino Acids** 38:1089–1099, 2010.

Ehlmann BL, Mustard JF, Swayze GA, Wray JJ, Barnouin-Jha OS, Bishop JL, Des Marais DJ, Poulet F, Roach LH, Milliken RE, Clark RN, Murchie SL, MRO CRISM Team. Phyllosilicates, zeolites e carbonate near nili fossae Mars: evidence for distinct environments of aQuandous alteration. Workshop on martian phyllosilicates recorders of aQuandous processes? Held October 21-23, 2008 in Paris-France, LPI Contribution number 1441 p. 33-34, 2008.

Grim RE. **Clay Minerology**, McGraw-Hill, New York. 1968.

Guskos N, Papadopoulos GJ, Likodimos V, Patapis S, Yarmis D, Przepiera A, Przepiera K, Majszczyk J, Typek J, Wabia M, Aidinis K, Drazek Z Photoacoustic, RPE e electrical conductivity investigations of three synthetic mineral pigments: hematite, goethita e magnetite. **Mater Res Bull** 37:1051–106, 2002.

Guzmán A, Negrón-Mendoza A, Ramos-Bernal S. Behavior of adenine in Na-montmorillonite exposed to gamma radiation: implications to chemical evolution studies. **Cell Mol Biol** 48:525-528, 2002.

Hashizume H, Theng BKG. Adenine, adenosine, ribose e 5'-AMP adsorption to allophane. **Clays Clay Miner.** 55:599-605, 2007.

Hashizume H, Van der Gaast S, Theng BKG. Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, e phosphate by Mg-exchanged montmorillonite. **Clays Clay Miner.** 45:469-475, 2010.

Hatton B, Rickard D. Nucleic acid binds to nanoparticulate iron (II) monosulphide in aQuandous solutions. **Orig Life Evol Biosph.** 38:257-270, 2008.

Hazen RM, Papineau D, Bleeke W,. Downs RT, Ferry JM, McCoy TJ, Sverjensky DA, Yang H. Mineral evolution. **American Mineral.** 93: 1693–1720, 2008.

Hua LL, Kobayashi K, Ochiai EI, Gehrke CW, Gerhardt KO, Ponnampereuma C. Identification e quantification of nucleic acid bases in carbonaceous chondrites **Orig. Life Evol. Biosph.** 16: 226-227, 1995.

Lailach GE, Thompson TD, Brindley GW. Adsorption of pyrimidines, purines e nucleosides by Co, Ni, Cu, e Fe (III)-montmorillonite (Clay-organic studies XIII). **Clays Clay Miner.** 16:295-301, 1968.

Lailach GE, Brindley GW. Specific co-absorption of purines e pyrimidines by montmorillonite (Clay-organic studies XV). **Clays Clay Miner.** 17:95-100, 1969.

LaRowe DE, Regnier P. Thermodynamic potential for the abiotic synthesis of adenine, cytosine, guanine, thymine, uracil, ribose e deoxyribose in hydrothermal systems. **Orig Life Evol Biosph.** 38:383-397, 2008.

Lehninger AL. **Princípios de Bioquímica.** Sarvier Editora de Livro Técnicos Ltda, São Paulo-SP, 574. 1984.

Llorca J. Organic matter in comets e cometary dust. *Internat. Microbiol.* 8:5–12, 2005.

Martins Z, Botta O, Fogel MI, Sephton MA, Glavin DP, Watson JS, Dworkin JP, Schwartz AW, Ehrenfreund P. Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. **Earth Planet. Sci. Lett.** 270:130-136, 2008.

Mota L, Toledo R, FariaRTJr, da Silva EC, Vargas H, Deladillo-Hotfort I. Thermally treated soli clays as ceramic raw materials: characterization by x-ray diffraction, photoacoustic spectroscopy e electron spin resonance. **Appl Clay Sci** 43:243–247, 2009.

Negrón-Mendoza A, Ramos-Bernal S, de Buen IG. A thermoluminescence study of bio-organic compounds adsorbed in a clay mineral. **IEEE Trans. Nucl. Sci.** 57:1223-1227, 2010.

Palafox MA, Tardajos G, Guerrero-Martinez A, Vats JK, Joe H, Rastogi VK. Relationships observed in the structure e spectra uracil e its 5-substituted derivative. **Spectrochim. Acta A** 75:1261-1269, 2010.

Perezgasga L, Serrato-Díaz A, Negrón-Mendoza A, de Pablo Galán L, Mosqueira FG. Sites of adsorption of adenine, uracil, e their corresponding derivatives on sodium montmorillonite. **Orig. Life Evol. Biosph.** 35:91-110, 2005.

Plekan O, Feyer V, Šutara F, Skála T, Švec M, Cháb V, Matolín V, Prince KC. The adsorption of adenine on mineral surfaces: iron pyrite e silicon dioxide. **Surf. Sci.** 601:1973-1980, 2007.

Pucci A, Branciamore S, Casarosa M, D'Acqui LP, Gallori E. Implications for an RNA-clay world: interaction of cytosine with clays minerals. **J. Cosmol.** 10: 3398-3407, 2010.

Robinson TL, Michalkova A, Gorb L, Leszczynski J. Hydrogen bonding of thymine e uracil with surface of dickite: An ab initio study. **J. Mol. Struct.** 844/855: 48-58, 2007.

Sowerby SJ, Edelwirth M, Reiter M, Heckl WM. Scanning tunneling microscopy image contrast as a function of scan angle in hydrogen bonded self assembled monolayers. **Langmuir** 14: 5195-5202, 1998.

Sowerby SJ, Mörth CM, Holm NG. Effect of temperature on the adsorption of adenine. **Astrobiology** 1:481-487, 2001a.

Sowerby SJ, Cohn CA, Heckl WM, Holm NG. Differential adsorption of nucleic acid bases: relevance to the origin of life. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 98:820-822, 2001b.

Sposito G. **The chemistry of soil**. Oxford University Press, New York, p 277, 1989.

Strašák M. An unusual reaction of adenine e adenosine on montmorillonite. **Naturwissenschaften** 78:121-122, 1991.

Vieira AP, Berndt G, de Souza Junior IG, Di Mauro E, Paesano Jr A, de Santana H, da Costa ACS, Zaia CTBV, Zaia DAM. Adsorption of cysteine on hematite, magnetite e ferrihydrite: FT-IR, Mössbauer, RPE spectroscopy e X-ray diffractometry. **Studies. Amino Acids** 40:205–214, 2011.

Weckhuysen BM, Leeman H, Schoonheydt RA. Synthesis e spectroscopy of clay intercalated Cu (II) bio-monomer complexes: coordination of Cu (II) with purines e nucleotides. **Phys. Chem. Chem. Phys.** 1:2875-2880, 1999.

Winter D, Zubay G. Binding of adenine e adenine related compounds to the clay montmorillonite e the mineral hydroylapatite. **Orig. Life Evol. Biosph.** 25:61-81, 1995.

Yamada T, Shirasaka K, Takano A, Kawai M. Adsorption of cytosine, thymine, guanine e adenine on Cu(1 1 0) studied by infrared reflection absorption spectroscopy. **Surf. Sci.** 561:233–247, 2004.

CAPÍTULO VI

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE GOETHITA EM AMBIENTE PREBIÓTICO: UMA INVESTIGAÇÃO UTILIZANDO AMINOÁCIDOS PROTÉICOS E NÃO PROTÉICOS

1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar a síntese de goethita em condições de química prebiótica na presença de aminoácidos protéicos e não protéicos. A temperatura do ambiente de síntese foi mantida a 70°C, contendo água destilada e água do mar artificial na presença ou ausência dos aminoácidos (α -Ala, β -Ala, Gly, Cys, AIB), que poderiam ser encontrados na terra primitiva. Os resultados mostraram que valores dos pH_{pcz} aumentaram com a síntese em água do mar artificial e decresceram com o uso dos aminoácidos. As espectroscopias de FT-IR, RPE e Raman, a microscopia (MEV) e a difratometria de raios X mostraram a formação de goethita nas condições de síntese com Gly e Cys. As espectroscopias de FT-IR, Mössbauer, RPE e Raman, e a MEV e a difratometria de raios-X identificaram que somente hematita foi obtida quando a síntese foi realizada com água do mar artificial mais β -Ala e água destilada mais 2-aminoisobutírico. Para as outras sínteses foi obtida uma mistura de goethita e hematita. A interação entre Cys e Fe³⁺ da goethita analisada pelo SERS indicou alta complexidade. As bandas devido à ligação da amida foram observadas para as amostras sintetizadas com Gly, AIB e β -Ala. Esses resultados indicam que peptídeos estariam sendo sintetizados com os minerais. O espectro de RPE mostrou um aumento da intensidade da linha de ressonância para a síntese realizada com água do mar artificial, devido a interação do Fe³⁺ com sais da água do mar. A mais alta intensidade da linha de ressonância foi obtida para a síntese onde somente hematita foi sintetizada. As imagens MEV mostraram somente morfologia acicular quando apenas goethita foi sintetizada e para a hematita a forma hexagonal. As imagens MEV para as sínteses de goethita com Cys mostrou agregados esféricos com algumas partículas aciculares. O espectro Mössbauer mostrou que somente goethita foi sintetizada em água destilada e com Gly. Os espectros RPE e Mössbauer mostraram para a síntese com água do mar artificial uma substituição isomórfica do ferro pelos cátions da água do mar. O Mössbauer também mostrou que para a síntese da goethita com Cys além do Bhf devido a goethita foi observado um dubleto devido a interação do ferro com a água do mar/Cys. Portanto os resultados mostraram que a síntese de goethita é influenciada não somente pelo pH e os íons em solução, mas também por aminoácidos não protéicos (β -Ala, AIB) quais favorecem a formação de hematita.

Palavras-chave: Química prebiótica. Aminoácidos. Goethita

2 ABSTRACT

In the present paper the synthesis of goethita under conditions resembling those of the prebiotic Earth was studied. The artificial seawater used contains all the major elements e amino acids (α -Ala, β -Ala, Gly, Cys, AIB) could be found on the prebiotic Earth. The pH_{pzc} of goethitas increased with artificial seawater e decreased with amino acids. In general no protein amino acids (β -Ala, AIB) favored the formation of hematite. FT-IR, RPE e Raman spectroscopy, SEM e X-ray diffractometry showed in any condition Gly e Cys favored the formation of goethita. As shown by FT-IR, Mössbauer, RPE e Raman spectroscopy, SEM e X-ray diffractometry only hematite was obtained when the syntheses were carried out with artificial seawater plus β -Ala e distilled water plus AIB. For the other synthesis a mixture of goethita e hematite was obtained. As shown by SERS spectra the interaction between Cys e Fe³⁺ of goethita is very complex. Bes due amide bond were observed for the samples of goethita synthesized with Gly, AIB e β -Ala. These results could be an indication that peptides have been synthesized during the synthesis of goethita. RPE spectrum showed an increase of the resonance line intensity for the synthesis of goethita with artificial seawater, probably because interaction of iron with salts of the artificial seawater. The highest resonance line intensities were obtained for the samples where only hematite was obtained. SEM images showed when only goethita was synthesized the images of the samples were acicular e when only hematite was synthesized the images of the samples were spherical. SEM images for the synthesis of goethita with lus Cys were spherical crystal aggregates with radiating acicular crystals. Mössbauer spectra showed that only goethita was synthesized in distilled water e with Gly. RPE e Mössbauer spectra showed for the synthesis of goethita with artificial seawater an isomorphic substitution of iron by seawater cations. Mössbauer spectra also showed that for the synthesis of goethita with Cys besides the Bhf due to goethita a dubleto due to interaction of iron with artificial seawater/Cys was also observed. It should be pointed out that RPE spectroscopy did not show this effect.

Keywords: Prebiotic chemistry. Amino acids. Goethita.

3 INTRODUÇÃO

As reações e compostos envolvendo o ferro são muito importantes em vários campos da ciência e tecnologia assim como metalurgia, química pura, medicina, química industrial, ciência do solo e ciência ambiental (Webb et al., 1999). O ferro é o quarto elemento mais abundante da crosta da terra, os óxidos são amplamente encontrados na natureza, estando presentes em solos, rochas, lagos, rios, mares e organismos vivos (Wade et al. 1999; Bishop e Murad 2002; Cornell e Schwertmann, 2003) assim como meteoritos, superfície de Marte e partículas interplanetárias (Rietmeijer 1996; Catling e Moore 2003; Faivre e Zuddas 2006). Para todos os óxidos-hidróxidos e óxidos de ferro a unidade básica são octaedros,

onde cada átomo de Fe esta ligado a seis átomos de O ou OH (Cornell e Schwertmann, 2003).

Na terra prebiótica existiam duas fontes de aminoácidos: a exógena, os aminoácidos sintetizados fora da terra e a endógena, os aminoácidos sintetizados na Terra. As fontes exógenas (meteoritos, cometas, partículas interplanetárias) e as fontes endógenas (águas hidrotermais, substâncias em estado sólido aquecido pela lava de vulcões, impactos de meteoros, radiação e ou mistura de gases), poderiam produzir uma grande quantidade e variedade de aminoácidos na Terra primitiva. De acordo com uma revisão publicada por Zaia et al. (2008) os aminoácidos endógenos estão mais próximos da composição dos aminoácidos de organismos vivos e os aminoácidos exógenos possuem uma grande quantidade de aminoácidos não protéicos. Então deve ser considerado que desde a formação da Terra, minerais e matéria orgânica sempre coexistiram. Assim os aminoácidos e óxidos de ferro são substâncias que poderiam ser facilmente encontradas na Terra prebiótica. De modo que a questão da interação entre aminoácidos e óxidos de ferro é importante para a química prebiótica e conseqüentemente para entender como a vida surgiu na Terra.

Vários experimentos de sínteses de óxidos com aminoácidos/peptídeos têm sido feitos: goethita/Cys (Cornell et al., 1990), hematita/L-Phe or L-Ser or L-Ala or L-Gln or L-Glu (Kandori et al., 2006), ferrihidrita-lepidocrocita/ L-His or L-Thr or Cys, (Mantion et al., 2008), magnetita/L-Lys (Durmus et al., 2009), hematita/L-Lys or D-Asn (Wang et al., 2009), magnetita/L-carnosina (Durmus et al., 2011), hematita/L-Glu or L-Asp or L-Lys or D-Asn (Wang et al., 2011). Como mostrado por Mantion et al. (2008) aminoácidos podem ser importantes para a química de materiais, na estabilização de fases de cristais de óxidos de ferro. Cornell et al. (1990) observaram que a Cys favoreceu a formação de goethita. De acordo com Durmus et al., (2009) o revestimento isolante da magnetita por Lys aumentou a energia de ativação. Kandori et al. (2006) e Wang et al. (2009, 2011) observaram que aminoácidos tem um efeito sob a forma e o tamanho de partículas de hematita. Kandori et al. (2006) obtiveram hemáticas esféricas usando L-Phe, L-Ser, L-Ala e hematita elipsoidal usando L-Gln e L-Glu. De acordo com Wang, (2011) quando aminoácidos ácidos foram usados as nanopartículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ sofreram uma torção na sua estrutura, e para os aminoácidos básicos a forma das nanopartículas obtidas foram romboédricas. Eles também observaram que um aumento da quantidade de aminoácidos na síntese diminui o tamanho de partícula. A magnetita

sintetizada por Durmus et al., (2011) poderia ser usada para separação de células, diagnose e terapia de câncer.

No presente trabalho foi estudada a síntese de goethita em água destilada, água do mar artificial, água destilada mais aminoácido e água do mar artificial mais aminoácido. Os aminoácidos foram dissolvidos em água destilada ou em água do mar artificial. A concentração de aminoácido usada foi de 100 % em mol em relação ao $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ e o pH inicial da síntese foi de 13.80. O pH inicial foi básico, mas como revisado por Holm e Eersson (2005) e Holm et al. (2006), essa faixa de pH e temperatura poderiam ser encontradas em ambientes hidrotermais. Como revisado por Zaia et al. (2008) os aminoácidos (α -Ala, β -Ala, Gly, Cys, AIB) usados nesse experimento poderiam ser encontrados na Terra primitiva. Os materiais sintetizados foram caracterizados usando a espectroscopia de FT-IR, Raman, Mössbauer, SERS e RPE, a microscopia (MEV) e a difratometria de raios-X.

4 OBJETIVO

Simular um ambiente prebiótico em meio básico para sintetizar o oxido-hidróxido de ferro, goethita, em presença de aminoácidos protéicos e não protéicos. O ambiente prebiótico foi constituído de água do mar artificial, simulando um ambiente hidrotermal e de aminoácidos protéicos e não protéicos. Caracterizar a interação de grupamentos presentes nos aminoácidos com os sítios de adsorção da superfície da goethita por espectroscopias de Infravermelho, Raman, RPE e Mössbauer. A Difratometria de Raios-X também será usada para caracterizar o material sintetizado e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para verificar suas morfologias.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 AMINOÁCIDOS

Todos os aminoácidos foram adquiridos da Sigma. As abreviações dos aminoácidos são dadas de acordo com a recomendação da IUPAC-IUB comissão de nomenclatura bioquímica: α -Alanina/Ala, β -Alanina/ β -Ala, Glicina/Gly, Cisteína/Cys e ácido 2-aminoisobutírico/AIB. A Tabela 1 mostra as propriedades dos aminoácidos.

Figura 1 - Estruturas químicas dos aminoácidos: a) α -Alanina, b) β -Alanina, c) Glicina, d) Cisteína e e) ácido 2-aminoisobutírico.

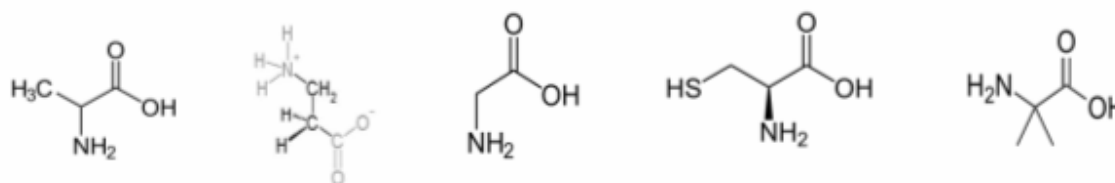


Tabela 1 - Propriedades dos aminoácidos

Propriedades	Cys	α -Ala	β - Ala	AIB	Gly
Peso molecular	121	89	89	103,1	75,07
pK ₁ (-COOH)	1,92	2,34	3,55	2,36	2,35
pK ₂ (-NH ₂)	10,46	9,87	10,24	10,21	9,78
pK _R (R-group)	8,35	---	----	----	----
PI	5,14	6,10	6,89	5,72	6,06
Índice de Hidropaticidade	2,5	1,8		1,1	-0,4
Constante de estabilidade (K)		10,4	9,0		10,0

Propriedades dos aminoácidos Zirchrom (2011) e Lehninger (1984).

5.2 PREPARO DA ÁGUA DO MAR ARTIFICIAL

A água do mar artificial foi preparada como descrito no capítulo I.

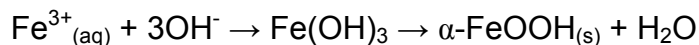
5.3 SÍNTESES

Foram realizadas sínteses de goethita em água destilada e goethita em água do mar, para servirem como padrões para as sínteses de goethita em água destilada mais aminoácidos e goethita em água do mar artificial mais aminoácidos.

5.3.1 Goethita em Água Destilada

Um volume de 400 mL de KOH a $2,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi homogeneizado a 1650 mL $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ a $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ em recipiente plástico. A mistura foi agitada vigorosamente e a solução foi deixada durante 60 horas a 70°C . O precipitado formado foi filtrado e disperso em água destilada para lavagem do material, esse procedimento foi repetido por mais 5 vezes. Então o precipitado foi liofilizado.

As características físico-químicas de uma goethita: $\Delta H_f^0 = -560$ (kJ/mol), $S^0 = 59,7$ (J/mol·K), $\Delta G_f^0 = -489,8$ (kJ/mol), $V^0 = 20,88$ (cm^3) (Majzlan et al., 2003). O processo de obtenção da goethita pode ser representado pela seguinte equação:



5.3.2 Goethita em Água do Mar Artificial, em Água Destilada Mais Aminoácidos e Em Água do Mar Artificial Mais Aminoácidos

As sínteses em água do mar artificial foram realizadas utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese da goethita em água destilada, substituindo a água destilada pela água do mar artificial. Quando os aminoácidos foram utilizados nas sínteses, a adição foi feita à água destilada ou a água do mar artificial.

O conteúdo de cada aminoácido (α -Alanina, β -Alanina, Cisteína, ácido 2-aminoisobutírico e glicina) na solução de síntese foi de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, Kandori et al, (2006).

5.4 PONTO DE CARGA ZERO

O ponto de carga zero foi determinado usando a equação $\text{pH}_{\text{pcz}} = 2\text{pH KCl} (1,0 \text{ mol L}^{-1}) - \text{pH água destilada}$ (Uehara, 1979).

5.5 MEDIDA DE PH

Para as medidas dos pHs foi utilizada uma proporção de massa do material/volume de solução de 10:25.

5.6 CARACTERIZAÇÕES

Os materiais obtidos foram caracterizados por espectroscopia Raman, FT-IR, RPE, Mössbauer. Também foi feita a difratometria de Raios X e microscopia eletrônica de varredura. As técnicas utilizadas encontram-se descritas no capítulo I.

6 RESULTADO E DISCUSSÃO

A Tabela 2 mostra o pH da solução depois da síntese e o ponto de carga zero (pHpzc). O pHpcz para a goethita pura foi de 8,56 e da goethita sintetizada em água do mar foi de 9,20, esses valores são considerados consistentes com o da literatura (Cornell e Schwertmann, 2003; Kosmulski et al., 2003). Como revisado por Kosmulski et al., (2003) a média do pHpcz para a goethita pura foi de 8,32 com um desvio padrão de 0,89, outras misturas de FeOOH a média do pHpcz foi de 7,25 com um desvio padrão de 0,77. Todos os óxidos mostrados na Tabela 2, com duas exceções, estão na faixa de pHpcz descrito por Kosmulski et al., (2003). Quando a síntese de goethita foi feita com água do mar artificial ou em água do mar artificial mais aminoácido, um aumento do pHpcz (0,66-1,94) foi observado quando comparado com a goethita pura ou goethita com água destilada mais aminoácido (Tabela 2). O aumento do pHpcz significa que maior número de cargas positivas estão sendo geradas na superfície do mineral. Essa característica torna o mineral sintetizado de grande interesse para a química prebiótica, pois sua superfície será apta para adsorver um maior número de moléculas com cargas negativas (grupos COO⁻ de aminoácidos) em meio mais alcalino. O aumento do pHpcz foi devido aos cátions da água do mar artificial, que estão interagindo com a estrutura do mineral, causando alterações na estrutura. Mohapatra et al. (2009) também observaram um aumento do pHpcz quando se elevou a concentração de Mg²⁺ na síntese de goethita. Em geral, o pHpcz da goethita sintetizada com aminoácidos mostrou um decréscimo do pHpcz quando comparado a goethita pura

(Tabela 2). A interação do aminoácido com Fe^{3+} da goethita diminui a carga positiva do mineral, assim um decréscimo do pH_{pcz} ocorre. Um decréscimo do pH_{pcz} também foi observado quando a goethita foi sintetizada com água destilada mais cisteína e com água do mar artificial mais cisteína (Tabela 2). Cornell e Schneider (1989) observaram que a cisteína promove a rápida formação da goethita a partir da ferrihidrita, provavelmente por causa da interação do grupo sulfidril da cisteína com o Fe^{3+} .

Tabela 2- Resultados do pH da solução após a síntese da goethita pura, goethita em água do mar, goethita pura mais aminoácido e goethita em água do mar mais aminoácido e o pH do ponto de carga zero (pH_{pcz}) para os materiais.

Variação da síntese	pH	PCZ
Pura	12,50	8,56
Com água do mar	12,20	9,20
Glicina	11,10	9,21
Glicina+água do mar	11,05	9,15
α -Alanina	10,97	8,06
α -Alanina+água do mar	12,45	9,16
β -Alanina	10,54	7,51
β -Alanina+água do mar	10,25	9,45
2-Aminoisobutírico	8,77	8,34
2-Aminoisobutírico+água do mar	12,11	9,60
Cisteína	11,53	5,07
Cisteína+água do mar	11,47	3,59

O pH inicial da reação foi de 13,80 ($\text{KOH } 2,5 \text{ mol L}^{-1}$), após a síntese da goethita a faixa de pH foi de 8,77 a 12,50 (Tabela 2). De acordo com Cornell e Schwertmann (2003) Quando a síntese de goethita é feita em pH abaixo de 12,00, ocorre também a síntese de hematita. Entretanto, Cudennec e Lecerf, (2006) mostraram que pH menor que (2–5) ou maior que (10–14) favorecem a formação de goethita enquanto que a hematita é favorecida em pH neutro (valores por volta de 7). Quando o pH de síntese ficou acima de 11,0, foi observado, somente formação de goethita (Tabelas 2, 3). Para a síntese da goethita com o aminoácido AIB mais água do mar artificial foi observada a formação de goethita e hematita (Tabela 3). Nas

sínteses com β -Alanina em água do mar e 2-Aminoisobutírico em água destilada, houve a formação somente de hematita. Essa transformação pode ser atribuída a transformação topotática da ferrihidrita de acordo com Cudennec e Lecerf, (2006), pois no período de síntese não foi observado nenhuma formação de precipitado amarelo, característica da goethita.

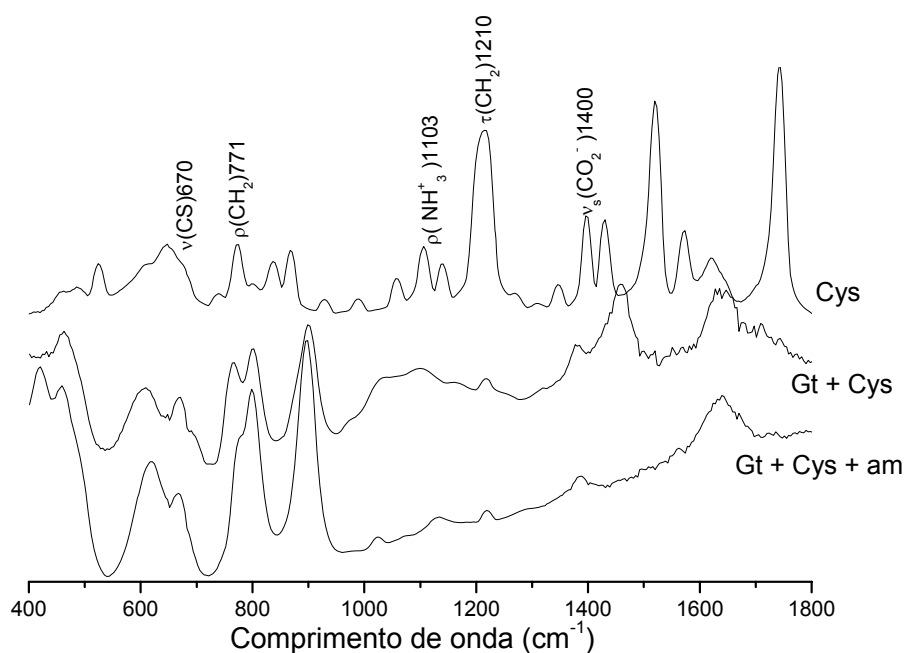
Tabela 3 - Resultados da espectroscopia Raman para as sínteses na presença ou ausência de água do mar e aminoácidos

Variação da síntese	Goethita	Hematita
Pura	X	
Com água do mar	X	
Glicina	X	
Glicina+água do mar	X	
α -Alanina	X	X
α -Alanina+água do mar	X	
β -Alanina	X	X
β -Alanina+água do mar		X
2-Aminoisobutírico		X
2-Aminoisobutírico+água do mar	X	X
Cisteína	X	
Cisteína+água do mar	X	

Durmus et al. (2009, 2011) observaram a interação dos aminoácidos com óxidos de ferro usando FT-IR. Nas sínteses realizadas não foi possível caracterizar grupos funcionais dos aminoácidos por espectroscopia de infravermelho, somente identificar as bandas características dos minerais (Figura não mostrada). As bandas dos minerais se mostraram de grande intensidade o que impossibilitou identificar qualquer banda relativa aos aminoácidos, considerando assim que houve uma pequena adsorção/incorporação dos mesmos nas estruturas dos minerais. Entretanto, para a síntese usando a Cys foram identificadas bandas nas mesmas regiões das bandas características do aminoácido. Foram observadas bandas que correspondem as vibrações CO_2^- , NH_3^+ , CH_2 e CS (Figura 1a). A cisteína é um aminoácido que minerais adsorvem em maior quantidade (Lahav e

Chang, 1976; Zaia, 2004; Benetoli et al., 2007), assim as bandas características se destacam em relação as intensas bandas do mineral.

Figura 1^a - Espectro FT-IR da goethita sintetizada com e sem a presença de água do mar e Cisteína. Gt = goethita, Cys=cisteína, am=água do mar



A caracterização por espectroscopia Raman, utilizando o laser no comprimento de onda 633 nm, mostrou somente bandas características dos óxidos e hidróxidos e algumas bandas de baixa intensidade (Figuras não mostradas). Nessas bandas de baixa intensidade não foi possível fazer atribuições devidas aos grupos característicos dos aminoácidos. Então a espectroscopia Raman, com efeito SERS, foi usada por ser uma ferramenta conveniente para o material em análise, uma vez que essa técnica intensifica o sinal Raman.

O espectro SERS da Cys (Figura 2) mostrou as seguintes bandas 680, 843, 866, 927, 973 (ombro) e 987, 1056, 1207, 1401, 1490 e 1509, e 1657 cm^{-1} atribuídas a estiramento C-S, flexão HCS, estiramento C-COO⁻, flexão HCN e HCH, flexão NCH, estiramento C_α-N, CH₂ 'twisting', estiramento COO⁻, flexão CH₂, flexão NH₂ (Fleming et al. 2009). Os espectros SERS das amostras sintetizadas com água destilada mais Cys e água do mar artificial mais Cys, mostraram aumento das bandas na região de 981-990 e 981-1001 cm^{-1} respectivamente, essas bandas foram

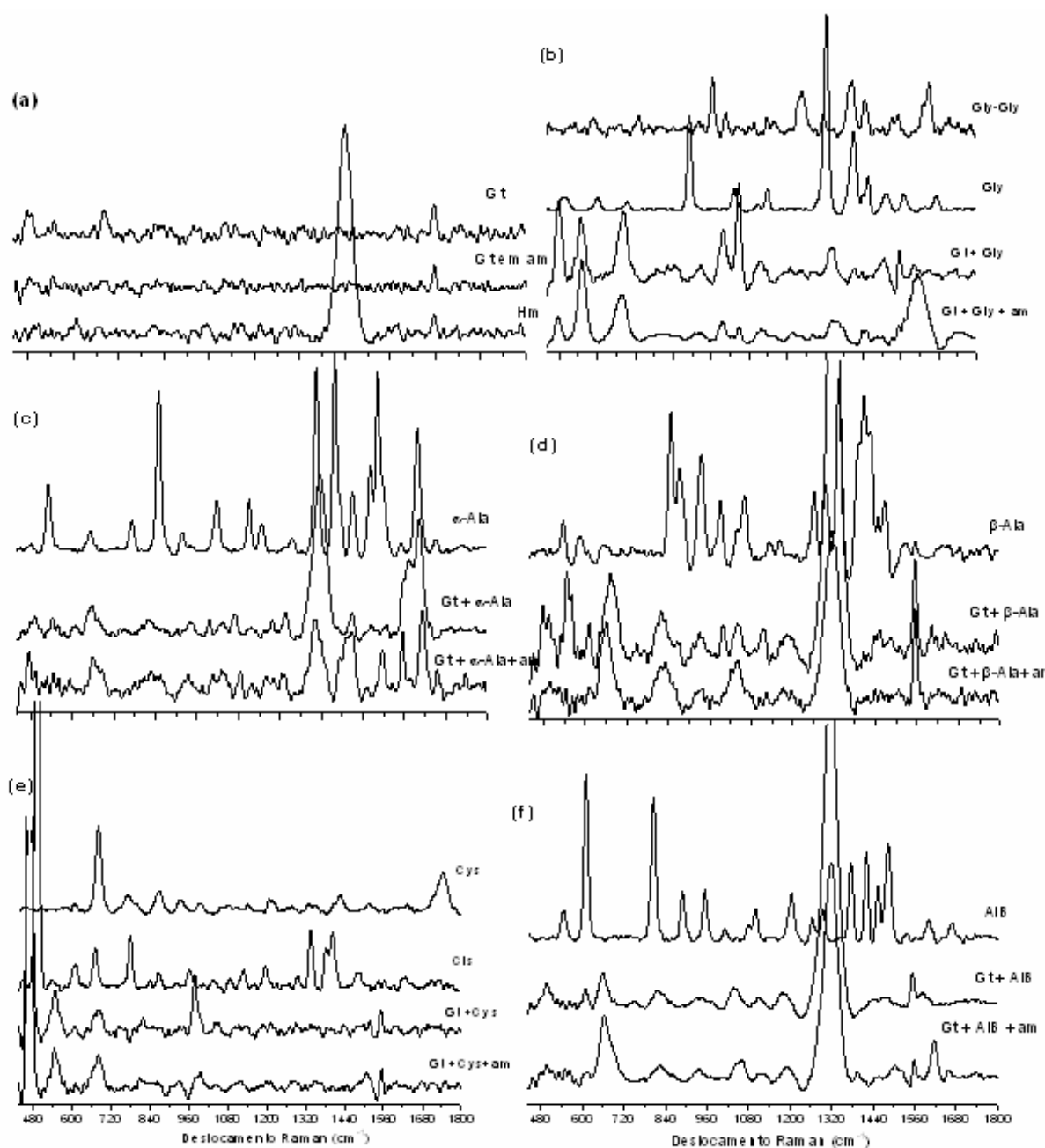
atribuídas a flexão do NCH (Figura 2). A banda em 1506 cm^{-1} devido a flexão do CH_2 também sofreu intensificação nas sínteses com a cisteína (Figura 2). Os resultados mostraram que os grupos funcionais da Cys estão interagindo com o coloide de Ag. O espectro SERS da Cys sólida mostrou bandas em 866 e 1402 cm^{-1} devido ao estiramento C-COO^- e COO^- , respectivamente. Fleming et. al., (2009) atribuiu a banda em 1402 cm^{-1} a interação entre o grupo carboxilato e as nanopartículas metálicas. Entretanto, essas bandas desapareceram quando a síntese foi realizada com água destilada mais Cys e com água do mar artificial mais Cys (Figura 2). O desaparecimento dessas bandas foi atribuído a interação da Cys com a goethita. O espectro da Cys sólida apresentou uma banda em 2577 cm^{-1} que é devido ao estiramento do grupo S-H. Para as amostras sintetizadas com Cys essa banda desapareceu (Figura não mostrada). Esse resultado indica a presença de cistina ou a forte interação do grupo sulfidril da Cys com Fe^{3+} ou ainda decomposição da Cys. Entretanto os espectros das amostras não mostram a banda em 500 cm^{-1} devido ao estiramento do grupo S-S. Mas o espectro mostra uma banda em 470 cm^{-1} que é idêntico ao espectro do enxofre (Figura não mostrada). Então o desaparecimento da banda indica que houve uma decomposição da Cys além da interação com o Fe^{3+} do mineral. Os resultados acima estão mostrando que a interação da Cys com Fe^{3+} na síntese da goethita com e sem água do mar artificial foi complexa.

A Figura 2 mostra o espectro SERS da Gly e GlyGly e as goethitas sintetizadas com água destilada mais Gly e com água do mar artificial mais Gly. O espectro SERS da Gly mostrou as seguintes bandas $495, 601, 694, 891, 1033, 1107, 1138, 1321, 1411, 1439, 1455, 1501$ (ombro), $1514, 1570, 1622, 1668, 2620/2904$ e $2970/3007\text{ cm}^{-1}$ atribuídas a flexão do COO^- , COO^- 'wagging', torção NH_2 , estiramento C-C, estiramento C-N, NH_2 'twisting', estiramento $\text{C}_\alpha\text{-CN}$, CH_2 'wagging', estiramento simétrico C- COO^- , flexão HCN e HCH, estiramento C-C, flexão NH_2 , balanço NH_2 , estiramento assimétrico COO^- , flexão NH_2 , estiramento C=O, estiramento NH_3^+ e estiramento CH_2 (Zhu et al. 2011; Xiaojuan et al.2010; Suh e Moskovits, 1986). O espectro SERS da GlyGly (Figura 2) mostrou as seguintes bandas $577-595, 630-680, 840, 883, 920, 1008, 1043, 1135, 1245, 1315, 1401, 1505, 1550,$ e 1647 cm^{-1} que são atribuídas a amida V/VI/VII, amida 4, $\delta(\text{NH}_2)$, deformação C-C, estiramento C- COO^- , estiramento C- NH_2 , $\tau(\text{NH}_2)$, NH_2 'twisting', amida 3, C_βH , estiramento simétrico COO^- , amida II' amida II e amida I (Arêas e

Kawano, 1991; Chen et al., 1996). O espectro da síntese com água destilada mais Gly e água do mar artificial mais Gly mostrou bandas intensas em 475, 553, 680, 995, 1050, 1117 e 1355. Essas bandas não puderam ser caracterizadas como sendo a Gly ou GlyGly. O espectro da amostra de goethita sintetizada com água do mar artificial mais Gly mostrou uma banda larga que vai de 1550 a 1664 cm^{-1} , com vários ombros que são atribuídos a amida I e amida II. Os espectros das amostras também mostraram bandas fracas na região de 577 e 680 cm^{-1} que também podem ser atribuídas às amidas IV, V, VI e VII (Arêas e Kawano, 1991; Chen et al., 1996).

A Figura 2 mostra o espectro SERS do ácido 2-aminoisobutírico (AIB) e da goethita sintetizada com água destilada mais AIB e água do mar artificial mais AIB. Uma banda intensa em 1230 cm^{-1} na amostra de goethita sintetizada em água destilada mais AIB e água do mar mais AIB é devido à hematita (Figura 2, Tabela 3). O espectro SERS do AIB (Figura 2) mostrou as seguintes bandas 538-797 (COO^- deformação de ângulo/'rocking', CN 'twisting', C- CH_3 estiramento simétrico, NC_αC deformação, NH_2 'wagging', 882-1092 (C-C estiramento, CH_2 'wagging'), 1197-1368 (NH deformação de ângulo, $(\text{H}_3)\text{C-C}$ estiramento simétrico, N-C_α estiramento), 1414 (COO^- estiramento simétrico), 1446-1528 (CH_3 deformação de ângulo assimétrica, CH_3 deformação, NH_3 deformação), 1594-1660 (NH_3 deformação assimétrica, C=O estiramento, CN estiramento, C_αCN deformação) (Dwivedi e Krimm, 1984). O espectro SERS da goethita sintetizada em água destilada mais AIB e água do mar mais AIB mostrou bandas em 497, 610, 657, 751, 815, 934, 1042, 1109, 1182, 1430-1526. Também foram observadas bandas em 1584 cm^{-1} e 1575, 1613 e 1654 cm^{-1} para as amostras em água destilada mais AIB e água do mar mais AIB, respectivamente. Entretanto, nenhuma dessas bandas estão no mesmo comprimento de onda para as bandas encontradas no AIB sólido. As bandas aparecem deslocadas para maiores ou menores comprimentos de onda (Figura 2). O SERS das amostras de goethita sintetizada com água destilada mais AIB e água do mar mais AIB mostraram bandas características de amida I (1600-1700 cm^{-1}), amida II (1480-1580 cm^{-1}), amida III (1230-1300 cm^{-1}) e amida IV (630-780 cm^{-1}) (Arêas e Kawano, 1991).

Figura 2 - Espectros Raman da goethita sintetizada em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos. (a)Gt =goethita, Hm = hematita, (b) Gly = glicina, (c) α -Ala = alanina, (d) β -Ala = β -alanina, (e)Cys = cisteína, Cis = cistina, (f) AIB = acido 2-aminoisobutirico, am = água do mar artificial.



A Figura 2 mostra o espectro SERS da α -Ala sólida e das goethitas sintetizadas com água destilada mais α -Ala e água do mar artificial mais α -Ala. O espectro SERS da α -Ala (Figura 2) mostrou as seguintes bandas 850, 917, 1015, 1112, 1146, 1233, 1362, 1375, 1409, 1460, 1482-1549, 1596 e 1650 cm^{-1} atribuída ao estiramento do C-CH₃, estiramento C-COO⁻, CH₃ 'rocking', estiramento CN, NH₂ 'twisting', NH₃⁺ 'rocking', deformação simétrica CH₃, deformação assimétrica CH₃, estiramento COO⁻, CH₃ 'rocking', CH 'rocking', deformação NCC e deformação C _{β} C _{α} C (Kapitán et al., 2006). A intensa banda na região de 850 cm^{-1} é considerada uma banda que caracteriza a α -Ala (Zhu et al., 2011), porém, nos materiais sintetizados essa banda desapareceu. O espectro SERS da amostra de goethita sintetizada em água destilada mais α -Ala mostrou as seguintes bandas 530-568, 609, 637-692, 1375, 1409, 1460, 1482, 1500, 1596, 1650. Para a amostra de goethita sintetizada em água do mar mais α -Ala foram observadas as seguintes bandas 474-619, 650-686, 756-864, 1375, 1409, 1477, 1495, 1500, 1610 e 1650. O espectro SERS mostrou que as bandas das amostras foram deslocadas em relação ao aminoácido puro. No entanto, algumas bandas podem ser atribuídas a α -Ala (1375, 1409, 1460, 1477-1500, 1650 cm^{-1}). Os deslocamentos causados nas bandas do aminoácido são atribuídos às interações entre o aminoácido e mineral. As bandas devido ao grupo amino/CN (1112, 1146, 1233 cm^{-1}) e C-CH₃ (850 cm^{-1}) não estão intensificadas pelo efeito SERS provavelmente porque esses grupos estão interagindo com o ferro da goethita.

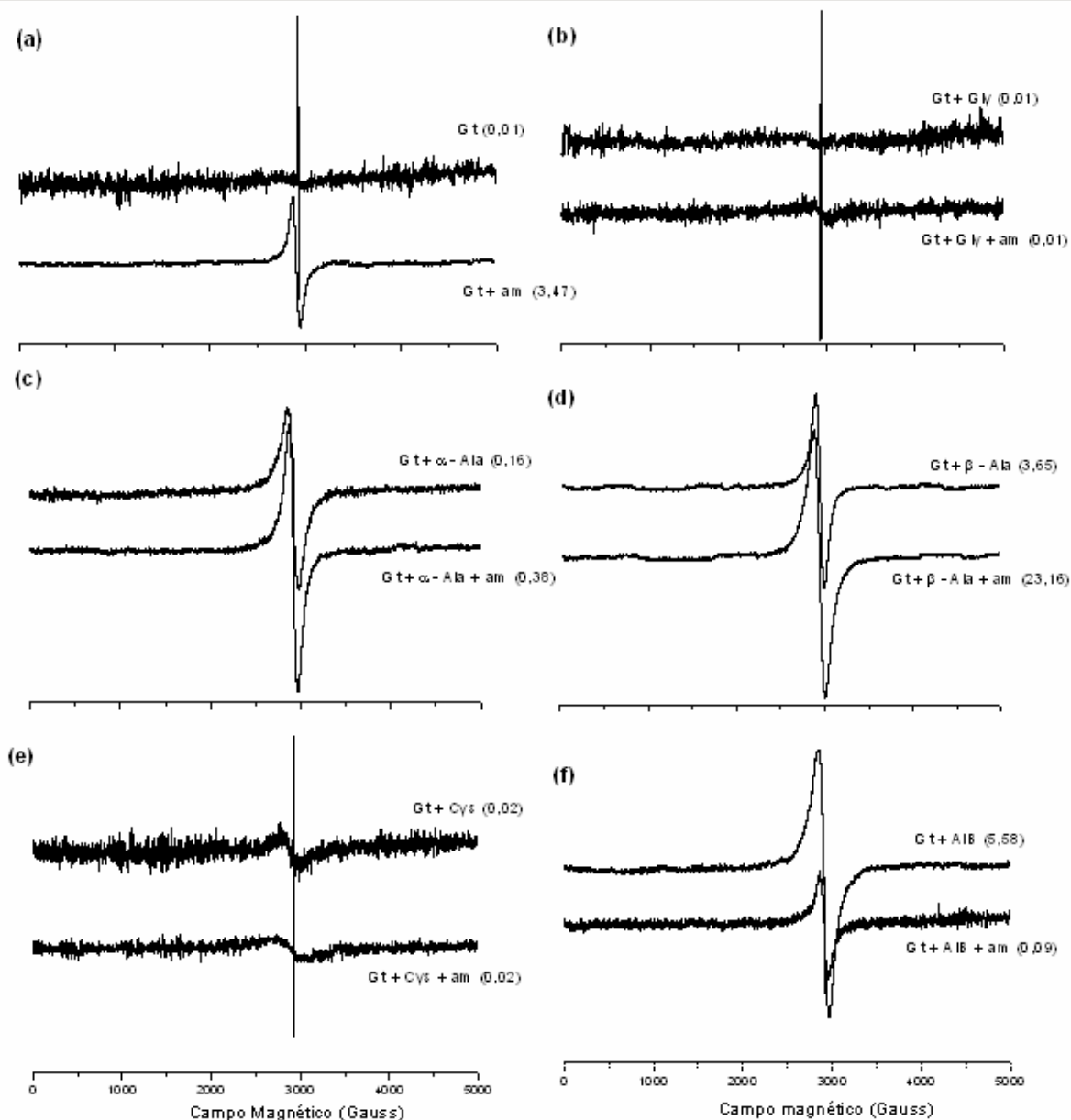
A Figura 2 mostra o espectro SERS da β -Ala sólida e da goethita sintetizada em água destilada mais β -Ala e água do mar artificial mais β -Ala. A intensa banda em 1320 cm^{-1} nas duas sínteses é devida a presença de hematita na fase mineral (Figura 2, Tabela 3). O espectro SERS da β -Ala mostrou as seguintes bandas 535/584, 607/654/706/736, 845/873, 934, 990, 1060, 1130/1155, 1161, 1264, 1295, 1334, 1393/1405/1429/1447, 1463, 1523/1555 e 1634/1684 cm^{-1} atribuídas a torção NH₃⁺ e COO⁻ 'rock', deformação COO⁻, estiramento C-C, estiramento simétrico C-N, deformação rock CH₂, estiramento assimétrico C-N, NH₃⁺ 'rock', deformação 'rock'CH₂, NH₃⁺ 'rock', CH₂ angular, CH₂ deformação 'wagging', deformação C _{α} H₂ e estiramento simétrico COO⁻, deformação C _{β} H₂, deformação simétrica do NH₃⁺ e estiramento assimétrico NH₃⁺ (Berezhinsky et al., 1998). Não foi possível fazer atribuição das bandas do espectro SERS para as amostras de goethita em água destilada mais β -Ala e água do mar artificial mais β -Ala, pois elas

estavam deslocadas em relação à β -Ala sólida. No entanto as bandas devido às amidas para essas amostras estavam nas seguintes regiões: 1600-1700 cm^{-1} (amida I), 1480-1580 cm^{-1} (amida II), e 630-780 cm^{-1} (amida IV) (Arêas e Kawano, 1991).

A Figura 3 mostra o espectro de RPE para a goethita sintetizada em água destilada, água do mar artificial, água destilada mais aminoácidos e água do mar artificial mais aminoácidos. Para a goethita sintetizada em água destilada o espectro de RPE mostrou uma fraca linha de ressonância em $g \approx 2$ (intensidade 0,01) (Figura 3). Esse resultado está de acordo com o obtido por Guskos et al. (2002), no qual a goethita exibe estado antiferromagnético a temperatura ambiente. Na goethita antiferromagnética, os spins estão orientados ao longo do eixo-b com os spins alternados para cima e para baixo na cadeia octaédrica (Cornell e Schwertmann, 2003). No entanto, goethita sintetizada em água do mar artificial mostrou uma maior intensidade da linha de ressonância em $g \approx 2$ (intensidade 3,47) (Figura 3).

Como mostrado nos espectros de FT-IR e Raman (Tabela 3) e na difratometria de Raios X (Figura 4) somente foi sintetizada a goethita, sem a presença de outras fases. O aumento na intensidade dessa linha foi atribuída as interações entre Fe^{3+} e seus vizinhos (O^{2-} , OH^- , cátions da água do mar - Ca^{2+} - Mg^{2+}) na rede cristalina. Os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} da água do mar artificial podem entrar na rede cristalina causando a troca dos íons de Fe por esses íons. Esses íons podem também ficar oclusos na estrutura da goethita, causando uma distorção da estrutura octaédrica, causando então o aumento na intensidade da linha no espectro de RPE. Assim um aumento da intensidade da linha de ressonância foi devido às interações entre Fe^{3+} e $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$. As amostras de goethita sintetizada em água destilada mais Gly (intensidade 0,01) ou Cys (intensidade 0,02) e água do mar artificial mais Gly (intensidade 0,01) ou Cys (intensidade 0,02) mostraram uma fraca intensidade da linha (Figura 3).

Figura 3 - Espectro de RPE da goethita sintetizada em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos. () = intensidade de ressonância, linha Fe^{3+} $g \approx 2$, (a)Gt =goethita, (b) Gly = glicina, (c) α -Ala = alanina, (d) β -Ala = β -alanina, (e)Cys = cisteína, Cis = cistina, (f) AIB = acido 2-aminoisobutirico, am = água do mar artificial.

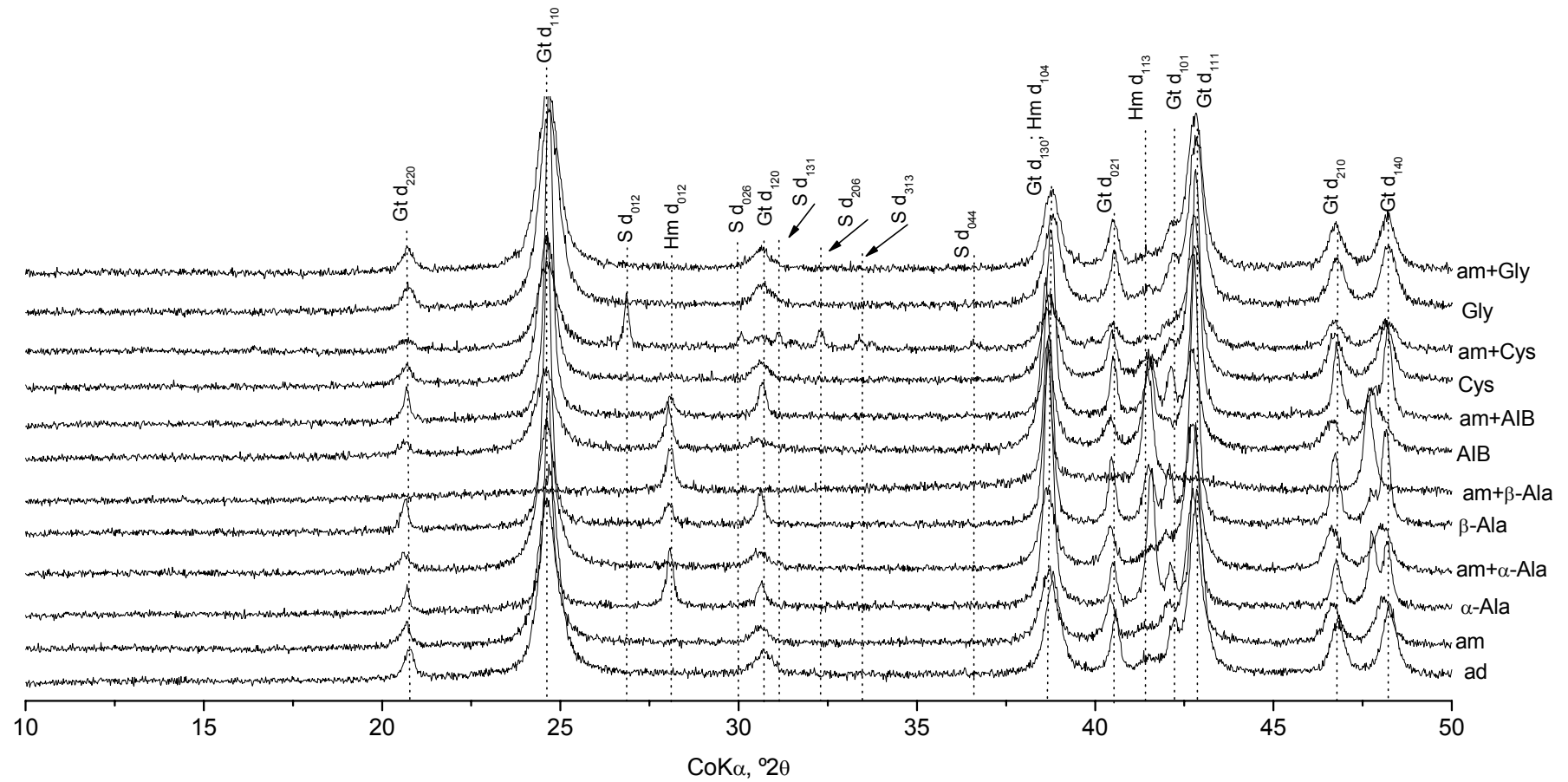


Nas sínteses com Gly e Cys foi observado que esses aminoácidos preveniram a interação entre Fe^{3+} e Ca^{2+}/Mg^{2+} . Provavelmente Gly está complexando os íons Ca^{2+}/Mg^{2+} impedindo que esses íons fiquem adsorvidos ou substituam o Fe^{3+} na estrutura cristalina, o que poderia causar o efeito ferromagnético (Smith et al., 1985).

No sistema com a Cys o grupo sulfidrilica pode formar um complexo de esfera interna com o Fe, o que permitiria a precipitação da goethita, o que está de acordo com Cornell e Schwertmann, (2003). Novamente deve ser ressaltado que o espectro de FT-IR e Raman (Tabela 3) e a difratometria de Raios X (Figura 4) não mostrou outro óxido além da goethita nessas sínteses. Para as sínteses da goethita com água destilada mais α -Ala e água do mar artificial mais α -Ala o espectro de RPE mostrou um aumento de intensidade para a linha em $g \approx 2$, provavelmente devido a formação de hematita (Tabela 3, Figura 3). A intensidade da linha de ressonância foi maior na amostra com água do mar mais α -Ala do que em água destilada, provavelmente devido ao efeito do Ca^{2+}/Mg^{2+} na estrutura da goethita e hematita (Figura 3). A intensidade da linha de ressonância para as sínteses da goethita em água destilada mais β -Ala foi menor do que para a síntese com água do mar artificial mais β -Ala. A maior intensidade é atribuída a presença de hematita, sabendo que somente essa fase foi sintetizada nesse caso, como mostrado pelos espectros FT-IR e Raman (Tabela 3) e difratometria de Raios X (Figura 4). Avaliando a intensidade da linha de ressonância para a amostra de goethita sintetizada em água destilada mais β -Ala (3,65) e para a amostra em água destilada mais α -Ala (0,16), em β -Ala foi maior por apresentar uma hematita de melhor cristalinidade (Figure 3) e de maior tamanho de partícula (Zysler et al., 2003). A intensidade da linha de ressonância da amostra de goethita sintetizada com água destilada mais AIB foi maior do que para a amostra com água do mar mais AIB, porque na primeira síntese foi obtido somente hematita (Tabela 3, Figuras 3, 4). Em geral, como mostrado anteriormente (Tabela 3) os resultados de RPE também revelam que os aminoácidos não protéicos estão favorecendo a formação de hematita e o protéicos a formação de goethita.

A Figura 4 mostra os difratogramas de Raios X da goethita sintetizada com água destilada, água do mar artificial, água destilada mais aminoácidos e água do mar artificial mais aminoácidos. Através da observação dos difratogramas de raios X juntamente com as análises dos espectros de FT-IR e Raman (Tabela 3) confirma-se a síntese goethita quando o mineral foi sintetizado com: água destilada, água do mar artificial, água destilada mais Gly ou Cys, água do mar artificial mais Gly ou Cys. Nos demais materiais sintetizados os difratogramas de raios X confirmaram a presença da mistura de goethita e hematita (Tabela 3, Figura 4).

Figura 4 - Difratogramas de raios X das sínteses em água destilada e em água do mar artificial mais aminoácidos, mostrando a variação na mineralogia promovida pela adição dos diferentes aminoácidos. ad= água destilada, am = água do mar artificial, Gly = glicina, α -Ala = alanina, β -Ala = β -alanina, Cys = cisteína, AIB = ácido 2-aminoisobutírico. As fases estão indicadas pelas siglas, Gt = goethita, Hm = hematita, S= enxofre.



A Figura 5 (a e b) mostra as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da goethita sintetizada com água destilada e água do mar artificial. Para a goethita sintetizada em água destilada, como esperado a morfologia foi acicular (Cornell e Schwertmann, 2003; Villalobos et al., 2009). Para a síntese em água do mar artificial, apesar da solução conter uma grande concentração de íons nenhuma alteração da morfologia foi notada comparando-se a síntese padrão, em água destilada. A Figura 5 (c e d) mostra a morfologia para a síntese realizada na presença de glicina em água destilada e água do mar artificial. Nota-se nas imagens que a morfologia acicular não sofreu nenhuma alteração devido a adição do aminoácido. Para a síntese da goethita com água destilada mais Cys (Figuras 6a e b) e água do mar artificial mais Cys (Figuras 6c e d), foram observados agregados esféricos com algumas partículas aciculares. Nas sínteses utilizando os aminoácidos α -alanina e β -alanina, Figura 7 (a e b) e (c e d) foram verificadas morfologias aciculares, hexagonais e agregados esféricos e elipsoidais, como presença de goethita e hematita no material. Para a síntese da goethita em água destilada mais AIB, foram observadas partículas hexagonais, com formação de agregados esféricos, como resultado da formação de hematita (Figura 8a). A formação dos agregados esféricos é resultado da troca de ligante do grupo carboxílico do aminoácido na superfície do grupo O^{2-} da hematita. Kandori et al. (2006) observaram hematitas esféricas quando a síntese foi realizada com aminoácidos. Os mesmos autores afirmam que a morfologia da hematita depende das constantes de estabilidade dos aminoácidos e que essa varia de acordo com a capacidade que o aminoácido terá para se complexar com o Fe^{3+} do mineral.

Figura 5 -Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada, b) goethita sinteitzada em água do mar artificial, c) goethita sintetizada em água destilada mais glicina e d) goethita sintetizada em água destilada mais glicina.

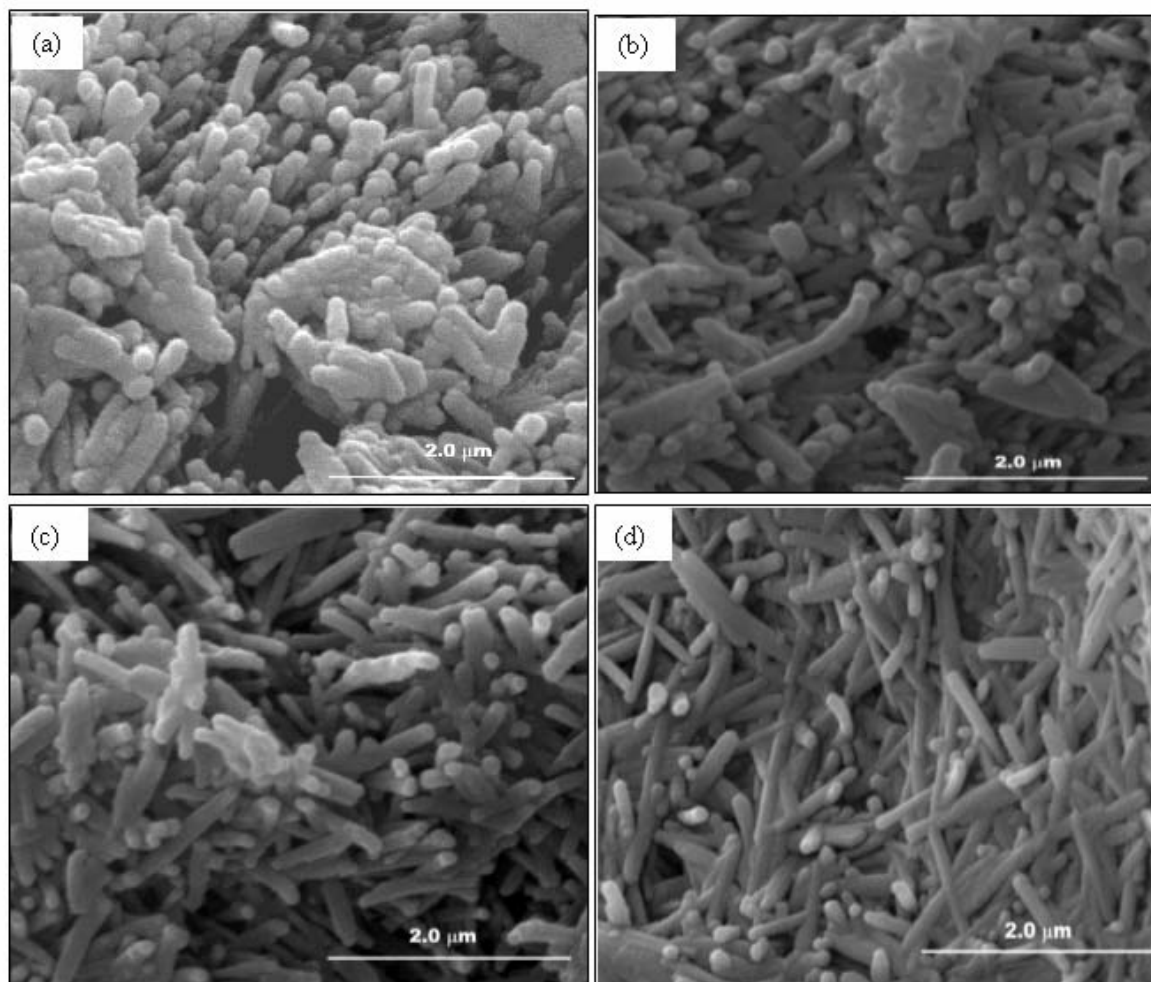


Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) e b) goethita sintetizada em água destilada mais cisteína, em duas intensificações, c) e d) goethita sintetizada em água do mar artificial mais cisteína, em duas intensificações.

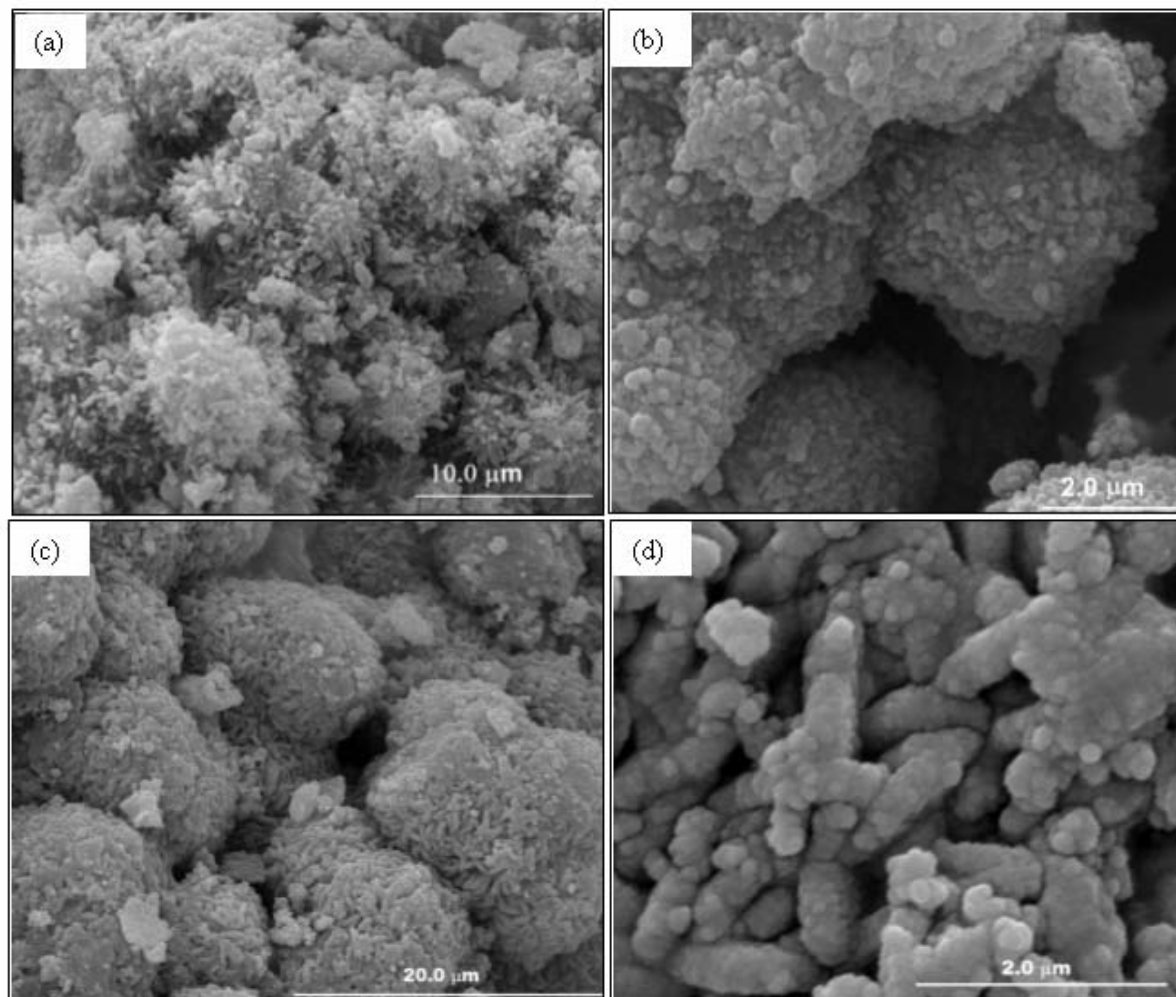


Figura 7 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada mais α -alanina, b) goethita sintetizada em água do mar artificial mais α -alanina, c) goethita sintetizada em água destilada mais β -alanina e d) goethita sintetizada em água do mar artificial mais β -alanina.

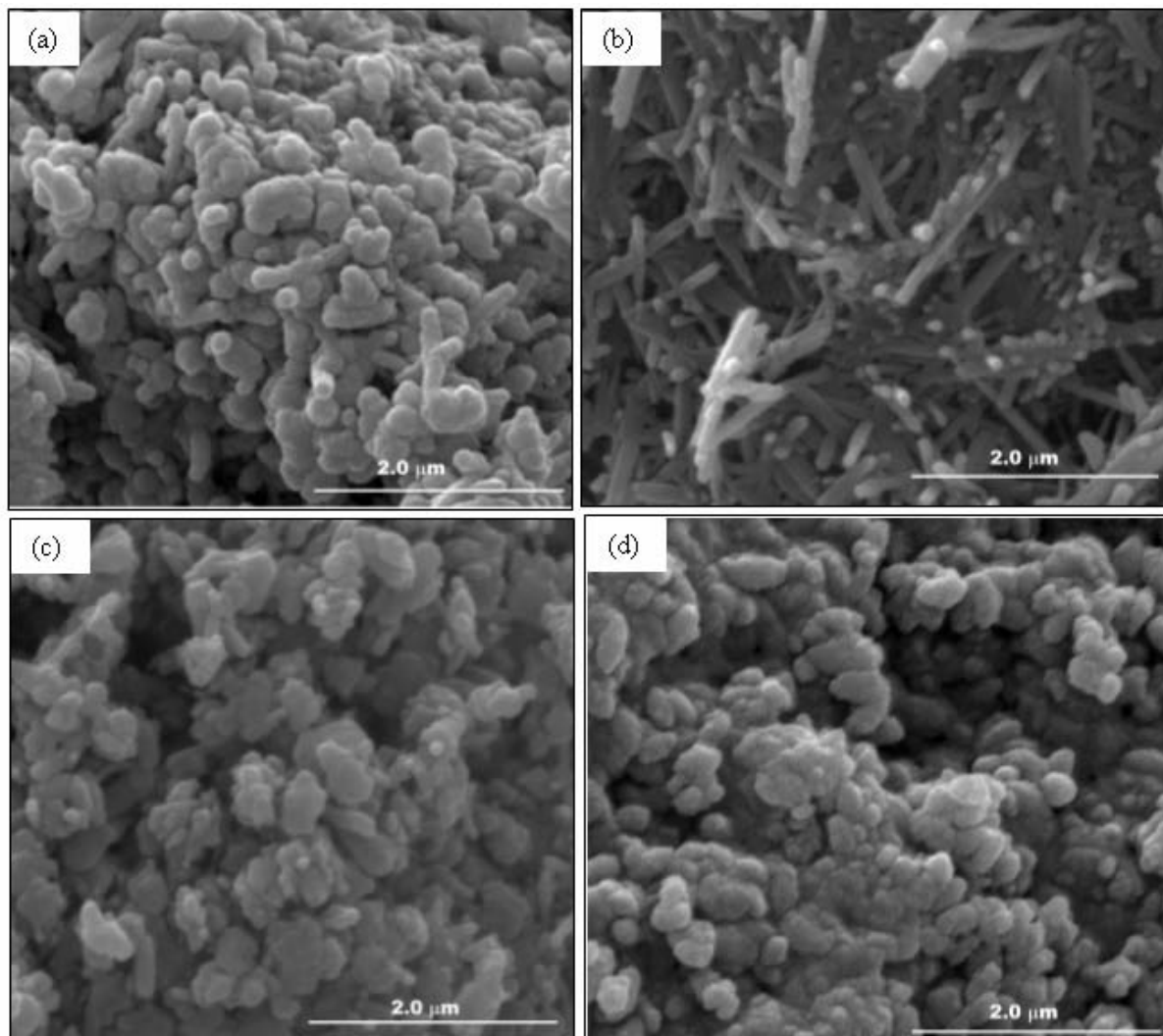
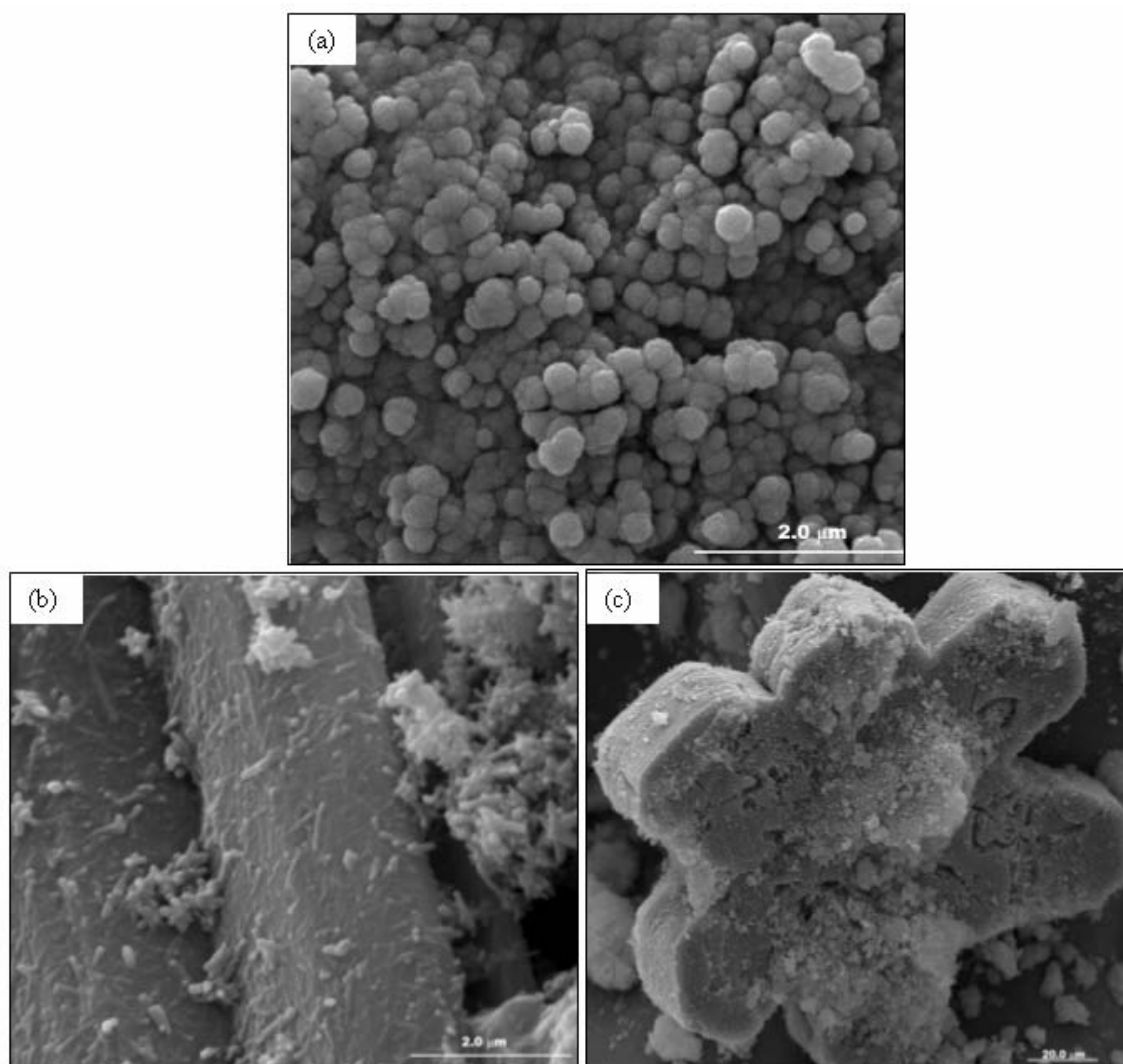


Figura 8 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) goethita sintetizada em água destilada mais AIB, b) e c) goethita sintetizada em água do mar artificial mais AIB.



A Tabela 4 e a Figura 9 mostram os resultados obtidos por espectroscopia de Mössbauer para as sínteses dos minerais com água destilada e com água do mar artificial com e sem adição de aminoácidos. O valor do campo magnético (B_{hf}) para a goethita em água destilada foi de 33,6, com 100 % de área mostrando que foi sintetizado apenas goethita. Barrero et al. (2006) usando Fe(NO₃)₃ como precursor da goethita observou um valor de 37,0 T para o B_{hf}, mostrando que as propriedades magnéticas hiperfinas dependem das condições de sínteses. O resultado da espectroscopia Mössbauer está de acordo com os demais resultados obtidos usando FT-IR, Raman e RPE (Tabela 3, Figura 3), difratometria de raios X (Figura 4). Para a goethita sintetizada com água do mar artificial foi

observado um decréscimo no valor do Bhf, assim como um dubleto cuja área foi de 20% do total, o que indica que houve uma substituição isomórfica do ferro por cátions da água do mar (Tabela 4), ou ainda que a água do mar impediu cristalinização da goethita. O espectro RPE dessa amostra também mostrou uma mudança na goethita quando essa foi sintetizada com água do mar artificial (Figura 3), um aumento na intensidade da linha $g \approx 2$, mostrando que esse material não é antiferromagnético. Para a goethita sintetizada em água destilada mais Gly e água do mar artificial mais Gly, os valores dos Bhf foram os mesmos da goethita sintetizada com água destilada, ou seja, com 100% de área, mostrando somente a presença de goethita. Os resultados obtidos estão de acordo com as demais técnicas utilizadas para a caracterização do material, FT-IR, Raman e RPE (Tabela 3, Figura 3) e difratometria de Raios X (Figura 4). Para a síntese com água destilada mais α -Ala ou β -Ala foi obtido goethita e hematita com áreas de 57,1/42,9 % e 79,8/20,2 %, respectivamente. A hematita mostrou um sexteto com valor de Bhf de 51. Para a goethita com água do mar artificial mais α -Ala o material sintetizado mostrou ambos os minerais, goethita e hematita. Um dubleto também foi observado devido à interação do ferro com os cátions da água do mar (Tabela 4). Esse resultado indica que, mesmo na síntese de hematita os íons presentes interagem com o mineral, o que pode levar a alteração na formação do mesmo. A amostra de goethita sintetizada com água do mar artificial mais β -Ala mostrou a formação de hematita com valor de Bhf 47,8 (Tabela 4). Em geral o valor do Bhf para a hematita foi de 51, no entanto baixos valores poderiam indicar uma substituição isomórfica (Berquó et al., 2007). Para a amostra de goethita sintetizada com água destilada mais AIB, foi observado um sexteto (Bhf 51) com área de 96 % devido a hematita e um dubleto com área de 4 % provavelmente devido a interação do ferro com o AIB (Tabela 4). A hematita também foi detectada por outras técnicas (Tabela 3, Figuras 3, 4). Para a amostra de goethita sintetizada com água do mar artificial mais AIB, foi observado uma distribuição (Bhf 25) devido a goethita, dois sextetos (Bhf 49 e 51) devido a hematita com diferentes cristalinidades e um dubleto provavelmente devido a interação do ferro com cátions da água do mar (Tabela 4). As técnicas de FT-IR/Raman (Tabela 3) e RPE (Figura 3) e difratometria de raios X (Figura 4) também mostraram hematita e goethita nas sínteses. Para a goethita sintetizada com água destilada mais Cys e água do mar artificial mais Cys, foi observada uma distribuição (Bhf 32,4 e 30,9) devido à goethita e um dubleto devido a interação da Cys com

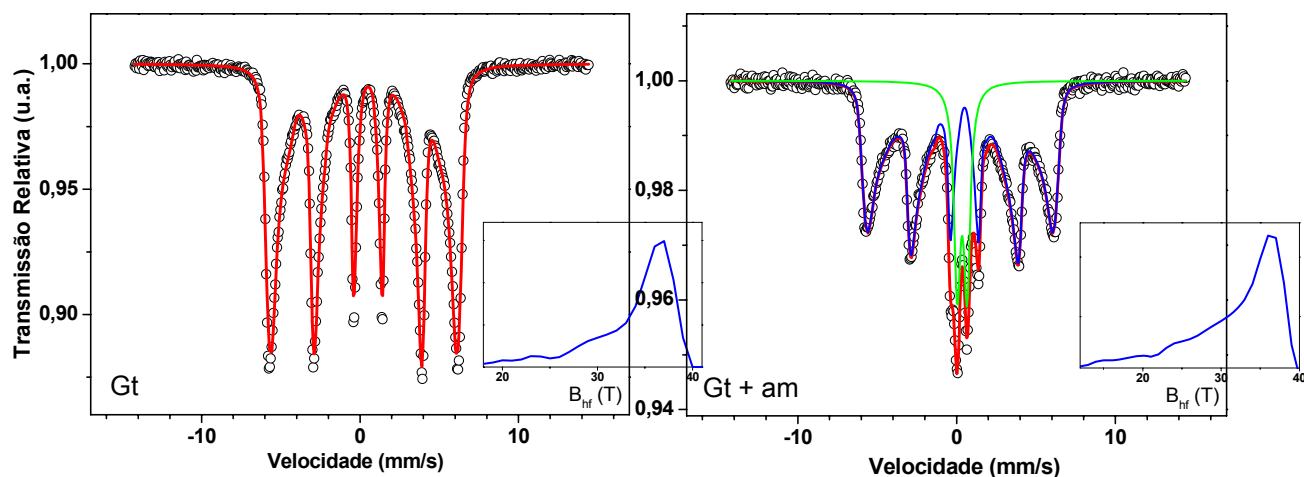
ferro. A interação do ferro com Cys foi também observada usando SERS (Figura 2). Para essas sínteses as outras técnicas detectaram apenas goethita (Tabela 3, Figuras 3,4).

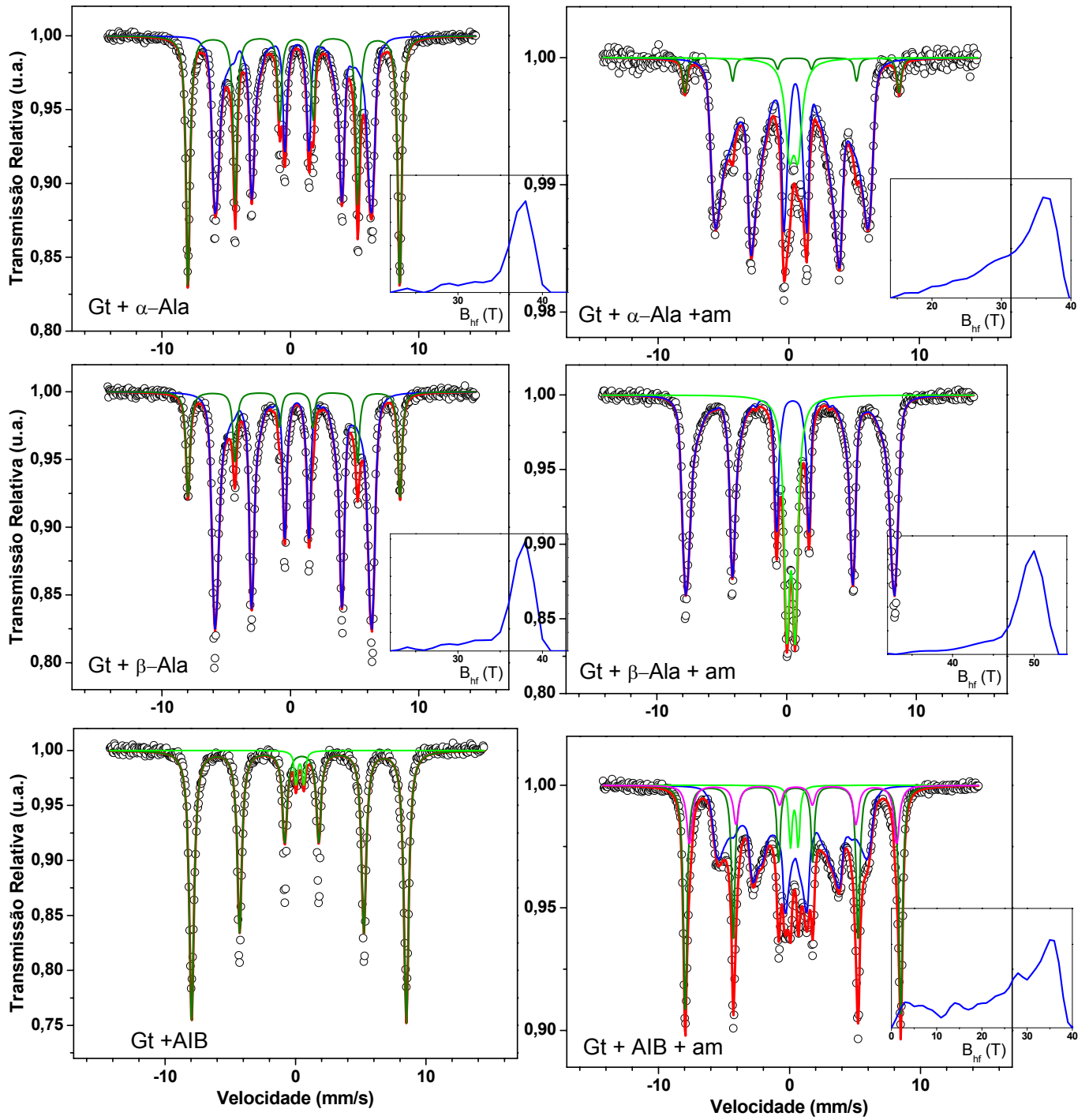
Tabela 4 - Parâmetros hiperfinos de Mössbauer e área subspectral para as sínteses de goethita em água destilada e em água do mar, com e sem a adição de aminoácidos.

Síntese	Sub-espectro	Γ (mm/s)	δ (mm/s)	Δ (mm/s)	Bhf (T)	Área (%)
Água destilada	Dist	0,3	0,37	-0,26	33,6	100
am	Dist	0,3	0,37	-0,27	30,2	80,2
	Dubleto	0,49	0,35	0,61	-----	19,8
Gly	Dist	0,3	0,37	-0,27	33,6	100
Gly + am	Dist	0,3	0,37	-0,26	32,7	100
α -Ala	Dist	0,3	0,37	-0,27	35,9	57,1
	Sexteto	0,36	0,37	-0,2	51,1	42,9
α -Ala + am	Dist	0,3	0,37	-0,26	30,8	83,2
	Dubleto	0,77	0,38	0,65	-----	12,1
	Sexteto	0,36	0,35	-0,21	50,8	4,7
β -Ala	Dist	0,3	0,37	-0,26	36,1	79,8
	Sexteto	0,36	0,37	-0,17	51,2	20,2
β -Ala + am	Dist	0,3	0,38	-0,19	47,8	72,1
	Dubleto	0,52	0,34	0,63	-----	27,9
AIB	Dubleto	0,3	0,33	0,59	-----	4
	Sexteto	0,43	0,37	-0,21	51	96
AIB + am	Dist	0,3	0,37	-0,26	25	55,5
	Dubleto	0,3	0,37	0,58	-----	3,5
	Sexteto	0,33	0,37	-0,21	51	29,4
	Sexteto	0,51	0,38	-0,22	49	11,6
Cys	Dist	0,3	0,37	-0,27	32,4	91,6
	Dubleto	1	0,37	0,47	-----	8,4
Cys + am	Dist	0,3	0,37	-0,26	30,9	90,8
	Dubleto	0,36	0,37	0,57	-----	9,2

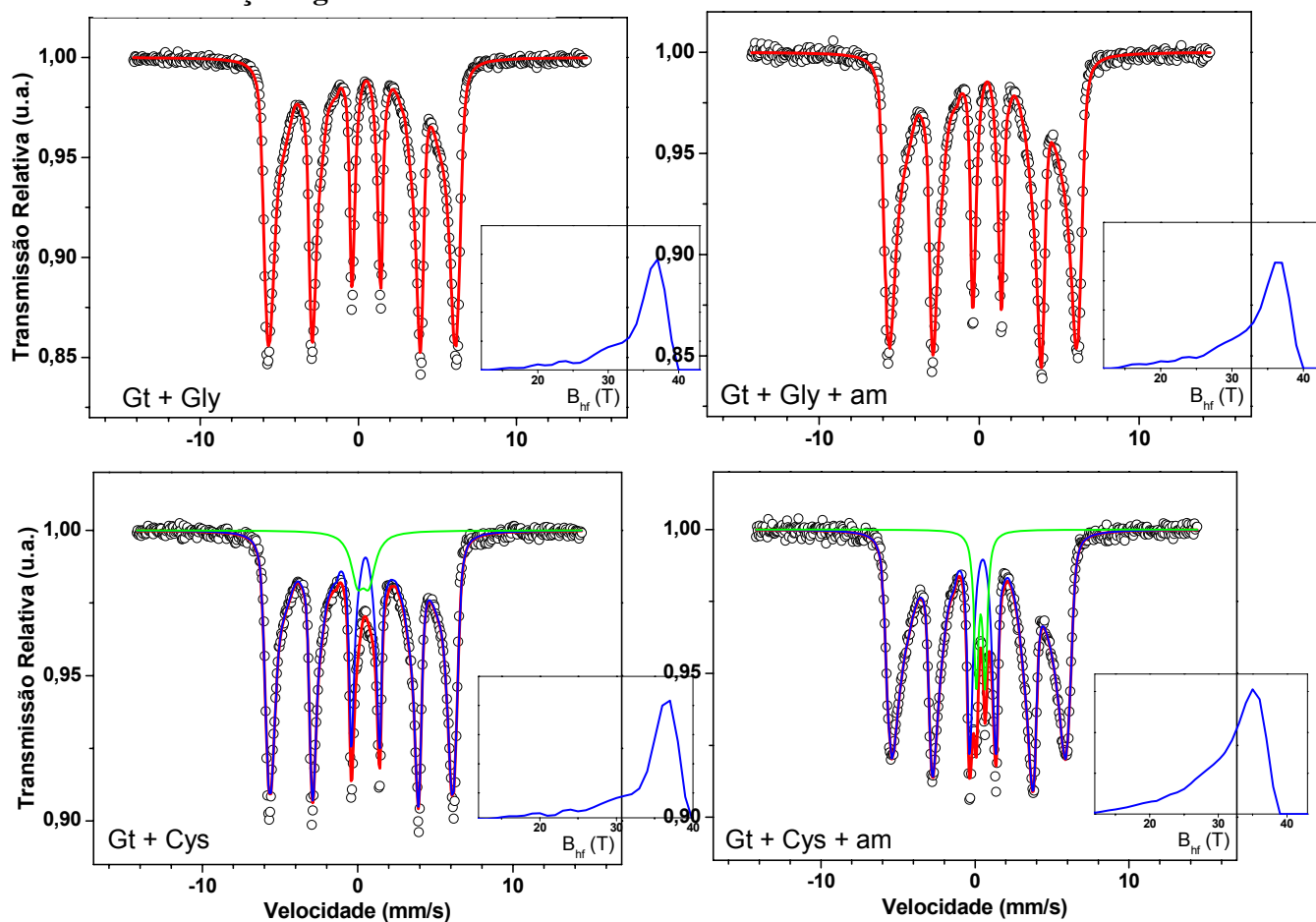
am = água do mar artificial, Gly = glicina, α -Ala = α -alanina, β -Ala = β -alanina, Cys = cisteína, AIB = ácido 2-aminoisobutírico, Γ = largura a meia altura da linha espectral, δ = deslocamento isomérico (relativo ao α -ferro), Δ = desdobramento quadrupolar, Bhf = campo magnético hiperfino, Área = contribuição relativa de cada componente.

Figura 9 - Espectros Mössbauer para as sínteses de goethita em água destilada e em água do mar, com e sem a adição de aminoácidos Gt = goethita, am = água do mar artificial, Gly = glicina, α -Ala = α -alanina, β -Ala = β -alanina, Cys = cisteína, AIB = ácido 2-aminoisobutírico





Continuação figura 9.



7 CONCLUSÕES

Os pHpcz das sínteses em água do mar artificial foram sempre mais elevados do que em água destilada. Esse aumento foi devido aos sais que compõe a água do mar artificial. Já a goethita sintetizada com os aminoácidos mostrou um decréscimo para os valores de pHpcz. Nesse caso a interação dos aminoácidos com Fe^{3+} da goethita faz diminuir a carga positiva do mineral.

Os resultados das análises dos espectros Raman, Mössbauer e RPE e a difratometria de raios X, mostraram que na síntese de goethita em água destilada, em água do mar artificial, água destilada mais Gly ou Cys e água do mar artificial mais Gly ou Cys houve somente a formação de goethita.

Quando a goethita foi sintetizada em água do mar mais β -Ala e água destilada mais AIB, foi observado pelas técnicas de Raman, Mössbauer e RPE e a

difratometria de raios X somente hematita. Para as demais sínteses foram obtidas uma mistura de goethita e hematita.

A análise do espectro SERS para a síntese em água destilada mais Cys e água do mar artificial mais Cys, mostrou que a interação entre Cys e Fe^{3+} da goethita envolveu a decomposição e interação entre Cys com Fe^{3+} .

Foram observadas bandas no espectro SERS devido a amida para as amostras sintetizadas em água destilada e em água do mar artificial mais Gly, AIB e β -Ala. Esses resultados indicaram que peptídeos estão sendo formados durante a síntese dos minerais.

Para as amostras de goethita sintetizada com água destilada mais α -Ala e água do mar artificial mais α -Ala as bandas devido ao grupo amino/CN e C- CH_3 não foram intensificadas pelo efeito SERS. Esse resultado foi atribuído a forte interação entre os grupos e o ferro na estrutura do mineral.

Quando apenas goethita esteve presente após a síntese às imagens SEM mostraram apenas morfologia acicular para o mineral. Quando hematita foi sintetizada a morfologia foi hexagonal com agregados esféricos. As imagens SEM para a síntese de goethita com água destilada mais Cys e água do mar artificial mais Cys mostraram agregados esféricos com algumas partículas aciculares. Para outras sínteses da goethita foi observada a mistura de formas aciculares e esféricas.

A formação da goethita ou hematita e sua morfologia foi dependente do meio, do pH e do aminoácido. Os aminoácidos não protéicos favorecem a formação de hematita e os protéicos de goethita.

8 REFERÊNCIAS

Arêas E.P.G. e Kawano Y. Aplicações de técnicas espectroscópicas vibracionais ao estudo conformacional de proteínas. **Quim. Nova** **14**, 31-43, 1991.

Barrero C. A., Betancur J. D., Greneche J. M., Goya G. F. e Berquó T.S. Magnetism in non-stoichiometric goethita of varying total water content e surface área. **Geophys. J. Int.**, **164**, 331–339, 2006.

Berezhinsky L. I., Dovbeshko G. I., Lisitsa M. P. e Litvinov G.S. Vibrational spectra of crystalline b-alanine **Spectrochim. Acta Part A** **54**, 349–358, 1998.

Berquó T. S., Imbernon R. A. L., Blot A., Franco D. R., Toledo M. C. M. e Partiti C. S. M. Low temperature magnetism e Mössbauer spectroscopy study from natural goethita **Phys Chem Minerals** **34**, 287–294, 2007.

Bishop J. L. e Murad E. Spectroscopic e geochemical analyses of ferrihydrite from springs in Icele e applications to Mars. **Geol Soc Lond Spec Publ** **202**, 350–370, 2002.

Catling D. C. e Moore J. M. The nature of coarse-grained crystalline hematite e its implications for the early environment of Mars. **Icarus** **165**, 277–300, 2003.

Chen X. G., Li P., Holtz J. S. W., Chi Z., Pajcini V., Asher S. A. e Kelly L. A. Resonance Raman Examination of the Electronic Excited States of Glycylglycine e Other Dipeptides: Observation of a Carboxylate-Amide Charge Transfer Transition, **J. Am. Chem. Soc.** **118**, 9705-9715, 1996.

Cornell R. M. e Schwertmann U. **The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrence e uses**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, Federal Republic of Germany. 2003.

Cornell R. M., Giovanoli R. e Scheneider W. Effect of cysteine e manganese on the crystallization noncrystalline iron (III) hydroxide at pH 8. **Clays Clay Miner.** **38**, 21-28, 1990.

Cudennec Y. e Lecerf A The transformation of ferrihydrite into goethita or hematite, revisited. **J. Solid State Chem.** **179**, 716–722, 2006.

de Santana H., Zaia D. A. M., Corio P., El Haber F. e Louarn G. Preparação e caracterização de substratos SERS ativos: um estudo da adsorção do cristal violeta sobre nanopartículas de prata. **Quim. Nova** **29**, 194-199, 2006.

Durmus Z., Kavas H., Baykala A., Sozeri H., Alpsoy L., Çelik M. S. e Toprak, S. Ü. C Synthesis e characterization of L-carnosine coated iron oxide nanoparticles. **J. Alloys Compd** **509**, 2555–2561, 2011.

Durmus Z., Kavas H., Toprak M. S., Baykal A., Alt nçekiç T. G., Aslan A., Bozkurt A. e Coşgun S. L-lysine coated iron oxide nanoparticles: Synthesis, structural e conductivity characterization. **J. Alloys Compd** **484**, 371–376, 2009.

Dwivedi A. M. e Krimm S. Vibrational analysis of peptides, polypeptides e proteins. XXIV. Conformation of poly(α -aminoisobutyric acid). **Biopolymers** **23**, 2025-2065, 1984.

Faivre D. e Zuddas P An integrated approach for determining the origin of magnetite nanoparticles. **Earth Planet Sci Lett** **243**, 53–60, 2006.

Fleming G. D., Finnerty J. J., Vallette M. C., Celis F., Aliaga A. E., Fredes C. F. e Koch R. Experimental e theoretical Raman e surface-enhanced Raman scattering study of cysteine. *J. Raman Spectrosc.* **40**, 632–638, 2009.

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, RPE e electrical conductivity investigations of three synthetic mineral pigments: hematite, goethita e magnetite. **Mater Res Bull** **37**, 1051–1061, 2002.

Holm N. G. e Eersson E. Hydrothermal simulation experiments as a tool for studies of the origin of life on earth e other terrestrial planets: a review. **Astrobiology** **5**, 444–460, 2005.

Holm N. G., Dumont M., Ivarsson M. e Konn C Alkaline fluid circulation in ultramafic rocks e formation of nucleotide constituents: a hypothesis. **Geochem Trans** **7**, 7, 2006.

Kandori K., Sakai M., Inoue S. e Ishikawa T. Effects of amino acids on the formation of hematites particles in a forced hydrolysis reaction. **J. Colloid Interface Sci.** **293**, 108-115, 2006.

Kapitán J., Baumruk V., Kopecky V. e Bour P. Conformational Flexibility of L-Alanine Zwitterion Determines Shapes of Raman e Raman Optical Activity Spectral Bes **J. Phys. Chem. A**, **110**, 4689-4696, 2006.

Kosmulski M., Maczka E., Jartych E. e Rosenholmbet J. B. Synthesis e characterization of goethita e goethita–hematite composite: experimental study e literature survey. **Adv. Colloid Interface Sci.** **103**, 57–76, 2003.

Lehninger A. L. **Princípios de Bioquímica**. Sarvier Editora de Livro Técnicos Ltda, São Paulo, p 574, 1984.

MAJZLAN, J., GREVEL, K.D., NAVROTSKY, A. Thermodynamics of Fe oxides: Part II. Enthalpies of formation e relative stability of goethita (a-FeOOH), lepidocrocite (g-FeOOH), e maghemite (g-Fe₂O₃). **American Mineralogist**, v. 88, p. 855–859, 2003.

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**, **112**, 12104–12110, 2008.

Mohapatra M., Rout K. e Ane S. Synthesis of Mg(II) doped goethita e its cation sorption behaviour. **J. Hazard. Mater.** **171**, 417–423, 2009.

Rietmeijer F. J. M. The ultrafine mineralogy of a molten interplanetary dust particle as an example of the quench regime of atmospheric entry heating. **Meteorit Planet Sci** **31**, 237–242, 1996.

Smith R. M., Motekaitis R. J. e Martell A. E. Prediction of Stability Constants II. Metal Chelates of Natural Alkyl Amino Acids e their Synthetic Analogs. **Inorg. Chim. Acta** **103**, 73-82, 1985.

Suh J. S. e Moskovits M. Surface enhanced Raman spectroscopy of amino acids e nucleotides bases adsorbed on silver. **J. Am. Chem. Soc.** **108**, 4711-4718, 1986.

Uehara G. *Mineral–chemical properties of oxisols. International Soil Classification Workshop*, vol 2. Soil Survey Division— Le Development Department, Bangkok, **Malaysia**, p 45–6, 1979.

Villalobos M., Cheney M. A. e Cienfuegos J. A. Goethite surface reactivity: II. A microscopic site-density model that describes its surface area-normalized variability. **J. Colloid Interface Sci.** **336**, 412–422, 2009.

Wade M. L., Agresti D. G., Wdowiak T. J. e Armendarez L. P. A Mössbauer investigation of iron rich terrestrial hydrothermal vent systems: lessons for Mars exploration. **J Geophys Res** **104**, 8489–8507, 1999.

Wang G. H., Li W. C., Jia K. M. e Lu A.H. A facile synthesis of shape- e size-controlled α -Fe₂O₃ nanoparticles through hydrothermal method. **Nano: Brief Reports Rev.** **6**, 469–479, 2011.

Wang G. H., Li W. C., Jia K. M., Spliethoff B., Schüth F. e Lu. A.H. Shape e size controlled α -Fe₂O₃ nanoparticles as supports for gold-catalysts: Synthesis e influence of support shape e size on catalytic performance. **Appl. Catal., A** **364**, 42–47, 2009.

Webb J., Macey D. J., Chua-anusorn W. T. G., Pierre St., Brooker L. R., Rahman I. e Noller, B. Iron biominerals in medicine e the environment. **Coord. Chem. Rev.** 1199–1215, 1999.

Xiaojuan Y., Huaimin G. e Jiwei W. Surface-enhanced Raman spectrum of Gly-Gly adsorbed on the silver colloidal surface. **J. Mol. Struct.** **977**, 56–61, 2010.

Zaia D. A. M., Zaia C.T.B.V., e de Santana H. Which amino acids should be used in prebiotic chemistry studies? **Orig. Life Evol. Biosph.** **38**, 469–488, 2008.

Zhu G., Zhu X., Fan Q. e Wan X. Raman spectra of amino acids e their aqueous solutions **Spectrochim. Acta Part A** **78**, 1187–1195, 2011.

Zirchrom, The properties of amino acids were taken from the zirchrom database:<http://www.zirchrom.com/organic.htm>

Zysler R. D., Fiorani D., Testa A. M., Suber L., Agostinelli E. e Godinho M. Size dependence of spin-flop transition in hematite nanoparticles. **Phys. Rev. B** **68**, 212408 (1-4), 2003.

1 CONCLUSÃO GERAL

Uma das questões que tem preocupado o Homem é a natureza da vida. A vida não exprime uma fácil definição. As células que constituem um organismo existem porque elas possuem uma característica individualizada que as separam de um ambiente exterior, existindo uma seletividade para elementos de interesse. Então, as reações que originam a vida, se processam em um sistema protegido. A hipótese de Bernal de que, os minerais tiveram uma importante contribuição na origem da vida, reflete o pensamento de que reações poderiam ocorrer nas superfícies ou no interior de minerais, protegidas de ambientes extremos, o que levaria a quebra/degradação de moléculas mais complexas. Seguindo o raciocínio de Bernal, as reações entre moléculas orgânicas e minerais estariam simulando um ambiente primitivo de formação da vida. Nessa linha de pensamento, se pode considerar que as variáveis envolvidas no estudo de química prebiótica são dependentes (ambiente, complexidade, fluxos, etc) e não podem ser estudadas isoladamente.

Então, entender o ambiente de formação de um mineral, na presença de moléculas orgânicas é de tamanha relevância como descrito no capítulo VI. Os resultados desse capítulo mostraram que o ambiente não só alterou a síntese mineral como, também, alterou a sua morfologia. Também foi mostrado que existe a presença de peptídeos na superfície mineral e que esses foram formados na presença de uma solução salina, simulando a água do mar. Desse modo à presença desses tipos de minerais obtidos foram importantes para auxiliar a formação da ligação peptídica, uma vez que em água a formação dessa ligação não é favorecida.

Verificou-se que os minerais (zeólitas e montmorillonitas), capítulos III e V, foram capazes de adsorver moléculas orgânicas. O grau de interação entre moléculas orgânicas e minerais foi variável de acordo com cada característica individual do mineral. Então, existindo diferentes ambientes na Terra primitiva, seria possível que a presença de um determinado mineral favorecesse não só a formação de aminoácidos específicos às condições como também, a formação de organismos adaptados.

2 PERSPECTIVA PARA FUTUROS TRABALHOS

Futuramente, podem ser estudadas possíveis interações de moléculas orgânicas com os minerais, sintetizando o material em uma mistura de aminoácidos.

Um estudo utilizando várias composições de água do mar artificial (enfocando vários estádios da química prebiótica) na presença de minerais deverá, também, ser útil para avaliar a contribuição das fases minerais que poderiam ser formadas e aquelas solubilizadas, e a influência sobre a presença de determinados aminoácidos.

Também será útil o estudo de uma mistura de minerais, que poderiam contribuir diferentemente para a química prebiótica, como aqueles que são capazes de adsorver moléculas orgânicas e aqueles que são capazes de degradar essas mesmas moléculas.

APÊNDICE

1. Experimento para verificar o limite de detecção das bandas características dos aminoácidos em FT-IR e Raman.

Foi realizado um experimento para verificar o limite de detecção das bandas características dos aminoácidos em FT-IR e Raman.

Preparo das amostras

Para as amostras de aminoácidos mais o mineral foram feitas diluições para verificar a capacidade de detecção dos equipamentos. Foram preparadas amostras nas concentrações de 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18% de aminoácido em goethita. Uma massa 100 mg da goethita foi homogenizada com uma massa de aminoácido equivalente a 0,01 mol de aminoácido e a partir dessa mistura foram preparadas as demais concentrações.

Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros foram obtidos usando um FT-IR 8300 Shimadzu com pastilha de KBr, resolução espectral de 4 cm^{-1} e 95 scans de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros foram feitos com aminoácidos puros e em mistura com goethita. Uma massa de 10 mg das amostras mais 200 mg de KBr foram macerados e homogeneizados. Então 100 mg desse material macerado foi pesado e prensado para obter a pastilha. Os espectros foram analisados pelo programa Origin (5.0, 2001).

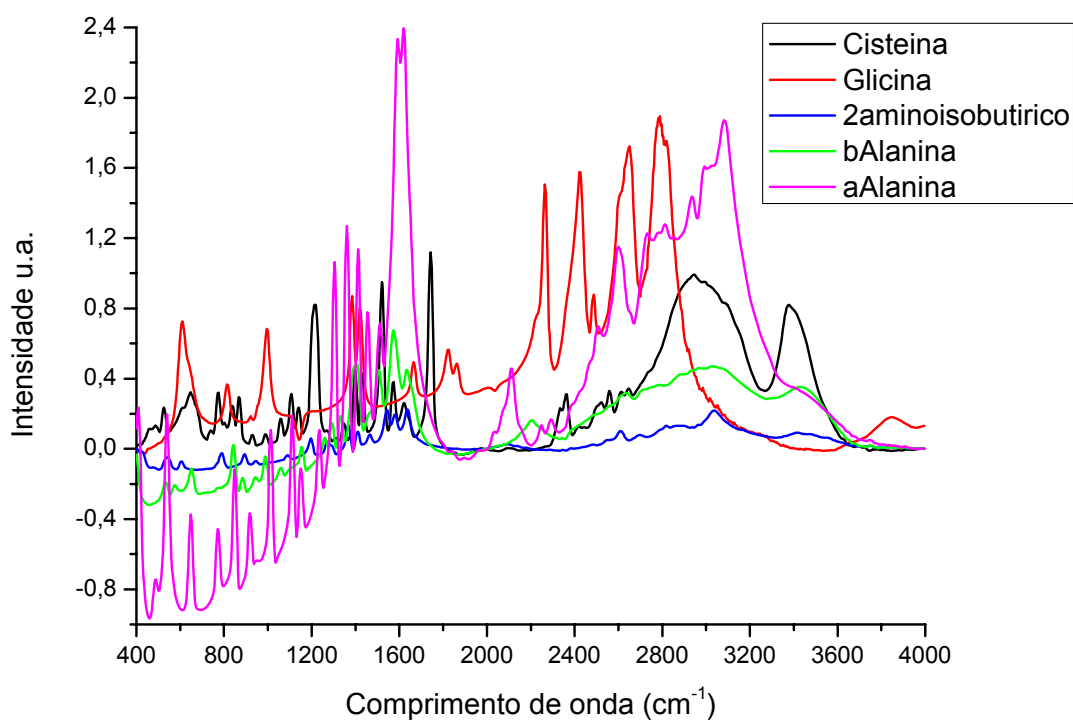
Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos das amostras 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18% usando um Raman Spectrometer DeltaNu com laser em 532 nm e resolução espectral de 8 cm^{-1} . O software DeltaNu's, foi usado para remover a fluorescência. Foi utilizado o coloide de borohidreto de sódio para o efeito SERS. Uma pequena quantidade de amostra foi colocada sobre uma paca de vidro e em seguida algumas gotas do coloide, a amostra foi homogeneizada até que obter uma pasta.

Resultados

No Gráfico 1 está apresentado o espectro de FT-IR para os aminoácidos puros utilizados nos experimentos da tese. Verificou-se que as bandas características dos aminoácidos são evidentes Quando os aminoácidos puros estão em pastilha de KBr. Dessa forma foi escolhida a Cisteína e a Glicina para verificar a capacidade de detecção das bandas características.

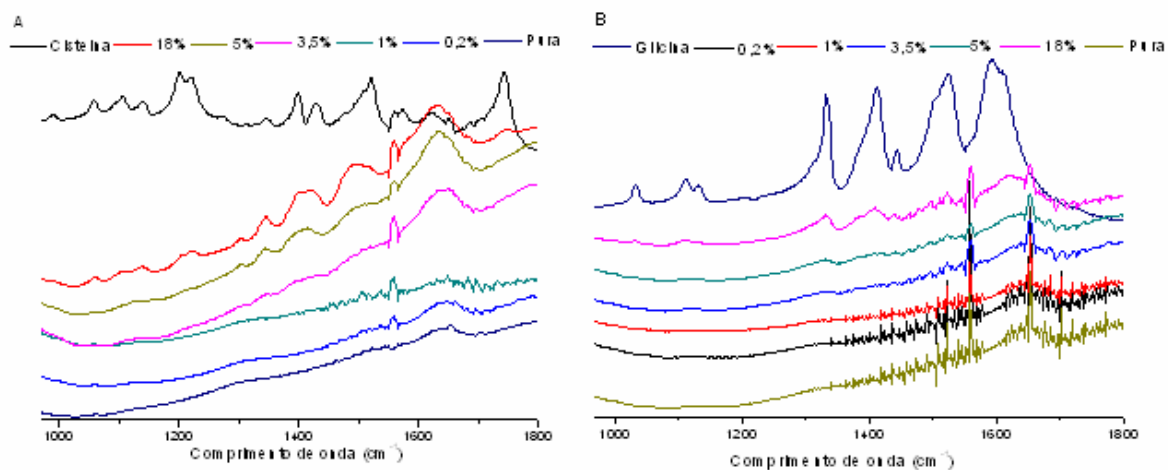
Figura 1 - Espectros de FT-IR para os aminoácidos puros em pastilha de KBr.



No gráfico 2 estão apresentados os espectros de infravermelho da Goethita pura, dos aminoácidos e das diluições dos aminoácidos em goethita, sendo 2a para a cisteína e 2b para a glicina. Observou-se que foi possível identificar as bandas

características dos aminoácidos somente até uma concentração máxima de 5% com ambos os aminoácidos.

Figura 2 - Espectro de FT-IR do experimento de diluição da cisteína (A) e glicina (B) em goethita. As concentrações de aminoácido em goethita são 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18%



No gráfico 3 estão apresentados os espectros Raman com efeito SERS da Goethita pura, dos aminoácidos e das diluições dos aminoácidos em goethita. Para os espectros Raman devido ao efeito SERS foi possível identificar e caracterizar as bandas dos aminoácidos em concentração maior que 1% no mineral.

Figura 3 - Espectro Raman do experimento de diluição da cisteína e glicina em goethita. As concentrações de aminoácido em goethita são 0,2; 1,0; 3,5; 5 e 18% .

