



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

PEDRO RENATO ANIZELLI

**INTERAÇÕES ENTRE BASES NITROGENADAS E  
ZEÓLITAS:  
UM ESTUDO FÍSICO QUÍMICO EM CONDIÇÕES  
PREBIÓTICAS**

---

Londrina  
2015

PEDRO RENATO ANIZELLI

**INTERAÇÕES ENTRE BASES NITROGENADAS E  
ZEÓLITAS:  
UM ESTUDO FÍSICO QUÍMICO EM CONDIÇÕES  
PREBIÓTICAS**

Tese de doutorado apresentado ao Departamento de química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de doutor em química.

Orientador: Prof. Dr. Dimas A. M. Zaia.

Londrina  
2015

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

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

A599i Anizelli, Pedro Renato.

Interações entre bases nitrogenadas e zeólitas : um estudo físico químico em condições prebióticas / Pedro Renato Anizelli. – Londrina, 2015.  
130 f. : il.

Orientador: Dimas Augusto Morozin Zaia.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2015.  
Inclui bibliografia.

1. Físico-química – Teses. 2. Zeólitos – Teses. 3. Reatividade (Química) – Teses. 4. Adsorção – Teses. 5. Química prebiótica – Teses. 6. Análise térmica – Teses. I. Zaia, Dimas Augusto Morozin. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. IV. Universidade Estadual do Centro-Oeste. V. Título.

CDU 541.1

PEDRO RENATO ANIZELLI

**INTERAÇÕES ENTRE BASES NITROGENADAS E ZEÓLITAS: UM  
ESTUDO FÍSICO QUÍMICO EM CONDIÇÕES PREBIÓTICAS**

Tese de doutorado apresentado ao Departamento de química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de doutor em química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Dimas A. M. Zaia  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Luis Otávio de Brito Benetoli  
Universidade Federal de Santa Catarina -  
UFSC

---

Prof. Dr. Antônio Carlos Saraiva da Costa  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Prof. Dr. Luiz Henrique Dall'Antonia  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Mariana Gava Segatelli  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 09 de junho de 2015.

Dedico este tese a minha mãe  
Maria Josefina Barzon Anizelli

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças para a realização desse trabalho.

Agradeço ao meu pai, Luiz Carlos Anizelli, ao meu irmão, Paulo Vinícios Anizelli e principalmente a minha mãe Maria Josefina Barzon Anizelli que vivenciaram toda a luta para a realização do sonho em se tornar doutor em química

Agradeço ao meu orientador Dimas Augusto Morozin Zaia não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade.

Ao professor Antônio Carlos Saraiva da Costa pela contribuição nos difratogramas de Raio-X, ao professor Eduardo di Mauro pela obtenção dos espectros de RPE e ao professor Henrique de Santana pela obtenção dos espectros Raman.

Aos colegas do laboratório de química prebiótica: João Paulo, Cristine, Ana Paula, Thiago, José Eduardo (Zé), Rodrigo, Lilian, Letícia, Sophia, Keoma, Thaís, Luiz, Beatriz.

Anizelli, Pedro Renato. Zaia, Dimas Augusto Morozin. Interações entre bases nitrogenadas e zeólitas: um estudo físico químico em condições prebióticas. Trabalho de Conclusão de doutorado em química. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## Resumo

As interações entre diferentes bases nitrogenadas como a adenina, timina, citosina e uracila com zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5 foram estudadas utilizando diferentes técnicas como FTIR, RPE, difratometria de raio-X e análise termogravimétrica. Os resultados mostraram uma maior adsorção em pH 2,00 para adenina e citosina, sobre a zeólita natural, onde interações eletrostáticas entre as bases de carga positiva, e a superfície da zeólita carregada negativamente foi a explicação para esses resultados. No caso da citosina, a adsorção foi maior em água ultrapura em relação a água do mar artificial 0,0 Ga e 4,0 Ga, porque a presença de sais, presentes nesses meios, competem com as bases nitrogenadas pelos sítios ativos do mineral. No caso da zeólita sintética Fe-ZSM-5 a adsorção de adenina foi dependente da razão Si/Fe e similar em água ultrapura e 4,0 Ga, exceto para F7. Os dados de FTIR mostram que a adsorção ocorre pelo grupo C=O da citosina e pelo grupo NH<sub>2</sub> da adenina. As análises térmicas mostraram que a presença da adenina na zeólita natural desloca um dos eventos de perda de massa para maiores temperaturas. Os dados de difratometria de raio-X mostram que a presença de adenina em água ultrapura em pH 8,00 exerce um efeito protetivo sobre a estrutura do mineral, pois após teste de adsorção não houve a dissolução da zeólita. Já presença de timina, uracila e citosina, nas mesmas condições, provocaram a dissolução da zeólita natural. Outro estudo de importância para a química prebiótica foram as alterações estruturais observadas na citosina e timina, exercida por condições de solução ácida ou básica que ocorriam na terra primitiva. A timina e citosina liofilizadas a partir da solução básica mostraram bandas características do ânion mesomérico devido a desprotonação das bases nitrogenadas. A citosina liofilizada a partir de solução ácida mostrou bandas características da citosina hidrociorada. Também, as águas do mar de diferentes composições salinas exerceram alterações importantes nessas moléculas. A interação da timina e citosina com diferentes águas do mar, cuja composição salina se assemelham as da água do mar de 4,0 bilhões de anos atrás, águas do mar de 3,2 bilhões de anos atrás e água do mar de composição salina atual mostraram que para a timina existe uma interação forte com Sr<sup>+2</sup> presente na água do mar artificial de 3,2 bilhões de anos e água do mar artificial hidrotermal de 3,2 bilhões de anos. Essas interações provocam alterações nos espectros Raman e infravermelho. Para a citosina ocorreu uma interação com diferentes cátions das diferentes águas do mar, pois ocorreu um deslocamento da banda característica do estiramento (C<sub>2</sub>-N<sub>1</sub>). Outra contribuição importante, para a química prebiótica, está na reatividade da timina e citosina, em reações de formação de nucleosídeos, que foram estudadas usando os parâmetros de nucleofilicidade e energia do orbital HOMO.

**Palavras-chave:** Timina, Citosina, Zeólita, Fe-ZSM-5, adsorção.

Anizelli, Pedro Renato. Zaia, Dimas Augusto Morozin. Interactions between nitrogenous bases and zeolites: a physical-chemical study in prebiotic conditions. Trabalho de Conclusão de doutorado em química. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## ABSTRACT

The interactions between different nitrogenous bases such as adenine, thymine, cytosine and uracil with natural zeolite and synthetic zeolite Fe-ZSM-5 was studied using different techniques, FTIR, EPR, X-ray diffraction and thermogravimetric analysis. The results showed a higher adsorption at pH 2.00 for adenine and cytosine, on the natural zeolite, and electrostatic interactions between the positive charge bases and the surface of the negatively charged zeolite was explanation for these observations. In the case of cytosine, adsorption was higher in ultrapure water than artificial seawater and 4.0 Ga 0.0 Ga because the presence of salts that, compete with the nitrogenous bases by the active sites of the mineral. In the case of synthetic zeolite Fe-ZSM-5, the adenine adsorption was dependent of Si/Fe ratio and was similar in ultrapure water and 4.0 Ga, except to F<sub>7</sub>. FTIR spectra show that the adsorption occurs by the C=O group of the cytosine and NH<sub>2</sub> group for adenine. Thermal analysis showed the presence of adenine shift the mass loss events for higher temperatures to natural zeolite and X-ray diffraction data showed that the presence of adenine in ultrapure water at pH 8.00 has a protective effect on structure of the mineral. The presence of thymine, cytosine and uracil under the same conditions, lead to dissolution of natural zeolite. Another study of importance to prebiotic chemistry were the structural changes observed in cytosine and thymine, due the acid or basic conditions that was present in the primitive earth. The thymine and cytosine lyophilized from basic solution showed characteristic bands of mesomeric anion due the deprotonation of nitrogenous bases. The lyophilized cytosine from acid solution showed characteristic bands of hydrochloride cytosine. In addition, the seawaters with different salt compositions exerted significant changes in these molecules. The interaction between thymine and cytosine with different seawaters, whose salt composition resemble those of seawater from 4.0 billion years ago, seawater from 3.2 billion years ago and seawater with current saline composition was studied. The results showed that in the case of thymine there is a strong interaction with Sr<sup>+2</sup> present in hydrothermal artificial seawater from 3.2 billion years ago and artificial seawater of 3.2 billion years ago. These interactions cause changes in Raman and infrared spectra. Cytosine interact with different cations of different seawaters, because occurred a shift of stretch band (C<sub>2</sub>-N<sub>1</sub>). Another important contribution to the prebiotic chemistry is the thymine and cytosine reactivity in nucleoside formation reactions, which were studied using the parameters like nucleophilicity and energy of the HOMO orbital.

**Key words:** Thymine, Cytosine, Zeolite, Fe-ZSM-5, adsorption.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Estrutura química das bases Nitrogenadas .....	21
<b>Figura 2 -</b>	Estruturas das zeólitas mordenita (a) vista a partir do plano [001] e ZSM-5 (b) vista a partir do plano [010].....	22
<b>Figura 3 -</b>	Estruturas da adenina (a), timina (b), uracila (c) e citosina (d) em diferentes pHs .....	23
<b>Figura 4 -</b>	Equilíbrio tautomérico da timina (a) e citosina (b).....	25
<b>Figura 5 -</b>	Interação de metais com a timina (a) e citosina (b) .....	26
<b>Figura 6 -</b>	Morfologia da mordenita (a) e ZSM-5 (b).....	30
<b>Figura 7 -</b>	Curva de adsorção pelo tempo da adenina em pH 2 em água ultrapura (----), água do mar 0,0 Ga (----) e água do mar 4,0 Ga (----).....	44
<b>Figura 8 -</b>	Espectro IV de a) Adenina b) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga; c) Adenina adsorvida em solução de água do mar atual; d) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura; e) zeólita natural; f) Deconvolução da adenina adsorvida em água ultra-pura.....	48
<b>Figura 9 -</b>	Mecanismo na adsorção de adenina e citosina por troca catiônica.....	51
<b>Figura 10 -</b>	Espectro IV de a) Citosina b) Citosina adsorvida em solução de água ultrapura; c) Citosina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga; d) Citosina adsorvida em solução de água mar atual; e) zeólita natural; f) Deconvolução da citosina adsorvida em água do mar 4,0 Ga.....	52
<b>Figura 11 -</b>	Gráfico de cinética de pseudo primeira ordem para a adsorção de adenina sobre zeólita natural em água ultrapura em pH 2 (a); Gráfico de cinética de pseudo segunda ordem para a adsorção de adenina sobre zeólita natural em água do mar 4,0 Ga em pH 2 (b); Modelo de dufusão intra partícula para a adsorção de adenina adenina sobre zeólita natural em água ultrapura em pH 2(c) .....	53
<b>Figura 12 -</b>	a) Curva TG e DTG de (----) zeólita natural tratada em água ultrapura em pH 2, (----), após teste de adsorção de citosina	

	em água ultrapura em pH 2 e (----) após teste de adsorção de adenina em água ultrapura em pH 2; <b>b)</b> Curva TG e DTG de (----) Citosina e (----) Adenina; <b>c)</b> Curva TG e DTG sob atmosfera de O <sub>2</sub> de (----) zeólita natural tratada em água ultrapura em pH 2, (----) após teste de adsorção de citosina em água ultrapura em pH 2 e (----) após teste de adsorção de adenina em água ultrapura em pH 2.....	54
<b>Figura 13 -</b>	Difratograma de raio-x da zeólita natural após teste de adsorção em água ultrapura em pH 2 (a) e pH 8 (b). Mor=mordenita, Mus=muscovtia, San=Sanidina, Lab=Labradorita e Alb=Albita.....	57
<b>Figura 14 -</b>	Curva de adsorção e desadsorção da ZSM-5 (----), Fext (----), F3 (----), F4 (----) e F5 (----).....	59
<b>Figura 15 -</b>	Espectro IV de a1) Adenina; a2) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura sobre a zeólita Fext; a3) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga sobre a zeólita Fext; a4) Zeólita ZSM-5 Fext e b1) Adenina; b2) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura sobre a zeólita F7; b3) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga sobre a zeólita F7; b4) Zeólita ZSM-5.....	60
<b>Figura 16 -</b>	Microscopia eletrônica de varredura da zeólita sintética ZSM-5 e da Fe- ZSM-5 com diferentes proporções de substituição isomórfica de ferro .....	62
<b>Figura 17 -</b>	Difratograma de raio-x da zeólita sintética Fe-ZSM-5 com diferentes proporções de ferro substituído isomorficamente, sem tratamento (---), após adsorção em água ultrapura em pH 4 (---) e água do mar 4,0 Ga em pH 4 (---) .....	64
<b>Figura 18 -</b>	Espectro RPE 298 K a-e) Fe-ZSM-5 sem tratamento (----), após teste teste de adsorção em água do mar artificial 4,0 Ga (----), após teste de adsorção em água ultrapura (----).....	66
<b>Figura 19 -</b>	<b>a)</b> Curva TG e DTG sob atmosfera de N <sub>2</sub> da zeólita F7 sem tratamento (----), após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (----) e após teste de adsorção de adenina em água do mar 4,0 Ga (----); <b>b)</b> Curva TG e DTG sob atmosfera	

	de N <sub>2</sub> da zeólita Fext sem tratamento (----), após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (----) e após teste de adsorção de adenina em água do mar 4,0 Ga (----).....	71
<b>Figura 20 -</b>	Espectro Raman: (a) da timina liofilizada; (b) timina liofilizada a partir da solução com pH 0,5; (c) timina liofilizada a partir da solução com pH 11,5 (d) deconvolução da região entre 1550 a 1750 da timina em solução .....	72
<b>Figura 21 -</b>	Estruturas da Timina em diferentes pHs (a) e o equilíbrio tautomerico cetamino e enol-imínio (b).....	75
<b>Figura 22 -</b>	Espectro FTIR da timina liofilizada (a), timina liofilizada a partir da solução com pH 0,50 (b) e timina liofilizada a partir da solução com pH 11,50 .....	76
<b>Figura 23 -</b>	espectros Raman: a1) timina liofilizado de água ultrapura; a2) sais liofilizado de água do mar artificial de 0 Ga; a3) solução liofilizada de água do mar artificial de 0 Ga mais timina; b1) timina liofilizado de água ultrapura, b2) sais liofilizado de água do mar artificial de 4,0 Ga; b3) solução liofilizada de água do mar artificial de 4,00 Ga mais timina; c1) timina liofilizado de água ultrapura; c2) sais liofilizado de água do mar artificial hidrotermais de 3,20 Ga; c3) solução liofilizada de água do mar hidrotermal de 3,20 Ga mais timina; d1) timina liofilizado de água ultrapura; d2) sais liofilizado de água do mar artificial de 3,20 Ga; d3) solução liofilizada de água do mar artificial de 3,20 Ga mais timina. A timina foi dissolvido em água ultrapura e águas do mar artificial a uma concentração de 1000 µg mL <sup>-1</sup> e 720 µg mL <sup>-1</sup> , respectivamente.....	78
<b>Figura 24 -</b>	Estruturas do complexo A e complexo B da timina .....	81
<b>Figura 25 -</b>	Espectro Raman: (a) da citosina liofilizada; (b) citosina liofilizada a partir da solução com pH 2,0; (c) citosina liofilizada a partir da solução com pH 12,5.....	82
<b>Figura 26 -</b>	Estruturas da citosina em diferentes pHs (a) e o equilíbrio tautomerico Ceto-amino e enol-imínio (b).....	85

<b>Figura 27 -</b>	Espectro FTIR da citosina liofilizada (a), citosina liofilizada a partir da solução com pH 2 (b) e citosina liofilizada a partir da solução com pH 12,50 .....	86
<b>Figura 28 -</b>	espectros Raman: a1) citosina liofilizado de água ultrapura; a2) sais liofilizado de água do mar artificial de 0 Ga; a3) solução liofilizada de água do mar artificial de 0 Ga mais citosina; b1) citosina liofilizado de água ultrapura, b2) sais liofilizado de água do mar artificial de 4,0 Ga; b3) solução liofilizada de água do mar artificial de 4,00 Ga mais citosina; c1) citosina liofilizado de água ultrapura; c2) sais liofilizado de água do mar artificial hidrotermais de 3,20 Ga; c3) solução liofilizada de água do mar hidrotermal de 3,20 Ga mais citosina; d1) citosina liofilizado de água ultrapura; d2) sais liofilizado de água do mar artificial de 3,20 Ga; d3) solução liofilizada de água do mar artificial de 3,20 Ga mais citosina. A citosina foi dissolvido em água ultrapura e águas do mar artificial a uma concentração de 1000 µg mL <sup>-1</sup> e 720 µg mL <sup>-1</sup> , respectivamente.....	88
<b>Figura 29 -</b>	Estruturas do complexo A e complexo B da uracila.....	91
<b>Figura 30 -</b>	Reação de formação do nucleosídeo entre a timina e a pentose (a) e citosina e pentose (b).....	92
<b>Figura 31 -</b>	Orbital HOMO das formas ceto-amino e enol-imínio da timina (a) e citosina (b).....	94
<b>Figura 32 -</b>	Fluxograma do ciclo auto consistente dos métodos HF e DFT.....	121
<b>Figura 33 -</b>	Curva de energia potencial (V) em função da distância internuclear (R) do oscilador harmônico (linha pontilhada) e oscilador anarmônico (linha cheia) .....	126
<b>Figura 34 -</b>	Modos normais de vibração da molécula de HCl (a) e H <sub>2</sub> O (b) .....	127
<b>Figura 35 -</b>	Mecanismo no espalhamento Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes .....	129
<b>Figura 36 -</b>	Espectro de absorção de RPE (a) e derivada do espectro RPE (b).....	130

**Figura 37 -** Espectro IV de a1) Timina adsorvida em água ultrapura em pH2; a2) Uracila adsorvida em solução de água ultrapura em pH 2; a3) Zeólita Natural; b1) Adenina adsorvida em água ultrapura em pH8; b2) Timina adsorvida em água ultrapura em pH8; b3) Citosina adsorvida em água ultrapura em pH8; b3) Uracila adsorvida em água ultrapura em pH8; b5) Zeólita natural.....131

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Concentração dos sais, pH e força iônica de cada água do mar artificial.....	36
<b>Tabela 2 -</b>	condições de síntese na preparação da Fe-ZSM-5. A relação Si□Fe para o gel foi 100 para todas as amostras .....	37
<b>Tabela 3 -</b>	Quantidade de bases nitrogenadas, em □g□mL, adsorvidas em zeólita natural.....	46
<b>Tabela 4 -</b>	Parâmetros obtidos a partir do estudo cinético na adsorção da adenina em pH 2.....	47
<b>Tabela 5 -</b>	Picos obtidos pela DTG das análises térmicas da zeólita após tratamento e após testes de adsorção da adenina e citosina em pH2 .....	49
<b>Tabela 6 -</b>	Minerais identificados em ordem decrescente de ocorrência nas zeólitas após tratamentos com Adenina, Timina, Citosina e Uracila em soluções de Águam Ultrapura, Água do Mar Atual e Água do Mar 4.0 Ga em pH 2 e 8 .....	51
<b>Tabela 7 -</b>	Fórmulas químicas, dados cristalográficos e capacidade de troca catiônica das fases indentificados na zeólita natural.....	55
<b>Tabela 8 -</b>	Quantidade de adenina, em □g□mL, adsorvidas em zeólita sintética ZSM-5 e parâmetros obtidos a partir da isoterma BET. O pH inicial foi ajustado para 4 .....	67
<b>Tabela 9 -</b>	Picos obtidos pela DTG das análises térmicas da zeólita após tratamento e após testes de adsorção da adenina em pH4 .....	70
<b>Tabela 10 -</b>	Atribuições dos números de ondas observadas no espectro Raman e infravermelho da timina comparada com outros trabalhos da Literatura .....	74
<b>Tabela 11 -</b>	Resultados teóricos para distância de ligação, estiramento da C2=O, C4=O e C5=C6 e energia relativa para a complexos da uracila com Na+, Mg+2, Ca+2 and Sr+2 em diferentes posições bidentadas.....	80

<b>Tabela 12 -</b>	Atribuições dos números de ondas observadas no espectro Raman e infravermelho da citosina comparada com outros trabalhos da literatura .....	83
<b>Tabela 13 -</b>	Resultados teóricos para distância de ligação, estiramento das ligações C2=O, C4=O e C5=C6 e energia relativa para a complexos da timina com Na <sup>+</sup> , Mg <sup>+2</sup> , Ca <sup>+2</sup> e Sr <sup>+2</sup> em diferentes posições bidentadas.....	90
<b>Tabela 14 -</b>	Carga sobre o nitrogênio nucleofílico e energia do orbital HOMO para as formas tautoméricas da timina e citosina e para as interações de menor energia dos metais com a base nitrogenada .....	95
<b>Tabela 15 -</b>	Conjunto de bases Gaussianas para elementos do primeiro e segundo grupo da tabela periódica .....	119

## LISTA DE ABREVIATURAS

0,0 Ga	Água do mar artificial de composição salina atual.
3,2 Ga superficial	Água do mar artificial de composição de 3,2 bilhões de anos superficial.
3,2 Ga hidrotermal	Água do mar artificial de composição de 3,2 bilhões de anos hidrotermal.
4,0 Ga	Água do mar artificial de composição salina de 4,0 bilhões de anos.
Alb	Albita.
BET	Isoterma de Brunauer-Emmett-Teller.
DFT	“Density Functional Theory”.
DTG	Derivada da curva termogravimétrica.
EDX	Fluorescência de raio-X.
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier.
HF	Método de Hartree-Fock.
HOMO	“Highest occupied molecular orbital”.
I	Força iônica do meio.
Lab	Labradorita.
LUMO	“Lowest unoccupied molecular orbital”.
MEV	Microscopia eletrônica de varredura.
Mor	Mordenita.
Mus	Muscovita.
PCM	“Polarization continuous model”
PCZ	Ponto de carga zero.
RPE	Ressonância paramagnética eletrônica.
San	Sanidina.
TG	Curva termogravimétrica.
u. a	Unidade atômica (Hartree)

## SUMÁRIO

1)	Introdução .....	17
1.1)	Origem da vida e adsorção de biomoléculas em minerais .....	17
1.2)	Bases nitrogenadas .....	21
1.3)	Zeólitas .....	25
1.3.1)	Identificação de zeólitas .....	28
1.4)	Estudo espectroscópico das bases nitrogenadas timina e citosina em diferentes condições prebióticas .....	30
2)	Objetivos.....	35
3)	Metodologia.....	36
3.1)	Adsorção de bases nitrogenadas sobre zeólita natural e zeólita sintética Fe- ZSM-5 .....	36
3.2)	Estudo espectroscópico das bases nitrogenada timina e citosina .....	41
4)	Resultados e discussão .....	43
4.1)	Adsorção de bases nitrogenadas em zeólita natural.....	43
4.1.1)	<i>Caracterização do material sem tratamento e após teste de adsorção.....</i>	43
4.1.2)	Resultados de adsorção das bases nitrogenadas sobre zeólita natural.....	50
4.1.1)	Cinética de adsorção.....	54
4.2)	Adsorção de adenina sobre zeólita sintética Fe-ZSM-5 .....	58
4.2.1)	Caracterização do material sem tratamento e após o teste de adsorção .....	58
4.2.2)	Resultados de adsorção de adenina sobre zeólita sintética Fe-ZSM-5 .....	69
4.3)	Estudo espectroscópico da base nitrogenada timina .....	72
4.3.1)	<i>Raman.....</i>	72
4.3.2)	<i>FTIR.....</i>	75
4.3.3)	<i>Interação da timina com sais das águas do mar.....</i>	77

4.3.4)	Cálculos teóricos .....	79
4.4)	Estudo espectroscópico da base nitrogenada citosina .....	81
4.4.1)	Raman .....	81
4.4.2)	FTIR .....	85
4.4.3)	Interação da citosina com sais das águas do mar.....	87
4.4.4)	Cálculos teóricos .....	89
4.5)	Reatividade da timina e citosina na reação de formação de nucleosídeos .....	91
5)	Considerações finais.....	96
	Referências bibliográficas.....	98
Anexo 1	.....	115
A.1)	Cálculos teóricos .....	115
A.1.2)	O método de Hartree-Fock.....	115
A.1.2)	Funções de base.....	117
A.1.2)	Teoria do funcional densidade ( <i>DFT – Density Functional Theory</i> ).....	120
A.1.2)	Modelo de Polarização contínua ( <i>PCM – polarization continuous model</i> ).....	123
Anexo 2	.....	125
A.2.1)	Espectroscopia vibracional no Infravermelho .....	125
A.2.2)	Espectroscopia vibracional Raman.....	128
A.2.3)	Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) .....	129
Anexo 3	.....	131
A.3)	Espectros FTIR da zeólita natura após teste de adsorção de timina e uracila em pH2 e adenina, timina, uracila e citosina em pH8 em água ultrapura.....	131

## 1) Introdução

O laboratório de química prebiótica do departamento de química, da Universidade Estadual de Londrina liderado pelo professor Dr. Dimas A. M. Zaia tem atuado no estudo de adsorção de biomoléculas como aminoácidos e bases nitrogenadas, sobre minerais. Dentre os trabalhos nessa linha destaca-se o estudo de adsorção de adenina e timina sobre zeólitas ZSM-5, Zeólita-Y e Zeólita-A (Baú e cols, 2012), estudo de adsorção de aminoácidos sobre zeólita beta, zeólita Y e mordenita (Carneiro e cols, 2011b) e estudo de adsorção de aminoácidos sobre a argila montmorillonita (Carneiro e cols, 2011a, Farias e cols., 2014). Recentemente outras vertentes foram adotadas no laboratório de química prebiótica, como a síntese de Goethita em condições prebióticas (Carneiro e cols, 2013) e estudo espectroscópico de aminoácidos e bases nitrogenadas também sob essas condições (Nascimento e cols, 2014, Anizelli e cols, 2014).

O trabalho de tese que será apresentado está relacionado ao estudo de adsorção de bases nitrogenadas sobre zeólita natural e sintética, e ao estudo espectroscópico das bases timina e citosina em diferentes condições prebióticas que existiam na terra primitiva. O estudo de adsorção de bases nitrogenadas em diferentes meios sobre zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5 são importantes, pois esses materiais estavam presentes na terra primitiva (Hazen e cols., 2008). Também, as condições nos testes de adsorção simularam aquelas que poderiam estar presentes na terra primitiva, como a composição salina da água do mar de quatro bilhões de anos e atual. Outro aspecto que levou a realização do presente trabalho é a interação das bases timina e citosina com diferentes sais e pHs, que simulam diferentes condições prebióticas, para avaliar como a reatividade e/ou estabilidade da molécula é afetada sob essas condições. Esse estudo foi auxiliado por cálculos computacionais para racionalizar os dados experimentais, e também entender a nível molecular alterações estruturais que a timina e citosina sofrem sob as condições mencionadas.

### 1.1) Origem da vida e adsorção de biomoléculas em minerais

Na década de 1920 Oparin e Haldane (Maia e Dias, 2010), desenvolvendo trabalhos paralelamente, propuseram que o surgimento da vida na terra teria ocorrido a partir de moléculas mais simples presentes na atmosfera primitiva como  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$ ,

H<sub>2</sub>O e H<sub>2</sub>. Em seguida Miller (1953) demonstrou que a partir dessas moléculas e descargas elétricas é possível a síntese de biomoléculas como aminoácidos. Mas, foi Bernal (1951) um dos primeiros a sugerir que os minerais tiveram um importante papel na pré-concentração de biomoléculas como carboidratos, aminoácidos, bases nitrogenadas, etc por adsorção para posterior catalise na formação de biopolímeros (peptídeos, nucleotídeos, polissacarídeos, etc) presente nos seres vivos. Essa hipótese está sob investigação experimental, onde são considerados ambientes químicos e geoquímicos, que se assemelham a Terra primitiva. Tendo em conta os prováveis tipos de minerais disponíveis na Terra primitiva, e a heterogeneidade das suas superfícies em ambientes naturais, a superfície desses materiais podem potencialmente ter fornecido uma interface para catálise, embora com baixa especificidade e eficiência (Cleaves e cols. 2012). Essa fonte de compostos orgânicos sintetizados na Terra é chamada de endógena, mas existe também a fonte exógena, onde os aminoácidos ou outras moléculas orgânicas sintetizadas em meios interplanetários/interstelares são fornecidos a Terra pela queda de meteoritos, cometas e poeira interestrelar (Zaia e cols., 2008).

No estágio inicial da Terra primitiva, provavelmente existiam cerca de 12 minerais, e durante no próximo estágio que ocorreu a cerca de 4,55 bilhões de anos surgiram cerca de 250 diferentes espécies minerais. O surgimento das primeiras bactérias procariontes como a eubactéria e arqueobactéria pode ter ocorrido por volta de 3 a 3,5 bilhões de anos (Cleaves, 2013). No estágio que ocorreu entre 4,55 a 2,5 bilhões de anos, mesmo período em que surgiram os primeiros organismos procariontes, a quantidade de minerais aumentou para 1500 devido a uma seqüência de processos geoquímicos e petrológicos, incluindo vulcanismo e desgaseificação, cristalização fracionada, assimilação, metamorfismo regional e contato, placas tectônicas e interações fluido rocha de grande escala (Hazen e Ferry, 2010).

A interação entre minerais e biomoléculas (como bases nitrogenadas) é de fundamental importância para entender possíveis processos na evolução química. Seguindo essa hipótese alguns artigos foram publicados na literatura (Orenberg e cols., 1985; Chan e cols, 1987; Lahav, 1994; Prabahar e Ferris, 1997; Ferris, 2002; Hashizume e cols, 2002; Benetoli e cols., 2007) demonstrando a capacidade de adsorção de biomoléculas em minerais.

Em um estudo com bases nitrogenadas foi observada a seguinte ordem de adsorção sobre montmorilonita em pH 2,00 e 7,00: adenina>citosina>timina>uracila (Carneiro e cols., 2011a). As adsorções de adenina ( $pK_{a1}=4,20$ ) e citosina ( $pK_{a1}=4,60$ ) foram maiores em solução ácida devido a interações eletrostáticas entre as bases nitrogenadas positivamente carregadas e o material, que em pH 2,00 possui carga negativa ( $pH_{pcz}=1,42$ ). O espectro de infravermelho fornece informações úteis sobre qual grupo funcional está interagindo com a superfície do material. Carneiro e cols (2011a) observaram que na adsorção da adenina em montmorilonita, o deslocamento da banda em 1603  $cm^{-1}$  característico do estiramento C=C (Mohamed e cols, 2009) para 1630  $cm^{-1}$ , indicando que a base nitrogenada interage com a argila por esse grupo. Em pH 4,00 foi demonstrado uma maior capacidade adsorptiva da citosina sobre a montmorilonita, em relação a adenina, indicando que moléculas protonadas menores interagem mais efetivamente com argilas (Sciascia e cols., 2011). Sobre  $TiO_2$  foi observada a mesma tendência com maior adsorção de adenina e citosina abaixo de pH 5,00 (Cleaves e cols. 2010).

A maior adsorção de adenina ( $pK_{a1}=4,20$ ) em relação a timina ( $pK_{a1}=0,00$ ), em pH 2,00, também foi observado sobre zeólita sintética ZSM-5 atribuído a interações eletrostáticas entre a adenina com carga positiva e a superfície do material com carga negativa (Baú e cols., 2012). Após a adsorção da base nitrogenada, os autores observaram um deslocamento da banda da adenina, no espectro de infravermelho, de 1673  $cm^{-1}$ , característico do “bending” do grupo  $NH_2$  (Mohamed e cols, 2009) para 1696  $cm^{-1}$ . No caso da timina foi observado um deslocamento da banda em 1677  $cm^{-1}$ , característico do grupo C=C (Zangh e cols, 1998), para 1683  $cm^{-1}$  e também o deslocamento da banda 1741  $cm^{-1}$ , atribuído ao grupo C=O (Zhang e cols, 1998), para 1722  $cm^{-1}$ . Esses dados sugerem que a adenina interage com a zeólita pelo grupo  $NH_2$  e a timina pelos grupos C=C e C=O (Baú e cols., 2012).

Fornaro e cols. (2013) observaram uma ordem de adsorção diferente (Adenina>Uracila>Citosina) sobre MgO em pH 10, sendo que as maiores adsorções de adenina e uracila também foram atribuídas a interações eletrostáticas, entre as bases nitrogenadas que possuem carga negativa nesse pH, e o material de carga positiva ( $pH_{pcz}=12$ ). Também foi relatado na literatura (Sowerby e cols. 2001) a adsorção de bases nitrogenadas sobre grafite que é um mineral que não possui carga. A ordem de adsorção observada (Guanina>Adenina>Timina>Citosina>Uracila) foi

devido a diferenças na solubilidade das bases em água. Uma base mais solúvel tende a permanecer em solução.

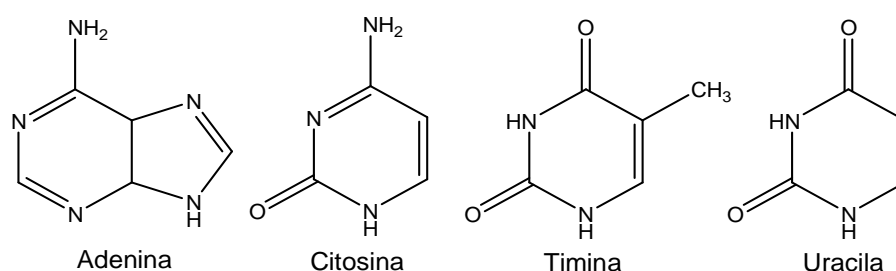
Em um estudo (Feuillie e cols, 2013) de adsorção de quatro 5'-monofosfato ribonucleotídeo como a Adenosina (AMP), Citidina (CMP), Uracila (UMP), Guanosina (GMP) e um 5'-monofosfato desoxirribonucleotídeo, guanosina (dGMP), sobre argilas, foi demonstrado que a nontronita adsorve em média duas vezes mais em relação a montmorillonita. Além disso, existem diferenças na adsorção das biomoléculas nas duas argilas. A ordem da quantidade relativa de nucleótidos adsorvidos sobre a nontronita é a seguinte:  $CMP < UMP < GMP < dGMP < AMP$ , que é ligeiramente diferente sobre a montmorillonita:  $CMP \cong UMP < GMP \cong AMP < dGMP$ . A quantidade do desoxirribonucleótido dGMP adsorvida é sistematicamente mais elevada do que o correspondentes ribonucleótido GMP, em ambas as argilas. Os autores também observaram uma dependência da acidez na adsorção, onde a diminuição do pH aumenta a adsorção das biomoléculas (Feuillie e cols, 2013).

Em estudos de adsorção de biomoléculas sobre minerais muitos dos trabalhos publicados na literatura não simulam de maneira adequada ambientes da Terra primitiva, como salinidade da água do mar. Estudos recentes sugerem que os oceanos primitivos eram 1,5 a 2 vezes mais salinos do que os atuais e os íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  não eram os principais componentes (Izawa e cols., 2010). Segundo Wilde e cols. (2001) existem evidências que os primeiros oceanos permanentes foram criados durante o último estágio de bombardeamento de meteoritos, entre 4,2 e 3,7 bilhões de anos.

Portanto, os minerais podem ter selecionado biomoléculas (como bases nitrogenadas), por adsorção, (**Figura 1**) e catalisado suas reações para formação dos nucleotídeos presentes no RNA e DNA. Diversos trabalhos publicados descrevem a formação de biomoléculas na superfície de minerais, sendo que os mais comumente estudados são a formação de peptídeos e polinucleotídeos (Ferris e cols., 1996; Zamaraev e cols., 1997; Hill Jr. e Orgel, 1999; Ferris, 2002; Matrajt e Blanot; 2004; Shanker e cols.; 2012). A adsorção também pode ter favorecido a síntese de bases nitrogenadas, em ambientes prebióticos, pela retirada das moléculas do equilíbrio químico favorecendo o deslocamento do mesmo no sentido dos produtos (Sowerby e cols., 2001).

## 1.2) Bases nitrogenadas

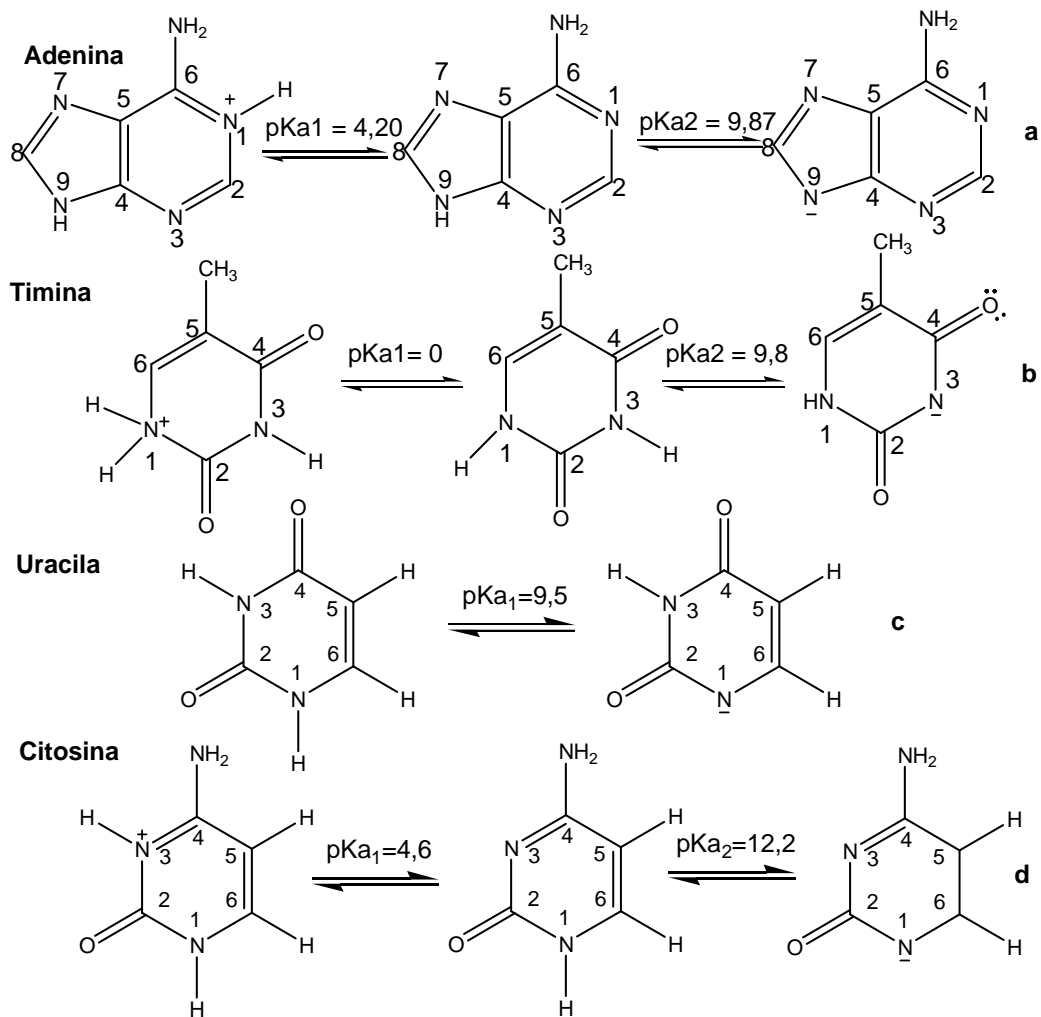
As bases nitrogenadas adenina, timina, citosina e uracila (**Figura 1**) são biomoléculas de grande importância para os seres vivos, pois estão presentes nos nucleotídeos que compõem o DNA e RNA. As interações de hidrogênio entre a adenina e uracila e citosina e guanina é a ligação que une uma das fitas do DNA a fita do RNA mensageiro na transferência de informação para a síntese de proteínas (Berg e cols, 2008).



**Figura 1:** Estrutura química das bases nitrogenadas

Um aspecto importante das bases nitrogenadas são os equilíbrios entre a forma neutra com a protonada e a forma neutra com a desprotonada, os quais dependem do pH do meio (**Figura 2**). Se o pH estiver abaixo do pKa1 da base nitrogenada, a molécula estará protonada e adquire carga positiva. A Figura 2 mostra os pKas das bases nitrogenadas e suas formas nos diferentes valores de pH (Christensen e cols, 1970a; Christensen e cols, 1970b). Como pode ser observado nas estruturas da figura 2, o nitrogênio 1 da adenina é o elemento que recebe o próton, e como consequência a carga positiva é localizada no grupo amino da base. Para a timina e citosina é o nitrogênio 1 e 3, respectivamente, que recebem o próton, e para essas moléculas a carga está localizada no grupo amino. Por outro lado, se o pH for maior que o pKa2 da base nitrogenada, as moléculas adquirem carga negativa, devido a desprotonação das moléculas. Para a adenina a retirada do próton ocorre a partir do nitrogênio 9, e a carga negativa está localizada no grupo amino. Para as demais bases nitrogenadas o próton é retirado do nitrogênio 3 da timina e 1 da uracila e citosina, e a carga negativa está localizada no grupo amido dessas moléculas (Christensen e cols, 1970a; Christensen e cols, 1970b). Conhecer como as bases nitrogenadas se comportam nos diferentes meios é importante em um processo de adsorção, pois este fenômeno pode depender de interações eletrostáticas entre as moléculas carregadas e a superfície

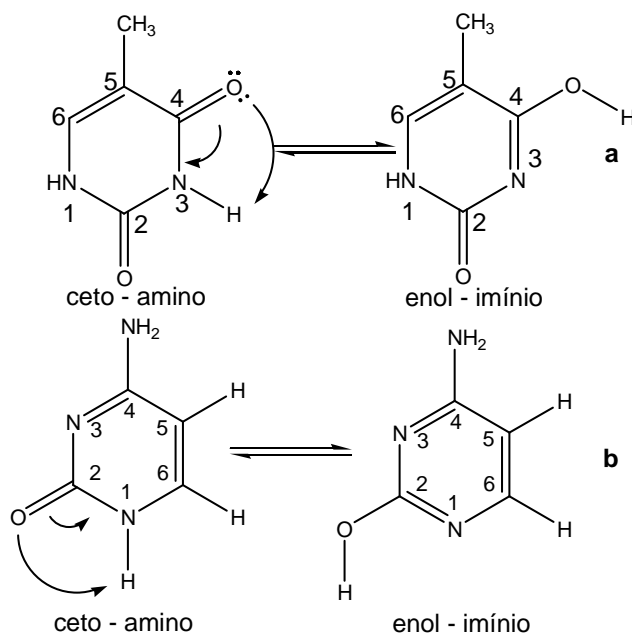
dos diferentes materiais que também possuem carga (Benetoli e cols., 2008; De Santana e cols., 2010; Carneiro e cols., 2011a; Baú e cols, 2012).



**Figura 2:** Estruturas da adenina (a), timina (b), uracila (c) e citosina (d) em diferentes pHs

Em valores de pH acima do  $\text{pKa}_2$  das bases nitrogenadas timina e citosina ocorre a desprotonação das moléculas (Christensen e cols, 1970a; Christensen e cols, 1970b). Como consequência, existem mais moléculas das bases nitrogenadas carregadas negativamente, pois ocorre um deslocamento do equilíbrio (Figura 2 – b e d) para o sentido da molécula com carga negativa. Ganguly e Kundu (1994) propuseram que a retirada do hidrogênio, pelos íons hidróxidos ocorre na hidroxila dos tautomêros enol-imínio da timina (Figura 3 – a) e citosina (Figura 3 – b), respectivamente. Isso ocorre, pois é energeticamente favorável devido a maior acidez

do hidrogênio da hidroxila em relação ao hidrogênio ligado ao nitrogênio 3 e 1 dos tautomêros cetó-amino das mesmas bases nitrogenadas.



**Figura 3:** Equilíbrio tautomérico da timina (a) e citosina (b)

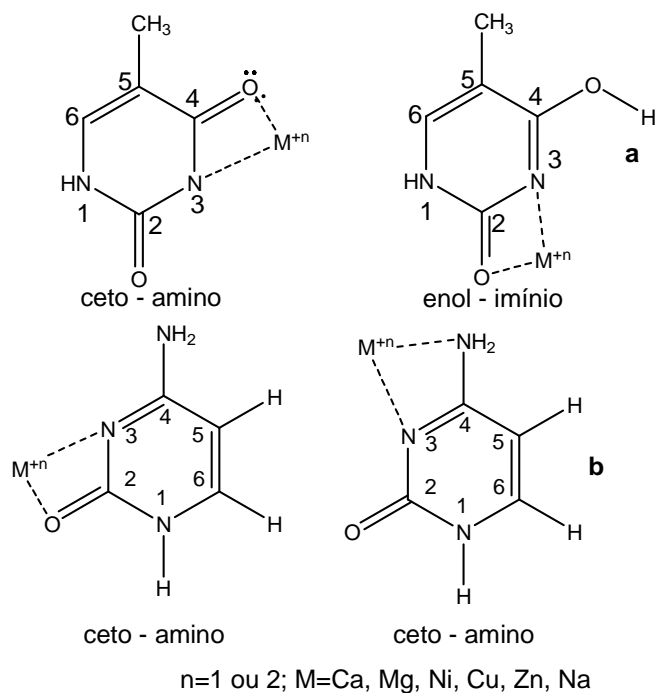
As bases nitrogenadas também podem estar em equilíbrio com diferentes formas tautoméricas. Tautomeria é um caso particular de isomeria em que dois isômeros estão em equilíbrio dinâmico, e cálculos tem auxiliado no estudo desse equilíbrio (Sathyabama e cols., 2009; Kobayashi, 2012; Rastov e Kobayashi, 2013.). Para um estudo a partir de cálculos teóricos é necessário definir o nível de teoria, no qual o cálculo será efetuado. Para isso define-se o método, que é o tratamento que será feito a função de onda e as funções de base, que descrevem os orbitais atômicos em uma combinação linear. O método e a função de base são separados por uma barra, onde primeiro é colocado o método e depois da barra a função de base (Foresman e Fisch, 1996). No anexo 1 estão demonstrados o formalismo de alguns métodos, algumas funções de base e uma metodologia para cálculos envolvendo o efeito do solvente.

Sathyabama e cols. (2009) demonstraram a partir de cálculos teóricos usando o nível de teoria MP2/6-311G(2d,2p) que a forma tautomérica mais estável da citosina é a cetó-amino, precedida da enol-imínio (**Figura 3 – b**). A energia relativa dessas

formas tautoméricas diminuem com a presença do solvente devido a estabilização da forma enol-imínio de maior polaridade, com o aumento da constante dielétrica do meio. Foi observado através de cálculos com o nível de teoria  $\omega$ B97XD/cc-pvTZ e B3LYP/cc-pvTZ a mesma ordem de estabilidade, onde o tautômero ceto-amino possui menor energia em relação a enol-imínio (Rastov e Kobayashi, 2013; Kobayashi, 2012). Os autores também observaram que a interação de cátions como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  ocorre preferencialmente na posição bidentada com o oxigênio da carbonila e o nitrogênio 3 no tautômero ceto-amino. Outra interação dos cátions com a citosina, mas menos favorável, ocorre com o nitrogênio 3 e o grupo  $\text{NH}_2$  no mesmo tautômero da citosina (**Figura 4 – b**). Entretanto, não foram demonstradas evidências experimentais das interações dos cátions com a citosina, para comprovar os resultados obtidos pelos cálculos. Outro trabalho (Kobayashi, 2012), utilizando outros níveis de teoria como MP2/cc-pvTZ e CCSD/cc-pvTZ obtiveram um resultado diferente com a forma enol-imínio sendo a mais estável.

A base nitrogenada timina também pode estar envolvida em um equilíbrio tautomérico entre as formas ceto-amino e enol-imínio (**Figura 5 – a**). A diferença de energia entre essas formas foi calculada usando o nível de teoria B3LYP/6-311+G(d,p) e o valor obtido foi 11,4 kcal/mol em favor do tautômero ceto-amino. Foi também estudado a barreira de energia na tautomerização através de cálculos de estado de transição. O valor obtido foi de 40,8 kcal/mol, mas é reduzido para 16,8 kcal/mol na presença de moléculas de água, devido a maior facilidade de transferência de próton ao oxigênio do carbono 4 e a retirada de próton do nitrogênio 3 pela molécula de água (Mejía-Mazariegos e Hernández-Trujillo, 2009).

A timina também possui uma tendência na interação com cátions. Yu e cols, (2012) propuseram que a interação de cátions divalente como  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$  ocorre preferencialmente entre os átomos de nitrogênio e oxigênio do tautômero ceto-amino da timina (**Figura 4 – a**). Rincón e cols (2007) também chegaram a mesma conclusão para cátions como  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$ , pois interagem preferencialmente com oxigênio ligado ao carbono 4 na forma ceto-amino. Porém, na enol-imínio a interação desses metais ocorre com o oxigênio ligado ao carbono 2 e o nitrogênio 3.



**Figura 4:** Interação de metais com a timina (a) e citosina (b)

### 1.3) Zeólitas

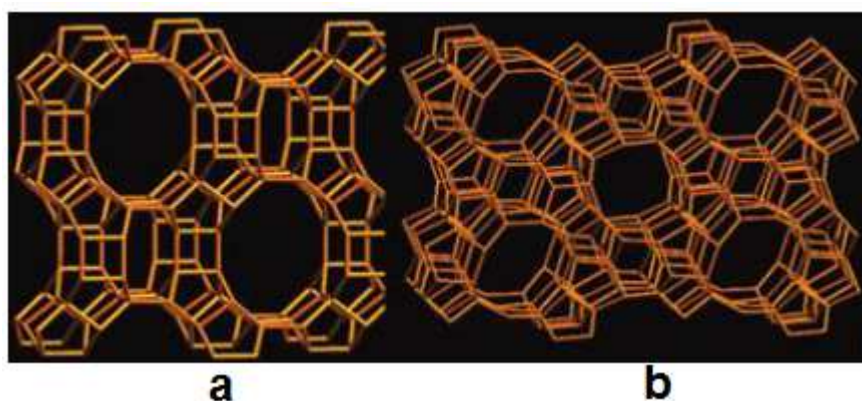
Zeólitas são tectossilicatos e incluem um largo grupo de aluminossilicatos hidratados consistindo de alumínio e silício tetracoordenados por átomos de oxigênio (Dinauer, 1982). São conhecidas como peneiras moleculares e estão entre os materiais mais antigos presente em nosso planeta, podendo ser encontrado em grandes quantidades em diversas regiões do mundo (Hazen e cols., 2008). Sua síntese ocorre em condições hidrotermais (Burton e Zones, 2007) e podem atuar como catalisadores em reações químicas.

Esses minerais são aluminossilicatos microporosos com arranjo periódico de gaiolas e canais como pode ser observado na Figura 5 para as estruturas da mordenita (a) e ZSM-5 (b). O grupo das zeólitas possuem a seguinte fórmula química idealizada:  $(Na_2, K_2, Ca, Ba, Sr, Mg)[(Al,Si)O_2]_n \cdot xH_2O$ . Por exemplo, a fórmula química da mordenita é  $(Na_2, K_2, Ca)_[(Al_2Si_{10})O_{24}] \cdot 7H_2O$  (Dinauer, 1982). Esses materiais são caracterizados quimicamente pela razão atômica  $O/(Al+Si) = 2$  e razão molecular de  $Al_2O_3/(Na_2, K_2, Ca, Ba, Sr, Mg)O=1$  (Dinauer, 1982).

As zeólitas apresentam pequeno diâmetro de poro (menor que 2 nm) e a difusão de muitas moléculas orgânicas para suas cavidades é limitada (Gonzalez-Olmos e cols, 2009). Foi demonstrado a adsorção preferencial do aminoácido leucina

na presença de fenilalanina sobre os materiais ZSM-5 e ZSM-11. Como essas zeólitas possuem pequeno volume de poro ocorreu somente a difusão da leucina que é uma molécula menor. Entretanto, com um mineral com maior volume de poro como a zeólita-Y foi observado um aumento na adsorção de fenilalanina, em pH 6,00 (Munsch e cols., 2001), pois nesse material o aminoácido pode se difundir em seus poros.

A característica de microporosidade que as zeólitas possuem conferem ao material uma alta área superficial, como foi relatado recentemente para a mordenita onde o mineral apresentou uma superfície BET de 339 m<sup>2</sup>/g (Narayanan e cols., 2015). A ZSM-5 sintetizada utilizando o hidróxido de tetrapropil amônio (TPAOH) e brometo de tetrapropil amônio (TPABr) como agentes direcionadores de estrutura apresentaram uma área superficial BET de 370 m<sup>2</sup>/g e 350 m<sup>2</sup>/g, respectivamente (Yaripour e cols., 2015).



**Figura 5:** Representação das zeólitas mordenita (a) vista a partir do plano [001] e ZSM-5 (b) vista a partir do plano [010]. Fonte: Carneiro e cols, 2011b.

Zeólitas possuem carga permanente negativa na extensão de pH de 0 a 14 (Lambert, 2008), devido a presença de alumínio (Al<sup>+3</sup>) tetracoordenado (Sposito, 1989). Portanto, uma importante propriedade desse mineral é a razão Si/Al que influencia na adsorção de compostos orgânicos. Zeólitas com alta razão Si/Al tendem a adsorver moléculas sem carga e zeólitas com baixa razão Si/Al tende a adsorver moléculas carregadas positivamente (Dinauer, 1982). Isso ocorre pois em um mineral a carga estrutural permanente depende da substituição isomórfica do material. Na zeólita, com a diminuição da razão Si/Al ocorre substituição de Si de nox +4 por Al de nox +3, ambos tetracoordenados. Como consequência ocorre um aumento na carga negativa na superfície do material, e uma maior afinidade por moléculas carregadas

como foi observado para as zeólitas ZSM-5 e Zeólita A em pH 2. A ZSM-5 possui uma menor razão Si/Al em relação a Zeólita A, e obteve maior afinidade pela adenina carregada positivamente no pH 2 (Baú e cols., 2012). Foi relatado na literatura que zeólitas naturais possuem uma baixa razão Si/Al e são materiais hidrofílicos, porém podem perder alumínio por lixiviação e como consequência se tornarem organofílicas (Lethbridge e cols, 2005, Horňáčková e cols., 2012).

Outro fator que altera a carga negativa na superfície de minerais é a carga líquida provocada por prótons, que é a diferença entre o número de mols de  $H^+$  e  $OH^-$  sobre a superfície do material. Com a diminuição no pH do meio a carga negativa tende a diminuir, devido a protonação de grupos silanóis ( $-Si-OH$ ) e aluminóis ( $-Al-OH$ ) na superfície do material (Sposito, 1989).

Outra característica importante nas zeólitas são os sítios ativos que esses minerais possuem. Foi demonstrado que em mordenitas sem tratamento sintetizada a baixas temperaturas, uma maior densidade de sítios ácidos de Brønsted favorece a adsorção através de ligações de hidrogênio entre os grupos  $Al-OH-Si$  e os grupos carboxílicos dos ácidos graxos, enquanto que as caudas apolares adsorvem sobre o grupo menos polar como  $Si-O-Si$ . A maiores temperaturas de tratamento, a mordenita se torna mais hidrofóbica, o que induz a adsorção das moléculas de ácidos graxos pela região menos polares (e menos ativa) da zeólita, com os seus grupos carboxílicos orientada para longe da superfície (Isernia, 2014).

As zeólitas naturais e sintética possuem uma variedade de aplicações. Por exemplo, foi demonstrado uma aplicação da zeólita natural clinoptilolita na remoção de corantes utilizados nas indústrias têxteis. Com uma concentração inicial dos corantes negro reativo 5, vermelho 239 e amarelo 176 de  $0,025 \text{ mg/cm}^3$  e uma concentração do material de  $50 \text{ mg/cm}^3$  a capacidade adsortiva, no equilíbrio, observada pelos autores foi de  $0,15-0,20 \text{ mg}$  por  $\text{g}$  de material ( $150 - 200 \text{ ppm}$ ) em pH 6,5 (Armağan e cols, 2003).

As zeólitas, como a beta e ZSM-5, apresentam uma aplicação importante na área de síntese, atuando como catalisador heterogêneo. Foi demonstrado o alto poder catalítico desse material em reações de alquilação de Friedel-Crafts, que são importantes em rotas sintéticas de cosméticos, corantes e fármacos (Kim e cols., 2014, Janardhan e cols., 2014). Em outro estudo (Caplan e cols., 2004) utilizando a zeólita Y como catalisador foi demonstrado alto rendimento e enantiosseletividade na

síntese de compostos carbonílicos  $\alpha$ -hidroxilados, que são intermediários importantes para a indústria farmacêutica. Outras aplicações de zeólitas na área de síntese foram descritos por outros autores, onde a presença do mineral no meio diminuiu o tempo de reação (Reddy e cols, 1992).

A substituição isomórfica de Si por outros elementos tetraédricos como  $B^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ti^{4+}$ ,  $Ga^{3+}$  e  $Fe^{3+}$ , em pequenas quantidades (3-4 % em peso) fornece materiais com propriedades catalíticas específicas em oxidações e reações de hidroxilação. A síntese da zeólita mordenita, em meio alcalino, com ferro substituído isomorficamente, chamado de Fe “framework”, com razão Si/Fe na faixa de 26,6-59,1 foi relatado na literatura (Aiello e cols. 2005).

A natureza hidrofílica/hidrofóbica pode ser modificada, na substituição isomórfica, pela adição de outros metais na estrutura da zeólita. Também a adição de metais trivalentes como  $B^{3+}$ ,  $Al^{3+}$  e  $Fe^{3+}$  cria sítios de ácidos de Lewis no material. No caso da ZSM-5, a ordem de acidez desse material com diferentes metais com  $nox +3$  é a seguinte:  $Ge-ZSM-5 < B-ZSM-5 < Fe-ZSM-5 < Al-ZSM-5$ . Devido ao maior diâmetro do Fe (0,064 nm) em relação ao Si (0,042 nm), a incorporação de ferro na estrutura do material é dificultada e Fe “extra-framework” pode ser formado na superfície da zeólita (Tuan e cols, 2000).

As zeólitas Fe-ZSM-5 preparadas por troca iônica ou síntese hidrotermal são utilizadas como catalisadores em processos oxidativos avançados (POA), como as reações Fenton, na redução de moléculas de corante, onde em pH 3,5 obteve-se a melhor atividade catalítica (Yaman e cols, 2013). Outra aplicação desse material está na redução de  $N_2O$ , um poluente causador do efeito estufa e nocivo a camada de ozônio, para um gás não nocivo como o  $N_2$  (Xiao e cols. 2013). Fe-ZSM-5 também mostrou alta atividade na conversão de  $NH_3$  e  $NO_x$ . Um material rico em  $Fe^{+2}$  facilita a redução de  $NO_x$ , que são emitidos por motores a diesel, para  $N_2O$  e um material com maior quantidade de  $Fe^{+3}$  é ativo na oxidação de  $NH_3$  (Shishkin e cols., 2013).

### 1.3.1) Identificação de zeólitas

Zeólitas podem ser identificadas e determinadas por algumas técnicas espectroscópicas como infravermelho, difratometria de Raio-X, e também por análise termogravimétrica. Outros métodos de caracterização incluem a microscopia

eletrônica de varredura (MEV) e a análise de superfície BET. A identificação e determinação das características das zeólitas é em alguns casos de difícil análise. Portanto, há a necessidade de combinações de duas ou mais técnicas para se obter uma identificação correta desse mineral (Dinauer, 1982).

### **a) Difratometria de Raio-X**

A difratometria de Raio-X é uma técnica para materiais cristalinos, que possuem um arranjo periódico que se repete sobre toda a estrutura do material. Devido a essa periodicidade existem planos que também se repetem sobre a estrutura, e quando uma radiação na região do Raio-X é incidida sobre a amostra, a mesma apresenta um padrão de difração. Diferentes zeólitas apresentam diferentes picos específicos, referente aos planos de difração na amostra, que caracteriza o material (Dinauer, 1982). Utilizando o cobre como fonte de radiação, a mordenita apresenta picos intensos em  $2\theta$  com valores em 11,4, 26,0, 29,9 (Piera e cols., 1998). Se um difratograma possuir esses planos, em  $2\theta$ , indica que a fase mordenita pode estar presente na zeólita.

### **b) Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)**

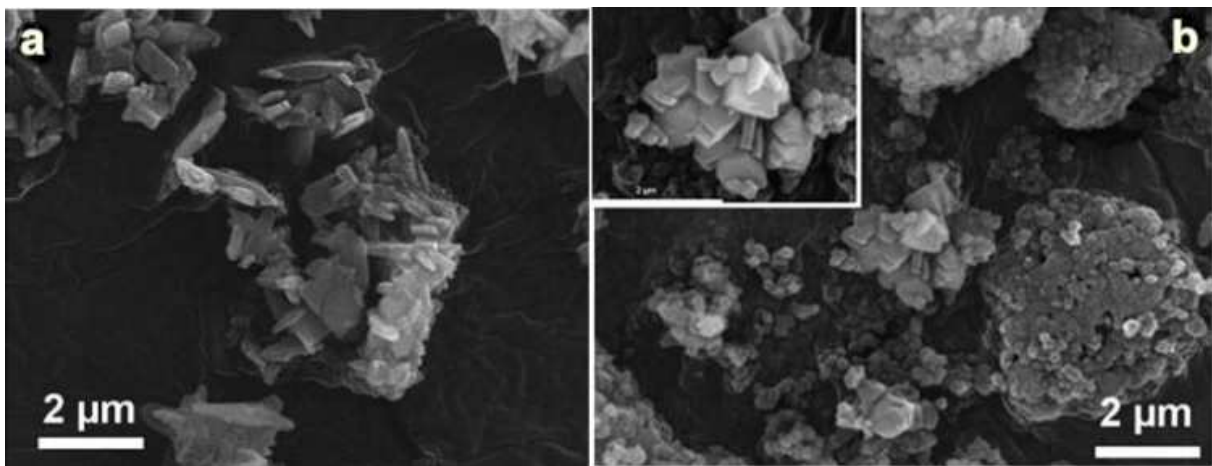
Outra técnica útil na identificação de zeólitas é a espectroscopia no infravermelho, pois fornece os grupos funcionais em uma amostra (Dinauer, 1982). As zeólitas apresentam forte absorção na região entre  $1200-950\text{ cm}^{-1}$  característico dos estiramentos assimétricos dos grupos Si-O-Si e Si-O-Al. A absorção na faixa de  $550-400\text{ cm}^{-1}$  é devido ao "bending" do grupo O-Si-O. Outras bandas ocorrem em 3750, 3650 e  $3550\text{ cm}^{-1}$  devido ao grupo OH, presentes nos silanois (-Si-OH) e aluminois (-Al-OH) na superfície do material (Dinauer, 1982). Também pode ocorrer uma banda na faixa de  $3700-1600\text{ cm}^{-1}$  devido a moléculas de água presente na zeólita (Castaldi e cols. 2005).

### c) Análise termogravimétrica (TGA)

Essa técnica mede mudanças na massa da amostra com o aquecimento. Zeólitas perdem água com o aquecimento, como a clinoptilolita que possui dois eventos de perda, um na faixa de 60-150°C, característico de água de hidratação fracamente ligada a zeólita (Castaldi e cols. 2005).

### d) Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia eletrônica tem sido uma ferramenta de trabalho utilizada pelos pesquisadores em várias áreas de concentração, uma vez que ela abrange um conjunto de técnicas que possibilitam a caracterização da morfologia do material, composição química e determinação da estrutura atômica, tanto de metais, cerâmicas e polímeros, como de espécimes biológicas. A utilização da microscopia eletrônica varredura vai depender do objetivo de cada observação (Dinauer, 1982). Na figura 6 estão representadas as morfologias das zeólitas mordenita e ZSM-5. Como pode ser observado a morfologia da mordenita são estruturas parecidas com bastonetes, e da ZSM-5 são estruturas esféricas (Carneiro e cols. 2011b).



**Figura 6:** Morfologia da mordenita (a) e ZSM-5 (b)

Fonte: Carneiro e cols. 2011b

### e) Isoterma Brunauer, Emmett e Taller (BET).

O método de adsorção de Brunauer, Emmett e Taller (BET) é o procedimento mais utilizado para a determinação da área superficial específica total. Quando um sólido é exposto a um gás ou vapor em um sistema fechado à temperatura constante, o sólido passa a adsorver o gás, ocorrendo assim um aumento da massa do sólido e um decréscimo da pressão do gás. O gás passa sobre uma amostra resfriada à temperatura do nitrogênio líquido (77K), sob pressões de até 2 atm e pressões relativas ( $P/P_0$ ) inferiores a 0,3. Após um determinado tempo, a massa do sólido e a pressão do gás assumem um valor constante e o  $N_2$  adsorvido fisicamente em cada pressão produz uma alteração na composição de saída, registrada por um detector de condutividade térmica (Somorjai, 1994). A quantidade de gás adsorvida pode ser calculada pela diminuição da pressão por meio da aplicação das leis dos gases ou pela massa de gás adsorvida pelo sólido. A quantidade de um adsorvato ( $N_2$ ) necessária para recobrir o material com uma monocamada é referente a superfície do adsorvente (Teixeira e cols, 2001).

Através de uma isoterma de adsorção é possível obter informações sobre a porosidade do material. O volume e diâmetro médio de poro é um importante parâmetro que influencia diretamente na adsorção. Testes de adsorção dos aminoácidos leucina e fenilalanina sobre as zeólitas ZSM-5 e ZSM-11 mostraram uma maior seletividade sobre a leucina, devido ao menor tamanho dessa molécula em relação a fenilalanina permitindo a difusão intra-partícula no material (Munsch e cols. 2001). Gonsales-Olmos e cols. (2009) observaram uma maior adsorção de MTBE sobre a zeólita Fe-beta em relação a Fe-ZSM-5, devido a diferenças no volume de poro dos materiais. A Fe-beta possui poro com dimensões maiores (0,65 nm x 0,56 nm e 0,65 nm x 0,75 nm x 0,57 nm) em relação a Fe-ZSM-5 (5,1 Å x 5,5 Å e 5,4 Å x 5,6 Å). A molécula de MTBE possui diâmetro de 0,62 nm e pode se difundir nos poros da Fe-beta.

#### 1.4) Estudo espectroscópico das bases nitrogenadas timina e citosina em diferentes condições prebióticas

O estudo vibracional de moléculas como bases nitrogenadas que estão presentes no DNA e RNA são de fundamental importância, pois pode auxiliar na compreensão dos processos envolvidos na adsorção desses compostos em minerais (Baú e cols., 2012; Fornaro e cols., 2013). Das ferramentas importantes, destacam-se as espectroscopias Raman e Infravermelho, pois a partir dessas técnicas pode ser possível obter informações estruturais valiosas que indicam como ocorre a adsorção (Benetoli e cols., 2008; De Santana e cols., 2010; Carneiro e cols., 2011a;). Os modos de vibração são sensíveis a alterações estruturais e através dessas técnicas também é possível obter informações sobre mudanças conformacionais (Freitas e cols., 2001; Ruiz-Chica e cols., 2004; Badawi, 2013), mudanças funcionais que ocorre em equilíbrios tautoméricos (Wierzchowski, 1965; Rivas, 2002) e alterações estruturais em diferentes valores de pH pela presença de grupos ácidos ou básicos em uma molécula (Florián e cols., 2006; Burova e cols., 2013).

A atribuição dos modos vibracionais das bases nitrogenada timina e citosina foram relatados em alguns trabalhos (Nishimura e Tsuboi, 1985; Mathlouthi e Seuvre, 1986; Zhang e cols., 1998; Singh, 2008), porém existem diferenças na interpretação de algumas bandas, principalmente na região entre 1000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Alguns artigos (Santamaria e cols., 1999; Szczepaniak e cols., 2000; Rastogi e cols., 2000) utilizando cálculos computacionais têm auxiliado na atribuição das vibrações na espectroscopia Raman e infravermelho. Porém, alguns métodos de cálculo podem fornecer valores subestimados em relação ao experimental, pois não descrevem corretamente características como fortes interações por ligações de hidrogênio, acoplamento vibracional e oligomerização da base nitrogenada (Šponer e cols., 2001; Šponer e cols., 2003).

Em solução básica, um estudo Raman (Rivas e cols., 2002) com a citosina demonstrou que devido a formação da molécula desprotonada ocorre o aparecimento de bandas devido aos grupos C=N, C=C e C-O em 1595, 1385 e 1290  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Isso ocorre devido a maior contribuição ao espectro do tautomêro enol-imínio pois o equilíbrio tautomérico (**Figura 5 – a**) é deslocado para a forma

desprotonada da timina. Os autores também observaram que a intensidade dessas bandas é aumentada variando o pH de 6 para 11 em amostras sólidas liofilizadas.

A timina também foi estudada a partir de espectroscopia vibracional obtido por cálculos teóricos (Chandra e cols. 1998). Com o nível de teoria B3LYP/6-311+G(d,p) foram obtidos espectros com moléculas de água interagindo em diferentes posições na base nitrogenada. Foi observado um alongamento das ligações C<sub>2</sub>=O, C<sub>4</sub>=O e N-H (**Figura 4 – b**) quando moléculas de água interagem com esses grupos deslocando para menores valores o número de ondas de estiramento em relação a timina livre.

Um estudo (Burova e cols, 2013) de espectroscopia Raman da citosina em solução com diferentes pHs mostrou que em solução ácida (pH 3) e em solução básica (pH 10) a forma tautomérica que mais contribui para o espectro é a ceto-amino (**Figura 3 – b**). Também, foi observado que em solução ácida existem bandas referentes ao cátion e em solução básica bandas referentes ao ânion (**Figura 2 – d**) devido a presença dessas formas nos pHs 3,00 e 10,00, respectivamente. Outro estudo (Florian e cols., 1996) de espectroscopia vibracional da citosina em pH 1,7, abaixo do pKa1 da base nitrogenada (Christensen e cols, 1970b), mostrou que a protonação da molécula ocorre preferencialmente no nitrogênio 3 (**Figura 2– d**). Os autores observaram que a banda devido ao estiramento C<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> em 1290 é deslocada para 1267 cm<sup>-1</sup> devido a um enfraquecimento dessa ligação na citosina protonada. Entretanto, ocorre um deslocamento para maiores números de ondas do estiramento C<sub>2</sub>=O atribuído a um aumento na constante de força dessa ligação.

Os sais, como o cloreto de sódio que têm uma função importante na pressão osmótica na membrana celular, provavelmente desempenharam um papel importante no processo de origem da vida. Alguns cátions bivalentes, tais como Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> e Fe<sup>+2</sup> presentes no oceano prebiótico podem ter precipitado algumas moléculas anfífilas, como ácidos graxos, e hidrolisado monômeros ativos que participaram na síntese de biopolímeros (Monnard e cols, 2002). O magnésio, que esteve presente em grandes quantidades na água do mar de quatro bilhões de anos (Izawa e cols., 2010), tem algumas funções importantes nos seres vivos como a estabilização de proteínas, bases nitrogenadas e membranas celulares através da ligação à superfície de biomolécula. Outra função importante é a contribuição do Mg<sup>+2</sup> na fotossíntese, uma vez que faz parte da clorofila (Holm, 2012). Esse cátion pode também ter catalisado reações importantes que contribuíram para o surgimento da vida como na reação na

formação de nucleosídeos, antecessores dos nucleotídeos presentes no RNA e DNA (Sheng e cols, 2009).

## 2) Objetivos

### Objetivos gerais

Estudar a adsorção de bases nitrogenadas em zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5 e realizar um estudo espectroscópico das bases nitrogenadas timina e citosina em diferentes ambientes prebióticos.

### Objetivos específicos

- Quantificar a adsorção de bases nitrogenadas, sobre zeólita natural e adenina sobre zeólita sintética na presença de água do mar.
- Estudar a interação de grupamentos presentes nas bases nitrogenadas com os sítios de adsorção da superfície da zeólita utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho.
- Estudar a cinética de adsorção da adenina sobre a zeólita natural.
- Estudar o efeito da presença de sais de água do mar e bases nitrogenadas, sobre o mineral, por técnicas de difratometria de raio-X e análise térmica.
- Estudar o comportamento espectroscópico da base nitrogenada timina e citosina em águas do mar que simulam diferentes condições prebióticas e diferentes valores de pHs.
- Realizar cálculos teóricos para sistematizar as interações entre as bases nitrogenadas e diferentes cátions divalentes e monovalentes presentes nas soluções de águas do mar.

### 3) Metodologia

#### 3.1) Adsorção de bases nitrogenadas sobre zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5

##### 3.1.1) Preparação das soluções de água do mar atual.

As águas do mar artificiais foram preparadas de acordo com a composição salina proposta por Zaia (2012). As adições de sais foram feitas na sequência mostrada pela Tabela 1, onde a mesma mostra a concentração dos sais e a força iônica de cada água do mar artificial calculada pela equação (McQuarrie e Simon, 1997):

$$I = \frac{1}{2} \sum Z_i^2 C_i \quad (1)$$

Sendo que Z e C<sub>i</sub> são a carga e a concentração dos íons em molL<sup>-1</sup> presente na solução.

**Tabela 1:** Concentração dos sais, pH e força iônica de cada água do mar artificial

Período	Concentração (mol L <sup>-1</sup> )	pH	I
0,0 Ga	[NaCl]=4,9 x10 <sup>-1</sup> ; [MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O]=2,0x10 <sup>-2</sup> ; [KBr]=8,7x10 <sup>-4</sup> ; [CaSO <sub>4</sub> ]=9,6x10 <sup>-3</sup> ; [K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]=4,8x10 <sup>-3</sup> ; [H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ]=8,6x10 <sup>-4</sup> ; [MgSO <sub>4</sub> ]=1,5x10 <sup>-2</sup> ;	6,88	0,80
3,2 Ga superficial	[CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O]=2,3x10 <sup>-1</sup> ; [MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O]=5,1x10 <sup>-2</sup> ; [KBr]= 2,3x10 <sup>-3</sup> ; [NaCl]=3,4x10 <sup>-1</sup> ; [KI]= 3,6x10 <sup>-5</sup> ; [NH <sub>4</sub> Cl]=5,1x10 <sup>-3</sup> ; [SrCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O]=4,5x10 <sup>-3</sup> ; [Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]=2,3x10 <sup>-3</sup>	6,38	1,2
3,2 Ga hidrotermal	[NaCl]=6,3 x10 <sup>-1</sup> ; [KBr]= 2,6x10 <sup>-3</sup> ; [KI]= 6,0x10 <sup>-5</sup> ; [NH <sub>4</sub> Cl]=1,1x10 <sup>-2</sup> ; [SrCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O]=1,5x10 <sup>-4</sup> ; [CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O]=2,4x10 <sup>-3</sup> ; [KOH]=1,9x10 <sup>-2</sup> ; [NaOH]=5,0x10 <sup>-3</sup> ;	12,01	0,68
4,0 Ga	[Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]=1,9x10 <sup>-3</sup> ; [MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O]=2,5x10 <sup>-3</sup> ; [CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O]=1,7x10 <sup>-2</sup> ; [KBr]= 4,2x10 <sup>-4</sup> ; [K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]=2,3x10 <sup>-3</sup> ; [MgSO <sub>4</sub> ]=1,2x10 <sup>-1</sup> ;	5,69	0,53

### 3.1.2) Preparação da zeólita Fe-ZSM-5

As zeólitas sintéticas foram cedidas pelos professores Joaquim Coronas e Clara Casado da Universidad de Zaragoza. A  $F_{ext}$  foi preparada por agitação de 1,446 g da zeólita ZSM-5 com uma solução de 2% em massa de  $Fe^{+3}$ . O tempo de agitação foi 2 horas na temperatura ambiente, em pH 2,5.

**Tabela 2:** condições de síntese na preparação da Fe-ZSM-5. A relação Si/Fe para o gel foi 100 para todas as amostras.

Amostra	Agitação		Volume gel (mL)	Autoclave	pH	Massa (g)	Si/Fe
	T(°C)	Tempo (h)		Tempo (h)			
$F_{ext}$	25	2	50	-	1,1	1,45	
$F_3$	25	1	35	72	-	0,32	4,63
$F_4$	25	24	70	48	10,75	0,45	5,30
$F_5$	25	24	70	48	-	0,50	10,37
$F_6$	60	24	70	48	-	0,44	12,38
$F_7$	60	24	70	48	-	0,34	18,24

A preparação da demais zeólitas Fe-ZSM-5 foi realizada pelo método de substituição isomórfica descrito por Tuan e cols (2000). O gel foi preparado a partir da mistura de sílica sol (Ludox AS40) como fonte de silício e hidróxido de tetrapropilamônio (TPAOH) como agente direcionador de estrutura, para posterior adição de nitrato de ferro ( $Fe(NO_3)_3$ ). A composição do gel foi: 1,5TPAOH:19,5SiO<sub>2</sub>:0,195Fe<sup>+3</sup>:438H<sub>2</sub>O, com razão Si/Fe de 100 para todas as amostras. Posteriormente, foi variado a temperatura e tempo de agitação na formação do gel, conforme mostra a Tabela 2, antes da introdução no autoclave, para a síntese hidrotermal. A temperatura do autoclave foi mantida em 185 °C para todas as amostras. A razão Si/Fe obtida após o término da síntese, ficou entre 4,63 a 18,24 determinado por EDX.

### 3.1.3) Adsorção das bases nitrogenadas sobre zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5

A zeólita natural foi doada pela blue pacific minerals sendo que foi coletada na região Rotorua/Taupo, Ngakuru na Nova Zelândia. A caracterização do material foi feita utilizando difratometria de Raio-X, análise térmica e infravermelho (FTIR).

As bases nitrogenadas (Adenina (A), Citosina (C), Timina (T) e Uracila (U)), foram dissolvidas em água do 0,0 Ga, 4,0 Ga e água ultrapura em pH 2,00 e 8,00 na concentração de 720 µg/mL. Cada solução (5 mL) foi adicionada em dois tubos contendo 100 mg de zeólita natural e as amostras foram agitadas por 24 h. Posteriormente, foram centrifugadas durante 15 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a quantificação das bases por espectrofotometria no UV e o sólido foi liofilizado para ser utilizado nas análises espectroscópicas.

Para os testes de adsorção na zeólita sintética, a base nitrogenada adenina (A) foi dissolvida em água do mar de 4,0 Ga e em água ultrapura em pH 4,00 na concentração 720 µg/mL. Cada solução (1 mL) foi adicionada em um tubo Ependorf contendo 20 mg de zeólita sintética e as amostras foram agitadas por 24 h. Posteriormente, foram centrifugadas durante 15 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a quantificação da adenina por espectrofotometria no UV e o sólido foi liofilizado para ser utilizado nas análises espectroscópicas.

### 3.1.4) Espectrofotometria UV/VIS

As absorbâncias das bases nitrogenadas foram obtidas por um espectrofotômetro Shimadzu UV/VIS utilizando como máximo de absorção os comprimentos de onda em 265 nm para a adenina, 260 nm para a timina, 258 nm para a uracila e 267 nm para a citosina. Esses valores foram escolhidos, pois foram os máximos de absorção em uma varredura de 200 a 600 nm, das soluções de diferentes bases nitrogenadas na concentração de 720 µg/mL. A seguinte equação foi utilizada para calcular a quantidade adsorvida na zeólita:

$$C_{adsorvido/\mu g} = (C_{inicial} - C_{solução}) \quad (2)$$

$$onde, C_{solução} = [(C_{inicial})(Abs_{amostra}/Abs_{inicial})]$$

### 3.1.5) Isoterma BET

A área superficial específica total Brunauer, Emmett, and Teller (BET) das zeólitas Fe-ZSM-5 foram obtidas pela adsorção de gás nitrogênio N<sub>2</sub> com o equipamento Micromeritics Tristar 3000. Foram pesadas as seguintes massas para cada zeólita: 0,1721 g para F<sub>ext</sub>, 0,2139 g para F<sub>3</sub>, 0,1958 g para F<sub>4</sub>, 0,1718 g para F<sub>5</sub>, 0,1859 g para F<sub>6</sub> e 0,1959 g para F<sub>7</sub>. Antes da obtenção da isoterma BET, as amostras foram desgaseificadas durante 8 horas a 200 °C sob vácuo. A área superficial específica foi obtida através de dados experimentais de adsorção de N<sub>2</sub> e pelo gráfico  $P/v(P_0-P)$  versus  $P/P_0$ :

$$\frac{P}{v(P_0-P)} = \frac{1}{v_m \cdot C} + \frac{(C-1)P}{C \cdot v_m \cdot P_0} \quad (3)$$

onde, P<sub>0</sub> é a pressão padrão (1 atm), P é a pressão medida após a adsorção de um determinado volume de gás, v é o volume de gás N<sub>2</sub> adsorvido na pressão P e v<sub>m</sub> é o volume para formar uma monocamada de gás adsorvido.

### 3.1.6) Análise térmica

A curva DTG das amostras liofilizadas foram obtidas a partir de um equipamento Perkin-Elmer TGA 400, com scan de 50 a 900 °C com razão de aquecimento de 10 °C/min, fluxo de nitrogênio de 20 mL/min utilizando 20 mg de amostra. Para a análise em atmosfera oxidante foi utilizado as mesmas condições com um fluxo de oxigênio de 20 mL/min.

### 3.1.7) Infravermelho (FTIR)

O espectro no infravermelho médio (4000-400 cm<sup>-1</sup>) das amostras liofilizadas foram obtidos a partir de um espectrômetro Shimadzu 8300, com 98 scans e resolução de 4 cm<sup>-1</sup> utilizando pastilhas de KBr. O espectro de FT-IR foi analisado utilizando o programa Origin (8.0, 2007).

### 3.1.8) Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As análises de RPE foram realizadas em um espectrômetro JEOL (JES-PE-3X), operando em banda-X (9,5 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 2500 e modulação de 20 Gauss. Para a calibração do campo magnético para determinar com maior precisão os fatores espectroscópicos (valores de  $g$ ), foi utilizado um padrão de DPPH não associado com as amostras.

O fator  $g$  de cada linha das amostras foi calculado usando a seguinte equação:

$$g_2 = \frac{g_1 B_1}{B_2} \quad (4)$$

onde,  $g_1$  representa o valor do DPPH ( $g_1=2,0$ ),  $B_1$  e  $B_2$  representam os valores do campo do centro de linha do DPPH e da amostra, respectivamente.

### 3.1.9) Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens MEV da zeólita natural e sintética Fe-ZSM-5 foram obtidas em um Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Philips Quanta 200 (FEI) SEM, equipado com energia dispersiva raio-X (EDX), modelo INCA 200 a 30 keV, no laboratório de microanálise da UEL (Universidade Estadual de Londrina). As amostras foram fixadas em "stubs" com fita adesiva de carbono e, em seguida, revestido com uma camada de ouro de espessura de 30 nm.

### 3.1.10) Difratometria de Raio-X

As amostras foram analisadas em lâminas não orientadas, na forma de pó. Os difratogramas foram obtidos em um equipamento Shimadzu, modelo XRD 6000, utilizando-se radiação  $\text{CuK}\alpha$  e  $\text{CoK}\alpha$  com filtro de níquel, operando a 30 mA e 40 kV, numa varredura escalonada de  $0,02^{\circ}$  ( $2\theta$ ) por 0,6 segundos e amplitude de  $5$  a  $65^{\circ}$  ( $2\theta$ ). Para as análises de zeólita natural foram utilizados 100 mg de amostra e para as zeólitas sintéticas Fe-ZSM-5 20 mg de amostra.

### **3.1.11) Estudo cinético**

O estudo cinético da zeólita natural foi realizada com adenina na concentração de 720 µg/mL, em água ultrapura no pH 2,0 na temperatura de 25°C. Cada ponto foi feito em triplicata utilizando 100 mg de zeólita natural e 5 mL da solução de adenina. A mistura foi mantida sob agitação e a quantidade adsorvida foi medida depois de 0,5 min., 1,0 min., 2,0 min, 4,0 min., 8 min., 15 min., 30 min., 60 e 120 min.

### **3.1.12) Teste estatístico**

Para comparação das médias obtidas, para os diferentes testes de adsorção foi utilizado o teste estatístico de Tukey a 5% de propabilidade de erro utilizando o software SISVAR.

## **3.2) Estudo espectroscópico das bases nitrogenada timina e citosina**

### **3.2.1) Preparo das soluções de timina e citosina em diferentes pHs e águas do mar**

As amostras de timina e citosina foram compradas da Acros e Fluka, respectivamente, usadas sem qualquer tratamento. Foram preparadas três soluções de timina e citosina na concentração 1000 µg mL<sup>-1</sup> e em duas soluções o pH foi ajustado para 0,50 e 11,50 para timina e 2,00 e 12,50 para citosina, com soluções de HCl e NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. As soluções sem ajuste e com ajuste de pH foram congeladas e liofilizadas. Foram preparados 50 mL das soluções de timina e citosina na concentração de 720 µg /mL nas soluções artificiais de água do mar atual, de 3,2 Ga, hidrotermal de 3,2 Ga, de 4,0 Ga e em água ultrapura. Posteriormente essas soluções foram congeladas e liofilizadas. Foi escolhida essa técnica de extração do solvente, pois a mesma preserva a estrutura molecular dos compostos em solução. Os sólidos obtidos foram analisados por espectroscopia Raman e infravermelho. Uma descrição teórica de ambas as técnicas está no anexo 2.

### 3.2.2) Detalhes computacionais

As otimizações de geometrias e os cálculos de número de onda da timina foi realizada utilizando a teoria DFT empregando o funcional híbrido B3LYP (Becke, 1988; Lee e cols., 1988; Becke, 1993) e o conjunto de base aug-cc-pVDZ para os elementos C, N e O (Dunning et al. 1998) e a função de base 3-21 G para os elementos Sr, Ca, Mg e Na (Binkley e cols., 1980). Para a citosina foi utilizando o funcional B3LYP (Becke, 1988; Lee e cols., 1988; Becke, 1993) e o conjunto de base aug-cc-pVDZ para os elementos C, N, O, Na e Mg (Dunning et al. 1998) e a função de base 6-31 G para o elemento Ca e 3-21 G para o Sr (Binkley e cols., 1980), com o programa Gaussian03 (Frisch et al. 2004). A otimização de geometria envolve a localização de um ponto mínimo de energia para a molécula em uma superfície de energia potencial. Foram observadas a ausência de número de ondas negativas nas otimizações de geometria das bases nitrogenadas, que caracteriza o mínimo de energia para as moléculas estudadas. Para considerar o efeito do solvente foi utilizado o método PCM (Polarization Continuos Model) com a constante dielétrica da água (Tomasi e cols., 1999).

### 3.2.3) Infravermelho (FTIR)

O espectro no infravermelho médio ( $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ) das amostras liofilizadas foram obtidos a partir de um espectrômetro Shimadzu 8300, com 98 scans e resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  utilizando pastilhas de KBr preparada pela masseração do sal com 5% em peso da amostra. O espectro de FTIR foi analisado utilizando o programa Origin (8.0, 2007).

### 3.2.4) Espectroscopia Raman

Os espectros de Raman foram obtidos a partir de amostras sólidas com um espectrógrafo micro Raman (DeltaNu Advantage) com uma linha de laser em 532 nm e quatro  $\text{cm}^{-1}$  de resolução. Espectros Raman foram analisados através do Origin programa (8.0, 2007).

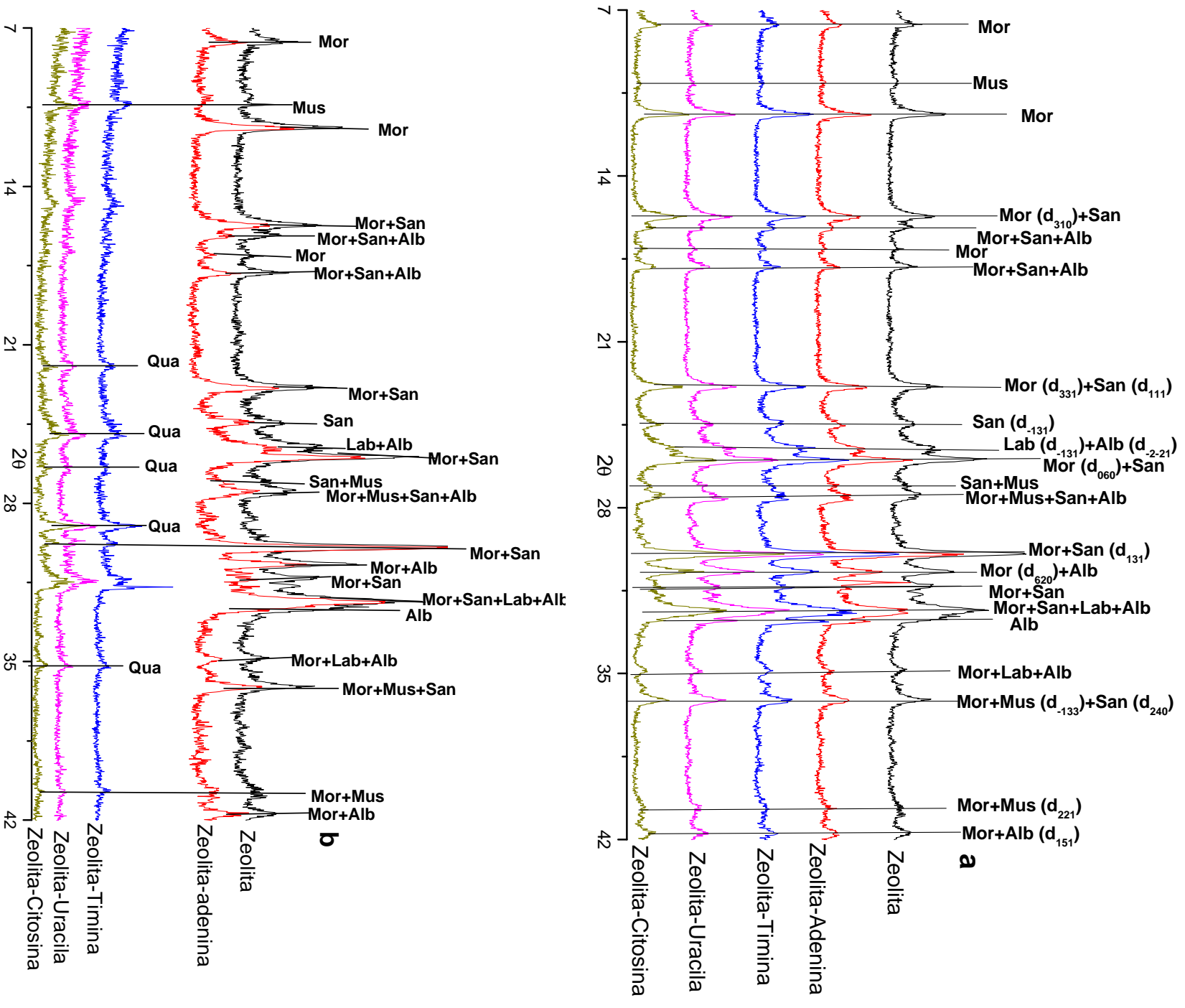
## 4) Resultados e discussão

### 4.1) Adsorção de bases nitrogenadas em zeólita natural

#### 4.1.1) *Caracterização do material sem tratamento e após teste de adsorção*

A Figura 7 mostram os difractogramas de raio-X da zeólita sem tratamento e após testes de adsorção com adenina, timina, uracila e citosina em água ultra-pura nos pHs 2,00 e 8,00. Também estão presentes alguns planos basais das fases presentes no mineral. Na Tabela 3 estão a ordem das fases obtidas para os diferentes tratamentos pelas análises dos difratogramas de raio-X e na Tabela 4 a fórmula química e os dados cristalográficos das fases identificadas. Como pode ser observado o difratograma de Raio-X mostra que a zeólita natural é composta por cinco fases, como a mordenita (Piera e cols.1998), onde os planos basais estão rotulados como Mor, muscovite (Santos e cols. 2.011) rotulado como Mus, sanidina (Anbalagan e cols., 2009) rotulado como San, labradorita (Lab) e albita (Alb), onde esses três últimos são da classes dos feldspatos.

Os produtos finais de uma cristalização de magma, conhecidas como rochas ígneas contêm minerais de muitos tipos. Bowen (Cazeau, 1976) estudou a cristalização artificial de magmas, e observou que diferentes minerais cristalizam em diferentes temperaturas. Considerando apenas as fases presentes na zeólita natural, com a diminuição da temperatura, segundo os estudos de Bowen, os feldspatos são formados primeiros, posteriormente a muscovita e por fim o quartzo. A ordem de estabilidade para esses minerais é a seguinte: Quartzo>muscovita>Feldspatos. Portanto, as fases encontradas na zeólita natural, exceto a mordenita, estão de acordo com as observações de Bowen.



**Figura 7:** Difratoograma de raio-x da zeólita natural após teste de adsorção em água ultrapura em pH 2 (a) e pH 8 (b). Mor=mordenita, Mus=muscovita, San=Sanidina, Lab=Labradorita e Alb=Albita

Os resultados observados após os tratamentos mostram que em geral, após a agitação com água ultrapura, água do mar 0 Ga e 4,0 Ga em pH 2,00 as fases da zeólita natural permaneceram como pode ser observado na figura 7 - a. No tratamento com água do mar 0,0 Ga surgiu um plano de difração, com um valor de  $2\theta$  em 31,7, que pode ser da halita (Gupta et al., 2009), devido a precipitação de NaCl no mineral. No tratamento com água do mar 4,0 Ga, surgiu um plano de difração, com um valor de  $2\theta$  em 13,5, que pode ser devido a precipitação de gipsita ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Ziegenbalg et al., 2011), pela presença dos íons cálcio e sulfato nessa água do mar.

Em pH 8,00 a agitação com água ultrapura na presença das bases nitrogenadas timina, uracila e citosina resultou na dissolução do material e o surgimento da fase quartzo, pois os planos basais dessa fase estava incoberta pelos planos mais intensos presentes inicialmente na zeólita natural. Essa dissolução é devido à perda de silício a partir da estrutura do mineral, pela ação dos íons hidróxidos na fase líquida que rompe as ligações Si-O-Si na interface sólido/líquido formando como produto silicatos solúveis. Esses silicatos solúveis podem reprecipitar sobre a superfície do material reagindo com o grupo silanol (-Si-OH) terminal, porém na forma de silicatos amorfos (Antonić e cols. 1994).

Um aspecto importante é que em pH 8,00 quando a adenina está presente não foi observada essa dissolução, pois o FTIR mostrou que essa base nitrogenada interage com zeólita pelo grupo  $-\text{NH}_2$  que tende a estabilizar o mineral (Burton e Zones, 2007). Por outro lado a citosina interage pela carbonila que tende a dissolver a fase mordenita. Baú e cols (2012) observaram um comportamento similar em zeólitas sintéticas, onde a dissolução do mineral ocorreu somente na presença da timina.

A dissolução do mineral não ocorreu com a agitação em água do mar artificial de 0,0 e 4,0 Ga em pH 8,00 devido a alta força iônica desse meio provocado pelos sais presentes. Como consequência a atividade dos íons hidróxidos nessas soluções é menor, diminuindo a ação deste ânion sobre a interface sólido/líquido que provoca a formação de silicatos solúveis.

**Tabela 3:** Minerais identificados em ordem decrescente de ocorrência nas zeólitas após tratamentos com Adenina, Timina, Citosina e Uracila em soluções de Água Ultrapura, Água do Mar Atual e Água do Mar 4.0 Ga em pH 2 e 8.

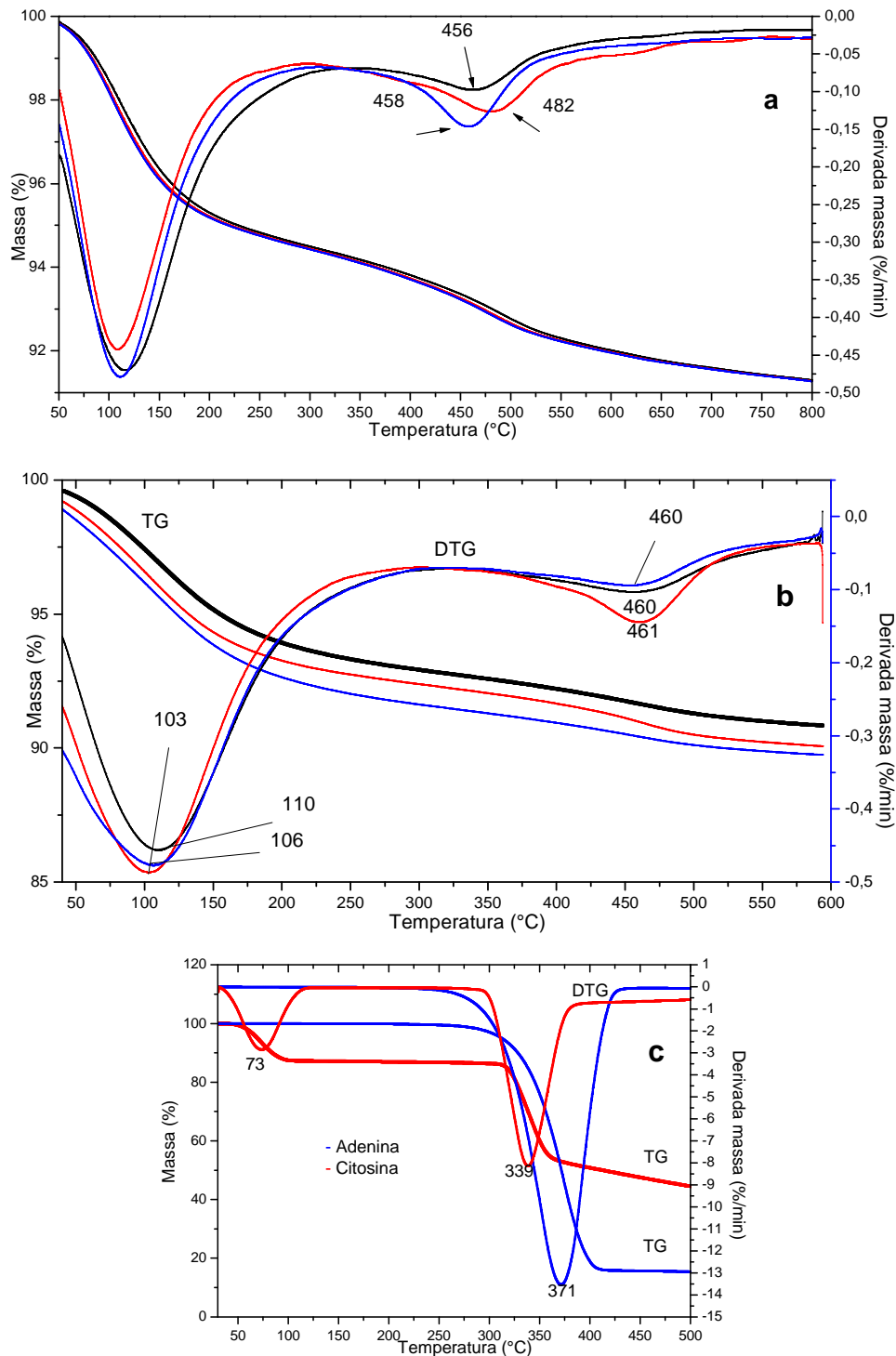
Tratamentos		Minerais formados	Minerais observados nos difratogramas de raios-X
Água ultrapura em pH 2	Adenina	-	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Timina	-	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Citosina	-	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Uracila	-	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
Água ultrapura em pH 8	Adenina	-	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Timina	-	Quartzo, Muscovita, Sanidina, Mordenita, Labradorita, Albita
	Citosina	-	Quartzo, Muscovita, Sanidina, Mordenita, Labradorita, Albita
	Uracila	-	Quartzo, Muscovita, Sanidina, Mordenita, Labradorita, Albita
Água do mar 0,0 Ga em pH 2	Adenina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Timina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Citosina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Uracila	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
Água do mar 0,0 Ga em pH 8	Adenina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Timina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Citosina	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
	Uracila	Halita	Mordenita, Halita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina
Água do mar 4,0 Ga em pH 2	Adenina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Timina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Citosina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Uracila	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
Água do mar 4,0 Ga em pH 8	Adenina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Timina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Citosina	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita
	Uracila	Gipsita	Mordenita, Muscovita, Labradorita, Albita, Sanidina, Gipsita

**Tabela 4:** Fórmulas químicas e dados cristalográficos das fases indentificados na zeólita natural.

	Mordenita	Muscovita	Sanidina	Labradorita	Albita
	Zeólita	Mica	Feldspato	Feldspato	Feldspato
Fórmulas químicas*	(Na <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> , Ca)[(Al <sub>2</sub> Si <sub>10</sub> )O <sub>24</sub> ]7H <sub>2</sub> O	(K)[(Al <sub>3</sub> Si <sub>3</sub> )O <sub>10</sub> ](OH) <sub>2</sub>	KAISi <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	(Na,Ca)Al(Al,Si)Si <sub>4</sub> O <sub>16</sub>	NaAlSi <sub>3</sub> O <sub>8</sub>
a	18,1 Å	5,2 Å	8,5 Å	8,2 Å	8,3 Å
b	20,5 Å	9,0 Å	13,0 Å	12,9 Å	13,0 Å
c	7,5 Å	20,1 Å	7,2 Å	7,1 Å	7,2 Å
Dados Cristalográficos**	α	90°	90°	93°	91°
	β	90°	95°	115°	116°
	γ	90°	90°	90°	90°
Grupo espacial	Cmc2-1	C2/c	C2/m	C1	C1

\*Referência: Dinauer, 1982; \*\*Referência: America Mineralogist Crystal Structure Database

Na Figura 8 são mostradas as curvas TG e a derivada DTG para a zeólita natural. Na Tabela 5 estão os valores para cada evento da zeólita natural e das amostras de zeólitas liofilizadas após os testes de adsorção da adenina e citosina em diferentes águas do mar. Pode ser observado que a zeólita natural sem tratamento (**Figura 8- a**) possui um evento entre 60-150 °C, onde a curva DTG mostra um pico em 116 °C, característico de perda de água de hidratação presentes nos poros do mineral, fracamente ligada na zeólita, pois interage fisicamente com o mineral (Castaldi e cols., 2005). Outro evento de perda ocorre entre 400 – 500 °C, onde a curva DTG mostra um pico em 452 °C atribuído a água de solvatação que se interage por ligações de hidrogênio com os grupos silânicos (-Si-OH) ou alumínicos (-Al-OH) (Alver e cols, 2010). Na Figura 6, também são mostrados o comportamento térmico das bases nitrogenadas adenina e citosina, que foram as que apresentaram a maior adsorção em pH 2,00. Como pode ser observado (**Figura 8- c**) a adenina sofre uma decomposição térmica na faixa entre 247-438 °C (Masoud e cols., 2010), onde a curva DTG mostra um pico em 371°C. A citosina possui dois eventos, o primeiro entre 41-103 °C, com pico em 73 °C e o segundo entre 280-395 °C, onde a curva DTG mostra um pico em 339°C. O segundo evento de perda de massa da zeólita ocorre entre 320-550 °C que engloba a maior parte da decomposição térmica da adenina.



**Figura 8:** a) Curva TG e DTG sob atmosfera de  $N_2$  de zeólita natural tratada em água ultrapura (----), após teste de adsorção de citosina em água ultrapura (----) e após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (----); b) Curva TG e DTG sob atmosfera de  $O_2$  de zeólita natural tratada em água ultrapura (----), após teste de adsorção de citosina em água ultrapura (----) e após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (----). Todos os tratamentos foram em pH 2,00; c) Curva TG e DTG sob atmosfera de  $N_2$  de Citosina (----) e Adenina (----).

**Tabela 5:** Picos obtidos pela DTG das análises térmicas da zeólita natural após tratamento e após testes de adsorção da adenina e citosina em pH 2,00

Amostra	1° Evento (50-300°C)	Perda (%)	2° Evento (320-650°C)	Perda (%)
Zeólita	115	6,5	447	1,7
Zeólita (ultrapura)	118	6,3	455	1,1
*Zeólita (ultrapura em pH 2)	113±1,8	6,4±0,1	453±1,8	1,7±0,1
Zeólita (ultrapura em pH 8)	112	6,8	446	1,7
*Zeólita-adenina (ultrapura em pH 2)	113±2,4	6,1±0,5	483±2,0	2,4±0,3
Zeólita -adenina (ultrapura em pH 8)	122	6,6	470	1,8
*Zeólita - citosina (ultrapura em pH 2)	112±1,8	6,6±0,5	464±3,6	2,0±0,2
Zeólita - citosina (ultrapura em pH 8)	122	7,9	469	1,6
Zeólita (0,0 Ga)	119	6,6	462	1,5
Zeólita (0,0 Ga em pH 2)	113	7,0	461	2,2
Zeólita (0,0 Ga em pH 8)	115	6,3	460	1,5
Zeólita-adenina (0,0 Ga em pH 2)	118	6,4	476	2,9
Zeólita-adenina (0,0 Ga em pH 8)	122	7,2	478	1,9
Zeólita-citosina (0,0 Ga em pH 2)	116	6,1	456	2,9
Zeólita-citosina (0,0 Ga em pH 8)	122	6,7	472	2,2
Zeólita (4,0 Ga)	124	6,6	454	2,0
Zeólita (4,0 Ga em pH 2)	121	7,1	451	1,8
Zeólita (4,0 Ga em pH 8)	125	6,9	449	1,6
Zeólita-adenina (4,0 Ga em pH 2)	119	7,1	480	2,8
Zeólita-adenina (4,0 Ga em pH 8)	127	6,8	470	1,5
Zeólita-citosina (4,0 Ga em pH 2)	120	6,8	454	1,9
Zeólita-citosina (4,0 Ga em pH 8)	132	8,0	475	1,4

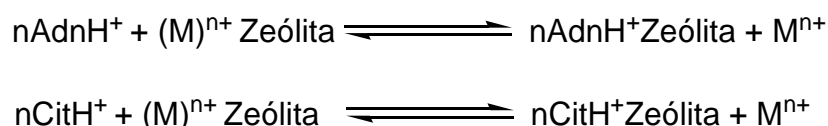
\* Os resultados estão apresentados como média ± erro padrão. O número de repetições para cada média foi de n=3.

Portanto, a presença dessa base nitrogenada pode deslocar o pico do segundo evento da zeólita para maiores valores de temperatura, como foi observado na análise térmica do mineral com adenina adsorvida. Na presença da citosina, esse efeito de deslocamento do pico do segundo evento para maiores valores foi menos pronunciado, pois a faixa deste evento engloba uma menor faixa da decomposição da base nitrogenada. Na tentativa de detectar um evento devido a decomposição térmica da adenina e citosina foram realizadas análises termogravimétricas em atmosfera oxidante de O<sub>2</sub>. Entretanto, como pode ser observado na Figura 8 – c, estão presentes os dois eventos característicos da zeólita, o primeiro devido a perda de água de hidratação fracamente ligado na zeólita e o segundo atribuído a água de solvatação. (Castaldi e cols., 2005, Alver e cols, 2010).

#### **4.1.2) Resultados de adsorção das bases nitrogenadas sobre zeólita natural**

A Tabela 6 mostra as quantidades adsorvidas das bases nitrogenadas. Como pode ser observado a adenina e a citosina foram mais adsorvidas do que as outras bases nitrogenadas em solução ácida ( $p < 0,05$ ). Isso ocorre, pois, o pH 2,00 é menor que o pKa 1 da adenina (pKa 1=4,20) e citosina (pKa 1=4,60), e como consequência as moléculas dessas bases nitrogenadas adquirem carga positiva, pois nesse pH são protonadas no nitrogênio 1 do grupo amino da adenina e no nitrogênio 3 do grupo amido da citosina (Christensen e cols., 1970a). Uma vez que a zeólita possui carga permanente negativa (Lambert, 2008), em pH de 0 a 14, e a adenina e citosina em pH 2,00 estão positivamente carregadas, a adsorção destas duas bases foi maior em relação a timina (pKa 1=0,00) e uracila (na faixa de pH de 0 a 14 a uracila possui um pKa igual a 9,50 referente a retirada do hidrogênio ligado ao nitrogênio 1). Em água ultrapura e água do mar 0,0 Ga a adsorção de adenina foi semelhante, mas para esses dois solventes foi maior em relação a água do mar 4,0 Ga. No caso da citosina, em água ultrapura, a adsorção foi maior ( $p < 0,05$ ), pois não há interação e competição dos sais com a base pelos sítios ativos do mineral (Lin e Zhan, 2012), o que aumenta a adsorção da base nitrogenada. Baú e cols (2012) observaram um comportamento similar em zeólitas sintéticas, onde a adsorção de adenina em pH 2,00 foi maior do que a timina. A quantidade adsorvida em massa da adenina foi 27.000 ppm na zeólita sintética ZSM-5, um valor maior do que a obtida na zeólita natural (1.300 ppm). Foi

proposto que a adsorção da adenina e citosina ocorre por interações eletrostáticas, entre as moléculas protonadas e a superfície do material. O mecanismo de adsorção envolve a troca de cátions, presentes na superfície da zeólita, com as bases carregadas positivamente como mostra a figura a seguir (Perişanu e Oacea, 2015):



**Figura 9:** Mecanismo na adsorção de adenina e citosina por troca catiônica

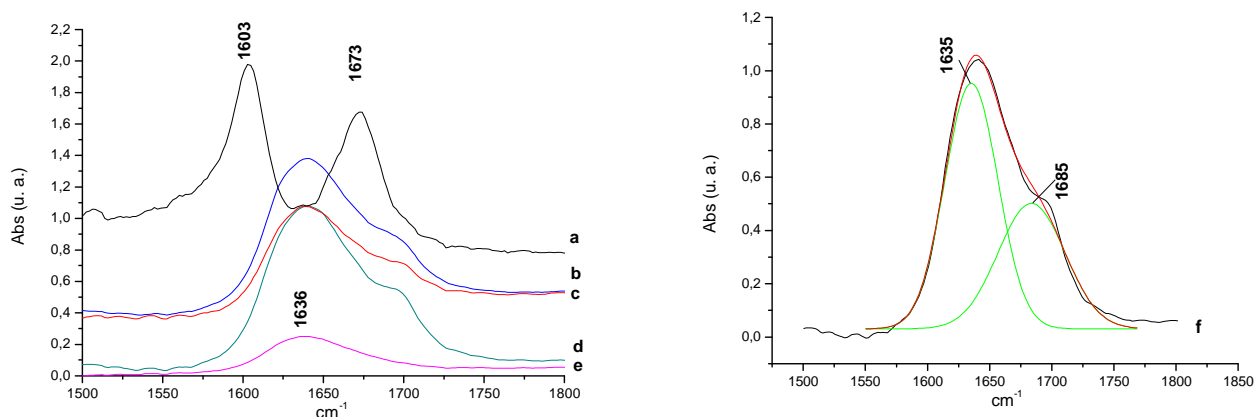
**Tabela 6:** Quantidade de bases nitrogenadas, em µg/mL, adsorvidas em zeólita natural.

Meio	Solvente	Adenina	Timina	Uracila	Citosina
Ácido* pH inicial = 2	Ultrapura	150,8±5,3 aA	52,6±9,8 aC	39,5±4,6 aC	104,6±10,5 aB
	0,0 Ga	134,1±4,7 abA	38,2±2,3 abC	19,3±4,6 bC	73,5±4,5 bB
	3,8 Ga	122,2±4,1 bA	24,2±5,3 bC	4,9±2,5 bC	71,8±4,1 bB
Básico* pH inicial = 8	Ultrapura	49,8±7,4 a	38,8±11,0	36,8±8,5	44,7±7,9 a
	0,0 Ga	8,8±1,7 b	29,8±5,3	18,7±4,4	23,1±4,3 b
	3,8 Ga	23,6±6,6 b	27,1±4,3	20,0±3,4	35,6±4,7 ab

Os resultados estão apresentados como média ± erro padrão. O número de repetições para cada média foi de n=5. \* Médias com letras maiúsculas distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, feita a comparação das médias entre bases nitrogenadas para mesmo meio (básico ou ácido) e mesmo solvente. Médias com letras minúsculas distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, feita a comparação das médias entre solventes para mesmo meio (ácido) e mesma base nitrogenada. Médias com símbolos, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, feita a comparação das médias entre solventes para mesmo meio (básico) e mesma base nitrogenada.

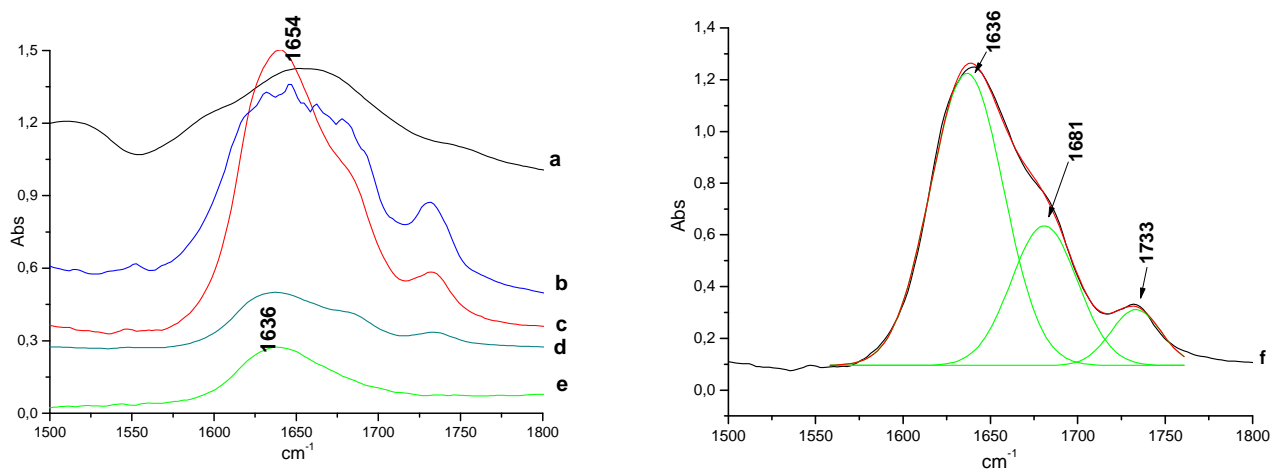
O espectro infravermelho (**Figura 10**) mostra que a adenina apresenta duas bandas características em 1603 e 1673 cm<sup>-1</sup> (**Figura 10 - a**), que podem ser atribuídas

ao estiramento C=C e ao “bending” do grupo NH<sub>2</sub> respectivamente (Mohamed e cols., 2009). Nesta mesma região a zeólita apresenta uma banda em 1638 cm<sup>-1</sup> (**Figura 10 – e**), atribuído às águas de hidratação do mineral. Quando a adenina é adsorvida na zeólita, a banda em 1673 é deslocada para 1685 cm<sup>-1</sup>, como pode ser observado na deconvolução do espectro na região entre 1500-1800 cm<sup>-1</sup> (**Figura 10 – f**). Esse dado sugere que a interação da base nitrogenada com o mineral ocorre pelo grupo NH<sub>2</sub>. Outras possibilidades é que essa banda em 1685 cm<sup>-1</sup>, obtida na deconvolução, pode ser referente a adenina protonada (Mohamed e cols., 2009), ou pela formação de um complexo da base nitrogenada pelo grupo NH<sub>2</sub> e o nitrogênio do anel imidazólico (Anizelli e cols., 2014) com cátions como Ca<sup>+2</sup> e Mg<sup>+2</sup>, presentes na água do mar ou adsorvidos na superfície do material. Carneiro e cols (2011a) observaram na adsorção da adenina em montmorilonita, o deslocamento da banda em 1603 para 1630 cm<sup>-1</sup>, porém no espectro de adsorção em zeólita natural essa banda pode estar encoberta pela banda de água de hidratação do mineral em 1635 cm<sup>-1</sup>. A banda da zeólita em 1636 cm<sup>-1</sup> está mais intensa após o teste de adsorção (**Figura 10 – f**), em relação ao mineral sem tratamento (**Figura 10 – e**), pois a amostra foi concentrada na pastilha de KBr para a intensificação da banda referente a adenina.



**Figura 10:** Espectro IV de a) Adenina b) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga; c) Adenina adsorvida em solução de água do mar atual; d) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura; e) zeólita natural; f) Deconvolução da adenina adsorvida em água ultra-pura. A deconvolução da banda da amostra de adenina adsorvida em pH 2,0, foi obtida no intervalo de 1590 a 1728 cm<sup>-1</sup>, o melhor fitting foi com duas bandas ( $r^2= 0,998$ ), usando funções Gaussianas feito no programa OriginPro 8.0.

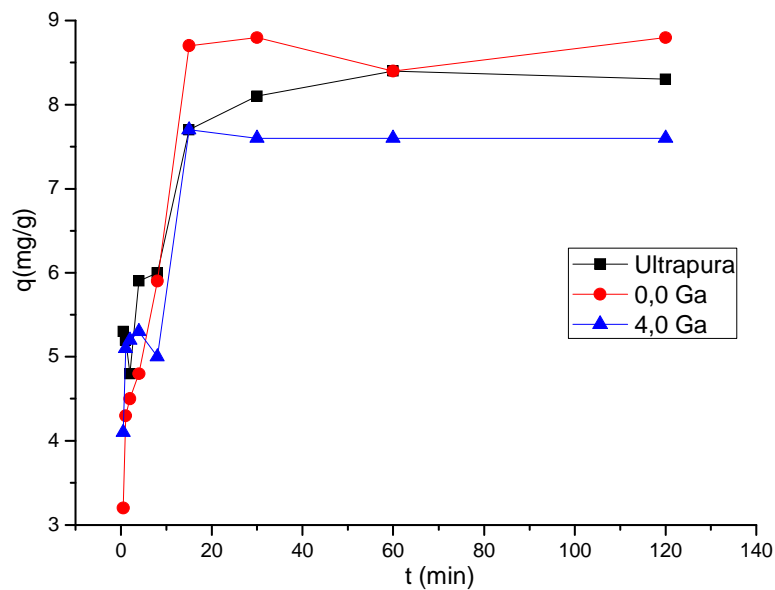
O espectro de infravermelho da citosina (**Figura 11 - a**) na região entre 1550 a 1750  $\text{cm}^{-1}$  mostra um modo de vibração em 1654  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuído ao estiramento C=O (Colthup, 1990). Nesta mesma região a zeólita apresenta uma banda em 1638  $\text{cm}^{-1}$  (**Figura 11- e**), atribuído às águas de hidratação do mineral. Quando a citosina é adsorvida sobre a zeólita, a banda em 1654 é deslocada para 1685  $\text{cm}^{-1}$  como pode ser observado na deconvolução da região entre 1500 a 1800  $\text{cm}^{-1}$  (**Figura 11 – f**), que sugere que a interação ocorre pelo grupo carbonila (C=O). Benetoli e cols., 2008 observou um comportamento similar na adsorção da citosina sobre montmorilonita com o deslocamento da banda de 1661 para 1683  $\text{cm}^{-1}$ . A banda em 1636 na deconvolução (**Figura 11 – f**) é referente a água de hidratação da zeólita. Para os espectros com as outras bases nitrogenadas (Anexo A3), as intensidades das bandas das moléculas foram menores devido a menor adsorção, e não foi possível obter uma conclusão plausível de como ocorre a interação.



**Figura 11:** Espectro IV de a) Citosina b) Citosina adsorvida em solução de água ultrapura; c) Citosina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga; d) Citosina adsorvida em solução de água mar atual; e) zeólita natural; f) Deconvolução da citosina adsorvida em água do mar 4,0 Ga. A deconvolução da banda da amostra de citosina adsorvida em pH 2,0, foi obtida no intervalo de 1500 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , o melhor fitting foi com três bandas ( $r^2= 0,998$ ), usando funções Gaussianas feito no programa OriginPro 8.0.

#### 4.1.1) Cinética de adsorção

Para avaliar o mecanismo da adsorção foi realizado um estudo cinético para a adenina em pH 2,00 nas águas do mar de composição salina atual, composição de 4,0 bilhões de anos e água ultrapura na concentração de 720  $\mu\text{g/mL}$ . A Figura 12 é uma curva de adsorção em função do tempo e como pode ser observado as adsorções nos diferentes meios atingem o equilíbrio em 30 minutos.



**Figura 12:** Curva de adsorção pelo tempo da adenina em pH 2 em água ultrapura (----), água do mar 0,0 Ga (----) e água do mar 4,0 Ga (----)

A adsorção pode ocorrer por uma atração física (fissisorção), caracterizada por uma fraca interação, como a de Van der Waals, entre o adsorbato e o adsorvente, com energia na ordem de 20 kJ/mol. Ou pode ocorrer através de uma interação química (quimissorção), caracterizada por uma forte interação com energia na ordem de 200 kJ/mol (Somorjai, 1994).

O modelo de pseudo primeira-ordem se baseia na suposição que a etapa determinante na adsorção é uma fissisorção. A equação que descreve esse modelo é a seguinte (Sarkar e Chatteraj, 1993):

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t \quad (5)$$

sendo  $k_1$  é a constante de pseudo primeira-ordem,  $q_e$  a concentração de equilíbrio e  $q_t$  a concentração no tempo  $t$ . A equação 4 é uma equação da reta de  $\log(q_e - q_t)$  em função de  $t$ .

O modelo de pseudo segunda-ordem se baseia na suposição que a etapa determinante da velocidade de adsorção é uma quimissorção, sendo descrito pela seguinte equação (Ho e Mckay, 2000):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (6)$$

Onde  $k_2$  é a constante de pseudo segunda-ordem. A equação 5 é uma equação da reta de  $t/q_t$  em função de  $t$ .

Uma boa correlação linear entre os dados experimentais aplicados a cada modelo revela qual é o mecanismo de adsorção da adenina. A Tabela 7 mostra os coeficientes de correlação, as pseudo-costantes de velocidade, em relação a adenina e as concentrações de equilíbrio ( $q_e$ ) obtido aplicando a cinética de pseudo primeira-ordem e pseudo segunda-ordem.

**Tabela 7:** Parâmetros obtidos a partir do estudo cinético na adsorção da adenina em pH 2, em água ultra-pura, água do mar artificial 0,0 Ga e água do mar artificial 4,0 Ga

	Pseudo primeira ordem			Pseudo segunda ordem			Modelo de difusão intra-párticula	
	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$q_e$ ( $\text{mg/g}$ )	R	$k_2$ ( $\text{g/mg min}$ )	$q_e$ ( $\text{mg/g}$ )	R	Equação da reta	R
Ultrapura	0,086	3,61	0,93	0,076	8,52	0,99	$y=0,00467 + 5,643 \cdot 10^{-4}x$	0,86
0,0 Ga	0,244	8,02	0,83	0,097	7,46	0,99	$y=0,00348 + 8,396 \cdot 10^{-4}x$	0,76
4,0 Ga	0,020	2,86	-0,13	0,099	8,50	0,99	$y=0,00404 + 6,576 \cdot 10^{-4}x$	0,83

Os resultados experimentais mostram que o modelo cinético de pseudo segunda-ordem se ajustam melhor aos dados experimentais de adsorção obtidos em diferentes tempos, pois o gráfico de  $t/q_t$  em função de  $t$  obteve o melhor coeficiente de

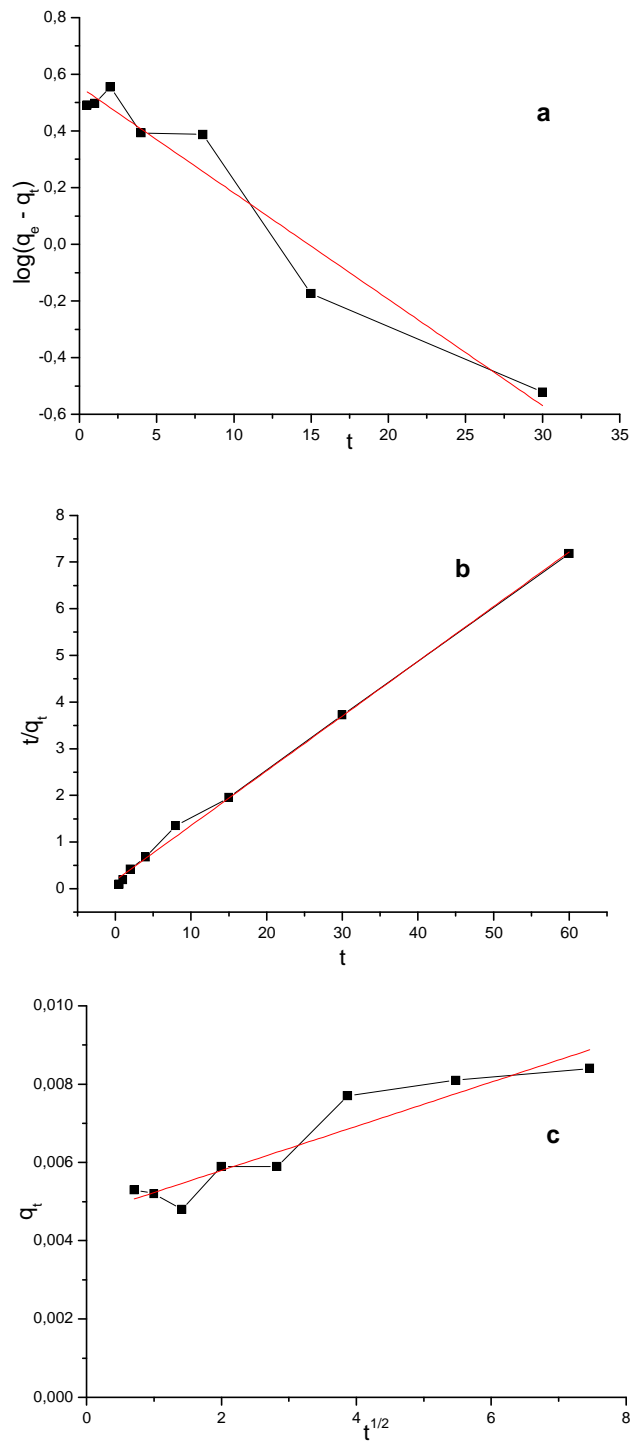
correlação, e se aproxima de uma reta (**Figura 13 – b**). Portanto, o fator que controla a etapa determinante da velocidade é uma quimissorção (Lin e Zhan, 2012 e Yang e cols, 2012), que pode ocorrer por compartilhamento ou troca de elétrons entre a adenina e a superfície da zeólita (Miretzky e cols, 2010). Também, o modelo de pseudo segunda-ordem indica que a adenina interage com a superfície da zeólita por dois sítios do mineral (Plazinski e cols, 2009). Um desses sítios são os grupos hidrofílicos Si-OH-Al que são considerados ácido de Brønsted, e outro o grupo hidrofóbico Si-O-Si (Isernia, 2014). Na adsorção sobre a zeólita natural foi observado que a adenina interage pelo grupo NH<sub>2</sub>, e a citosina pelo grupo C=O, ambos grupos polares, o que sugere que essas bases nitrogenadas interagem com o mineral pelo sítio hidrofílico (Si-OH-Al) e não há evidências da interação com sítios hidrofóbicos. Baú e cols (2012), observou que após a adsorção da base nitrogenada timina, a molécula interage pelo grupo polar C=O e pelo grupo de menor polaridade C=C. Portanto, a timina interage com o mineral pelo sítio hidrofílicos e hidrofóbico.

Os dados também revelam que as concentrações no equilíbrio obtidas pelo modelo de pseudo segunda-ordem estão próximas aos valores experimentais (7,54 mg/g para a água ultrapura, 8,83 mg/g para a água do mar atual e 7,66 mg/g para a água do mar 4,0 Ga).

Como pode ser observada na Tabela 7, a pseudo-constante de velocidade de adsorção é afetada pelo meio. Em água do mar atual e 4,0 Ga a adsorção ocorre mais rápida, em relação a água ultrapura, devido aos maiores valores das constantes de velocidade. Isso ocorre, pois, a presença de cátions nas águas do mar pode intensificar a carga positiva na base nitrogenada devido a interação com íons como Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, tornando a interação entre a superfície da zeólita com carga negativa e a adenina mais intensa (Yang e cols, 2012).

O passo limitante da velocidade no processo de adsorção pode ser a migração das moléculas de adenina, do seio da solução, para a superfície do material ou a difusão intra-partícula das moléculas do adsorvente. Para verificar se a difusão intra-partícula é o passo limitante da velocidade foi aplicado o modelo descrito pela equação (Moussavi e Khosravi, 2010):

$$q_t = k_p t^{1/2} + c \quad (7)$$



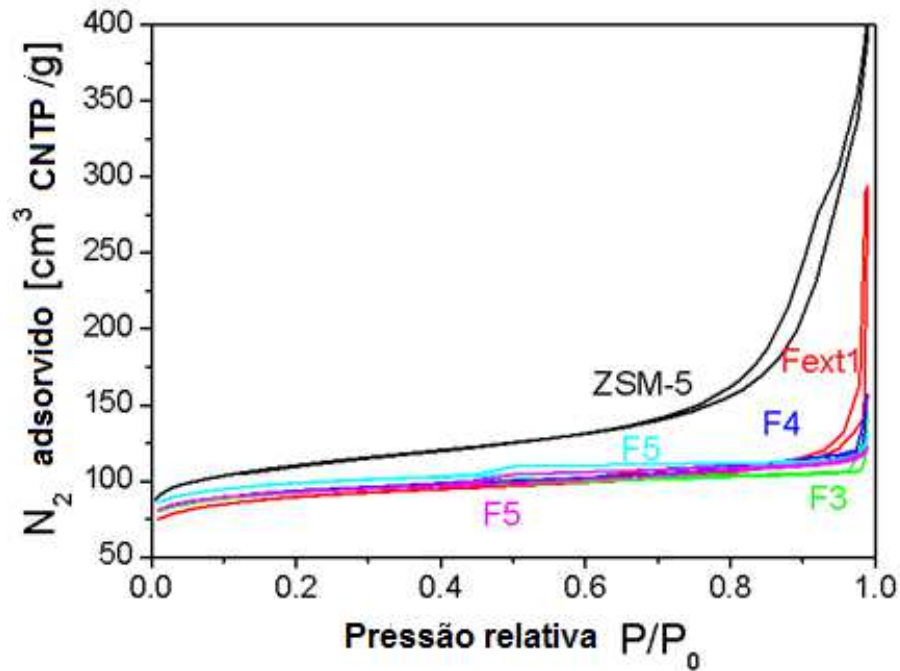
**Figura 13:** Gráfico de cinética de pseudo primeira ordem para a adsorção de adenina sobre zeólita natural em água ultrapura em pH 2,00 (a); Gráfico de cinética de pseudo segunda ordem para a adsorção de adenina sobre zeólita natural em água do mar 4,0 Ga em pH 2 (b); Modelo de difusão intra partícula para a adsorção de adenina sobre zeólita natural em água ultrapura em pH 2,00 (c).

Caso o gráfico, obtido pelos dados experimentais, de  $q_t$  em função de  $t^{1/2}$  siga uma reta, então ocorre a difusão intra-partícula. Também se a reta passa pela origem, a difusão intra-partícula é o passo determinante da velocidade. Como pode ser observado na Tabela 4, o coeficiente de correlação obtido é um valor distante de 1, pois o gráfico de  $q_t$  em função de  $t^{1/2}$  obtido a partir dos valores experimentais não se ajustam a uma reta (**Figura 13** – c). Também a reta não passa pela origem, o que sugere que não ocorre a difusão intra-partícula na adsorção de adenina nos diferentes meios estudados. A fase predominante na zeólita natural é a modernita que possui microporos cilíndricos com diâmetros de 0,65 nm x 0,70 nm (Carneiro e cols, 2011b). A adenina possui um diâmetro de 0,67 nm (Iyoda e cols, 2012), um valor maior em relação ao diâmetro dos poros do material, e como consequência a molécula não difunde nos microporos da modernita e a difusão intra-partícula não ocorre.

## **4.2) Adsorção de adenina sobre zeólita sintética Fe-ZSM-5**

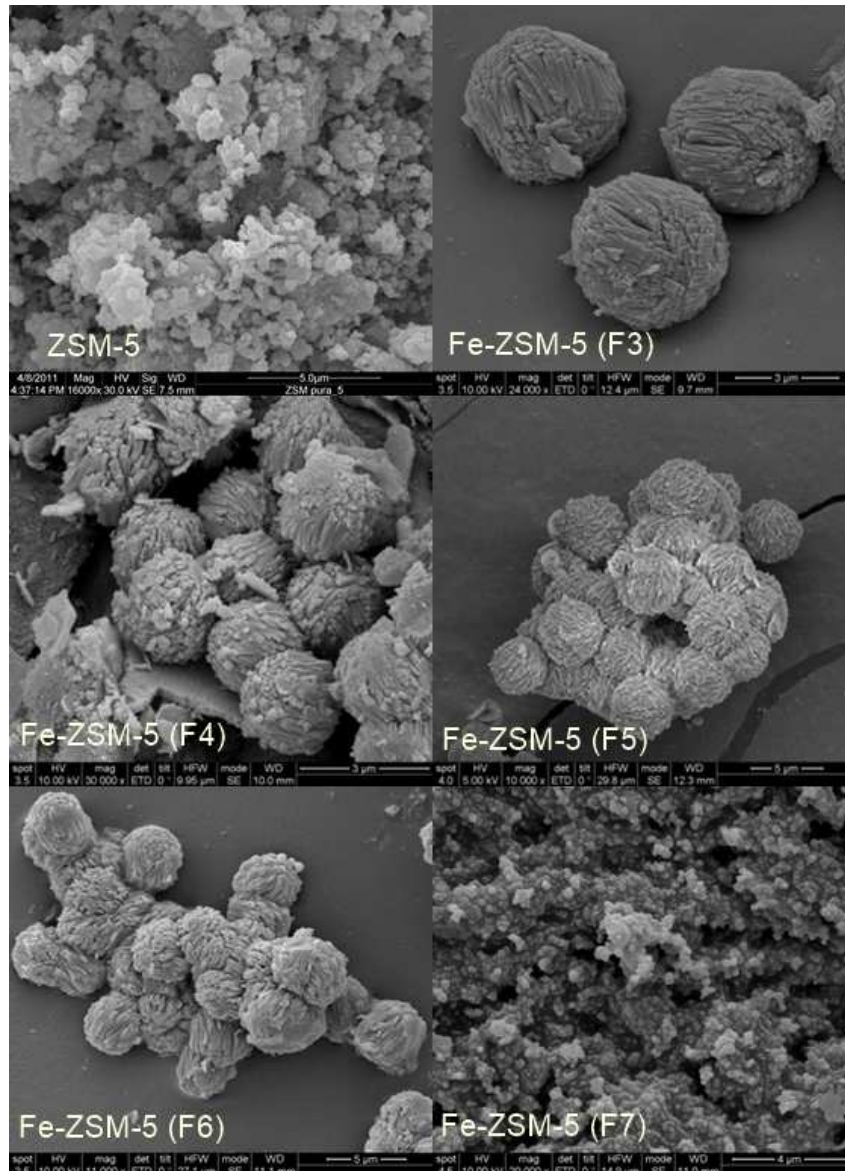
### **4.2.1) Caracterização do material sem tratamento e após o teste de adsorção**

Nas diferentes zeólitas sintéticas foi feito um estudo de isoterma de adsorção-dessorção, para obter informações sobre a porosidade do material. Pode-se observar, na figura 14, que as curvas de adsorção e dessorção de nitrogênio para esses materiais se assemelham a uma isoterma do tipo IV, característica de materiais mesoporosos. Observa-se ainda que o fenômeno de histerese é mais acentuado para a ZSM-5 e Fe<sub>ext</sub>. Isso mostra que esses materiais possuem poros menores, pois ocorre uma maior diferença entre os processos de condensação e evaporação do que os demais materiais que apresentam poros de tamanhos maiores (Teixeria e cols, 2001).



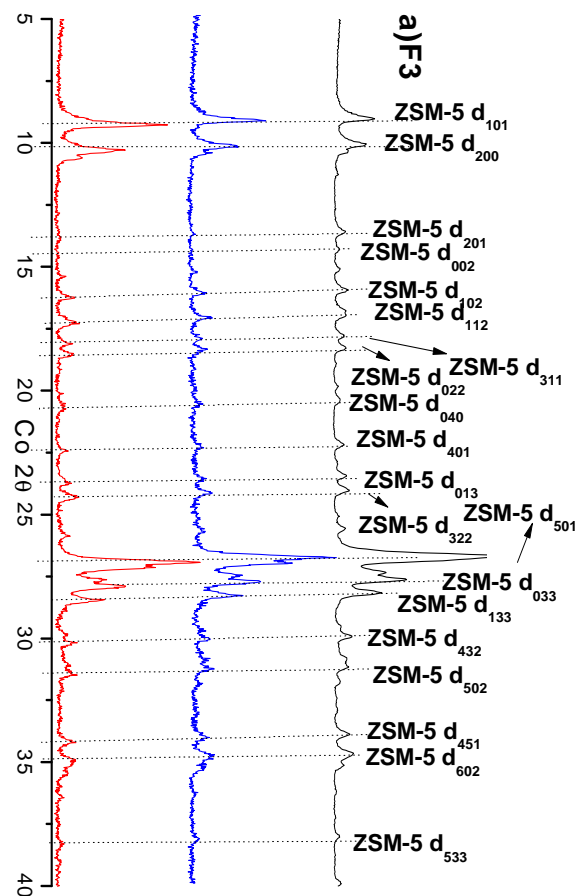
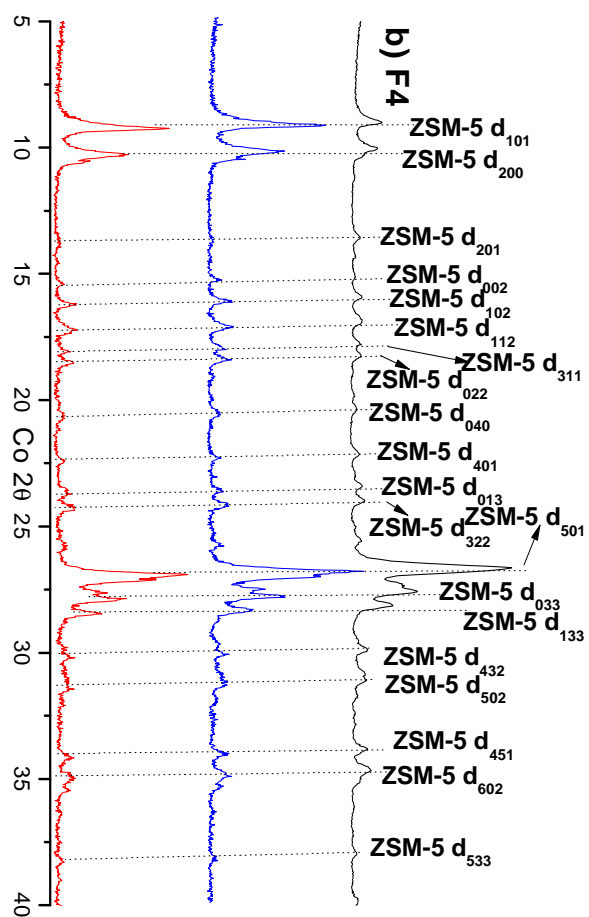
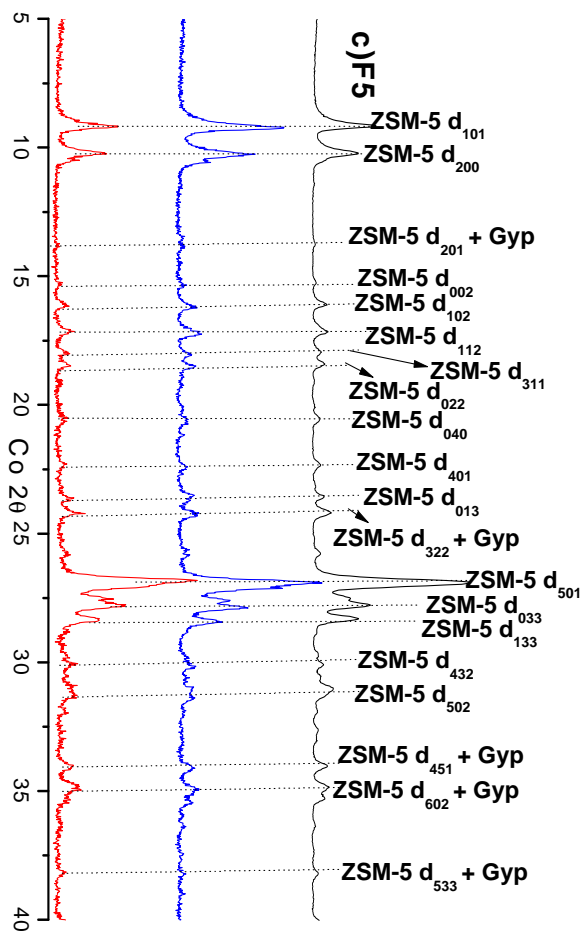
**Figura 14:** Curva de adsorção e desadsorção da ZSM-5 (----),  $F_{ext}$  (---),  $F_3$  (---),  $F_4$  (---) e  $F_5$  (---)

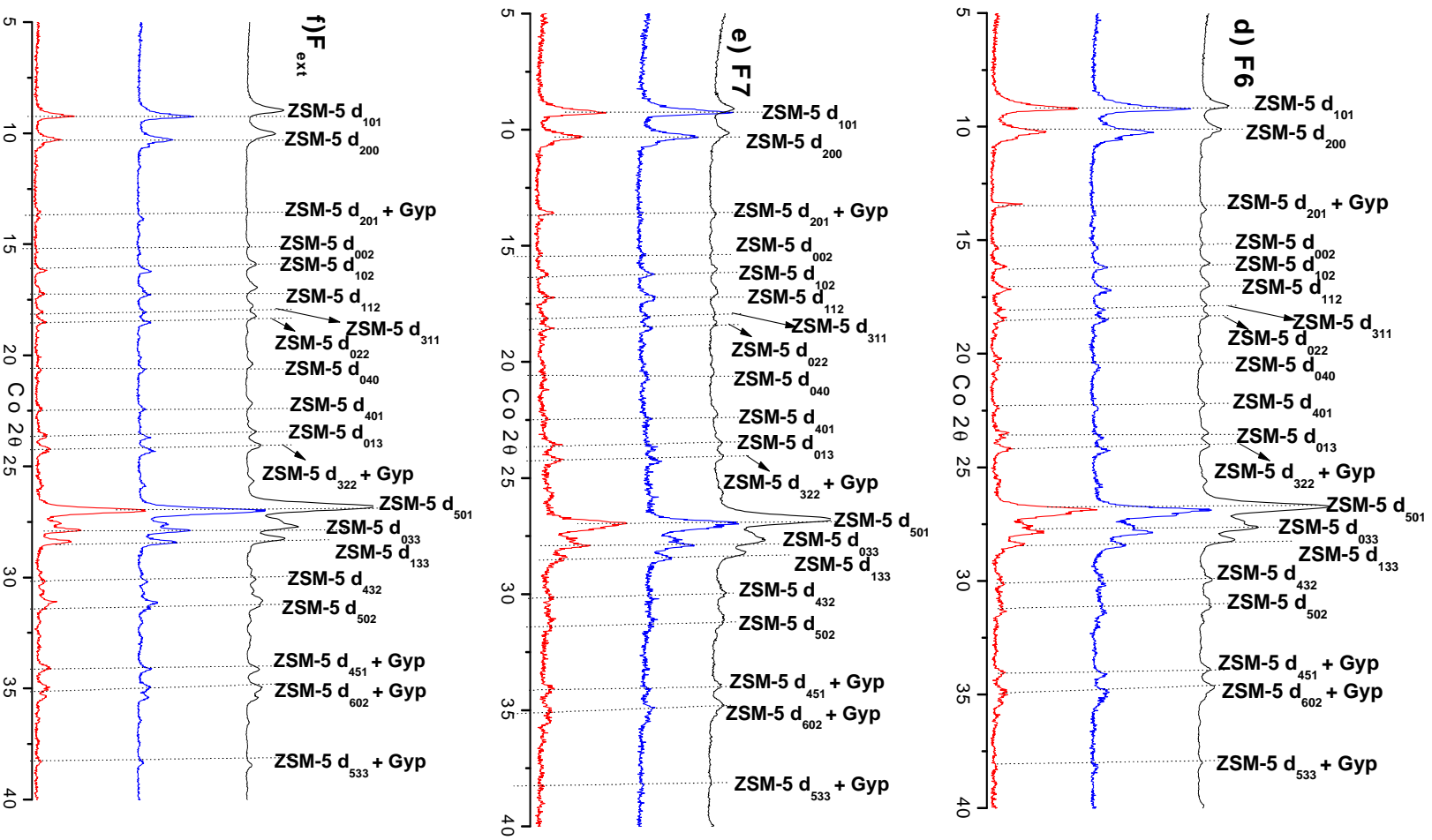
Na Figura 15 estão as imagens da microscopia eletrônica de varredura das zeólitas Fe-ZSM-5 com diferentes proporções de ferro substituídos isomorficamente. Pode ser observado que  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$  e  $F_6$  apresentaram morfologia semelhantes e em forma de esferas. A zeólita  $F_7$  apresentou morfologia semelhante a ZSM-5 sem substituição isomórfica, com tamanhos de partículas menores em relação as demais.



**Figura 15:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura da zeólita sintética ZSM-5 e da Fe-ZSM-5 com diferentes proporções de substituição isomórfica de ferro.

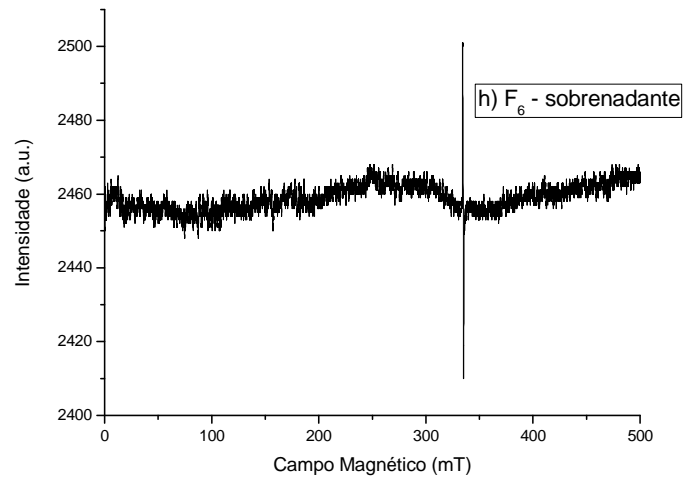
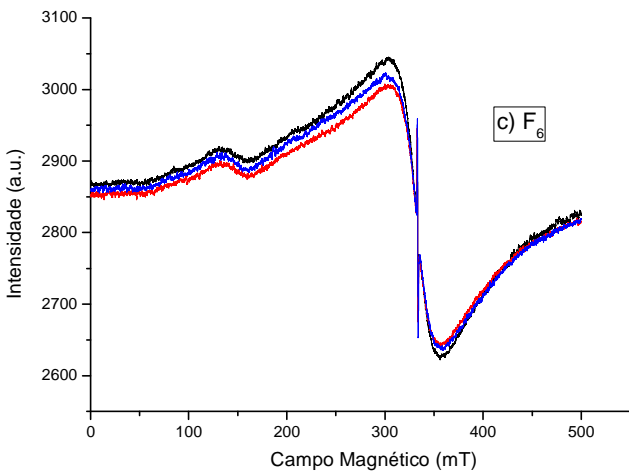
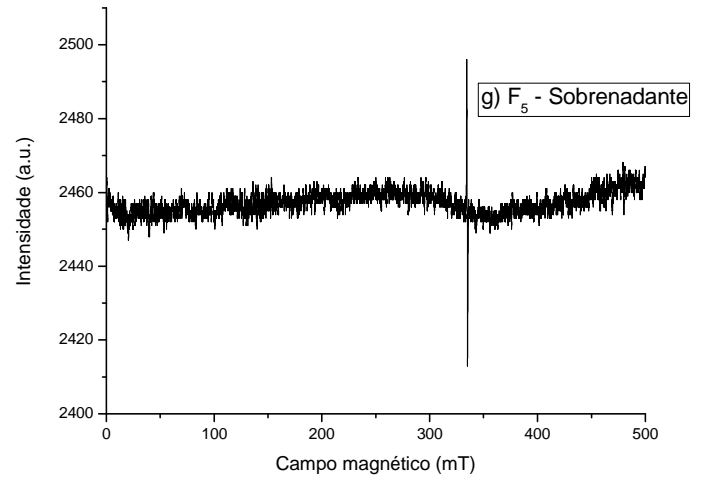
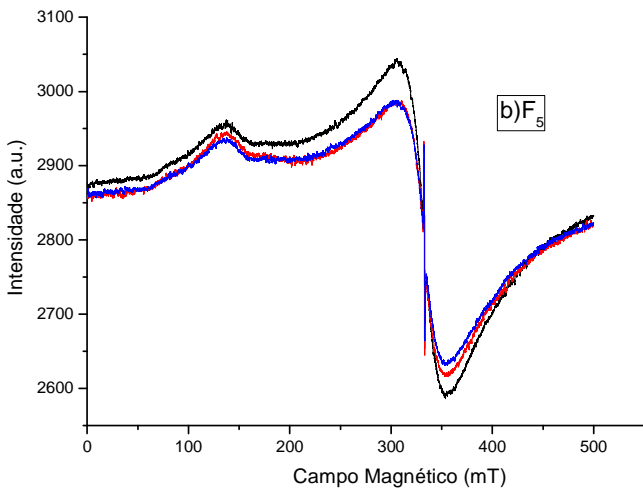
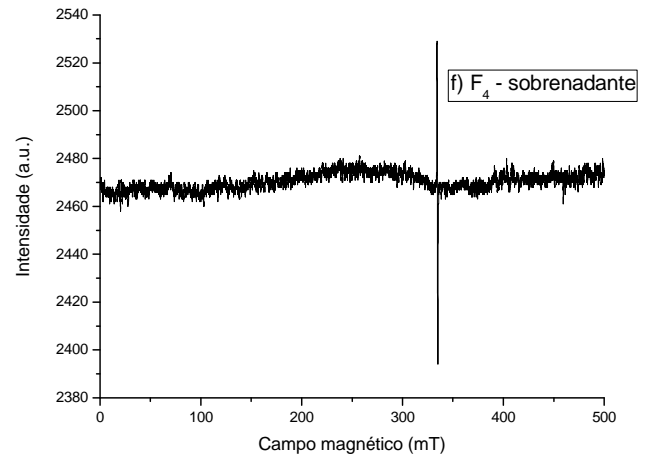
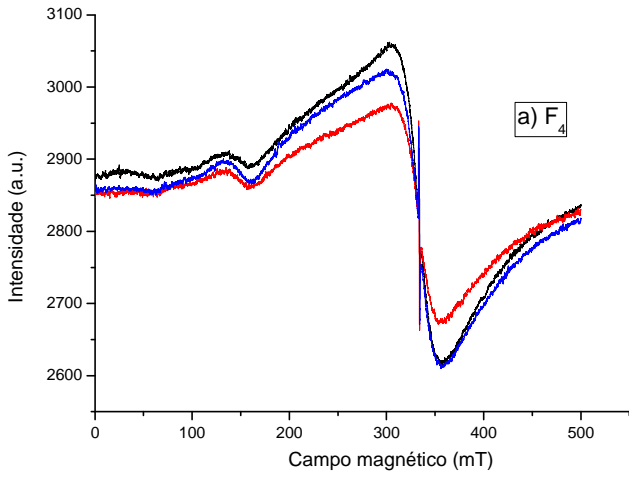
Na Figura 16 estão os difratogramas de raios-X da zeólita Fe-ZSM-5 após teste de adsorção com água ultrapura e água do mar 4,0 Ga em pH 4,00 e sem tratamento. Pode ser observado que não ocorreu a dissolução do mineral, pois os planos basais característicos da cristalinidade da zeólita ZSM-5 não sofreram alterações. Também foi observado a precipitação de gipsita ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Ziegenbalg e cols., 2011), após teste de adsorção em água do mar 4,0 Ga.

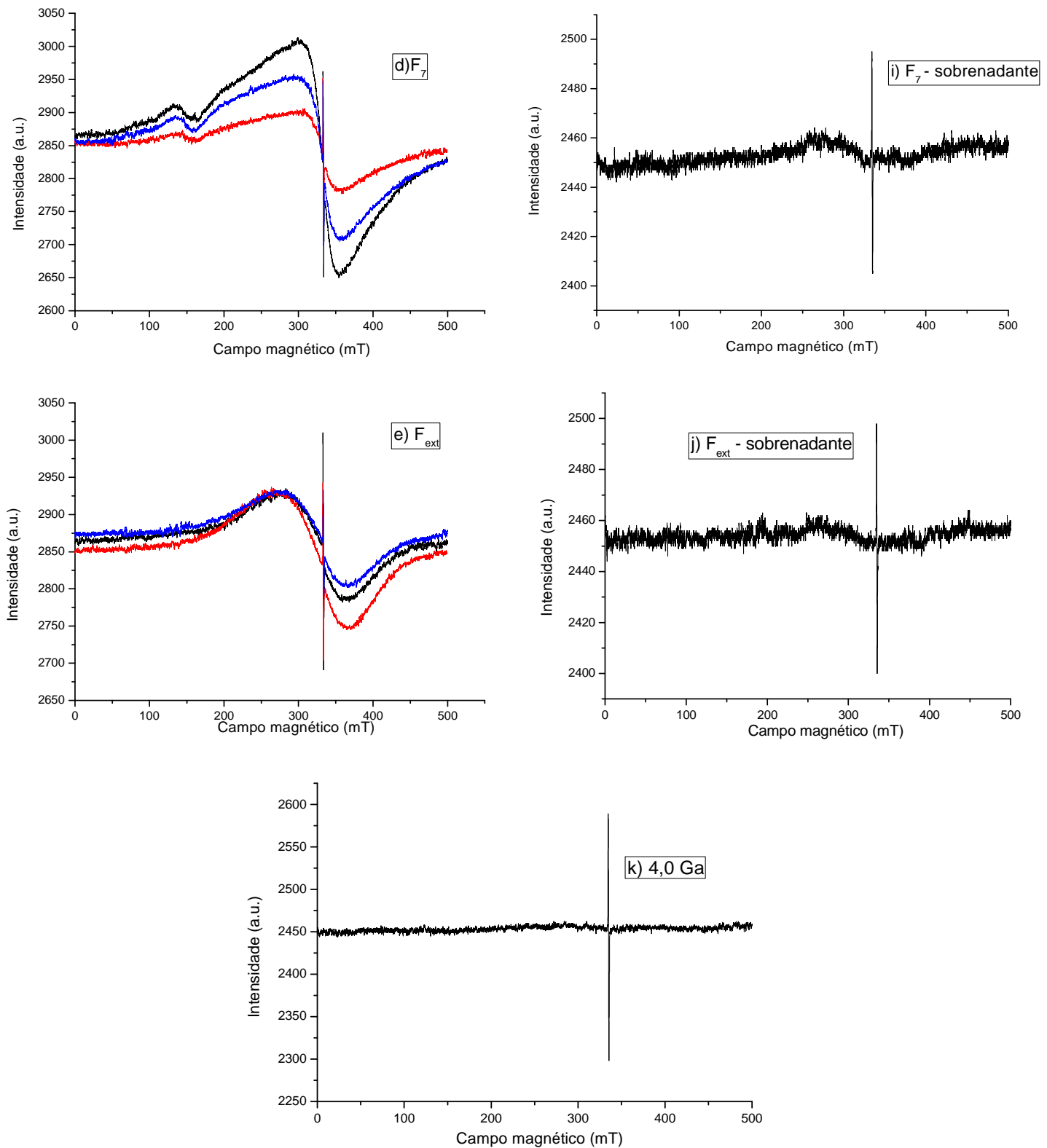




**Figura 16:** Difratograma de raio-x da zeólita sintética Fe-ZSM-5 com diferentes proporções de ferro substituído isomorficamente, sem tratamento (---), após adsorção em água ultrapura em pH 4 (---) e água do mar 4,0 Ga em pH 4 (---).

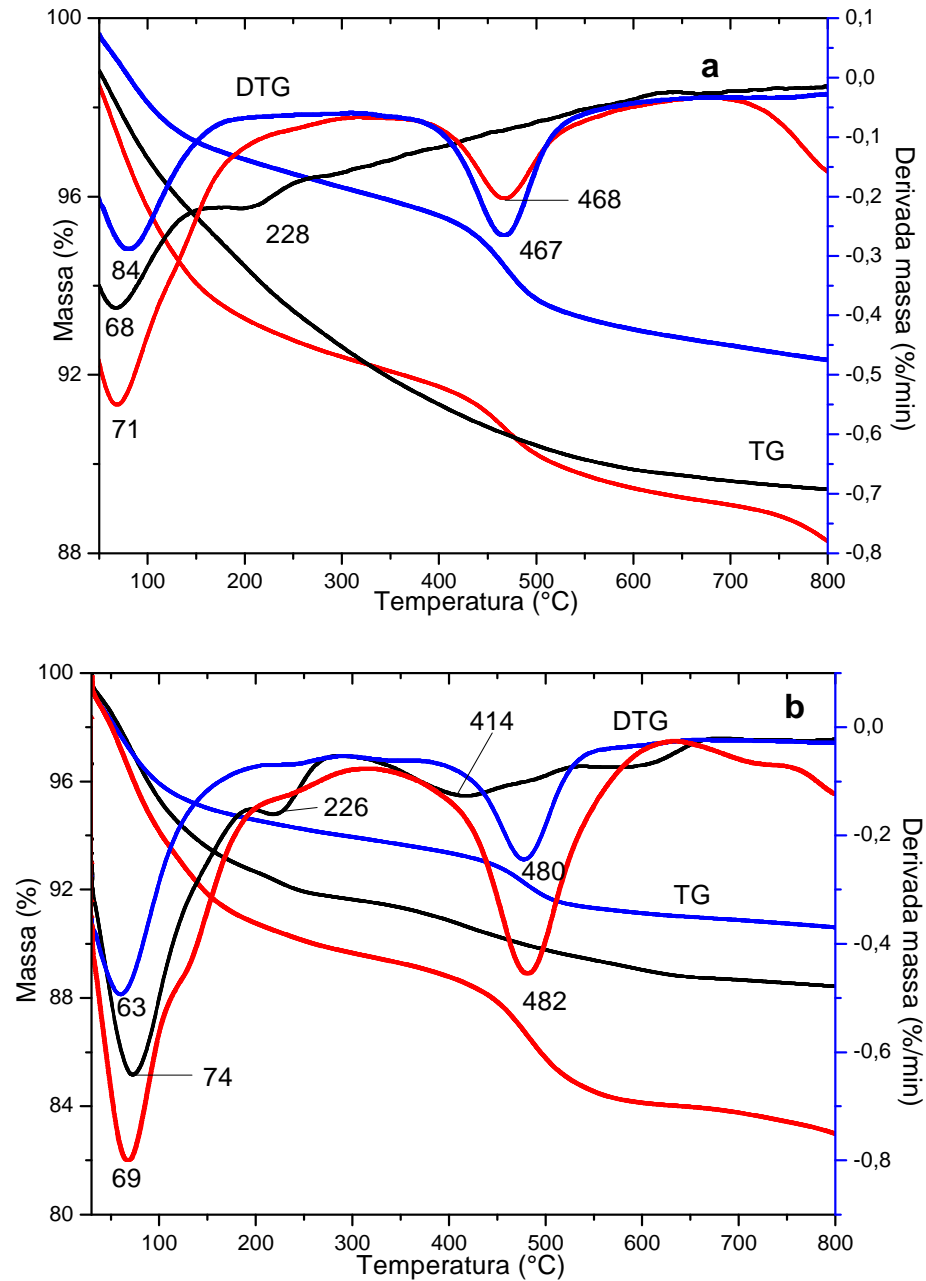
A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) fornece informações valiosas, sobre o ferro com diferentes simetrias ou distorções na zeólita Fe-ZSM-5. As zeólitas Fe<sub>4</sub>, Fe<sub>6</sub> e Fe<sub>7</sub>-ZSM-5 mostraram duas linhas na região g≈2 e outra em g≈4,7, nos campos em 331 e 142 mT, respectivamente (Figura 17). Fe<sub>5</sub>-ZSM-5 e Fe<sub>ext</sub>-ZSM-5 mostraram duas linhas em g≈2 e g≈4,7 e g≈2, respectivamente (Figura 17). As linhas em g≈2 podem ser devido a aglomerados Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub> e Fe<sup>3+</sup> “Framework” (Fejes e cols, 2003; Kumar e cols., 2004). Como destacado por Fejes e cols. (2003), Fe<sup>3+</sup> pode ser incorporado na zeólita como “Framework” ou “Extra-Framework”, na forma de hidróxidos de ferro magneticamente não interagentes (FeO.(OH) ou Fe(OH)<sub>3</sub>). “Clusters” de óxido de ferro também podem ser formado na forma de ferro “Extra-Framework” devido ao aquecimento com vapor de água. Fe<sub>ext</sub>-ZSM-5, que contém Fe<sup>3+</sup> trocável, mostrou apenas a linha em g≈2 característica de aglomerados de Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub> (Kumar e cols, 2004). De acordo com Tuan e cols. (2000) devido ao maior diâmetro de Fe<sup>3+</sup> em relação ao Si<sup>4+</sup>, Fe “Extra-Framework” pode ser incorporado na zeólita. A linha em g≈4,7 pode ser utilizada como uma indicação de que o Fe<sup>3+</sup> está presente na estrutura das zeólitas (Szostak e cols., 1987). Utilizando espectroscopia de FTIR, Szostak e cols. (1987) observaram uma banda devido a Fe framework em 656 cm<sup>-1</sup> devido ao estiramento (Si-O-Fe). No entanto, os nossos espectros FTIR não mostraram qualquer banda característica dessa espécie. Também, não foram observados qualquer banda devido a óxido e hidróxidos de ferro. Uma investigação na região de 25-400 cm<sup>-1</sup> também foi realizada, no entanto os espectros mostraram apenas bandas características da zeólita ZSM-5. Joyner e Stockenhuber (1998) e Ugrina e cols (2015) também não observaram bandas devido ao estiramento (Si-O-Fe) de óxido ou hidróxidos de ferro. Uma outra possibilidade para a linha em g≈2 pode ser devido a espécies catiônicas de ferro {(Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>, [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>OH]<sup>2+</sup>, [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, Fe<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>}, adsorvidas sobre a superfície negativa da zeólita (Ugrina e cols., 2015). De acordo com Ugrina e cols (2015), em pH=3,6, de todas as espécies de ferro que poderiam existir na superfície da zeólita, a forma predominante é [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>OH]<sup>2+</sup>. Destacamos que os experimentos de adsorção com adenina foram realizadas em pH 4,00. Os espectros de RPE das amostras de água do mar 4,0 Ga, liofilizadas após os testes de adsorção mostraram uma linha fraca em g≈2, e da água do mar 4,0 Ga liofilizada não apresentou esta linha (Figura 17). Assim, pequenas quantidades de Fe<sup>3+</sup> foram retiradas das zeólitas.





**Figura 17:** Espectros RPE a 298: K a-e) Fe-ZSM-5 sem tratamento (----), após teste de adsorção de adenina em água do mar artificial 4,0 Ga (----), após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (----); f-j) sobrenadante liofilizado após teste de adsorção em água do mar 4,0 Ga; k) água do mar 4,0 Ga liofilizada

Também foram realizados estudos de análise térmica para avaliar o comportamento da zeólita após os diferentes testes de adsorção e tratamentos. A Figura 18 mostra o comportamento das curvas TG e DTG das zeólitas F<sub>7</sub> e F<sub>ext</sub>.



**Figura 18:** **a)** Curva TG e DTG sob atmosfera de N<sub>2</sub> da zeólita F<sub>7</sub> sem tratamento (—), após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (---) e após teste de adsorção de adenina em água do mar 4,0 Ga (-.-.); **b)** Curva TG e DTG sob atmosfera de N<sub>2</sub> da zeólita F<sub>ext</sub> sem tratamento (—), após teste de adsorção de adenina em água ultrapura (---) e após teste de adsorção de adenina em água do mar 4,0 Ga (-.-.);

Assim como na zeólita natural pode ser observado, na Figura 18, que ocorre um evento para as zeólitas F<sub>7</sub> e Fext, entre 30-140 °C, característico de perda de água de hidratação presentes nos poros fracamente ligado no material (Castaldi e cols., 2005). A tabela 8 mostra as porcentagens de perda, e os picos de cada evento obtidas pelas curvas DTG para todas as Fe-ZSM-5.

**Tabela 8:** Picos obtidos pela DTG das análises térmicas da zeólita após tratamento e após testes de adsorção da adenina em pH4

		1° Evento (30-140)		2° Evento (140-360 °C)		3° Evento (360-600 °C)	
		Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda
Sem tratamento	F3	60	5,9	322	1,2	477	1,2
	F4	61	6,3	330	0,8	-	-
	F5	62	4,6	256; 342	1,5; 0,7	-	-
	F6	59	6,5	261; 336	0,9; 1,0	-	-
	F7	68	4,5	228	2,0	-	-
	Fext	74	6,5	226	1,0	414	2,2
Água ultrapura		Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda
	F3-And	64	4,7	240; 334	0,5; 0,2	478	2,3
	F4-Adn	61	6,5	329	0,5	436	2,0
	F5-Adn	58	6,1	329	0,5	446	1,4
	F6-Adn	89	4,2	337	0,6	446	1,3
	F7-And	84	2,9	-	-	467	3,4
Fext-Adn	63	5,8	239	1,4	480	6,1	
4,0 Ga		Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda	Pico (°C)	%Perda
	F3-Adn	71	6,0	264	1,4	483	1,8
	F4-Adn	74	8,7	268	1,1	451	1,5
	F5-Adn	68	6,9	265	1,8	456	1,2
	F6-Adn	74	10,3	270	2,3	441	1,2
	F7-Adn	71	6,8	-	-	468	3,1
Fext-Adn	69	9,5	-	-	482	5,4	

As Fe-ZSM-5 sem tratamento, apresentaram dois eventos em torno de 140 °C-360°C. O primeiro evento com um máximo 257, 261 e 226 para F5, F6 e Fext, respectivamente pode ser devida à decomposição de espécies de ferro como Fe(OH)<sub>3</sub> originado a partir de nitrato de ferro (Masiero et al., 2009) usado na síntese. Após testes de adsorção com água ultrapura este evento desaparece para F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub> e F<sub>7</sub>. Após teste de adsorção em água do mar artificial 4,0 Ga este evento ainda está presente, exceto para F<sub>7</sub> e Fext.

Para o segundo evento, entre 140-360 C° (Tabela 8), a curva de DTG mostra um máximo próximo a 330 °C para F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub>, que pode ser a desidratação de goethita (FeOOH) formada na estrutura do material (Masiero e cols. 2009, Gialanella e cols., 2010). Estes dados são consistentes com RPE, porque mostrou uma linha em  $g \approx 2$ , característica de óxidos e hidróxidos de ferro. Apenas para Fext e F<sub>7</sub> não se observou este segundo evento entre 140-360 C°, porque a primeira zeólita ZSM-5 apenas contem ferro trocável na superfície, e a segunda contem a menor quantidade de ferro determinado por EDX tornando a perda de massa devido à desidratação de goethita (FeOOH) não detectável. Após teste de adsorção com água ultrapura em pH 4,00 este evento ainda está presente, a não ser para Fext e F<sub>7</sub>, mas a perda de massa foi menor do que para os materiais sem tratamento. Este resultado pode ser devido à diminuição de espécies como FeO.(OH) no material, consistente com os dados de RPE, que mostrou que as intensidades de linha para  $g \approx 2$  diminuíram após teste de adsorção. Após teste de adsorção em água do mar artificial em pH 4 este evento não foi detectado.

Para a zeólita Fe-ZSM-5, com tratamento em água do mar 4,0 Ga e água ultrapura em pH 4,00 não foram observados um terceiro evento entre 350-600, característico de perda de água de solvatação, sugerindo que esse mineral possui estabilidade térmica até 900 °C (Sanhueza e cols., 2004). A zeólita F<sub>ext</sub> foi que apresentou maior adsorção em água ultrapura e água do mar 4,0 Ga, e como consequência esse material possui maior quantidade de adenina em sua superfície. Como a degradação dessa base nitrogenada ocorre entre 350-500 °C, o terceiro evento observado para a zeólita, após teste de adsorção, é referente a degradação da matéria orgânica. Também, para F<sub>ext</sub> foi observado a maior perda de massa para este evento, pois a adenina está em maior quantidade para esse material. A zeólita F<sub>7</sub>

foi que apresentou a segunda maior perda para o terceiro evento, pois é o mineral que apresentou a maior adsorção após a  $F_{ext}$ .

A Tabela 8 mostra outro aspecto importante que é o maior valor de perda de massa para o primeiro evento em água do mar 4,0 Ga, após os testes de adsorção sobre os materiais. Isso ocorre, devido a troca de íons presentes na superfície dos materiais por íons  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$  presentes na água do mar 4,0 Ga. Esses cátions divalentes possuem maior capacidade de hidratação e retêm maior quantidade de água sobre a zeólita, proporcionando ao material maior porcentagem de perda (Alver e cols. 2010).

#### **4.2.2) Resultados de adsorção de adenina sobre zeólita sintética Fe-ZSM-5**

A Tabela 9 mostra as quantidades adsorvidas de adenina em ordem decrescente e os parâmetros obtidos pela isoterma BET. Pode ser observado na tabela que o diâmetro do poro dos materiais são maiores que 2 nm, o que caracteriza um mineral mesoporo (Teixeira e cols, 2001). Como pode ser observado a adsorção foi maior ( $p < 0,05$ ) a um nível de confiança de 95 % em água ultrapura em relação a água do mar 4,0 Ga somente para  $F_7$ . Para as demais zeólitas foram iguais ( $p > 0,05$ ). Comparando os materiais, a maior adsorção foi observada para a zeólita  $F_{ext}$  que possui em sua superfície cátions  $Fe^{+3}$  trocáveis. Para as demais zeólitas sintéticas ocorreu uma diminuição significativa na adsorção devido a substituição isomórfica de um elemento com carga +4 como o Si pelo Fe que é um elemento com carga +3, promovendo alterações na densidade de carga negativa no material. Pode ser observado na Tabela 8, que ocorrem alterações na adsorção devido as diferenças nas proporções de Si/Fe. A quantidade adsorvida diminui da  $F_4$  para  $F_6$  devido a menor quantidade de Fe, pois ocorre um aumento na razão Si/Fe. Como consequência existe uma menor carga negativa no material e a interação eletrostática entre a adenina carregada positivamente e a Fe-ZSM-5 é menor, o que justifica a menor adsorção de  $F_4$  para  $F_6$ .

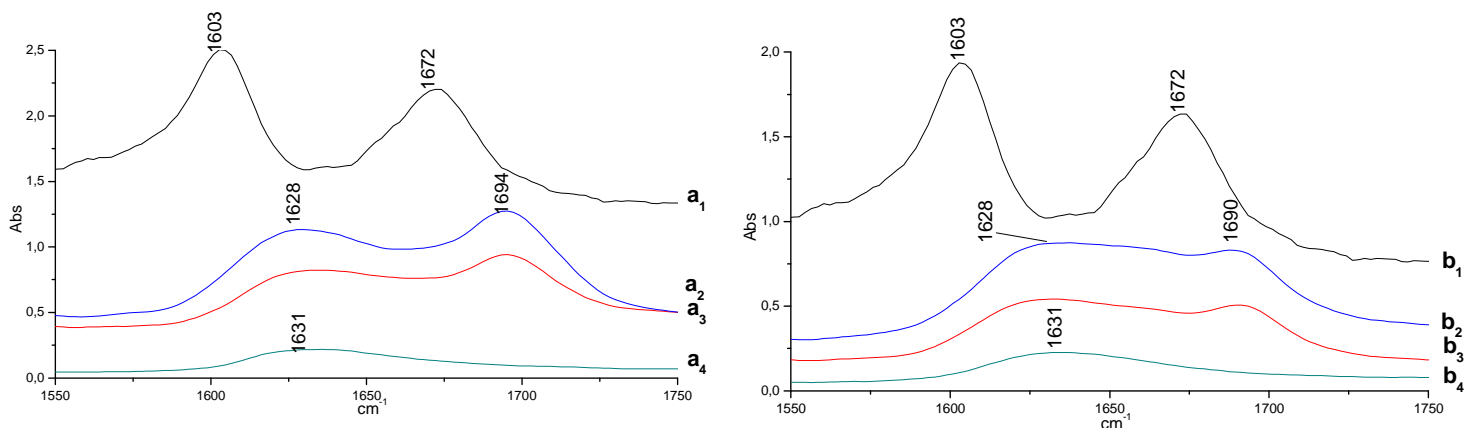
**Tabela 9:** Quantidade de adenina, em  $\mu\text{g/mL}$ , adsorvidas em zeólita sintética ZSM-5 e parâmetros obtidos a partir da isoterma BET e diâmetro de poro medido pelo método de Barret, Joyner e Halenda (BJH) (Teixeira e cols, 2001). O pH inicial foi ajustado para 4,00.

Zeólita	Si/Fe*	Ultra-pura	4,0 Ga	$S_{\text{bet}}$ ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	$V_p$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	D (ads) nm	D (des) nm
Fext	-	$684,3 \pm 2,3^A$	$662,5 \pm 10,9^A$	$304 \pm 4.2$	0,20	23	22
F7	18,24	$264,8 \pm 2,6^{aB}$	$236,0 \pm 3,3^{bB}$	$325 \pm 4.3$	0,40	14	13
F4	4,63	$181,5 \pm 4,5^C$	$176,5 \pm 5,4^C$	$316 \pm 4.6$	0,18	9,3	8,4
F5	5,3	$120,3 \pm 6,4^D$	$123,0 \pm 3,9^D$	$333 \pm 5.0$	0,18	6,0	5,3
F3	10,08	$90,6 \pm 6,6^D$	$84,0 \pm 4,9^E$	$313 \pm 4.5$	0,16	8,0	7,5
F6	10,37	$50,9 \pm 7,2^E$	$40,5 \pm 3,7^F$	$313 \pm 5.1$	0,18	5,7	5,0

Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão. O número de repetições para cada média foi de  $n=5$ . Médias com letras maiúsculas distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de erro. Médias com letras minúsculas distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de erro, feita a comparação das médias entre solventes para mesmo meio (ácido) e mesma base nitrogenada.\* Razão Si/Fe medida por EDX.

No caso da zeólita F<sub>7</sub>, apesar desse mineral possuir menor quantidade de Fe, devido a maior razão Si/Fe, a adsorção foi maior, que pode ser explicado pelo maior volume e diâmetro médio de poro, obtido para esse material. Esse é um importante parâmetro que influencia diretamente na adsorção, onde estudos mostraram que a adsorção dos aminoácidos leucina e fenilalanina sobre as zeólitas ZSM-5 e ZSM-11 foi mais seletiva para a leucina, devido ao menor tamanho dessa molécula, em relação a fenilalanina, permitindo a difusão intra-partícula no material (Munsch e cols. 2001). Outro estudo (Gonsales-Olmos e cols, 2009) mostrou uma maior adsorção de MTBE sobre a zeólita Fe-beta em relação a Fe-ZSM-5, devido a diferenças no volume de poro dos materiais. A Fe-beta possui poro com dimensões maiores (0,65 nm x 0,56 nm e 0,65 nm x 0,75 nm x 0,57 nm) em relação a Fe-ZSM-5 (5,1 Å x 5,5 Å e 5,4 Å x 5,6 Å). A molécula de MTBE possui diâmetro de 0,62 nm e pode se difundir nos poros da Fe-beta.

A Figura 19 mostra os espectros de infravermelho da adenina, dos minerais  $F_{ext}$  e  $F_7$  após teste de adsorção com adenina e dos minerais  $F_{ext}$  e  $F_7$  sem tratamento. A adenina na região entre 1550 a 1750  $cm^{-1}$  apresenta duas bandas características em 1603 e 1673  $cm^{-1}$  (**Figura 19** –  $a_1$  e  $b_1$ ), que podem ser atribuídos ao estiramento C=C e ao grupo  $NH_2$  respectivamente (Mohamed e cols., 2009). Nesta mesma região a zeólita apresenta uma banda em 1631  $cm^{-1}$  (**Figura 19** –  $a_4$  e  $b_4$ ), atribuído às águas de hidratação do mineral. Também para a zeólita sintética quando ocorre a adsorção da adenina a banda em 1603 é deslocada para 1626  $cm^{-1}$ . Esse dado sugere que a interação da base nitrogenada com o mineral ocorre pelo grupo C=C e  $NH_2$ . Outra possibilidade é que essa banda em 1685  $cm^{-1}$ , obtida na deconvolução, pode ser referente a adenina protonada (Mohamed e cols., 2009). Também, pode ter ocorrido a formação de um complexo da base nitrogenada pelo grupo  $NH_2$  e o nitrogênio do anel imidazólico (Anizelli e cols., 2014) com cátions como  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$ , presentes na água do mar adsorvidos na superfície do material. Para a zeólita sintética não foi necessário a deconvolução, pois a maior adsorção em relação a zeólita natural fornece bandas da base nitrogenada com maior intensidade.

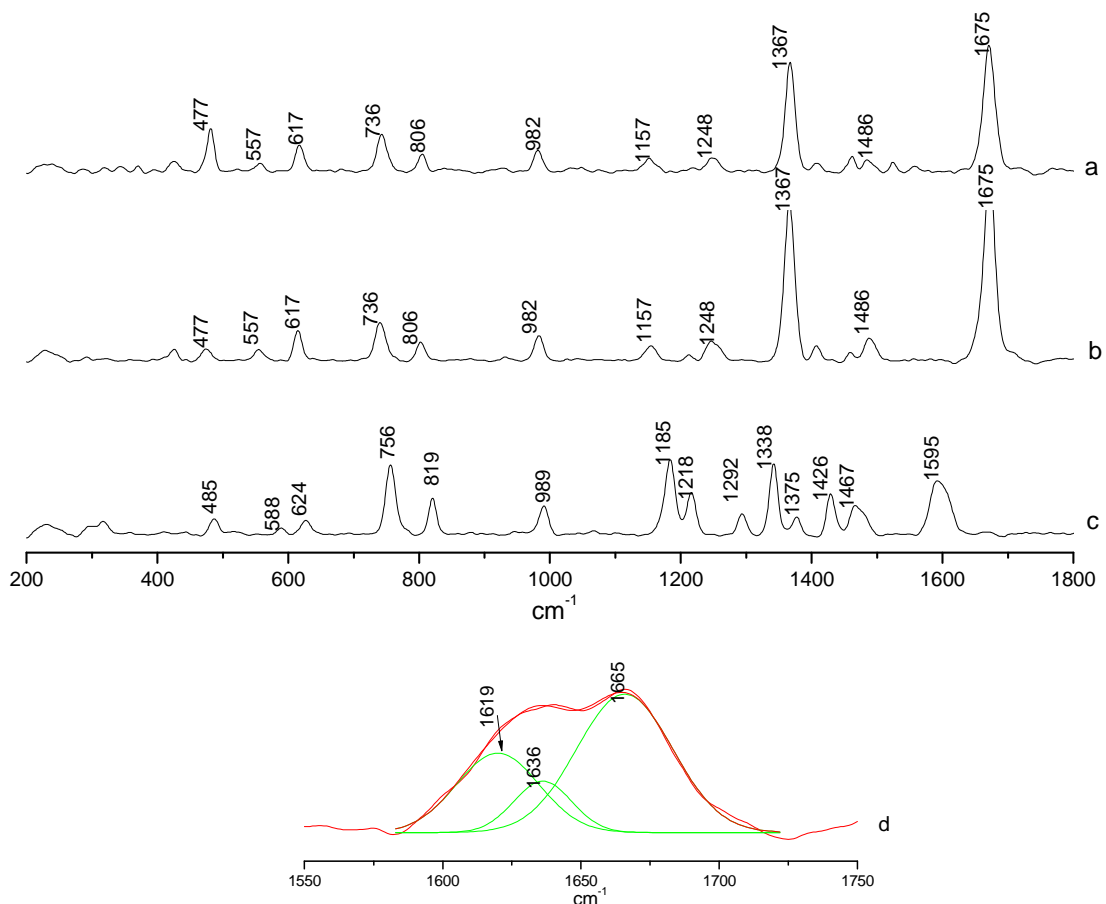


**Figura 19:** Espectro IV de  $a_1$ ) Adenina;  $a_2$ ) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura sobre a zeólita  $F_{ext}$ ;  $a_3$ ) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga sobre a zeólita  $F_{ext}$ ;  $a_4$ ) Zeólita ZSM-5  $F_{ext}$  e  $b_1$ ) Adenina;  $b_2$ ) Adenina adsorvida em solução de água ultrapura sobre a zeólita  $F_7$ ;  $b_3$ ) Adenina adsorvida em solução de água do mar 4,0 Ga sobre a zeólita  $F_7$ ;  $b_4$ ) Zeólita ZSM-5

### 4.3) Estudo espectroscópico da base nitrogenada timina

#### 4.3.1) Raman

O estudo espectroscópico foi realizado utilizando a espectroscopia vibracional Raman através de amostras liofilizadas obtidas de solução ácida e básica, pois essas condições podiam existir em diferentes ambientes da terra primitiva. A Figura 20 apresenta os espectros Raman da timina liofilizada, timina liofilizada a partir das soluções de pH 0,5 e 11,5. A Figura 20 – d é o espectro Raman da timina em solução aquosa da região entre 1550 a 1750  $\text{cm}^{-1}$  e a deconvolução da banda. Na Tabela 10 estão os números de ondas observadas no espectro Raman e FTIR da amostra de timina liofilizada comparadas com outros artigos da literatura, para atribuições por tentativa das bandas da base nitrogenada.



**Figura 20:** Espectro Raman: (a) da timina liofilizada; (b) timina liofilizada a partir da solução com pH 0,5; (c) timina liofilizada a partir da solução com pH 11,5 (d) deconvolução da região entre 1550 a 1750  $\text{cm}^{-1}$  da timina em solução.

A banda intensa observada em  $1675\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento  $\text{C}_4=\text{O}$  acoplada com estiramento  $\text{C}_5=\text{C}_6$  (Zhang, 1998). É esperado a presença dos grupos  $\text{C}_4=\text{O}$  e  $\text{C}_2=\text{O}$ , porém no espectro Raman não foi observado qualquer indicação da banda referente ao estiramento  $\text{C}_2=\text{O}$ . Ushizawa e cols. (1997) propuseram que a alta intensidade observada para o estiramento  $\text{C}_4=\text{O}$  ocorre devido ao acoplamento em fase da banda referente ao grupo  $\text{C}_5=\text{C}_6$  que ocorre na mesma região. O espectro Raman da timina em solução na região entre  $1550$  a  $1750\text{ cm}^{-1}$  (**Figura 20** – d) mostra um desdobramento dessa banda em três número de ondas que foram obtidas por deconvolução ( $r^2= 0,998$ ). A banda em  $1619\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao  $\nu\text{C}_5=\text{C}_6$ ,  $1665\text{ cm}^{-1}$  ao estiramento ( $\nu$ )  $\text{C}_4=\text{O}$  e  $1636\text{ cm}^{-1}$ , a de menor intensidade ao ( $\nu$ )  $\text{C}_2=\text{O}$ . Esse desdobramento ocorre como consequência da formação de ligação de hidrogênio entre moléculas de água e o grupo  $\text{C}_4=\text{O}$  deslocando o estiramento para valores mais baixos devido ao enfraquecimento das ligações químicas  $\text{C}_4=\text{O}$  e  $\text{C}_5=\text{C}_6$ . (Chandra e cols., 1998).

Outra banda intensa observada no espectro Raman foi em  $1367\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuída a deformação simétrica ( $\delta_s$ ) do grupo  $\text{CH}_3$  ligado ao carbono 5 (Zhang e cols, 1998; Colthup, 1990). Um estudo prévio com timina deuturada no grupo metil mostrou um deslocamento dessa banda para número de ondas mais baixas devido ao efeito isotópico exercido pelo deutério, que aumenta a massa reduzida ( $\mu$ ) e altera a número de onda da banda (Zhang e cols, 1998). Outra banda do grupo  $\text{CH}_3$  é devido ao rocking ( $\rho$ ) em  $1157\text{ cm}^{-1}$ .

As bandas em  $806$  e  $736\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas aos modos  $\gamma$  ( $\text{C}_6\text{-H}$ ) e  $\gamma$  ( $\text{N-H}$ ) e as bandas de deformação do grupo  $\text{C}=\text{O}$  e do anel estão localizadas em  $617$  e  $477\text{ cm}^{-1}$ . Outras bandas relacionadas ao anel estão em  $1248\text{ cm}^{-1}$  atribuído ao modo de vibração  $\beta$  ( $\text{C-N}$ ) e a deformação ( $\delta$ ) do anel em  $557$ , conhecida como “breathing”.

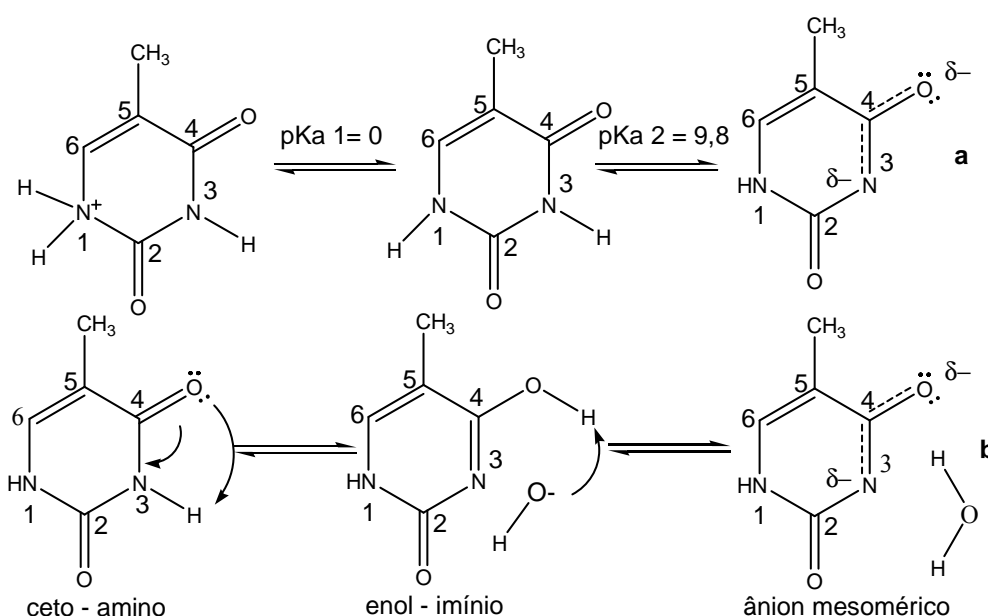
Como pode ser observado o espectro Raman da timina em solução ácida é idêntico em relação ao espectro da timina sem ajuste de pH. Isso ocorre, pois em pH 0,5 não há uma mudança estrutural da timina devido a protonação da base nitrogenada, pois esse valor é acima do valor de  $\text{pK}_a$  1 da timina (Christensen e cols, 1970b) (**Figura 21**- a).

**Tabela 10:** Atribuições dos números de ondas observadas no espectro Raman e infravermelho da timina comparados com outros trabalhos da literatura.

Raman						FTIR				
Observado cm <sup>-1</sup>	Colthup (1990)	Zhang (2010)	Zhang (1998)	Singh (2008)	Atribuição	Observado cm <sup>-1</sup>	Colthup (1990)	Zhang (1998)	Singh (2008)	Atribuição
-	-	-	-	-	-	3191	≈3180	3195	3185	ν(N <sub>1</sub> -H)
-	-	-	-	-	-	3030	2990-3050	3062	3060	ν(C <sub>6</sub> -H)
-	-	-	-	-	-	2929	≈2925	2963	2925	ν <sub>as</sub> (CH <sub>3</sub> )
-	-	-	-	-	-	2895	≈2865	2930	2895	ν <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> )
-	-	-	-	-	-	2811	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	1730	-	1731	1738	ν(C <sub>2</sub> =O)
1675	-	1675	1678	1670	ν(C <sub>4</sub> =O)	1675	≈1650	1678	1680	ν(C <sub>4</sub> =O)
1675	1667-1692	-	1678	1670	ν(C <sub>5</sub> =C <sub>6</sub> )	1675	1667-1692	1675	1640	ν(C <sub>5</sub> =C <sub>6</sub> )
1486	≈1550	-	-	1492	ν(N-H)	1490	≈1550	-	1506	β(N <sub>1</sub> -H)
-	-	-	-	-	-	1451	-	1482	1445	ν(Ring)
-	-	-	-	-	-	1423	-	1428	1430	δ <sub>as</sub> (CH <sub>3</sub> )
1367	1370-1375	1369	1367	-	δ <sup>s</sup> (-CH <sub>3</sub> )	1380	1350-1375	1366	1380	δ <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> )
1248	1310	-	-	-	β(C-N) ring	1286	-	1257	1300	ν(Ring)
1157	-	-	1155	1155	ρ (-CH <sub>3</sub> )	1018	-	1246	1010	ν(Ring)
982	-	984	-	-	ν <sup>s</sup> (ring)	837	≈800	984	850	γ (N <sub>3</sub> -H)
806	≈825	803	-	-	γ (C <sub>6</sub> -H)	814	≈800	741	820	γ (N <sub>1</sub> -H)
736	≈800	738	740	740	γ (N-H)	787	-	847	760	γ (C <sub>2</sub> =O)
617	-	-	615	615	δ(CO)	755	-	847	745	γ (C <sub>4</sub> =O)
557	-	-	557	-	δ(ring)	739	-	741	710	ν(Ring)
477	-	-	478	-	δ(ring)					

ν, estiramento; β, “bending” no plano; γ, “bending” fora do plano; δ, deformação; ρ, “rocking”; τ, “twisting”.

Porém, o pH da solução básica é acima do valor de pKa 2 da timina (Christensen e cols, 1970b) e em pH 11,5 ocorre a desprotonação da base nitrogenada, que provoca uma mudança na estrutura da molécula (**Figura 21 – b**) e alterações no espectro Raman (**Figura 20 - c**). Ganguly e Kundu (1994) propuseram que a formação do ânion mesomérico ocorre pela desprotonação a partir da forma enol-imínio, que está em equilíbrio tautomérico com a forma ceto-amino. Foram observados os surgimentos das bandas em  $1595\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento C=N e  $1290\text{ cm}^{-1}$  que pode ser característico do estiramento C<sub>4</sub>-O<sup>-</sup> (Rivas, 2002). Foi observado também no espectro Raman em pH básico a ausência da banda em  $1675\text{ cm}^{-1}$  característico do modo  $\nu(\text{C}_4=\text{O})$  que sugere a formação do ânion mesomérico (**Figura 21 – b**).



**Figura 21:** Estruturas da Timina em diferentes pHs (a) e o equilíbrio tautomérico ceto-amino e enol-imínio (b).

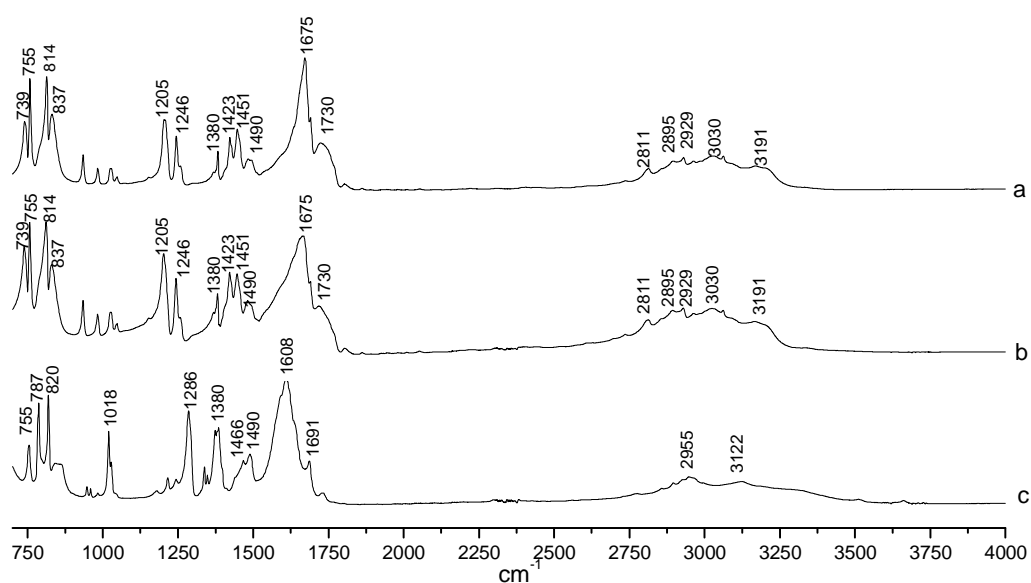
#### 4.3.2) FTIR

Na Figura 22 estão apresentados os espectros FTIR da timina liofilizada, timina liofilizada a partir das soluções de pH 0,5 e 11,5. O espectro FTIR, da timina, apresenta uma banda em  $3191\text{ cm}^{-1}$  que pode ser atribuída ao  $\nu(\text{N-H})$ , uma banda em  $3030\text{ cm}^{-1}$  característico do estiramento C<sub>6</sub>-H e duas bandas do grupo metila em  $2929\text{ cm}^{-1}$  e  $2895\text{ cm}^{-1}$ , atribuídos ao estiramento simétrico e assimétrico, respectivamente. Outros modos do grupo N-H são observados em  $1506$ ,  $837$  e  $814\text{ cm}^{-1}$ , atribuídos ao

$\beta$ (N<sub>1</sub>-H) e bending fora do plano ( $\beta$ ) dos fragmentos N<sub>3</sub>-H e N<sub>1</sub>-H. Já o grupo metila apresenta duas bandas de deformação ( $\delta$ ) assimétrica e simétrica em 1430 e 1380  $\text{cm}^{-1}$ .

O estiramento da carbonila (C=O) aparece como bandas intensas em 1730 e 1675  $\text{cm}^{-1}$  característico dos grupos C<sub>2</sub>=O e C<sub>4</sub>=O. Os modos de deformação estão em 765 e 745  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos às número de ondas de vibração  $\gamma$  (C<sub>2</sub>=O) e  $\gamma$  (C<sub>4</sub>=O).

Os modos característicos do anel são combinações do estiramento C-N, C-C e C=C e foram observadas em 1451, 1286, 1018 e 739  $\text{cm}^{-1}$ . A última banda é conhecida como respiração do anel da timina (Singh, 2008).



**Figura 22:** Espectro FTIR da timina liofilizada (a), timina liofilizada a partir da solução com pH 0,5 (b) e timina liofilizada a partir da solução com pH 11,5 (c).

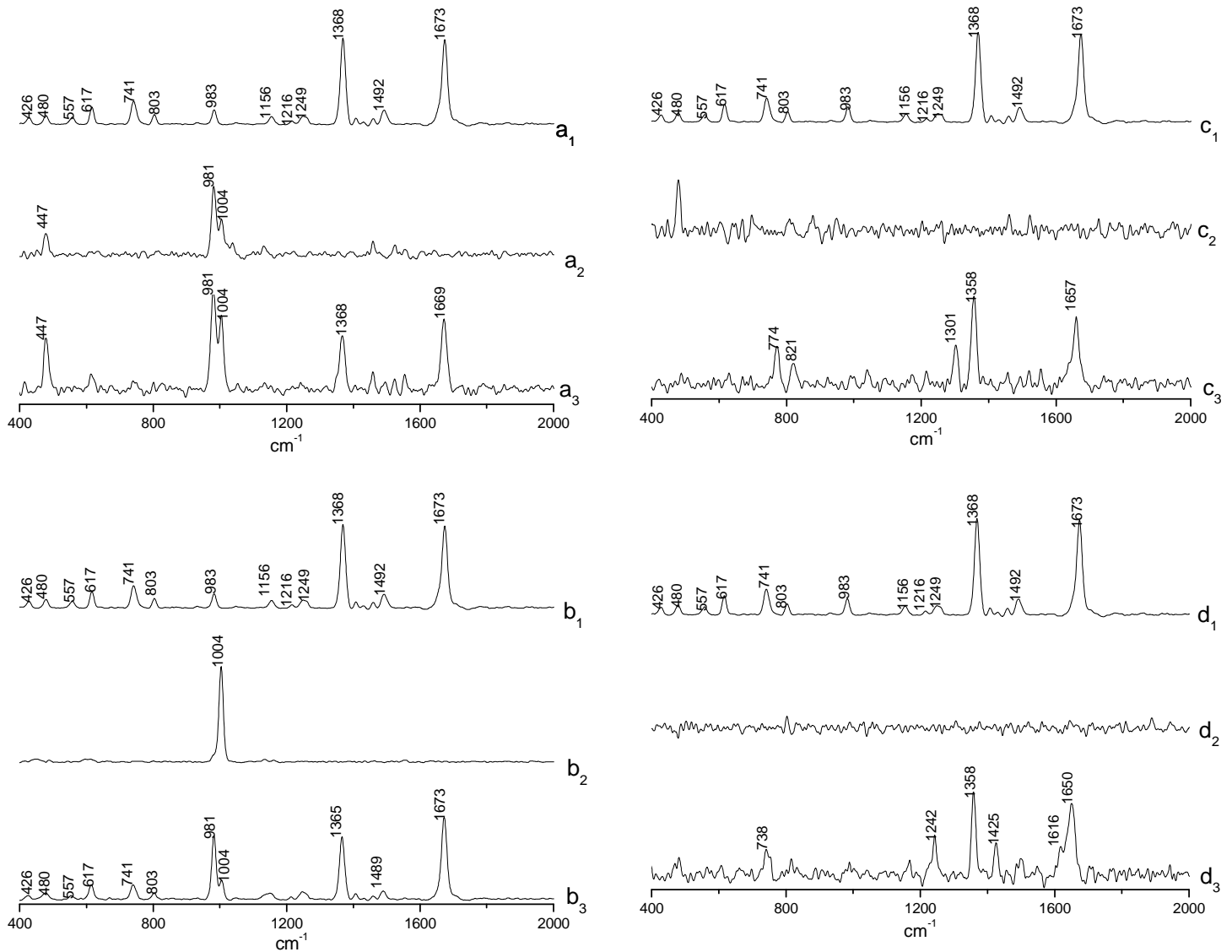
Como pode ser observado o espectro FTIR da timina em pH ácido (**Figura 22** - b) foi idêntico em relação ao espectro da timina sem ajuste de pH. Isso ocorre, pois em pH 0,5 não há uma mudança estrutural da timina devido a protonação da base nitrogenada, pois esse valor é acima do valor de pK<sub>a</sub> 1 da timina (Christensen e cols, 1970b). Em pH 11,5 ocorre a desprotonação da timina, pois esse valor de pH é acima do pK<sub>a</sub> 2 da base nitrogenada (Christensen e cols, 1970b). Ocorre uma mudança na estrutura da molécula, pois em pH 11,5 existe uma contribuição do tautômero cetimínio (**Figura 21** - b) e as alterações no espectro FTIR (**Figura 22** - c) são o surgimento das bandas em 1608  $\text{cm}^{-1}$  que podem ser atribuídos ao  $\nu$ (C=N) e 1286  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuído ao  $\nu$ (C<sub>4</sub>-O<sup>-</sup>) (Wierzchowski e cols., 1965) e o deslocamento

da banda referente ao  $\nu(\text{C}_2=\text{O})$  de 1730 para 1691  $\text{cm}^{-1}$ . Pode ser observado também no espectro FTIR em pH básico a ausência da banda em 1675  $\text{cm}^{-1}$  característico do estiramento  $\text{C}_4=\text{O}$  e da banda do estiramento  $\text{N}_3\text{-H}$ , que sugere a formação do ânion mesomérico (**Figura 22 – b**), onde esses grupos estão ausentes.

#### **4.3.3) Interação da timina com sais das águas do mar**

A Figura 23 mostra os espectros Raman de timina liofilizada a partir de água ultrapura, soluções liofilizadas das águas do mar artificial mais timina e soluções liofilizadas a partir de quatro diferentes águas do mar artificial. A banda na região de 1100  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 23-a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>) pertencem aos sais de sulfato, respectivamente (Nakamoto, 1978). Para as amostras liofilizadas de água do mar artificial de 0,0 Ga mais timina (Figura 23-a<sub>3</sub>) e água do mar artificial de 4,0 Ga mais timina (Figura 23-b<sub>3</sub>) as bandas da base nitrogenada não tiveram um deslocamento, ou seja cátions como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  não interagem de maneira significativa com a base. Porém, para as amostras de água do mar artificial de 3,2 Ga mais timina (Figura 23-c<sub>3</sub>) e água do mar artificial hidrotermal de 3,2 Ga mais timina (Figura 23-d<sub>3</sub>) ocorreu um deslocamento, para número de ondas mais baixas, da banda em 1675  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C}_4=\text{O}$ ). Estes deslocamentos podem ser devido a uma interação do estrôncio das águas do mar artificial de 3,2 Ga com o grupo  $\text{C}_4=\text{O}$ .

A interação preferencial entre a timina e o íon estrôncio pode ser explicada pela teoria de Person, o qual conceituou que ácidos duros se ligam fortemente com bases duras, enquanto ácidos moles interagem com bases moles (Fleming, 2009). A carbonila pela classificação de Person é uma base mole, pois é uma espécie de fácil polarizabilidade, e interage fortemente com o íon estrôncio, que é considerado um ácido mole devido ao maior raio iônico em relação ao  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  que são ácidos duros (Fleming, 2009).



**Figura 23:** espectros Raman: a<sub>1</sub>) timina liofilizado de água ultrapura; a<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 0 Ga; a<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 0 Ga mais timina; b<sub>1</sub>) timina liofilizado de água ultrapura, b<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 4,0 Ga; b<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 4,00 Ga mais timina; c<sub>1</sub>) timina liofilizado de água ultrapura; c<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial hidrotermais de 3,20 Ga; c<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar hidrotermal de 3,20 Ga mais timina; d<sub>1</sub>) timina liofilizado de água ultrapura; d<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 3,20 Ga; d<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 3,20 Ga mais timina. A timina foi dissolvido em água ultrapura e águas do mar artificial a uma concentração de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $720 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. As águas do mar artificiais foram preparadas como descrito por Zaia (2012).

#### 4.3.4) Cálculos teóricos

Foi proposto por Ganguly e Kundu (1994) que a desprotonação da timina ocorre a partir do tautomêro enol-imínio. Foram realizados cálculos das duas formas tautoméricas (enol-imínio e Ceto-amino) utilizando o efeito do solvente através de modelo de polarização contínua (PCM). Os resultados obtidos por cálculos teóricos mostram que a forma tautomérica ceto-amino é 10,16 kcal/mol mais estável em relação a enol-imínio, no nível de teoria B3LYP/aug-cc-pvdz, e como consequência o equilíbrio está deslocado para a primeira forma. Entretanto, a desprotonação é mais eficiente a partir do tautomêro enol-imínio, pois o hidrogênio ligado ao oxigênio é mais ácido em relação ao mesmo ligado no nitrogênio 3 da forma ceto-amino. A acidez do hidrogênio pode ser medido pela carga de Muliken localizada nesse elemento. No tautomêro ceto-amino o hidrogênio possui carga negativa (-0,015) e na forma enol-imínio, onde ocorre a desprotonação o hidrogênio é mais ácido, pois a carga é 0,306. Os resultados obtidos dos cálculos estão de acordo com o trabalho de Ganguly e Kundu (1994).

A Tabela 11 mostra os resultados dos cálculos teóricos da timina livre e timina utilizando o efeito do solvente através de modelo de polarização contínua (PCM). Os resultados das frequências obtidas da timina para os estiramentos  $C_5=C_6$ ,  $C_4=O$  e  $C_2=O$  são superestimados com relação aos experimentais, mas indicam uma tendência que ajuda na interpretação de resultados experimentais. Como pode ser observado ocorre um alongamento das ligações  $C_5=C_6$  ( $\Delta r=0,00049$ , onde  $\Delta r = r(\text{timina-água}) - r(\text{timina livre})$ ),  $C_4=O$  ( $\Delta r=0,0102$ ) e  $C_2=O$  ( $\Delta r=0,0132$ ), enfraquecendo-as de forma diferente e deslocando as número de ondas de estiramento para valores mais baixos. O solvente não exerceu um grande efeito sobre a ligação  $C_5=C_6$ , pois foi obtido um valor mais baixo para  $\Delta r$ , resultando em menor diminuição da frequência de estiramento ( $\Delta v = -15 \text{ cm}^{-1}$ , onde  $\Delta v = v(\text{timina-água}) - v(\text{timina livre})$ ). A diminuição do estiramento para  $C_2=O$  foi  $\Delta v=-80 \text{ cm}^{-1}$  e  $C_4=O$  foi  $\Delta v=-88 \text{ cm}^{-1}$ . Esse resultado dos cálculos teóricos é consistente com os resultados experimentais, onde foi observada uma menor redução do alongamento ( $\Delta v=10 \text{ cm}^{-1}$ ) para  $C_5=C_6$  e uma mudança de  $-56 \text{ cm}^{-1}$  para  $C_4=O$ . Chandra e cols (1998) observaram o mesmo efeito com o cálculo simulando a interação entre o hidrogênio da água com o oxigênio dos grupos  $C=O$ . Também ocorreu um enfraquecimento

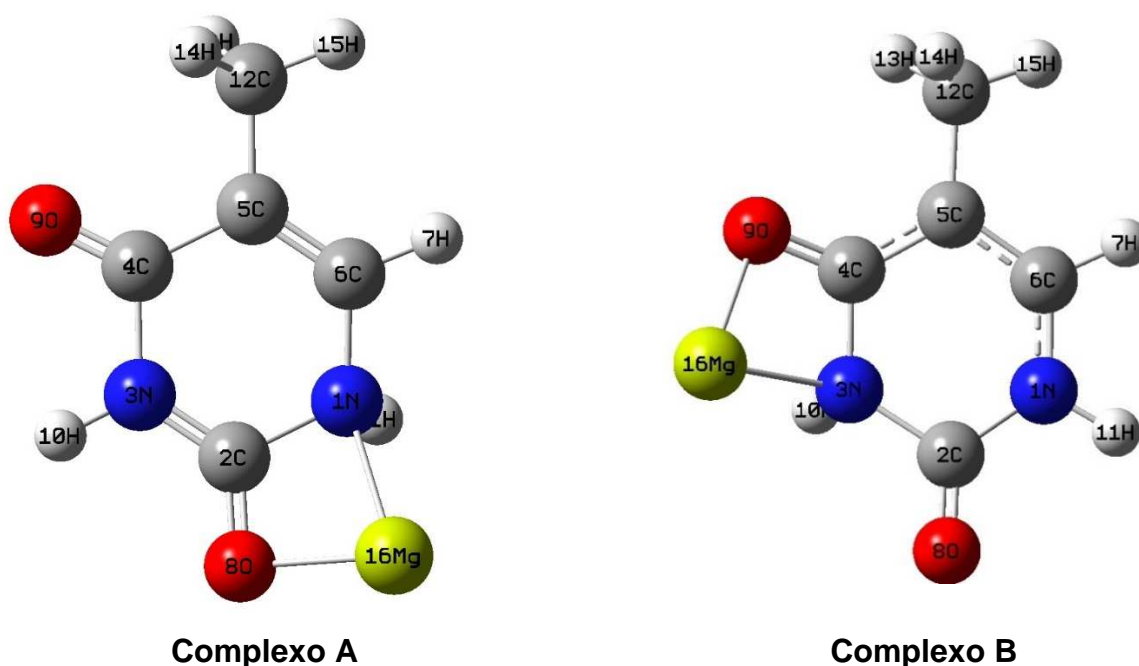
diferente das ligações  $C_5=C_6$ ,  $C_4=O$  e  $C_2=O$ , o que explica as três bandas observadas (Figura 18-d), em espectros Raman em solução.

**Tabela 11:** Resultados teóricos para distância de ligação, estiramento da  $C_2=O$ ,  $C_4=O$  e  $C_5=C_6$  e energia relativa para a complexos da timina com  $Na^+$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  and  $Sr^{+2}$  em diferentes posições bidentadas.

Complexo	Timina	Timina	Na		Mg		Ca		Sr	
	(Livre)	(Água)	A	B	A	B	A	B	A	B
$E_{rel}$ (kcal/mol)	-	-	18,85	0,0	10,14	0,0	30,63	0,0	24,37	0,0
$E_{rel}$ (Gcal/mol)	-	1,96	-	1,86	-	1,83	-	1,53	-	0,0
$r(C_2=O)$ nm	0,1220	0,1234	0,1249	0,1210	0,1267	0,1190	0,1288	0,1198	0,1259	0,1202
$\nu(C_2=O)$ $cm^{-1}$	1786	1706	1728	1822	1731	1846	1626	1837	1817	1857
$r(C_4=O)$ nm	0,1224	0,1237	0,1212	0,1250	0,1191	0,1273	0,1200	0,1252	0,1203	0,1285
$\nu(C_4=O)$ $cm^{-1}$	1742	1654	1789	1691	1866	1630	1865	1734	1713	1614
$r(C_5=C_6)$ nm	0,1355	0,1359	0,1352	0,1364	0,1343	0,1392	0,1378	0, <sup>1354</sup>	0,1354	0,1377
$\nu(C_5=C_6)$ $cm^{-1}$	1700	1685	1705	1678	1683	1610	1668	1674	1673	1662
$r(N_1-H)$ nm	0,1011	-	0,1016	0,1015	0,1037	0,1020	0,1035	0,1018	0,1017	0,1017
$\nu(N_1-H)$ $cm^{-1}$	3634	-	3616	3599	3288	3526	3319	3560	3559	3559

Para racionalizar as observações experimentais da timina na presença de sais da água do mar foram feitos cálculos teóricos para observar os efeitos de interação entre metais e timina. Um trabalho anterior (Yu e cols, 2012) propôs que essa interação ocorre preferencialmente entre os átomos de nitrogênio e oxigênio. A Tabela 11 lista os cálculos teóricos para distâncias de ligação, de  $C_2=O$ ,  $C_4=O$  e  $C_5=C_6$  e a energia relativa da timina para a interação com o  $Na^+$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  e  $Sr^{+2}$  em diferentes posições bidentados. Como pode ser observado as interações dos metais com o nitrogênio 3 e o oxigênio no carbono 4 é mais efetiva (Complexo B), devido a menor energia obtida para essa estrutura (Figura 24). Foi observado experimentalmente que ocorre um deslocamento da banda  $C_4=O$  em  $16\text{ cm}^{-1}$  para as frequências mais baixas em água do mar de 3,2 Ga, onde o  $Sr^{+2}$  foi o responsável por essa mudança. Os

resultados obtidos a partir dos cálculos teóricos, também apresentam um efeito mais elevado para o  $\text{Sr}^{+2}$  em relação aos outros cations, porque foi obtido o maior alongamento da ligação  $\text{C}_4=\text{O}$  ( $\Delta r = 0,0061 \text{ nm}$ , em que,  $\Delta r = r(\text{timina}-\text{Sr}^{+2}) - r(\text{timina livre})$ ), proporcionou um valor de  $\nu(\text{C}_4=\text{O})$  de  $1614 \text{ cm}^{-1}$ , que é próximo ao valor experimental ( $1619 \text{ cm}^{-1}$ ). A ordem de energia em relação aos metais está de acordo com estas observações, pois a seqüência é  $\text{Sr}^{+2} < \text{Ca}^{+2} < \text{Mg}^{+2} < \text{Na}^+$ . A presença dos metais também exerceram um efeito na ligação  $\text{N}_1\text{-H}$ , onde os maiores valores de alongamento dessas ligações ocorreram para os complexos A na interação com o  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  ( $\Delta r = 0,0026$  e  $0,0024 \text{ nm}$ , respectivamente). Como consequência o estiramento da ligação  $\text{N}_1\text{-H}$  é deslocada para números de onda mais baixos, mas não foram observados resultados experimentais que corroborasse com os valores calculados.



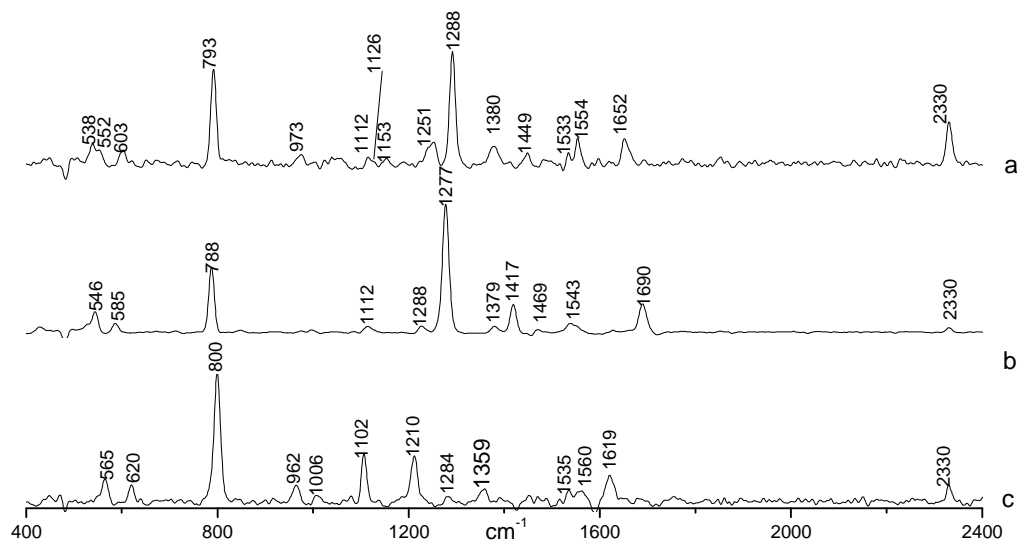
**Figura 24:** Estruturas do complexo A e complexo B da timina

#### 4.4) Estudo espectroscópico da base nitrogenada citosina

##### 4.4.1) Raman

Foram obtidos os espectros Raman utilizando amostras liofilizadas de solução ácida e básica. A Figura 25 mostra os espectros Raman da citosina liofilizada, citosina liofilizada a partir das soluções de pH 2,0 e 12,5. Na Tabela 12 os números de ondas

observadas no espectro Raman da amostra de citosina liofilizada foram comparados com outros artigos da literatura e foram obtidas as atribuições por tentativa das principais bandas.



**Figura 25:** Espectro Raman: (a) da citosina liofilizada; (b) citosina liofilizada a partir da solução com pH 2,0; (c) citosina liofilizada a partir da solução com pH 12,5

A banda de baixa intensidade observada em  $1652\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento  $\text{C}_2=\text{O}$ . É esperado a presença do grupo  $\text{C}_5=\text{C}_6$ , porém no espectro Raman não foi observado qualquer indicação da banda referente ao estiramento  $\text{C}_5=\text{C}_6$ . Mathlouthi e cols. (1986) observaram a banda característica desse grupo, mas com baixa intensidade em  $1620\text{ cm}^{-1}$  e Nishimura e Tsuboi (1985) observaram o  $\nu\text{C}_5=\text{C}_6$  em  $1663\text{ cm}^{-1}$ .

Foram observadas algumas bandas de baixa intensidade entre  $1600$  a  $1300\text{ cm}^{-1}$ . Comparando com as observadas por Mathlouthi e cols. (1986), Nishimura e Tsuboi (1985) e Colthup (1990) foram atribuídos aos modos de vibração “twisting” ( $\tau$ ) do grupo  $-\text{NH}_2$  em  $1554$  e  $\beta(\text{N}_1\text{H})$  em  $1449\text{ cm}^{-1}$ . Outra banda nessa região é em  $1533$ , próximo ao valor observado por Kalyanaraman e cols (2007), atribuído ao  $\nu(\text{C}_4=\text{N}_3)$ . Mathlouthi e cols. (1986) atribuíram ao  $\nu(\text{C}_4=\text{N}_3)$  uma banda de fraca intensidade em  $1502$  não observada no espectro da Figura 25 – a.

**Tabela 12:** Atribuições dos números de ondas observadas no espectro Raman e FTIR da citosina comparados com outros trabalhos da literatura.

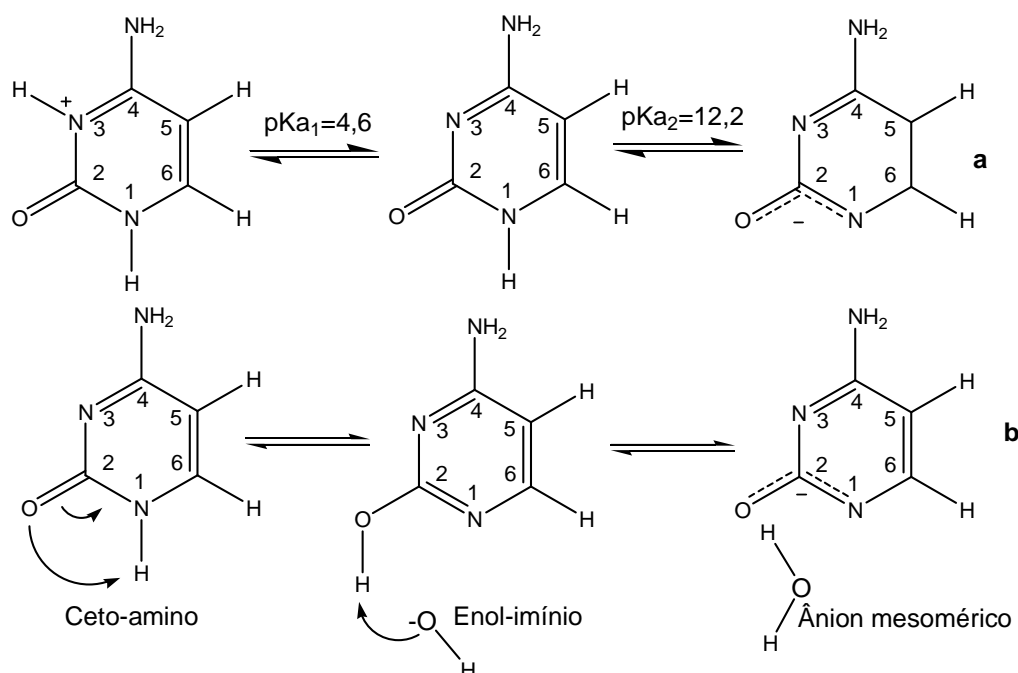
Raman					FTIR				
Observado cm <sup>-1</sup>	Colthup (1990)	Mathlouthi e cols. (1986)	Nishimura e cols (1985)	Atribuição	Observado cm <sup>-1</sup>	Colthup (1990)	Mathlouthi e cols. (1986)	Nishimura e cols. (1985)	Atribuição
-	-	-	-	-	3433				
-	3100-3500	-	3354	$\nu_{as}(\text{NH}_2)$	3360	3100-3500	3384	3380	$\nu_{as}(\text{NH}_2)$
-	-	-	-	-	3290				
-	3100-3500	-	3176	$\nu_s(\text{NH}_2)$	3172	3100-3500	3180	3169	$\nu_s(\text{NH}_2)$
-	-	-	-	-	3099	≈3080	-	2700	$\nu(\text{N}_1\text{-H})$
-	-	-	-	-	2988	-	-	-	-
-	-	-	3117	$\nu(\text{C}_5\text{-H})$	2921	-	-	-	-
-	-	-	3050	$\nu(\text{C}_6\text{-H})$	2851	-	-	-	-
-	-	-	-	-	2798	3000-3050	2796	-	$\nu(\text{C}_6\text{-H})$
2330	-	-	-	-	2684	3000-3050	2690	-	$\nu(\text{C}_5\text{-H})$
1652	≈1650	1667	1694	$\nu(\text{C}_2=\text{O})$	1652	≈1650	1667	1703	$\nu(\text{C}_2=\text{O})$
-	1667-1692	1620	1653	$\nu(\text{C}_5=\text{C}_6)$	1652	1667-1692	1616	1662	$\nu(\text{C}_5=\text{C}_6)$
1554	≈1550	-	-	$\tau(-\text{NH}_2)$	1595	1590-1650	-	1615	$\beta(-\text{NH}_2)$
1533	1582-1685	1502	-	$\nu(\text{C}_4=\text{N}_3)$	1516	1582-1685	1505	-	$\nu(\text{C}_4=\text{N}_3)$
-	-	-	-	-	1494	≈1510	-	-	$\beta(\text{C}_4\text{NH})$
-	-	1470	1498	$\nu(\text{C}_2\text{-N}_3)$	-	-	1470	1505	$\nu(\text{C}_2\text{-N}_3)$
1449	1440-1490	1542	1462	$\beta(\text{N}_1\text{H})$	1457	1440-1490	1540	1465	$\beta(\text{N}_1\text{H})$
1380	-	1376	1361	$\beta(\text{C}_5\text{HC}_6\text{H})$	1369	-	1366	1364	$\beta(\text{C}_5\text{HC}_6\text{H})$
1288	1310-1350	1280	-	$\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$	1290	1310-1350	1280	-	$\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$
1251	1310-1350	1260	-	$\nu(\text{C}_4\text{-N})$	1231	1310-1350	1240	-	$\nu(\text{C}_4\text{-N})$
1153	-	-	-	-	1146	-	-	-	-
1112	1110	1118	1148	$\rho(-\text{NH}_2)$	1106	1110	1110	1150	$\rho(-\text{NH}_2)$
973	-	-	966	$\nu(\text{C}_4\text{-C}_5)$	979	-	980	-	$\nu(\text{C}_4\text{-C}_5)$
-	-	-	-	-	876	-	-	-	-
-	-	-	-	-	813	≈800	822	-	$\gamma(\text{N}_1\text{-H})$
793	-	798	792	$\nu(\text{anel})$	789	-	794	793	$\nu(\text{anel})$
603	-	602	597	$\beta(\text{C}_3\text{N}_5\text{C}_5)$	638	≈630	-	-	$\gamma(\text{C-H})$
552	-	558	546	$\beta(\text{C}_2\text{N}_3\text{C}_4)$	-	-	-	-	-
538	-	546	546	$\beta(\text{C}_4\text{C}_5\text{C}_6)$	-	-	-	-	-

$\nu$ , estiramento;  $\beta$ , “bending” no plano;  $\gamma$ , “bending” fora do plano;  $\delta$ , deformação;  $\rho$ , “rocking”;  $\tau$ , “twisting”.

As bandas em 1288 e 1251  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas aos modos  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$  e  $\nu(\text{C}_4\text{-N})$ , já as bandas com número de onda 1112 e 973  $\text{cm}^{-1}$  aos modos  $\rho(-\text{NH}_2)$  e  $\nu(\text{C}_4\text{-C}_5)$ . Florian e cols. (1996) atribuíram a banda em 1288  $\text{cm}^{-1}$  ao  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_3)$ . A banda em 793  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao “breathing” do anel devido aos estiramentos em fase dos grupos CC, CN e CO. Mathlouthi e cols. (1986) atribuíram as bandas em 603, 552 e 538  $\text{cm}^{-1}$  aos modos  $\beta(\text{C}_3\text{N}_5\text{C}_5)$ ,  $\beta(\text{C}_2\text{N}_3\text{C}_4)$  e  $\beta(\text{C}_4\text{C}_5\text{C}_6)$ , respectivamente.

Como pode ser observado o espectro Raman da citosina em solução ácida e básico são diferentes em relação ao espectro da citosina sem ajuste de pH. Isso ocorre, pois, os valores de pH 2,00 e 12,50 no qual as soluções foram ajustadas estão abaixo e acima do  $\text{pK}_a1$  e  $\text{pK}_a 2$  (Christensen e cols., 1970b), respectivamente. Isso provoca mudanças estruturais na molécula (**Figura 26**) e alterações no espectro Raman (**Figura 25 – b, c**).

Em pH 2,0 ocorre a protonação da citosina no nitrogênio 3 e o espectro Raman apresenta bandas (**Figura 25 – b**) da citosina hidrocloreada. As duas bandas de maior intensidade em 788 e 1277  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao “breathing” do anel e aos estiramentos fora de fase do fragmento  $\text{N}_1\text{-C}_2\text{-N}_3\text{-C}_4$  com contribuição dominante do  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_3)$  (Florián e cols., 1996). O deslocamento para menores número de ondas da banda em 1288 para 1277  $\text{cm}^{-1}$  da molécula protonada foi atribuído a um enfraquecimento da ligação  $\text{C}_2\text{-N}_3$ . Entretanto, a banda devido ao estiramento  $\text{C}=\text{O}$  é deslocada para maior número de onda na citosina protonada. Florián e cols (1996) atribuíram esse deslocamento no número de onda em 38  $\text{cm}^{-1}$  a um aumento na constante de força da ligação  $\text{C}=\text{O}$ .



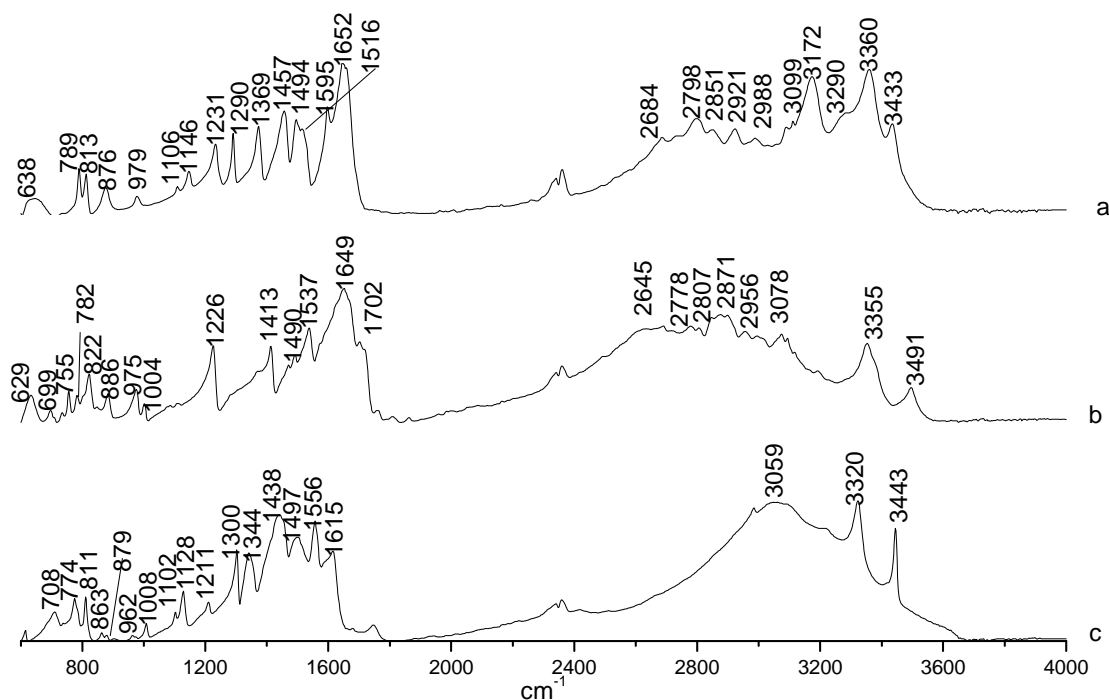
**Figura 26:** Estruturas da citosina em diferentes pHs (a) e o equilíbrio tautomérico Ceto-amino e enol-imínio (b).

O pH 12,5 é acima do valor de pKa 2 da citosina, o que provoca a desprotonação da base nitrogenada, (**Figura 26 – b**) e alterações no espectro Raman (**Figura 25 - c**). Foi proposto que a formação do ânion mesomérico ocorre pela desprotonação a partir da forma Enol-imínio, que está em equilíbrio tautomérico com a forma Ceto-amino (Ganguly e Kundu (1994)). Foram observados um deslocamento e uma diminuição significativa na intensidade da banda em  $1288\text{ cm}^{-1}$ , característico do  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$  e um deslocamento da banda em  $1652\text{ cm}^{-1}$ , característico do  $\nu(\text{C}_2=\text{O})$ , para  $1619\text{ cm}^{-1}$ . As alterações nos números de ondas e intensidades desses grupos pode ser devido a ambos estarem envolvidos no mecanismo da desprotonação na citosina.

#### 4.4.2) FTIR

Na Figura 27 estão apresentados os espectros FTIR da citosina liofilizada, citosina liofilizada a partir das soluções de pH 2,0 e 12,5. O espectro FTIR apresenta bandas na região entre  $3500$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em  $3360$  e  $3172\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo  $\text{NH}_2$ . Já a banda em  $3099\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao  $\nu(\text{N}_1\text{-H})$ . As bandas devido aos modos  $\nu(\text{C}_6\text{-H})$  e

$\nu(\text{C}_5\text{-H})$ , segundo Nishimura e Tsuboi (1986) ocorrem em 2798 e 2694  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Outros modos do grupo N-H são observados em 1457 e 813  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídos ao  $\beta(\text{N}_1\text{-H})$  e  $\gamma(\text{N}_1\text{-H})$ . Já o grupo  $-\text{NH}_2$  apresenta duas bandas uma devido ao “bending” no plano em 1595  $\text{cm}^{-1}$  e “rocking” ( $\rho$ ) em 1106  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 27:** Espectro FTIR da citosina liofilizada (a), citosina liofilizada a partir da solução com pH 2 (b) e citosina liofilizada a partir da solução com pH 12,5.

O estiramento da carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) aparece como banda intensa em 1653  $\text{cm}^{-1}$  e o estiramento do grupo  $\text{C}_5=\text{C}_6$  não foi observado no espectro FTIR, como ocorreu no espectro Raman. As bandas devido aos estiramentos  $\nu(\text{C}_4=\text{N}_3)$ ,  $\nu(\text{C}_2-\text{N}_1)$  e  $\nu(\text{C}_4-\text{N})$  ocorrem em 1516, 1290 e 1231  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. O estiramento  $\text{C}_4-\text{C}_5$  ocorre em 979  $\text{cm}^{-1}$  e a banda conhecida como “breathing” do anel da citosina ocorre em 789  $\text{cm}^{-1}$ .

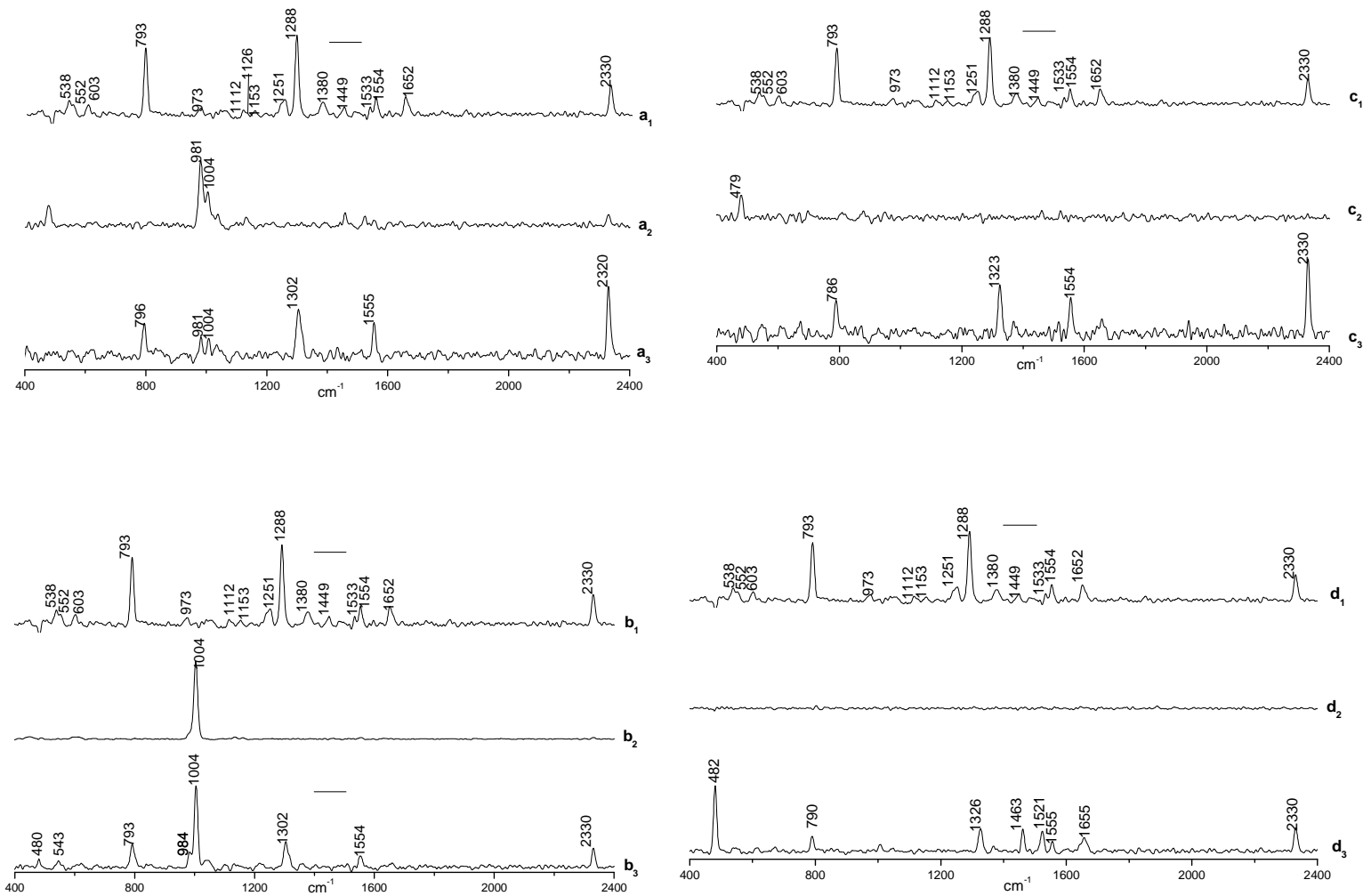
Como pode ser observado o espectro FTIR da citosina em pH ácido (**Figura 27** - b) não é idêntico em relação ao espectro da citosina sem ajuste de pH. Isso ocorre, pois em pH 2,00 há a protonação da base nitrogenada, pois esse valor é abaixo do valor de  $\text{pK}_a$  1 da citosina (Christensen e cols., 1970b). Assim como foi observado no espectro Raman, com a protonação da citosina, ocorre um deslocamento de 50  $\text{cm}^{-1}$  para maior número de onda da banda em 1652 ( $\nu(\text{C}=\text{O})$ ). Também ocorre um deslocamento das bandas características do estiramento  $\text{C}_4=\text{N}_3$  em 1516  $\text{cm}^{-1}$  e

$\beta(\text{NH}_2)$  em  $1595\text{ cm}^{-1}$  para  $1537$  e  $1649\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Florián e cols (1996) atribuíram esses deslocamentos a um aumento na constante de força desses grupos.

Em pH 12,5 ocorre a desprotonação da citosina, pois esse valor de pH é acima do  $\text{pK}_a$  2 (Christensen e cols., 1970b) da base nitrogenada, o que também provoca alterações no espectro FTIR devido a uma mudança na estrutura da molécula. Foram observados um deslocamento da banda em  $1288$  para  $1211\text{ cm}^{-1}$ , característico do  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$ , e um deslocamento da banda em  $1652\text{ cm}^{-1}$ , característico do  $\nu(\text{C}_2=\text{O})$ , para  $1619\text{ cm}^{-1}$ .

#### **4.4.3) Interação da citosina com sais das águas do mar**

A Figura 28 mostra os espectros Raman de citosina liofilizada a partir de água ultrapura, soluções liofilizadas das águas do mar artificial mais citosina e soluções liofilizadas a partir de quatro diferentes águas do mar artificiais. A banda na região de  $1004\text{ cm}^{-1}$  (Figura 28-a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>) pertence aos sais de sulfato (Nakamoto, 1978). Para as amostras liofilizadas de água do mar artificial de 0,0 Ga mais citosina (Figura 27-a<sub>3</sub>) e água do mar artificial de 4,0 Ga mais citosina (Figura 27-b<sub>3</sub>) a banda de alta intensidade em  $1288$  foi deslocada para maiores número de ondas em  $1302\text{ cm}^{-1}$ . Cátions como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  podem interagir de maneira significativa com a base.



**Figura 28:** espectros Raman: a<sub>1</sub>) citosina liofilizado de água ultrapura; a<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 0 Ga; a<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 0 Ga mais citosina; b<sub>1</sub>) citosina liofilizado de água ultrapura, b<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 4,0 Ga; b<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 4,00 Ga mais citosina; c<sub>1</sub>) citosina liofilizado de água ultrapura; c<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial hidrotermais de 3,20 Ga; c<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar hidrotermal de 3,20 Ga mais citosina; d<sub>1</sub>) citosina liofilizado de água ultrapura; d<sub>2</sub>) sais liofilizado de água do mar artificial de 3,20 Ga; d<sub>3</sub>) solução liofilizada de água do mar artificial de 3,20 Ga mais citosina. A citosina foi dissolvido em água ultrapura e águas do mar artificial a uma concentração de 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 720  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. As águas do mar artificiais foram preparadas como descrito por Zaia (2012).

Para as amostras de água do mar artificial de 3,2 Ga mais citosina (Figura 28-c<sub>3</sub>, d<sub>3</sub>) ocorreu um maior deslocamento, da banda em 1288 cm<sup>-1</sup>  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$  para 1323 e 1326 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes deslocamentos podem ser devido a uma interação mais efetiva do estrôncio das águas do mar artificial de 3,2 Ga com a base nitrogenada.

#### 4.4.4) Cálculos teóricos

Foi proposto por Ganguly e Kundu (1994) que a desprotonação da citosina ocorre a partir do tautômero enol-imínio. Para o estudo do equilíbrio tautomérico entre as formas enol-imínio e ceto-amino foram realizados cálculos utilizando o efeito do solvente através de modelo de polarização contínua (PCM). Os resultados teóricos mostram que a forma tautomérica ceto-amino é 8,35 kcal/mol mais estável em relação a enol-imínio no nível de teoria B3LYP/aug-cc-pvdz, e como consequência o equilíbrio está deslocado para a primeira forma. Entretanto, a desprotonação é mais eficiente a partir do tautômero enol-imínio, pois o hidrogênio ligado ao oxigênio é mais ácido em relação a este elemento ligado no nitrogênio 1 da forma ceto-amino. A carga de Mulliken localizada nesse elemento no tautômero Ceto-amino possui um valor de -0,051, e na forma enol-imínio, onde ocorre a desprotonação o hidrogênio é mais ácido, pois a carga é 0,186. Os resultados obtidos dos cálculos para a citosina também estão de acordo com o trabalho de Ganguly e Kundu (1994).

Para entender as observações experimentais da citosina na presença de sais da água do mar foram feitos cálculos teóricos para observar os efeitos de interação entre metais e base nitrogenada. A literatura relata que essa interação ocorre preferencialmente entre os átomos de nitrogênio e oxigênio. A Tabela 13 lista os cálculos teóricos da energia relativa da citosina para a interação com o Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Ca<sup>+2</sup> e Sr<sup>+2</sup> em diferentes posições bidentados. No caso do Sr<sup>+2</sup> foi posicionado o metal nas mesmas posições dos demais cátions no input para eventuar o cálculo. Entretanto, a otimização convergiu apenas para o complexo A e como consequência, a Tabela 13 para o Sr<sup>+2</sup> tem a energia apenas para esse complexo. Como pode ser observado a interações do metal com nitrogênio 3 e oxigênio no carbono 2 é mais efetiva (Complexo A), devido a menor energia obtida para essa estrutura (Figura 29).

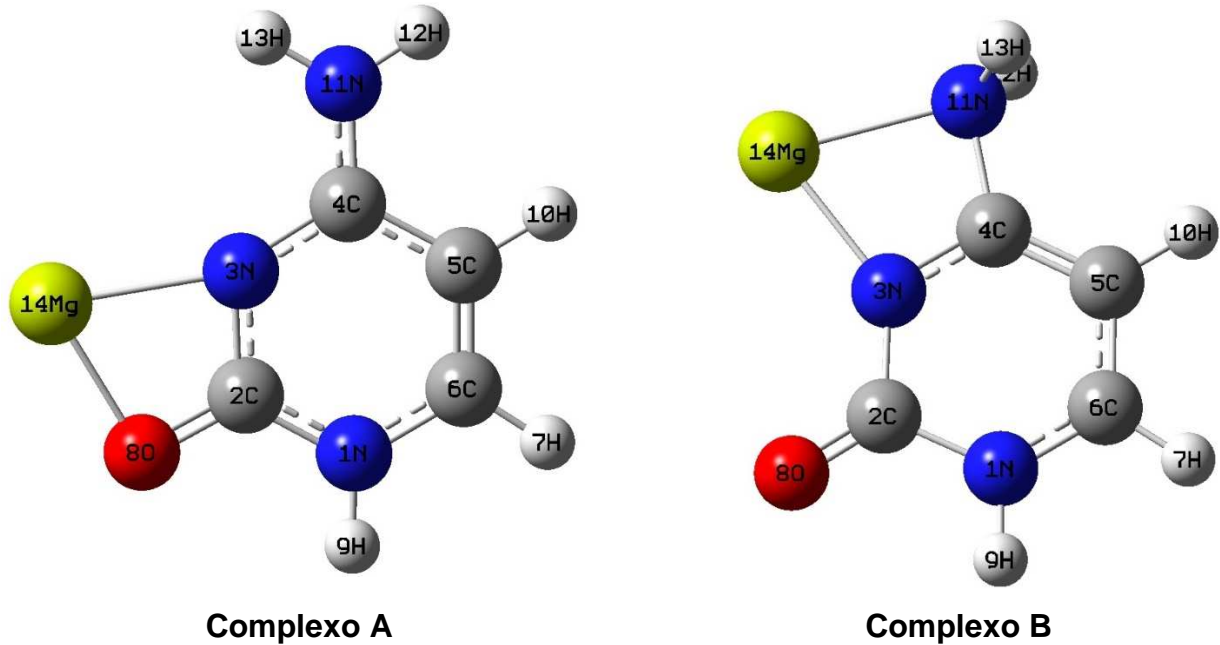
Uma evidência experimental importante e que os valores da  $\nu(\text{C}_2\text{-N}_1)$   $\text{cm}^{-1}$  estão mais próximos aos valores teóricos para o complexo A, indicando a interação preferencial do metal com nitrogênio 3 e oxigênio no carbono 2.

**Tabela 13:** Resultados teóricos para distância de ligação, estiramento of  $\text{C}_2=\text{O}$ ,  $\text{C}_4=\text{O}$  e  $\text{C}_5=\text{C}_6$  e energia relativa para a complexos da timina com  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  and  $\text{Sr}^{+2}$  em diferentes posições bidentadas.

Complexo	Citosina	Citosina	Na		Mg		Ca		Sr
	(Livre)	( $\text{H}_2\text{O}$ )	A	B	A	B	A	B	-
$E_{\text{rel}}$ (kcal/mol)	-	-	0,0	6,77	0,0	28,08	0,0	25,93	-
$E_{\text{rel}}$ (Gcal/mol)	2,00	1,96	1,85	-	1,83	-	1,53	-	0,0
$r$ ( $\text{C}_2\text{-N}_1$ ) nm	0,1425	0,1399	0,1347	0,1415	0,1347	0,1423	0,1363	0,1393	0,1367
$r$ ( $\text{C}_2\text{-N}_3$ ) nm	0,1372	0,1361	0,1369	0,1317	0,1369	0,1342	0,1369	0,1329	0,1371
$\nu$ ( $\text{C}_2\text{-N}_1$ ) $\text{cm}^{-1}$	1260	1286	1328	1172	1331	1167	1311	1265	1303
$r$ ( $\text{C}_2=\text{O}$ ) nm	0,1223	0,1247	0,1283	0,1214	0,1283	0,1199	0,1268	0,1311	0,1261
$\nu$ ( $\text{C}_2=\text{O}$ ) $\text{cm}^{-1}$	1756	1633	1613	1791	1626	1844	1647	1801	1660

Foi observado experimentalmente que ocorre um deslocamento da banda em  $1288 \text{ cm}^{-1}$  para frequências mais altas na presença dos diferentes cátions das águas do mar artificiais. Mathlouthi e cols. (1986) atribuíram essa banda ao estiramento  $\text{C}_2\text{-N}_1$ , enquanto que Florian e cols. (1996) atribuíram ao estiramento  $\text{C}_2\text{-N}_3$ . Em água do mar 0,0 Ga e 4,0 Ga o deslocamento dessa banda foi de  $14 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto que nas águas do mar de 3,2 Ga o deslocamento foi de  $35 \text{ cm}^{-1}$ . Os resultados obtidos a partir dos cálculos teóricos mostraram que as ligações  $\text{C}_2\text{-N}_1$  e  $\text{C}_2\text{-N}_3$  se tornam mais curtas. No caso da  $\text{C}_2\text{-N}_1$  o  $\Delta r$ , em que,  $\Delta r = r(\text{Citosina-metal}) - r(\text{Citosina livre})$ , foi de  $-0,0078$ ,  $-0,0078$ ,  $-0,0062$  e  $-0,0058$  nm para as interações com  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Sr}^{+2}$ , respectivamente. Para a  $\text{C}_2\text{-N}_3$  os valores de  $\Delta r$  foram  $-0,0003$ ,  $-0,0003$ ,  $-0,0003$  e  $-0,0001$  nm para as interações com  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Sr}^{+2}$ , respectivamente. O encurtamento das ligações  $\text{C}_2\text{-N}_1$  e  $\text{C}_2\text{-N}_3$  nas interações com os metais é uma evidência de que se torna mais forte, deslocando a banda em  $1288$  para maiores número de ondas. A presença do estrôncio nas águas do mar 3,2 Ga promoveu um

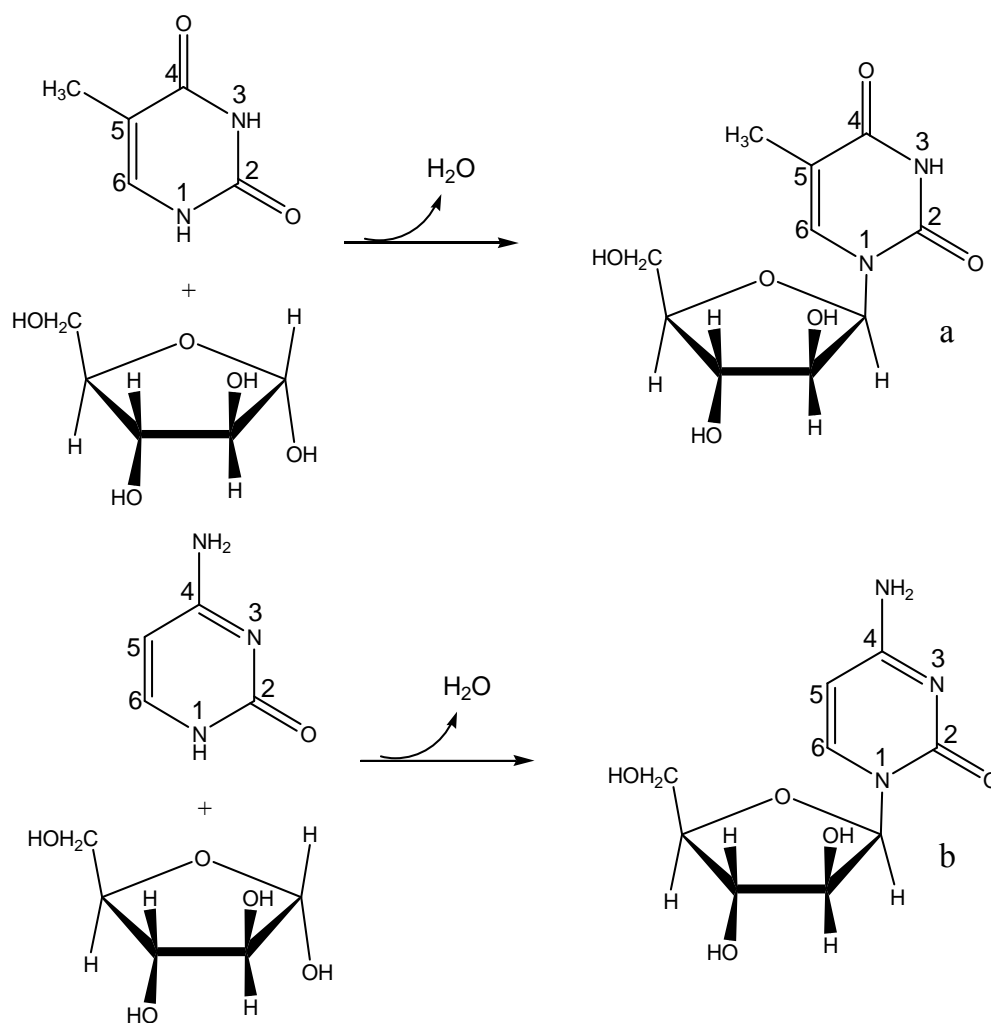
maior efeito no deslocamento da banda em  $1288\text{ cm}^{-1}$ . A ordem de energia em relação aos metais está de acordo com estas observações, pois a seqüência é  $\text{Sr}^{+2} < \text{Ca}^{+2} < \text{Mg}^{+2} < \text{Na}^{+}$ .



**Figura 29:** Estruturas do complexo A e complexo B da citosina

#### 4.5) Reatividade da timina e citosina na reação de formação de nucleosídeos

A formação de nucleosídeos (Figura 30) na terra primitiva pode ter ocorrido na reação entre o açúcar (pentose) e a base nitrogenada (Šponer e cols, 2011), onde cátions como o  $\text{Mg}^{+2}$  podem ter catalisado essas reações na formação de ligações glicosídica (Sheng e cols, 2009).

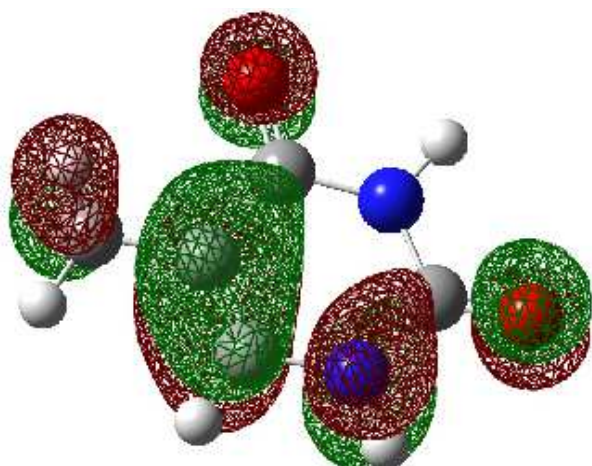


**Figura 30:** Reação de formação do nucleosídeo entre a timina e a pentose (a) e citosina e pentose (b)

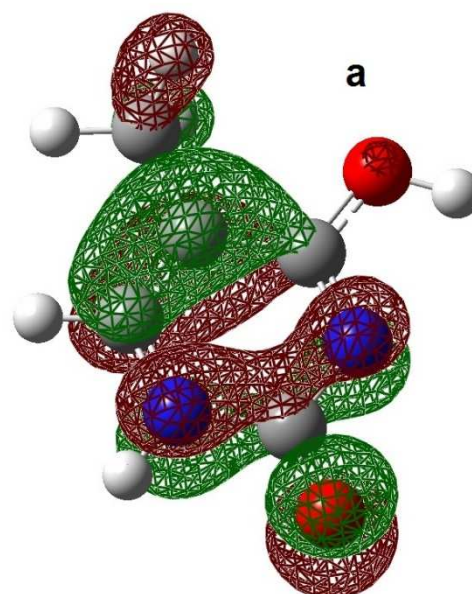
Os resultados experimentais mostram que, em pH 11,5 e 12,5 (**Figuras 18 e 23**) existe a forma tautomérica enol-imínio obtido a partir da forma ceto-amino. Podemos comparar a reatividade entre esses tautômeros considerando fatores como a nucleofilicidade e a energia de orbitais de fronteira (HOMO – highest occupied molecular orbital e LUMO – lowest unoccupied molecular orbital) (Balanchadran e Parimala, 2013). A nucleofilicidade entre as formas enol-imínio e ceto-amino pode ser comparada pela carga no nitrogênio em ambas as formas. A maior carga negativa sobre este elemento o torna mais nucleófilo, porque ocorre um aumento na polarizabilidade e como consequência mais facilmente os elétrons do nitrogênio se movem em direção ao açúcar, no ataque nucleofílico. A carga Mulliken obtida a partir de cálculos para o nitrogênio 1 é -0,239 para a forma ceto-amino e -0,254 para a forma enol-imínio. Devido à pequena diferença entre as cargas neste elemento, ambas as

formas têm nucleofilicidade próxima. Na reação com o açúcar, a base nitrogenada atua como nucleófilo e interage com o açúcar eletrófilo através do orbital molecular HOMO. Essa interação entre HOMO da base e o LUMO do açúcar é mais eficaz quanto menor a energia dos orbitais de fronteira. Na forma ceto-amino a energia do HOMO é -0,255 u. a. contra -0,245 u. a. da forma enol-imínio. Para este parâmetro, a diferença de energia é pequena e não exerce um efeito significativo na reatividade entre as duas formas. Analisando estes parâmetros as formas ceto-amino e enol-imínio possuíam reatividade próxima na terra pré-biótica. No entanto, na forma enol-imínio o nitrogênio 1 e 3 contribuem para a formação do orbital molecular HOMO, enquanto que para a forma ceto-amino, existe uma contribuição apenas do nitrogênio 1 (**Figura 31**), que torna apenas esse nitrogênio um nucleófilo. No caso da forma de enol-imínio, ambos os nitrogênios são nucleofílicos. Isto é consistente na formação de nucleosídeos, porque a reação ocorrer apenas pelo nitrogênio 1 da base.

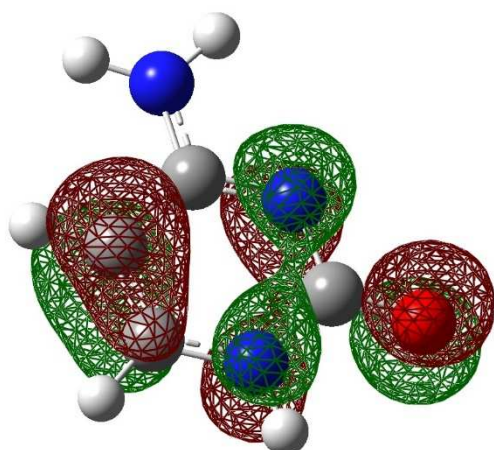
Essa mesma análise pode ser feita para a citosina. Na forma ceto-amino a energia do HOMO é -0,082 u.a. contra -0,230 u.a. da forma enol-imínio. Para esse parâmetro a reatividade do tautomêro ceto-amino é maior, pois a energia do orbital HOMO é mais próximo do orbital LUMO do açúcar. Portanto, a reação de formação de nucleosídeos é favorecida, pois essa forma é mais presente no equilíbrio tautomérico. No caso da carga de Mulliken para o nitrogênio nucleofílico os valores são semelhantes e não exercem um efeito na reatividade das formas ceto-amino e enol-imínio. Tanto na forma enol-imínio, como na forma ceto-amino, o nitrogênio nucleofílico contribui com o orbital HOMO da base nitrogenada.



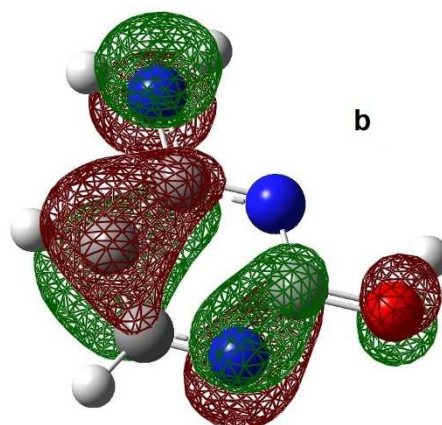
Homo do tautômero ceto-amino da  
timina



Homo do tautômero enol-imínio da  
timina



Homo do tautômero ceto-amino da  
citosina



Homo do tautômero enol-imínio da  
citosina

**Figura 31:** Orbital HOMO das formas ceto-amino e enol-imínio da timina (a) e citosina (b).

Podemos também analisar a reatividade da timina e citosina na presença de cátions. A Tabela 14 mostra a carga do nitrogênio para o complexo B da timina e o complexo A para a citosina com diferentes metais. Como pode ser observada, a carga negativa é maior para a interação da timina com  $\text{Sr}^{+2}$  e citosina com  $\text{Ca}^{+2}$ . Portanto, o complexo A com  $\text{Ca}^{+2}$  é mais nucleofílico que os demais complexos A para a citosina

e o complexo B com  $\text{Sr}^{+2}$  é mais nucleofílico para a timina. A energia do orbital HOMO para todos os complexos da timina e citosina são menores do que as moléculas livres, e como consequência a base é menos reativa. Portanto, analisando esses parâmetros, a nucleofilicidade torna a citosina e timina mais reativa na presença de metais, mas, por outro lado a energia do orbital HOMO as tornam menos reativa.

**Tabela 14:** Carga sobre o nitrogênio nucleofílico e energia do orbital HOMO para as formas tautoméricas da timina e citosina e para as interações de menor energia dos metais com a base nitrogenada

		Ceto-amino	Enol-imínio	$\text{Sr}^{+2}$	$\text{Ca}^{+2}$	$\text{Mg}^{+2}$	$\text{Na}^{+}$
<b>Timina</b>	<b>Carga sobre o nitrogênio nucleofílico</b>	-0.239	-0.254	-0.275	-0.270	-0,217	-0.264
	<b>Energia do HOMO (u.a.)</b>	-0.255	-0.245	-0.492	-0.502	-0.573	-0.380
		Ceto-amino	Enol-imínio	$\text{Sr}^{+2}$	$\text{Ca}^{+2}$	$\text{Mg}^{+2}$	$\text{Na}^{+}$
<b>Citosina</b>	<b>Carga sobre o nitrogênio nucleofílico</b>	-0,082	-0,230	-0,072	-0,091	-0,054	-0,061
	<b>Energia do HOMO (u.a.)</b>	-0,242	-0,242	-0,524	-0,531	-0,569	-0,403

1 u. a. = 1 Hartree =  $4,36 \times 10^{-18}$  J

## 5) Considerações finais

A partir dos resultados do estudo de adsorção sobre a zeólita natural e zeólita sintética Fe-ZSM-5 pode ser verificado que ocorre adsorção em pH ácido. No caso da zeólita natural foi verificado um efeito dos sais da água mar que simulam um ambiente da composição salina de 4,0 bilhões de anos e da composição salina atual. Para a adsorção em zeólita sintética esse efeito não foi observado, exceto para F7. Esses resultados são importantes do ponto de vista da química prebiótica, pois zeólitas tem a capacidade de adsorver bases nitrogenadas para catálise em reações química, e proteção contra radiação de alta energia como a UV. Outro aspecto importante é a proteção exercida pela adenina sobre a zeólita natural em pH básico, pois o material não sofreu dissolução nessas condições. Os estudos com a zeólita sintética Fe-ZSM-5 mostraram que a presença do ferro substituído isomorficamente diminui os valores de adsorção de adenina. Quanto maior a razão Si/Fe, menor a adsorção, exceto para F7, que apesar de demonstrar maior razão Si/Fe, foi obtido a maior adsorção devido ao maior volume de poro em relação as demais Fe-ZSM-5. O ferro é um elemento de alta abundância na superfície terrestre e a presença desse elemento nas zeólitas exerce um efeito significativo na adsorção, como demonstrou os resultados para a Fe-ZSM-5.

O estudo espectroscópico da timina revelou mudanças nos espectros Raman e FTIR em pH 11,5, pois ocorre a desprotonação da molécula a partir do tautômero enol-imínio. Os cálculos mostraram que no tautômero enol-imínio existem dois nitrogênios nucleofílicos e no tautômero ceto-amino apenas o nitrogênio 1 atua como nucleófilo na reação com açúcar na formação de nucleosídeos, precursores dos nucleotídeos. Esse resultado também é importante para a química prebiótica, pois o tautômero ceto-amino da timina pode ter sido a forma que sofreu a reação com a pentose na formação dos nucleosídeos. Os dados de Raman e FTIR, na presença de sais da água do mar, das amostras liofilizadas mostraram um efeito somente para as águas do mar hidrotermal e superficial de 3,2 Ga devido a presença do  $Sr^{+2}$ . Os cálculos teóricos mostraram uma interação mais efetiva entre a timina e o estrôncio, o que altera a reatividade da molécula analisando a nucleofilicidade e a energia do orbital HOMO.

O estudo espectroscópico da citosina revelou mudanças nos espectros Raman e FTIR em pH 12,5, pois ocorre a desprotonação da molécula. Em pH 2,0 ocorre a protonação da citosina, onde os espectros Raman e FTIR mostraram bandas características da molécula hidrocloreada. Os dados de Raman e FTIR, na presença de sais da água do mar das amostras liofilizadas, mostraram um efeito de todas as águas do mar devido a presença de cátions como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Sr}^{+2}$ . Nesse caso os cálculos teóricos também mostraram que a reatividade da molécula é alterada na presença desses cátions analisando a nucleofilicidade e a energia do orbital HOMO. Esses resultados de interações dos diferentes metais, com as bases também pode ter sido importante na terra primitiva, pois a interação da timina e citosina com  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Sr}^{+2}$  pode alterar a reatividade dessas moléculas.

A hipótese mencionada sobre a reatividade de bases nitrogenadas em reações de formação de nucleosídeos, sob diferentes condições que existiam na terra primitiva é de relevância, pois pode ter influenciado na reação dessas moléculas com a pentose na evolução química. Entretanto, é um estudo que merece uma maior atenção, pois é necessário obter dados experimentais sobre a velocidade dessas reações sob condições prebióticas e dados termodinâmicos. Também, é necessário estudar o estado de transição por cálculos teóricos na presença dos cátions  $\text{Sr}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Na}^+$ , para uma análise do efeito desses metais na energia de ativação da reação.

### Referências bibliográficas

Aiello, R.; Nagy, J. B.; Giordano, G.; Katovic, A.; Testa, F.; Isomorphous substitution in zeolites. *C. R. Chimie*, **2005**, 8: 321–329.

Alver, B. E.; Sakizci, M.; Yörükoğullari, E.; Investigation of clinoptilolite rich natural zeolites from Turkey: a combined XRF, TG/DTG, DTA and DSC study. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **2010**, 100: 19–26.

America Mineralogist Crystal structure database. Disponível em: <http://rruff.geo.arizona.edu/AMS/amcsd.php>. Acesso em: 01/08/2015.

Anbalagan, G.; Sankari, G.; Ponnusamy, S.; Kumar, R. T.; Gunasekaran, S.; Investigation of silicate mineral sanidine by vibrational and NMR spectroscopic methods. *Spectrochim. Acta Part A*, **2009**, 74, 404-409.

Anizelli, P. R., Baú, J. P.T., Nabeshima H. S., da Costa M. F., de Santana, H., Zaia, D. A. M. An experimental and theoretical vibrational study of interaction of adenine and thymine with artificial seawaters: A prebiotic chemistry experiment. *Spectrochim. Acta Part A*, **2014**, 126: 184-192.

Antonić, T.; Čižmek, A.; Subotić, B.; Dissolution of Amorphous Aluminosilicate Zeolite Precursors in Alkaline Solutions. *J. Chem. Soc. Faraday Trans* **1994**, 90, 1973-1977.

Armanğan, B.; Özdemir, O.; Turan, M.; Çelik, M. S.; The removal of reactive azo dyes by natural and modified zeolites. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2003**, 78: 725–732.

Badawi, H. M.; Förner, W.; A study of the H-bonded structures and infrared and Raman spectral analysis of carbohydrazide and thiocarbohydrazide *J. Mol. Struct.*, **2013**, 1037: 218-224.

Balachandran, V.; Parimala, K.; Molecular structures, FT-IR and FT-Raman spectra, NBO analysis, NLO properties, reactive sites and quantum chemical calculations of

keto–enol tautomerism (2-amino-4-pyrimidinol and 2-amino-pyrimidine-4(1H)-one) *Spectrochim. Acta Part A*, **2013**, 102: 30-51.

Ball, D. W.; Físico-química, Vol. 2, **2006**, Thomson, São Paulo, SP.

Baú, J. P. T.; Carneiro, C. E. A.; de Souza Junior, I. G.; de Souza, C. M. D.; da Costa, A. C. S.; di Mauro, E.; Zaia, C. T. B. V.; Coronas, J.; Casado, C.; de Santana, H.; Zaia, D. A. M.; Adsorption of Adenine and Thymine on Zeolites: FT-IR and RPE Spectroscopy and X-Ray Diffractometry and SEM Studies *Orig Life Evol Biosph*, **2012**, 42, 19-29.

Becke, A. D.; Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A*, **1988**, 38: 3098-3100.

Becke, A. D.; Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98: 5648-5652.

Benetoli, L. O. B.; de Souza, C. M.; da Silva, K. L.; de Souza Jr., I. G.; de Santana, H.; Paesano Jr., A.; da Costa, A. C. S.; Zaia, C. T. B. V.; Zaia, D. A. M.; Amino Acid Interaction with and Adsorption on Clays: FT-IR and Mössbauer Spectroscopy and X-ray Diffractometry Investigations *Orig. Life Evol. Biosph.* **2007**, 37:479-493.

Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L.; *Bioquímica*, Editora Guanabara Koogan Ltda, Rio De Janeiro, 2008.

Bernal, J. D.; *The Physical Basis of Life*, Routledge and Kegan Paul Ltd., London, (1951).

Binkley, J. S.; Pople, J. A.; Hehre, W. J.; Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102: 939 – 947.

Burova, T. G.; Ermolenkov, V. V.; Ten, G. N.; Kadrov, D. M.; Nurlygaianova, M. N.; Baranov, V. I.; Lednev, I. K.; Ionic and Tautomeric Composition of Cytosine in Aqueous

Solution: Resonance and Non-Resonance Raman Spectroscopy Study. *J. Phys. Chem. A.*; **2013**, 117: 12734-12748.

Burton, A. W.; Zones, S. I.; *Introduction to zeolite Science and practice*, 3<sup>o</sup> Ed, Elsevier, Richmond, 2007.

Caplan, N. A.; Hancock, F. E.; Bage, P. C. B.; Hutchins, G. J.; Heterogeneous Enantioselective Catalyzed Carbonyl- and Imino-Ene Reactions using Copper Bis(Oxazoline) Zeolite Y *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 1685 –1688 (2004).

Carneiro, C. E. A.; Berndt, G.; de Souza Junior, I. G.; de Souza, C. M. D.; Paesano Jr, A.; da Costa, A. C. S.; di Mauro, E.; de Santana H.; Zaia, C. T. B. V.; Zaia, D. A. M.; Adsorption of Adenine, Cytosine, Thymine, and Uracil on Sulfide-Modified Montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and RPE Spectroscopy and X-Ray Diffractometry Studies. *Orig. Life Evol. Biosph.*, **2011a**, 41: 453-468.

Carneiro, C. E. A.; de Santana, H.; Casado, C.; Coronas, J.; Zaia, D. A. M.; Adsorption of Amino Acids (Ala, Cys, His, Met) on Zeolites: Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopy Investigations. *Astrobiology*, **2011b**, 11: 409-418.

Carneiro, C. E. A.; Ivashita, F. F.; Souza Junior I. G.; de Souza, C. M. D.; Paesano Jr., A.; da Costa, A. C. S.; di Mauro, E.; de Santana, H.; ZÁia, C. T. B. V.; Zaia, D. A. M.; Synthesis of goethite in solutions of artificalseawater and amino acids: a prebiotic chemistry study. *Int. J. Astrobio.* **2013**, 12: 149–160.

Castaldi, P.; Santona, L.; Cozza, C.; Giuliano, V.; Abbruzzese, C.; Nastro, V.; Melis, P.; Thermal and spectroscopic studies of zeolites exchanged with metal cations. *J. Mol. Struct.*, **2005**, 734, 99-105.

Cazeau, C. J.; Hatcher, Jr, R. D.; Siemankowski, F. T.; *Physical Geology: Priciples, Processes, and Problems*. **1976**, J & R Technical Services, Inc, New York, NY.

Chandra, A.K., Nguyen, M.T., Zeegers-Huysken T.; Theoretical Study of the Interaction between Thymine and Water. Protonation and DRPEotonation Enthalpies and Comparison with Uracil. *J. Phys. Chem. A.*, **1998**, *102*: 6010-6016.

Chan, S.; Orenberg, J.; Lahav, N.; Soluble Minerals in Chemical Evolution. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1987**, *17*:121-134.

Christensen, J. J., Rytting, J. H., Izatt, R. M.; Thermodynamic pK,  $\Delta H^\circ$ ,  $\Delta S^\circ$ , and  $\Delta C_p^\circ$ , Values for Proton Dissociation from Several Purines and Their Nucleosides in Aqueous Solution. *Biochemistry*, **1970a**, *9*: 4907- 4913.

Christensen, J. J., Rytting,t, J. H., Izatt R.; Thermodynamics of Proton Dissociation in Dilute Aqueous Solution. Part XIV. pK,  $\Delta H^\circ$ , and  $\Delta S^\circ$  Values for Proton Dissociation from Several Pyrimidines and Their Nucleosides at 10 and 40° C. *J. Chem. Soc (B)*, **1970b**, 1643 – 1646.

Claves, H. J.; Prebiotic Chemistry: Geochemical Context and Reaction Screening. *Life*, **2013**, *3*: 331-345.

Cleaves, H. J.; Jonsson, C. M.; Jonsson, C. L.; Sverjensky, D. A.; Hazen, R. M.; Adsorption of Nucleic Acid Components on Rutile (TiO<sub>2</sub>) Surfaces. *Astrobiology*, **2010**, *10*: 311-323.

Cleaves, H. J.; Scott, A. M.; Hill, F. C.; Leszczynski, J.; Sahai, N.; Hazen, R.; Mineral–organic interfacial processes: potential roles in the origins of Life. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*: 5502–5525.

Colthup, N.B., Daly, L.H., Wiberly, S.E., *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*, **1990**, 3° Ed, Academic Press International Edition, New York.

De Santana, H.; Paesano Jr., A.; 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.; Zaia, D. A. M. Cysteine, thiourea

and thiocyanate interactions with clays: FT-IR, Mössbauer and RPE spectroscopy and X-ray diffractometry studies. *Amino Acids*, **2010**, 38: 1089.

Dinauer, R. C.; *Minerals in Soil Environments*. **1982**, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin.

Dunning Jr., T. H.; Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *J. Chem. Phys.* **1989**, 90: 1007 – 1023.

Dunning, T. H.; Peterson, K. A.; Wonn, D. E. in *Encyclopedia of computational chemistry*, **1998**, Wiley, New York, Vol. 1, p. 88.

Farias, A. P. S. F.; Tadayozzi Y. S.; Carneiro, C. A. E.; Zaia, D. A. M.; Salinity and pH affect Na<sup>+</sup>-montmorillonite dissolution and amino acid adsorption: a prebiotic chemistry study. *Int. J. Astrobio.* **2014**, 13: 259–270.

Fejes, P.; Lázár, K.; Marsi, I.; Rockenbauer, A.; Korecz, L.; Nagy, J. B.; Perathoner, S.; Centi, G.; Isomorphously substituted Fe-ZSM-5 zeolites as catalysts Causes of catalyst ageing as revealed by X-band RPE, Mössbauer and <sup>29</sup>Si MAS NMR spectra. *Applied Catalysis A: General*, **2003**, 252: 75–90.

Ferris, J. P.; Montmorillonite Catalysis of 30–50 Mer Oligonucleotides: Laboratory Demonstration of Potential Steps in the Origin of the RNA World. *Orig. Life Evol. Biosph.*, **2002**, 32: 311-332.

Ferris, J. P.; Hill Jr., A.; Liu, R.; Orgel, L. E.; Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature*, **1996**, 381: 59-61.

Feuillie, C.; Daniel, I.; Michot, L. J.; Pedreira-Segade, U.; Adsorption of nucleotides onto Fe–Mg–Al rich swelling clays. **2013**, *Geochim Cosmochim. Acta*, 120: 97–108.

Florián, J.; Baumruk, V.; Leszczyński; IR and Raman Spectra, Tautomeric Stabilities, and Scaled Quantum Mechanical Force Fields of Protonated Cytosine. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100: 5578-5589.

Fleming, I.; *Molecular orbitals and organic chemical reaction*, **2009**, John Wiley & Sons, Chichester.

Foresman, J. B.; Frisch, A.; *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*. **1996**, 2<sup>o</sup> ed, Gaussian, Inc, Pittsburgh, PA.

Fornaro, T.; Brucato, J. R.; Braciamore, S.; Pucci A.; Adsorption of nucleic acid bases on magnesium oxide (MgO). *Int. J. Astrobio.*, **2013**, 12: 78-86.

Francl M. M.; Pietro W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S. Gordon, M. S.; DeFrees, D. J.; Pople, J. A.; Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *J. Chem. Phys.*, **1982**, 77: 3654 – 3665.

Freitas, M. P.; Rittner, R.; Tormena, C. F.; Abraham, R. J.; Conformational Analysis of 2-bromocyclohexanone. A combined NMR, IR, solvation and theoretical approach. *J. Phys. Org. Chem.* **2001**, 14: 317-322.

Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; and Pople, J. A., Gaussian 03, Revision D.02, Gaussian, Wallingford CT, 2004.

Ganguly, S.; Kundu, K. K.; Protonation/deprotonation energetics of uracil, thymine, and cytosine in water from e.m.f./spectrophotometric measurements. *J. Can. Chem.* **1994**, 72: 1120-1126.

Gialanella, S.; Girardi, F.; Ischia, G.; Lonardelli, I.; Mattarelli, M.; Montagna, M.; Thermal studies of some purine compounds and their metal complexes. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **2010**, 102, 867-873.

Gonzalez-Olmos, R.; Roland, U.; Toufex, H.; Kopinke, F. D.; Georgi, A.; Fe-zeolites as catalysts for chemical oxidation of MTBE in water with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2009**, 89: 356–364.

Gupta, A., Sil, A., Verma, N. K., Preparation, characterization and ionic conductivity studies of ZrO<sub>2</sub> dispersed mixed halide matrix (KCl)<sub>0.9</sub>–(NaCl)<sub>0.1</sub>. *J. Phys. Chem. Sol.* **2009**, 70: 340-343.

Hariharan, P. C.; Pople J. A.; The Influence of Polarization Functions on Molecular Orbital Hydrogenation Energies. *Theoret. Chimica Acta*, **1973**, 28: 213 – 222.

Hashizume H., Theng B. K. G., Yamagishi A., Adsorption and discrimination of alanine and alanyl-alanine enantiomers by allophone, *Clay Minerals*, **2002**, 37: 551-557.

Hazen, R. M., Ferry, J. M.; Mineral Evolution: Mineralogy in the Fourth Dimension. *Elements*, **2010**, 6: 9–12.

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

Hill Jr., A.; Orgel, L. E.; Oligomerization of L- $\gamma$ -Carboxyglutamic Acid. *Orig. Life Evol. Biosph.*, **1999**, 29: 115-122.

Ho, Y. S.; McKay, G.; The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat. *Wat. Res.*, **2000**, *34*: 735 – 742.

Holm, N. G.; The significance of Mg in prebiotic geochemistry. *Geobiology*, **2012**, *10*, 269-279.

Horňáčková, M.; Grolmusová, Z.; Horňáček, M.; Rakovský, J.; Hudec, P.; Veis, P.; Calibration analysis of zeolites by laser induced breakdown spectroscopy. *Spectrochim. Acta: Part B*, **2012**, *74*: 119–123.

Isernia, L. F.; Study of the influence of physical–chemical properties of steamed H-MOR zeolites in the mechanism of adsorption of fatty acids and their esterification. *Micropor. Mesopor Mater.*, **2014**, *79*: 339-352

Iyoda, F.; Hayashi, S.; Arakawa, S.; John, B.; Okamoto, M.; Hayashi, H.; Yuan, G.; Synthesis and adsorption characteristics of hollow spherical allophane nano-particles. *Appl. Clay Sci.*, **2012**, *56*: 77–83.

Izawa, M.R.M., Nesbitt, H.W., MacRae, N.D., Hoffman, E. L.; Composition and evolution of the early oceans: Evidence from the Tagish Lake meteorite. *Earth and Planetary Science Letters*, **2010**, *298*: 443–449.

Janardhan, H. L.; Shanbhag, G. V.; Halgeri, A. B.; Shape-selective catalysis by phosphate modified ZSM-5: Generation of new acid sites with pore narrowing. *Applied Catalysis A: General*, **2014**, *471*: 12–18.

Joyner, R.; Stockenhuber, M.; Preparation, Characterization, and Performance of Fe-ZSM-5 Catalysts. *J. Phys. Chem. B.*, **1998**, *103*: 5963-5976.

Kabeláč, M.; Hobza, P.; Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and Zn<sup>2+</sup> Binding to All Tautomers of Adenine, Cytosine, and Thymine and the Eight Most Stable Keto/Enol Tautomers of Guanine:

A Correlated ab Initio Quantum Chemical Study. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*: 14515-14523.

Kalyanaraman, S.; Krishnakumar, V.; Ganesan, K.; Vibrational spectroscopic analysis of cytosine monohydrate and its copper(II) complex. *Spectrochim. Acta Part A*, **2007**, *66*: 1340–1346.

Karthikeyan, N.; Prince, J. J.; Ramaligan, S.; Periandy, S.; Spectroscopic [FT-IR and FT-Raman] and theoretical [UV–Visible and NMR] analysis on  $\alpha$ -Methylstyrene by DFT calculations, *Spectrochim. Acta Part A*, **2015**, *143*: 107–119.

Kim, J.; Cho, K.; Ryoo, R.; High catalytic performance of surfactant-directed nanocrystalline zeolites for liquid-phase Friedel–Crafts alkylation of benzene due to external surfaces. *Applied Catalysis A: General*, **2014**, *470*: 420– 426.

Kobayashi, R.; Correlated Ab Initio Quantum Chemical Study of the Interaction of the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , and  $\text{Zn}^{2+}$  Ions with the Tautomers of Cytosine. *J. Phys. Chem. A*, **2012**, *116*: 4987-4994.

Kumar, M. S.; Schwidder, M.; Grüner, W.; Brückner, A.; Epoxidation of styrene with molecular oxygen catalyzed by cobalt(II)-containing molecular sieves. *J. Cat.*, **2004**, *227*: 384-397.

Lahav, N.; Hypotheses and experiments in heterogeneous chemistry. *Heterog. Chem. Rev.*, **1994**, *1*: 159-179.

Lambert, J. F.; Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Orig. Life Evol. Biosph.*, **2008**, *38*: 211–242.

Lee, C. T.; Yang, W.T.; Parr, R. G. Development of the Colic-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*. **1988**, *37*: 785-789.

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

Lin, J.; Zhan, Y.; Adsorption of humic acid from aqueous solution onto unmodified and surfactant-modified chitosan/zeolite composites. *Chem. Eng. J.*, **2012**, *200*: 202-213.

Maia, H. L. S.; Dias, I. V. R.; Origem da vida: Recentes Contribuições para um Modelo Científico. **2010**, editora livraria da física, São Paulo, SP.

Masiero, S. S.; Marcilio N. R.; Perez-Lopez, O. W.; Aromatization of Methane Over Mo-Fe/ZSM-5 Catalysts. *Catal. Lett.*, **2009**, *131*, 194-202.

Mathlouthi, M.; Seuvre, M.; FTIR and Laser-Raman Spectra of Cytosine and Cytidine. *Carbohydrate research*, **1986**, *146*: 1-13.

Matrajt, G.; Blanot D.; Properties of synthetic ferrihydrite as an amino acid adsorbent and a promoter of peptide bond formation. *Amino Acids*, **2004**, *26*: 153-158.

Masoud, M. S., El-Merghany, A., Ramadan A. M., Abd El-Kaway M. Y.; Thermal studies of some purine compounds and their metal complexes. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **2010** *101*: 839–847

Mejía-Mazariegos, L.; Hernadéz-Trujillo, J.; Electron density analysis of tautomeric mechanisms of adenine, thymine and guanine and the pairs of thymine with adenine or guanine *Chem. Phys. Lett.*, **2009**, *482*: 24-29.

Miretzky, P.; Muñoz, C.; Carillo-Chavez, A.; Cd (II) removal from aqueous solution by *Eleocharis acicularis* biomass, equilibrium and kinetic studies. **2010**, *Bioresour. Technol.* *101*: 2637–2642.

McQuarrie, D. A.; Simon, J. D.; *Physical Chemistry – A molecular Approach*, **1997**, University Science Books, Mill Valey.

Miller, S. L.; A Production of Amino Acids under Possible Primitive Earth Conditions. *Science*, **1953**, *117*: 528-529.

Monnard, P.; Apel, C. L.; Kanavarioti, A.; Dreameer, D. W. Influence of Ionic Inorganic Solutes on Self-Assembly and Polymerization Processes Related to Early Forms of Life: Implications for a Prebiotic Aqueous Medium. *Astrobiology*, **2002**, *2*: 139-152.

Mohamed, T. A., Shabaan I. A., Zoghaib W. M., Husband H., Farag R. S., Alajhaz A. E. M. A., Tautomerism, normal coordinate analysis, vibrational assignments, calculated IR, Raman and NMR spectra of adenine. *J. Mol. Struct.*, **2009**, *938*: 263-276.

Morgon, N. H.; Coutinho, K.; *Métodos de química teórica e modelagem molecular*, **2007**, 1<sup>o</sup> ed, editora livraria da física, São Paulo.

Morgon, N. H.; Custodio, R.; Teoria do Funcional Densidade. *Quím. Nova*, **1995**, *18*: 44-55.

Moussavi, G., Khosravi, R.; Removal of cyanide from wastewater by adsorption onto pistachio hull wastes: Parametric experiments, kinetics and equilibrium analysis *J. Hazard. Mater.*, **2010**, *183*: 724–730.

Munsch S., Hartman, M., Ernst, S.; Adsorption and separation of amino acids from aqueous solutions on zeolites. *Chem. Commun.*, **2001**, 1978–1979.

Nascimento, F. C.; Carneiro, C. E. A.; de Santana, H.; Zaia, D. A. M.; The effect of artificial seawater on SERS spectra of amino acids-Ag colloids: An experiment of prebiotic chemistry, *Spectrochim. Acta Part A*, **2014**, *118*: 251-259.

Nakamoto K., Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. **1978**, 3<sup>o</sup> ed, John Wiley & Sons, New York.

Narayanan, S.; Vijaya, J. J.; Sivasanker, S.; Alam, M.; Tamizhdurai, P.; Kennedy, L. J.; Characterization and catalytic reactivity of mordenite – Investigation of selective oxidation of benzyl alcohol. *Polyhedron*, **2015**, 89: 289–296.

Nishimura, Y.; Tsuboi, M.; In-Plane Vibration Modes of Cytosine from AB Initio MO Calculation. *Chem. Phys.*, **1985**, 98: 71-80.

Orenberg, J.; Chan, S.; Calderon, J.; Lahav, N.; Soluble Minerals in Chemical Evolution. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1985**, 15:121-129.

Perișanu, S., Oancea, A.; Na<sup>+</sup>/Cu<sup>2+</sup> ion exchange equilibrium on Zeolite A: a thermodynamic study. *Adsorption*, **2015**, 21:343–351.

Piera, E.; Salomón, M. A.; Coronas, J.; Menéndez, M.; Santamária, J.; Synthesis, characterization and separation properties of a composite mordenite/ZSM-5/chabazite hydrophilic membrane. *J. Membr. Sci.*, **1998**, 149: 99-114.

Plasinsky, W.; Rudzinski, W.; Plasinska, A.; Theoretical models of sorption kinetics including a surface reaction mechanism: A review. **2009**, *Adv. Colloid and Interface Sci.* 152: 2-13.

Prabahar, K. J.; Ferris, J. P.; Adenine Derivatives as Phosphate-Activating Groups for the Regioselective Formation of 3',5'-Linked Oligoadenylates on Montmorillonite: Possible Phosphate-Activating Groups for the Prebiotic Synthesis of RNA. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119: 4330-4337.

Rastogi, V. K.; Singh, C.; Jain, V.; Palfox, M. A.; FTIR and FT-Raman spectra of 5-methyluracil (thymine). *J. Raman Spectrosc.*, **2000**, 31: 1005-1012.

Rastov, I. V.; Kobayashi, R.; A correlated ab initio quantum chemical study of the interaction of the Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> ions with the tautomers of cytosine in the presence of polar solvent. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2013**, 15: 12930-12939.

Reddy, T. I.; Bhawal, B. M.; Rajappa, S.; A Facile General Method for the Preparation of S-Methyl Thiolcarbamates Using Zeolite Catalysts. *Tetrahedron Letters*, **1992**, 33: 2857-2860.

Rincón, E.; Yáñez, M.; Toro-Labbé, A.; Mó, O.; Effect of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) association on the keto-enol tautomerism of thymine in the gas phase. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2007**, 9: 2531-2537.

Rivas, L.; Sánchez-Cortés, S., García-Ramos, J. V.; Raman structural study of thymine and its 20-deoxy-ribosyl derivatives in solid state, aqueous solution and when adsorbed on silver nanoparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2002**, 4: 1943-1948.

Ruiz-Chica, A. J.; Medina, M. A.; Sánchez-Jiménez, F.; Ramírez, F. J.; Characterization by Raman spectroscopy of conformational changes on guanine–cytosine and adenine–thymine oligonucleotides induced by aminoxy analogues of spermidine. *J. Raman Spectrosc*, **2004**, 35: 93.

Sahin, Z. S.; Kantar, G. K.; Şaşmaz, S.; Büyükgüngör, O.; Synthesis, molecular structure, spectroscopic analysis, thermodynamic parameters and molecular modeling studies of (2-methoxyphenyl) oxalate, *Spectrochim. Acta Part A*, **2015**, 143: 91–100.

Sala, O.; *Espectroscopia Raman e no infravermelho*, **2008**, 2<sup>o</sup> ed, Editora Unesp, São Paulo, SP.

Santamaria, R.; K.; Charro, E.; Zacarías, A.; Castro, M.; Vibrational Spectra of Nucleic Acid Bases and Their Watson Crick Pair Complexes. *J. comput. Chem.*, **1999**, 20: 511.

Santos, S. F.; França, S. C. A.; Ogasawara, T.; Method for grinding and delaminating muscovite. *Mining Science and thechnology (China)*, **2011**, 21: 7-10.

Sanhueza, V.; Kelm, U.; Cid, R.; López-Escobar, L.; Synthesis of ZSM-5 from diatomite: a case of zeolite synthesis from a natural material. *J Chem. Technol. Biotechnol.*, **2004**, 79: 686–690.

Sarkar, D.; Chatoraj, D. K.; Activation Parameters for Kinetics of Protein Adsorption at Silica-Water interface. *J. Colloid Interface Sci.*, **1993**, *157*: 219-226.

Sathyabama, V.; Anandan, K.; Karagaraju, R.; Quantum chemical studies of solvent effects on cytosine tautomers. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, **2009**, *897*: 106–110.

Sciascia, L.; Liveri, M. L. T.; Merli, M.; Kinetic and equilibrium studies for the adsorption of acid nucleic bases onto K10 montmorillonite. *Appl. clay sci.*, **2011**, *53*: 657-668.

Sheng, Y.; Bean, H. D.; Mamajanov, I.; Hud, N. V.; Leszczynski, J.; Comprehensive Investigation of the Energetics of Pyrimidine Nucleoside Formation in a Model Prebiotic Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*: 16088-16095.

Shishkin, A.; Carlsson, P.; Härelind, H.; Skoglundh, M.; Effect of Preparation Procedure on the Catalytic Properties of Fe-ZSM-5 as SCR Catalyst. *Top. Cat.*, **2013**, *56*: 567-575.

Singh, J.S., FTIR and Raman spectra and fundamental frequencies of biomolecule: 5-Methyluracil (thymine). *J. Mol. Struct.*, **2008**, *876*: 127-133.

Somorjai, G. A.; *Introduction to surface chemistry and catalysis*. John Wiley & Sons, New York, NY, **1994**.

Sowerby, S. J.; Cohn, C. A.; Heckl, W. M.; Holm N. G.; Differential adsorption of nucleic acid bases: Relevance to the origin of life. *Proc. Natl Acad. Sci.* **2001**, *98*: 820–822.

Šponer, J.; Hobza, P.; Molecular Interactions of Nucleic Acid Bases. A Review of Quantum-Chemical Studies. *Collect Czech Chem. Commun.*, **2003**, *68*: 2231-2282.

Šponer, J. E., Šponer, J., Fuentes-Cabrera M.; Prebiotic Routes to Nucleosides: A Quantum Chemical Insight into the Energetics of the Multistep Reaction Pathways. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*: 847-854.

Šponer, J.; Leszczynski, J.; Hobza P.; Hydrogen Bond Stacking and Cation Binding of DNA Bases. *J. Molec. Struct. (THEOCHEM)*, **2001**, 573: 43-53.

Sposito, G.; *The Chemistry of Soils*. **1989**, Oxford University Press, Inc. New York.

Szczepaniak, K.; Szczepaniak, M. M.; Pearson W. B.; Raman and Infrared Spectra of Thymine. A Matrix Isolation and DFT Study. *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104: 3852-3863.

Szostak, R.; Nair, V.; Thomas, L. T.; Incorporation and Stability of Iron in Molecular - sieve Structures. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **1987**, 83: 487-494.

Teixeira, V. G.; Coutinho, F. M. B.; Gomes, A. S.; Principais Métodos de Caracterização da Porosidade de Resinas à Base de Divinilbenzeno. **2001**, 24: 808-818.

Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cancès. E.; The IEF version of the PCM solvation method: na overview of a new method adressed to study molecular solutes at the QM ab initio level. *J. Mol. Struct. (TheoChem)*., **1999**, 464: 211-226.

Tuan, V. A.; Falconer, J. L.; Noble, R. D.; Isomorphous substitution of Al, Fe, B, and Ge into MFI-zeolite membranes. *Micropor. Mesopor. Mater.*, **2000**, 41: 269-280.

Ugrina, M.; Medividović, V.; Daković, ć.; *Desalin. Water Treat.*, **2015**, 53: 3557- 3569.

Ushizawa, K., Ueda, T., Tsuboi, M., Raman scattering tensors of thymidine. *J. Mol. Struct.* **1997**, 412: 169-179.

Wilde S. A., Valley J. W., Peck W. H., Graham C. M.; Evidence from detrital zircons for the existence of continental crust and oceans on the Earth 4.4 Gyr ago. *Nature*, **2001**, 409: 175-178.

Wierzchowski, K. L., Litońska, E., Shugar, D.; Infrared and Ultraviolet Studies on the Tautomeric Equilibria in Aqueous Medium between Monoanionic Species of Uracil,

Thymine, 5-Fluorouracil, and Other 2,4-Diketopyrimidines. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87*: 4621.

Xiao, Q.; Yang, F.; Zhuang, J.; Qiu, G.; Zhong, Y.; Zhu, W.; Facile synthesis of uniform Fe-ZSM-5 crystals with controlled size and their application to N<sub>2</sub>O decomposition *Micropor. Mesopor. Mater.*, **2013**, *167*: 38-43.

Yaman, Y.C.; Gündüz, G.; Dükkancı, M.; Degradation of CI Reactive Red 141 by heterogeneous Fenton-like process over iron-containing ZSM-5 zeolite. *Coloration Technology*, **2013**, *129*: 69-75.

Yang, W.; Lu, Y.; Zheng, F.; Xue, X.; Li, N.; Liu, D.; Adsorption behavior and mechanisms of norfloxacin onto porous resins and carbon nanotube. *Chem. Eng. J.*, **2012**, *179*:112-118.

Yaripour, F.; Shariatnia, Z.; Sahebdehfar, S.; Irandoukht, A.; Conventional hydrothermal synthesis of nanostructured H-ZSM-5 catalysts using various templates for light olefins production from methanol. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, **2015**, *22*: 260-269.

Yu, C.; Yu, Y.; Gong L.; Yang, Z.; *Theor Chem Acc*, Mg<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup> binding to DNA  $\sigma\pi$ bases: a quantum chemical method and ABEEM $\sigma\pi$ /MM fluctuating charge model study. **2012**, *131*: 1098.

Zaia, D. A. M., Adsorption of amino acids and nucleic acid bases onto minerals: a few suggestions for prebiotic chemistry experiments. *Int. J. Astrobiol.* **2012**, *11*: 229-234.

Zaia, D. A. M.; Zaia, C. T. B. V.; de Santana, H.; Which Amino Acids Should Be Used in Prebiotic Chemistry Studies? *Orig. Life Evol. Biosph.* **2008**, *38*:469–488.

Zamaraev, K. I.; Romannikov, V. N.; Salganik, R. I.; Wlassoff, W. A.; Khramtsov, V. V.; Modeling of the Prebiotic Synthesis of Oligopeptides: Silicate Catalysts Help to Overcome the Critical Stage. *Orig. Life Evol. Biosph.*, **1997**, *27*: 325-337.

Ziegenbalg, S. B.; Berthold, C.; Kappler, A.; Peckmann, J.; Gypsum whiskers in Messinian evaporites identified by  $\mu$ -XRD. *Facies*, **2011**, *57*: 249-253.

Zhang, L.; Li, Q.; Tao, W.; Yu, B.; Du, Y.; Quantitative analysis of thymine with surface-enhanced Raman spectroscopy and partial least squares (PLS) regression. *Anal Bional Chem*, **2010**, *398*: 1827.

Zhang, S. L., Michaelian, K.H., Loppnow, G.R., Vibrational Spectra and Experimental Assignments of Thymine and Nine of Its Isotopomers. *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*: 461-470.

## Anexo 1

### A.1) Cálculos teóricos

#### A.1.2) O método de Hartree-Fock.

O objetivo central da química quântica é a obtenção de soluções da equação de Schrödinger para a determinação de propriedades de sistemas atômicos e moleculares. A solução exata em geral não é possível, então é necessária a utilização de métodos de aproximação. Um dos métodos mais conhecidos é o de Hartree-Fock (HF) que além de proporcionar uma solução aproximada para um sistema com muitos elétrons, o método de HF tem a vantagem de servir como ponto de partida para outras metodologias. Considerando a aproximação de Born-Oppenheimer o problema consiste em resolver a equação de Schrödinger eletrônica (Morgon e Coutinho, 2007):

$$H\Psi = E\Psi \quad (8)$$

Onde:

$$H = -\sum_{i=1}^N \frac{\hbar^2}{2m} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (9)$$

é a parte eletrônica do operador Hamiltoniano molecular. Nesta expressão  $m$  é a massa do elétron,  $Z_A$  o número atômico do núcleo  $A$ ,  $r_{ij}$  a distância entre os elétrons  $i$  e  $j$ , e  $r_{iA}$  a distância entre o elétron  $i$  e o núcleo  $A$ ;  $N$  e  $M$  indicam, respectivamente, os números de elétrons e núcleos do sistema (Morgon e Coutinho, 2007).

O princípio da indistinguibilidade para sistemas de muitos elétrons exige que a função de onda seja antissimétrica, ou seja para uma dada função de onda a troca de coordenadas de dois elétrons deve fornecer o negativo da função de onda inicial. Isso é possível na utilização de matrizes para a expansão da função de onda eletrônica num conjunto completo de funções determinantes, conhecidas como determinantes de Slater, que para o método HF a função de onda de muitos elétrons é escrita como (Morgon e Coutinho, 2007):

$$\Psi_0 = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \psi_1(r_1)\alpha_1 & \psi_1(r_1)\beta_1 & \psi_2(r_1)\alpha_1 & \psi_2(r_1)\beta_1 & \dots & \psi_N(r_1)\alpha_1 & \psi_N(r_1)\beta_1 \\ \psi_1(r_2)\alpha_2 & \psi_1(r_2)\beta_2 & \psi_2(r_2)\alpha_2 & \psi_2(r_2)\beta_2 & \dots & \psi_N(r_2)\alpha_2 & \psi_N(r_2)\beta_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ \psi_1(r_N)\alpha_N & \psi_1(r_N)\beta_N & \psi_2(r_N)\alpha_N & \psi_2(r_N)\beta_N & \dots & \psi_N(r_N)\alpha_N & \psi_N(r_N)\beta_N \end{vmatrix} \quad (10)$$

onde  $\psi_1, \psi_2, \dots, \psi_N$  são as funções das coordenadas espaciais e  $\alpha$  e  $\beta$  representam, respectivamente o spin “para cima” e “para baixo”. Cada linha representa os orbitais atômicos ( $\psi$ 's) que um elétron pode ocupar e  $\frac{1}{\sqrt{N!}}$  é uma constante de normalização para  $\Psi_0$ . Para simplificar, vamos considerar a seguinte notação para os orbitais:

$$\chi_a(1) = \psi_1(r_1)\alpha_1 \text{ ou } \chi_a(1) = \psi_1(r_1)\beta_1 \quad (11)$$

O método de Hartree-Fock parte do teorema variacional que afirma que para uma função de onda normalizada,  $\Psi$ , o valor esperado para o operador Hamiltoniano é um limite superior em relação a energia exata do estado fundamental, ou seja,

$$\int \Psi H \Psi^* \geq E_{\text{exata}} \quad (12)$$

Se  $\Psi_{\text{exata}}$  for a solução exata (para o Hamiltoniano H), então teremos:

$$\int \Psi_{\text{Exata}} H \Psi_{\text{Exata}}^* \geq E_{\text{exata}} \quad (13)$$

A ideia do método HF é combinar o princípio variacional com a suposição de que a função de onda que descreve o sistema molecular é um determinante de Slater. Então, podemos dizer que a melhor função de onda para um sistema é aquela que possui o valor mais próximo da solução exata, ou seja, que conduz a um mínimo de energia para o operador Hamiltoniano.

A equação canônica de Hartree-Fock que proporciona soluções para os spins-orbitais e suas energias ( $\epsilon_a$ ) é a seguinte:

$$\mathcal{F}(1)\chi_a(1) = \epsilon_a\chi_a(1) \quad (14)$$

onde  $\mathcal{F}(1)$  é operador de Fock para o elétron 1, definido como:

$$\mathcal{F}(1) = h(1) + \sum_b [J_b(1) - \mathcal{K}_b(1)] \quad (15)$$

em que  $J_b$  é o operador de Coulomb e  $\mathcal{K}_b$  é o operador de troca.

Uma expressão de energia para a teoria HF é dada pela expressão:

$$E = \int \Psi H \Psi^* d\tau = \sum_a \epsilon_a - \frac{1}{2} \sum_{a,b} (\int \chi_a \chi_b \chi_a \chi_b d\tau - \int \chi_a \chi_b \chi_b \chi_a d\tau) \quad (16)$$

onde  $d\tau$  são as coordenadas esféricas.

Algumas características importantes devem ser retiradas das equações 14 e 16. Primeiro que a energia eletrônica total é a soma das energias orbitais ( $\epsilon_a$ ). Segundo que as energias orbitais são autovalores do operador de Fock (equação 15) que inclui a energia de repulsão entre um dado elétron (aquele para o qual a equação está sendo resolvida) com os demais (Morgon e Coutinho, 2007).

Outras observações devem ser feitas com relação a equação de HF. Uma delas é que o operador de Fock depende das soluções da equação (os spin-orbitais moleculares) e a outra é que existe uma equação para cada orbital que depende dos outros orbitais através do operador de Fock. Portanto, as equações devem ser resolvidas em conjunto, através de aproximações sucessivas (solução iterativa). Por isso, se diz que o método de HF é autoconsistente, ou seja, no final do processo iterativo os  $\chi$ 's orbitais que são solução da equação HF devem ser os mesmos  $\chi$ 's a partir dos quais se obteve o operador de Fock (Morgon e Coutinho, 2007).

Uma função de onda antissimétrica completa deve ser representada por um conjunto completo de determinantes de Slater, mas uma limitação do método de HF é a utilização de um único determinante, ou seja, cada elétron está sujeito a interações com outros elétrons através de uma média e os detalhes das interações particulares entre cada par de elétrons são perdidas. A diferença entre a energia exata e energia HF é chamado energia de correlação eletrônica (Morgon e Coutinho, 2007):

$$E_{corr} = E_{exata} - E_{HF} \quad (17)$$

Embora essa energia seja frequentemente pequena em relação a energia total do sistema, ela é essencial para a descrição de alguns processos eletrônicos e a sua exclusão pode levar a resultados irreais. Os métodos pós Hartree-Fock tentam fazer essa correção, onde existe uma variedade de metodologias como os métodos de perturbação, teoria do funcional densidade (DFT), entre outros (Morgon e Coutinho, 2007).

### A.1.2) Funções de base

Uma função de base é a descrição matemática dos orbitais de um sistema, e para conduzir cálculos é necessário determinar o orbital molecular  $\psi_i$ , e a energia associada com a função de onda total. Uma metodologia para determinar um orbital molecular e sua energia está na combinação linear de orbitais atômicos (CLOA) e então determinar os coeficientes associados a cada orbital atômico pelo cálculo de campo consistente. O método HF é um procedimento para a determinação desses coeficientes. Uma combinação linear de orbitais atômicos pode ser expressa da seguinte maneira (McQuarrie e Simon, 1997):

$$\Psi = \sum_{i=1}^N c_i \psi_i \quad (18)$$

onde  $c_i$  e  $\psi_i$  são os coeficientes e a função de onda dos orbitais atômicos respectivamente.

O conjunto de funções atômicas usadas para construir um orbital é chamado de funções de base ou conjunto de bases. No caso do gás hidrogênio ( $H_2$ ) o conjunto de bases para construir os orbitais moleculares são os orbitais 1s de cada átomo de hidrogênio. Atualmente, as funções de bases mais utilizada são as funções do tipo Gaussian, onde a resolução de integrais para cálculos com vários átomos são mais fáceis de ser obtida. A representação dessas funções é a seguinte:

$$G_{nlm}(r, \theta, \phi) = N_n r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y_l^m(\theta, \phi) \quad (19)$$

sendo  $N_n$  a constante de normalização,  $n$ ,  $l$  e  $m$  são os números quânticos primário, momento angular orbital e número quântico magnético respectivamente.  $r$ ,  $\theta$  e  $\phi$  são as coordenadas do elétron e  $Y_l^m$  é a parte da função de onda que depende dos ângulos  $\theta$  e  $\phi$  que descreve os orbitais ao qual o elétron está localizado. O valor de  $\alpha$  no exponencial proporciona a extensão radial da função Gaussiana.

Na equação 18 cada orbital atômico é uma soma de funções Gaussianas e o número total de funções orbitais que descreve um elemento é um conjunto de bases. Conjuntos de bases de larga utilização são as de Pople (Binkley e cols., 1980; Francl e cols., 1982) e a de Dunning (1989) onde na tabela 15 estão demonstradas algumas delas. Na função de base 3-21G, para descrever o elemento hidrogênio são usadas uma função 1s e uma 2s. No caso dos elementos Li-Ne, situados no segundo período da tabela periódica são usadas 3 funções 1s, 2 funções 2s e uma função 1p. Já para a função de base 5-21G, para descrever o elemento hidrogênio são usadas três funções 1s e uma 2s. No caso dos elementos Li-Ne, são usadas 5 funções 1s, 3 funções 2s e uma função 1p (Binkley e cols., 1980; Francl e cols., 1982). Para a função de bases de Dunning (1989) cc-pvDZ para descrever o elemento hidrogênio são usadas três funções 1s, uma função 2s e uma função 2p. Para os elementos Li-Ne, são usadas 8 funções 1s, uma função 2s, uma função 2p, uma 3p e uma 3d.

A adição de grupo de base polarizada adiciona funções do tipo p ao átomo de hidrogênio ou d a elementos mais pesados. Isso é representado pela adição de um asterisco no subscrito da função de base como em 6-31G\* que indica a adição de uma função polarizada como a 3d em elementos que não sejam o hidrogênio (Hariharan e

Pople, 1973). A adição de dois asteriscos como em 6-31G\*\* indica a adição de uma função polarizada como a 3d em elementos que não sejam o hidrogênio e a adição de uma função polarizadas 2p no hidrogênio (Hariharan e Pople, 1973). Bases difusas são funções mais largas das do tipo s, p e d e ocupam uma maior região do espaço. Essas funções são importantes para sistemas com pares de elétrons relativamente distantes do núcleo. Por exemplo, o prefixo aug na base cc-pvDZ adiciona funções difusas como uma função 3s e uma 3p ao hidrogênio e uma 4p e uma 4d aos elementos Li-Ne (Dunning, 1989).

**Tabela 15:** Conjunto de bases Gaussianas para elementos do primeiro e segundo grupo da tabela periódica

			Camada de Valência		
			Número de funções de base		
Conjunto de bases	Elemento	Orbital Atômico	Camada interna	Menor Valência	Maior Valência
3-21G	H	1s, 2s	-	2 (1s)	1 (2s)
	Li-Ne	1s	3 (1s)	-	-
		2s, 2p	-	2 (2s)	1 (2p)
5-31G	H	1s	-	3 (1s)	1 (2s)
	Li-Ne	1s	5 (1s)	-	-
		2s, 2p	-	3 (2s)	1 (2p)
6-31G	H	1s, 2s	-	3 (1s)	1 (2s)
	Li-Ne	1s	6 (1s)	-	-
		2s, 2p	-	3 (2s)	1 (2p)
cc-pvDZ	H	1s, 2s	-	3 (1s)	1 (2s)
		2p	-	1 (2p)	-
	Li-Ne	1s	8 (1s)	-	-
		2s, 2p	-	1 (2s)	3 (2p)
		3p, 3d	-	1 (3p)	1 (3d)

**Fonte:** McQuarrie e Simon, 1997, Binkley e cols., 1980; Francl e cols., 1982, Dunning, 2008.

### A.1.2) Teoria do funcional densidade (*DFT – Density Functional Theory*).

Prever propriedades moleculares de maneira quantitativa ou tendências qualitativas e explicar a natureza da ligação química é um dos objetivos da química quântica. Entre as metodologias existentes destacam-se as baseadas na teoria do funcional densidade (*DFT – Density Functional Theory*), pois oferecem um baixo custo computacional e resultados de propriedades moleculares próximos aos valores experimentais (Sahin e cols, 2015; Karthikeyan e cols., 2015). A teoria DFT possui a vantagem do menor custo computacional em relação aos métodos HF, pois para um dado sistema arbitrário com  $n$  funções de base, o esforço computacional utilizando-se DFT aumentam na ordem de  $n^3$ , enquanto que os métodos HF aumentam em  $n^4$  ou  $n^5$  para técnicas de interação de configuração (Morgon e Custódio, 1995).

A aproximação DFT é uma estratégia de modular a correlação eletrônica via funcionais de densidade. Tais métodos se baseiam no teorema de Hohenberg-Koh, que demonstrou que um único funcional determina a energia do estado fundamental e a densidade eletrônica. Em termos genéricos os métodos DFT podem ser representados na forma de dois postulados básicos:

(1) a função de onda do estado fundamental e todas as suas propriedades são funcionais da densidade eletrônica  $\rho(r)$ ;

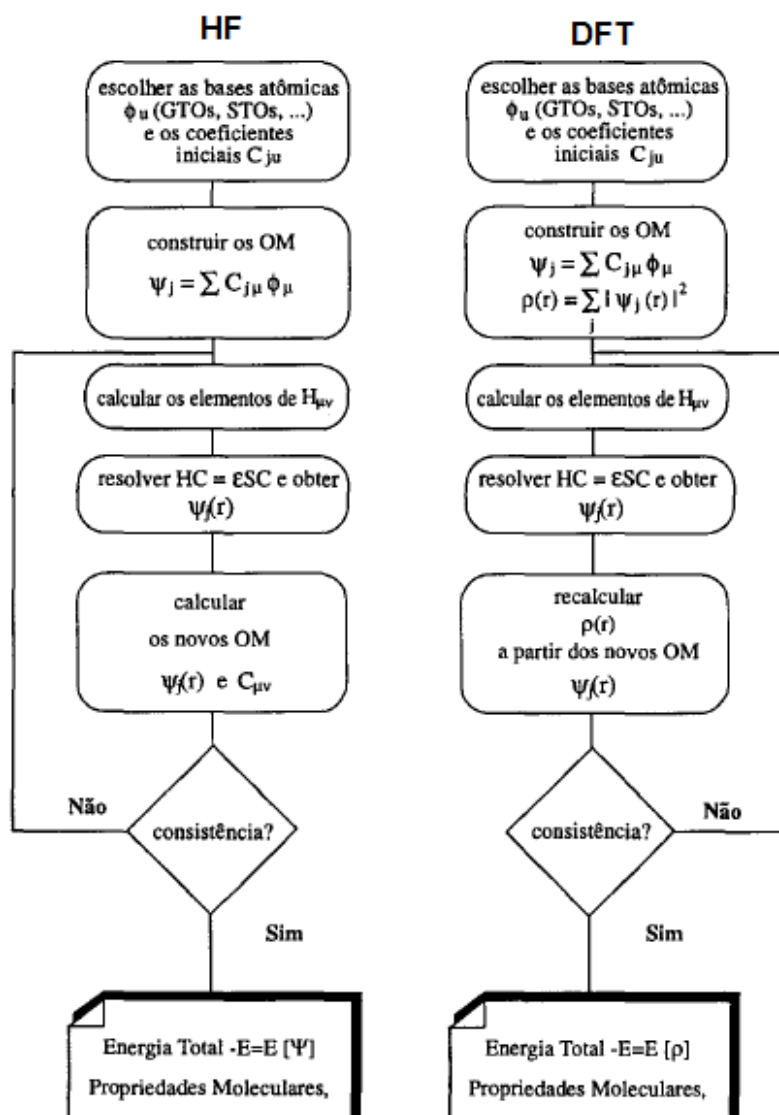
(2) a energia do estado fundamental de um sistema multieletrônico sob um dado potencial externo  $v(r)$ , pode ser escrita como:

$$E_v[\rho(r)] = \int v(r)\rho(r)dr + F[\rho] \quad (20)$$

sendo  $F$  é denominado de funcional universal de  $\rho$  que é independente de  $v(r)$ . Substituindo-se a função densidade exata desse estado por uma outra função aproximada  $\tilde{\rho}$ ,  $E_v$  aumenta, assim:

$$\tilde{E} = \tilde{E}[\tilde{\rho}] = \int v(r)\tilde{\rho}(r)dr + F[\tilde{\rho}] \geq E_0 = E[\rho] \quad (21)$$

Não se conhece a expressão analítica da função densidade, e para encontrá-la sua obtenção utiliza-se as equações de HF em um processo auto consistente, para determinar qual a função densidade que fornece a menor energia ao sistema. O fluxograma abaixo demonstra como é um ciclo auto consistente nos métodos HF e na teoria DFT:



**Figura 32:** Fluxograma do ciclo auto consistente dos métodos HF e DFT.

Fonte: Morgon e Custódio, 1995.

As equações para a energia eletrônica para o método HF e da teoria DFT são as seguintes:

a) Hartree-Fock:

$$E = E[\Psi, R_\alpha] \quad (22a)$$

$$E = \int \Psi \left[ \sum_i \hat{h}_i + \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} \right] \Psi^* d\tau \quad (22b)$$

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + V_c(r) + V_x^i(r) \right] \psi_i = \varepsilon_i \psi_i \quad (22c)$$

b) DFT

$$E = E[\rho, R_\alpha] \quad (23a)$$

$$E = E_{(\rho)}^T + E_{(\rho)}^v + E_{(\rho)}^J + E_{(\rho)}^{xc} : \text{DFT} \quad (23b)$$

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 + V_c(r) + V_{xc}(r) \right] \psi_i = \varepsilon_i \psi_i \quad (23c)$$

onde  $\hat{h}_i$  é o operador mono-eletrônico  $\hat{h}_i = \hat{t}_i + \sum_A \frac{Z_A}{r_{Ai}}$  que contém as contribuições cinéticas e de atração nuclear e  $1/r_{ij}$  é o operador de dois elétrons e  $\nabla^2$  é o Laplaciano definido como a segunda derivada da energia cinética em todas as dimensões.  $E^T$ ,  $E^v$ ,  $E^J$  e  $E^{xc}$  são as energias cinéticas, potencial (atração núcleo-elétron), potencial (repulsão elétron-elétron) e o termo de troca-correlação (Morgon e Custódio, 1995).

A diferença mais significativa entre os dois métodos está no potencial  $V_{xc}$ , onde na representação de Kohn-Sham esse potencial é definido como a derivada funcional da energia total de troca-correlação:

$$V_{xc}(r) = \frac{\partial E_{xc}[\rho(r)]}{\partial \rho(r)} \quad (24)$$

A qualidade dos resultados obtidos é função principalmente do tipo de potencial  $V_{xc}(r)$  que cada método DFT emprega. A energia de correlação-troca pode ser separada em dois termos:

$$E_{(\rho)}^{xc} = E_{(\rho)}^x + E_{(\rho)}^c \quad (25)$$

onde o primeiro termo é chamado de funcional de troca que é devido as interações de mesmo spin e o segundo termo é chamado de funcional de correlação que é devido a interações de spins invertidos (Morgon e Custódio, 1995).

No método B3LYP a energia de troca é representada pela seguinte expressão (Becke, 1988):

$$E_x = E_x^{LDA} - \beta \sum_{\sigma} \rho_{\sigma}^{4/3} \frac{x_{\sigma}^2}{(1+6\beta x_{\sigma} \sinh^{-1} x_{\sigma})} d^3r \quad (26)$$

onde o primeiro termo após a igualdade é conhecido como energia de troca de uma aproximação de densidade local (LDA- local-density approximation), definida como:

$$E_x^{LDA} = -C_x \sum_{\sigma} \int \rho_{\sigma}^{4/3} d^3r \quad (27)$$

$$C_x = \frac{3}{2} \left( \frac{3}{4\pi} \right)^{1/3} \quad (28)$$

O valor de  $\beta$  é uma constante e foi definido como 0,042 Hartrees obtido a partir da energia de troca dos seis gases nobres.

A energia de correlação em função da densidade eletrônica para o método B3LYP foi deduzida por Lee, Yang e Parr que é representado pela seguinte expressão (Lee e cols. 1988):

$$E_c = -a \int \frac{\rho(r)+b\rho(r)^{-2/3}[t_{HF}(r)-2t_w(r)] e^{-c\rho(r)^{-1/3}}}{1+d(\rho)^{-1/3}} dr \quad (29)$$

onde  $t_{HF}$  e  $t_w$  são a densidade de energia cinética local de Hartree-Fock e Weizacker, respectivamente.  $a$ ,  $b$  e  $c$  são constantes e seus valores são 0,049, 0,132 e 0,2533.

### A.1.2) Modelo de Polarização contínua (*PCM – polarization continuous model*)

Existem alguns modelos que são utilizados para descrever, a um bom nível de exatidão, a energia e algumas propriedades moleculares sob a aplicação de um potencial efetivo ( $V_{int}$ ) que descreve interações soluto-solvente. O problema se baseia em descrever dois componentes do Hamiltoniano efetivo, um deles o Hamiltoniano Molecular  $H^0$  e outro o potencial de interação ( $V_{int}$ ) que descreve o efeito do solvente. Uma aproximação para descrever esse potencial consiste no uso de cavidades com o formato do soluto, no qual é aplicado um potencial eletrostático ( $V_{el}$ ) que descreve as propriedades dielétricas da contínua distribuição do solvente (Tomasi e cols. 1999).

O modelo de polarização contínua (PCM) considera uma solução infinitamente diluída no equilíbrio para descrever a energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) de solvatação. Para isso é conveniente usar como referência um sistema que consiste em um solvente puro sem perturbação (T) preenchido com um soluto (M) com um número de elétrons e núcleos não interagentes. A cavidade com uma forma apropriada é construída no solvente e a energia gasta nesse procedimento corresponde a energia livre da cavidade ( $G_{cav}$ ). Os elétrons e núcleos do soluto (M) são inseridos na cavidade e a energia gasta nesse segundo processo fornece a segunda contribuição da energia livre do sistema ( $G_{mm}$ ). Com isso é construído uma partição fenomenológica da energia livre em solução que descreve interações eletrostáticas, repulsão, dispersão e movimento molecular no qual a cavidade foi adicionada. É chamado  $G^s$  a diferença de energia livre em relação ao estado de referência (Tomasi e cols. 1999):

$$G^s = G_{el} + G_{rep} + G_{dis} + G_{Mm} + G_{cav} \quad (30)$$

A contribuição eletrostática contém ambos a interação eletrostática entre elétrons e núcleos e entre soluto e solvente. Se chamarmos  $G^0$  de energia livre do sistema composto pelo soluto (M) no estado gasoso e  $G^S$  a energia do sistema soluto mais solvente, temos a energia de solvatação descrita como (Tomasi e cols. 1999):

$$\Delta G_{sol} = G^S - G^0 \quad (31)$$

$$\Delta G_{sol} = \Delta G_{el} + G_{rep} + G_{dis} + G_{cav} + \Delta G_{Mn} \quad (32)$$

O símbolo  $\Delta$  indica que o primeiro e último termo de  $\Delta G_{sol}$  são definidos pela diferença dos dois cálculos independentes: o primeiro feito em solução e o segundo no vácuo. Em paralelo, existe uma decomposição fenomenológica do potencial de interação (Tomasi e cols. 1999):

$$V_{int} = V_{el} + V_{dis} + V_{rep} \quad (33)$$

O potencial de interação é adicionado na equação de Schöndinger:

$$(H^0 + V_{int})\Psi = E\Psi \quad (34)$$

Em princípio  $V_{int}$  depende da distribuição de carga do soluto M:  $V_{int} = V_{int}(\rho_M)$  e alguns termos podem ser negligenciados como no modelo PCM, onde  $V_{dis}$  e  $V_{rep}$  e  $G^S$  são obtidos com o auxílio de expressões empíricas que não exibem uma dependência explícita de  $\rho_M$ . Em adição, todo modelo PCM parte da aproximação de Born-Oppenheimer que considera núcleos fixos. Logo, a equação de Schöndinger é reduzido somente ao componente eletrônico da função de onda molecular e a dependência linear de  $V_{el}$  é reduzido a um componente eletrônico de  $\rho_M$ . Nesses aspectos é conveniente separar  $V_{int}$  em dois componentes (Tomasi e cols. 1999):

$$V_{int} = V'_{int}(\rho_M^e) + V''_{int} \quad (35)$$

onde  $V'_{int}(\rho_M^e) = A(\Psi\Psi^*)$  com A sendo um operador apropriado, e para descrever um funcional de energia livre sujeito a minimização de energia, temos:

$$J^S = \int \Psi(\widehat{H}^0 + \widehat{V}'' + \frac{1}{2} \widehat{V}''_{int}(\rho_M^e))\Psi \quad (36)$$

A partir desse funcional aplica-se o método variacional como o de Hartree-Fock ou teoria DFT para obter uma função de onda que fornece o mínimo de energia para  $J^S$ , onde estão sendo considerados o operador Hamiltoniano molecular ( $\widehat{H}^0$ ) e o potencial de interação ( $V_{int}$ ) que descreve as interações soluto-solvente (Tomasi e cols. 1999).

## Anexo 2

### A.2.1) Espectroscopia vibracional no Infravermelho

A espectroscopia molecular é o estudo da interação entre a radiação eletromagnética e moléculas. Diferentes regiões do espectro eletromagnético provocam diferentes transições. A faixa que compreende os comprimentos de onda de  $3 \times 10^{-5}$  a  $6,9 \times 10^{-7}$  m ( $330$  a  $14500 \text{ cm}^{-1}$ ) é a região do infravermelho e provoca transições vibracionais nas ligações químicas das moléculas. Também, na espectroscopia no infravermelho as transições que ocorre entre níveis vibracionais, devido a absorção da radiação, são simultâneas com transições rotacionais. Logo, se tem um espectro roto-vibracional (McQuarrie e Simon, 1997).

Classicamente, a absorção (ou emissão) de radiação infravermelho por um sistema é devido a variação periódica no seu momento de dipolo elétrico, sendo a frequência absorvida ou emitida idêntica à da oscilação no momento do dipolo. Assim, se o momento de dipolo elétrico oscilar na mesma frequência de uma radiação incidente, o sistema absorverá esta radiação.

A frequência da radiação absorvida é dada pela equação de Bohr:

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\tilde{\nu} \quad (37)$$

sendo que  $h$  é a constante de Planck ( $6,626 \times 10^{-34}$  Js),  $\nu$  é a frequência da radiação absorvida,  $c$  a velocidade da luz ( $2,998 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$ ) e  $\tilde{\nu}$  é o número de onda.

As energias dos níveis vibracionais de uma molécula diatômica são descritas pela dedução feita a partir do modelo do oscilador harmônico, dada pela seguinte equação (McQuarrie e Simon, 1997):

$$E_v = \left(v + \frac{1}{2}\right) h\nu \quad v = 0,1,2,3 \dots \quad (38)$$

onde:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \left(\frac{k}{\mu}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (39)$$

é a frequência fundamental do oscilador harmônico.  $k$  e  $\mu$  na equação 39 são a constante de força da ligação e a massa reduzida da molécula diatômica e  $v$  na equação 38 é o número quântico vibracional. Transições entre níveis vibracionais estão sujeitas a uma regra de seleção, onde  $\Delta v = \pm 1$ . Então a diferença de energia entre níveis vibracionais é a seguinte (McQuarrie e Simon, 1997):

$$\Delta E = h\nu \quad (40)$$

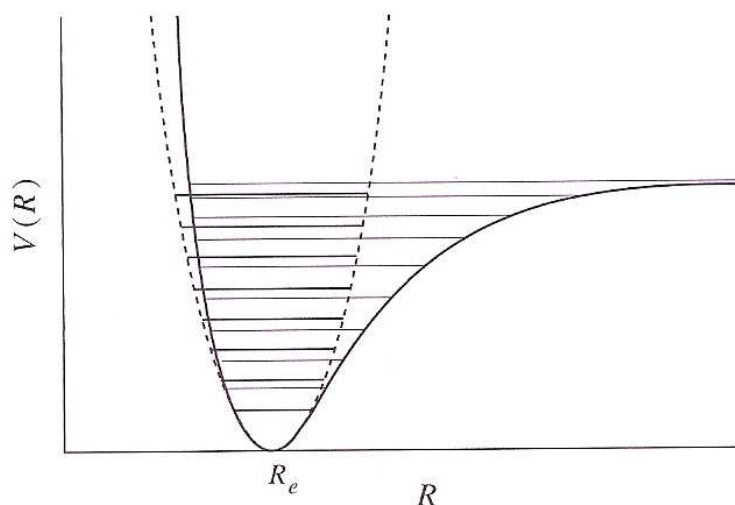
Pode-se expressar a energia da equação 36 em termos do número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), uma unidade de larga utilização na espectroscopia vibracional. Assim:

$$G_v = \left( v + \frac{1}{2} \right) \tilde{\nu} \quad v = 0, 1, 2, 3 \dots \quad (41)$$

onde:

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \left( \frac{k}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (42)$$

No entanto, moléculas reais não seguem sistemas ideais como o oscilador harmônico descrito pela equação 38. É observado experimentalmente que a energia potencial internuclear não segue uma parábola, e uma curva mais precisa é aquela descrita pelo oscilador anarmônico. Uma comparação entre as diferenças dos dois modelos pode ser vista na Figura 33. Para o oscilador anarmônico as diferenças nas energias entre níveis vibracionais menores se aproximam do oscilador harmônico. Mas, para níveis vibracionais maiores as essas diferenças ficam cada vez menores (**Figura 33**).



**Figura 33:** Curva de energia potencial ( $V$ ) em função da distância internuclear ( $R$ ) do oscilador harmônico (linha pontilhada) e oscilador anarmônico (linha cheia).

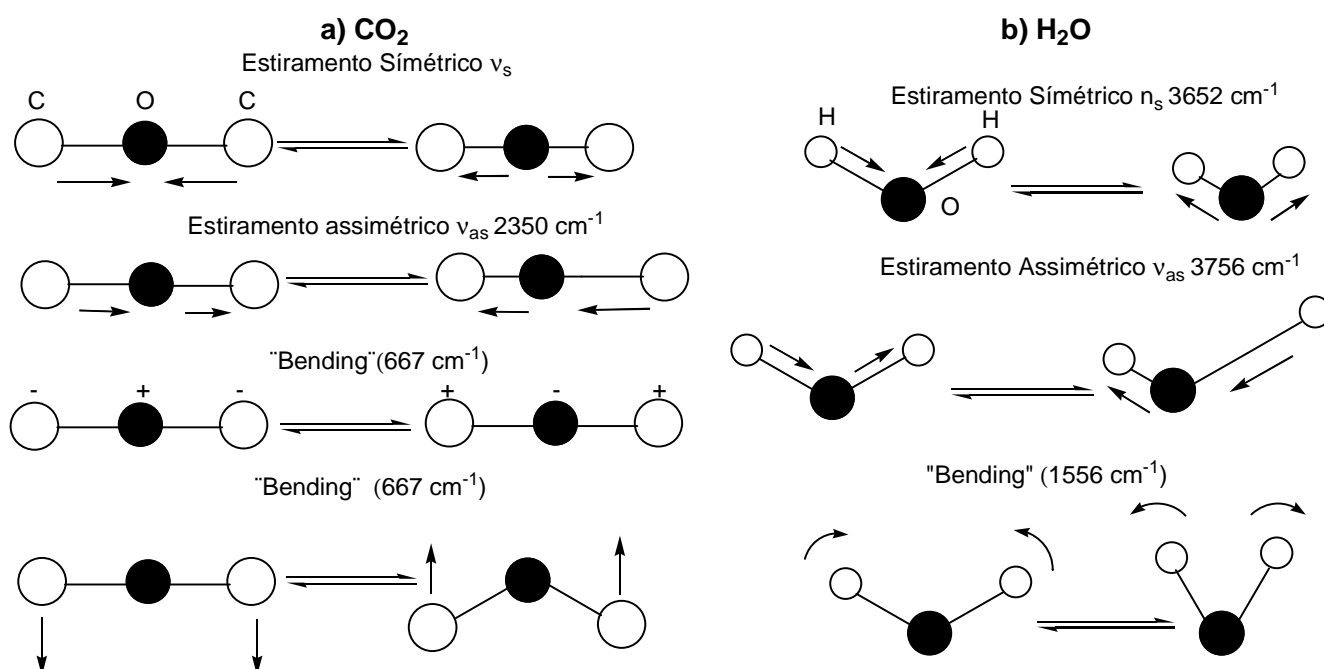
**Fonte:** McQuarrie e Simon, 1997

Portanto, é necessária uma correção de anarmocidade e os níveis de energia em termos de número de onda é dada pela expressão a seguir (McQuarrie e Simon, 1997):

$$G_v = \tilde{\nu}_e \left( v + \frac{1}{2} \right) - \tilde{x}_e \tilde{\nu}_e \left( v + \frac{1}{2} \right)^2 + \dots \quad v = 0, 1, 2, 3, \dots \quad (43)$$

onde  $\tilde{x}_e$  é chamado de constante de anarmocidade.

A quantidade de vibrações que as ligações químicas em uma molécula, chamado de modos normais de vibração, depende da quantidade de átomos e da geometria da molécula. Para moléculas lineares, como o CO<sub>2</sub>, a quantidade de modos é dada pela fórmula  $3n-5$ , e para moléculas não lineares, como a molécula de água (H<sub>2</sub>O), a quantidade de modos é dada pela equação  $3n-6$ , onde  $n$  é a quantidade de elementos. Logo, o CO<sub>2</sub> possui quatro modos de vibração e o H<sub>2</sub>O possui 3 três modos, representados na Figura 34 (McQuarrie e Simon, 1997).



**Figura 34:** Modos normais de vibração da molécula de CO<sub>2</sub> (a) e H<sub>2</sub>O (b)

No estiramento simétrico da molécula de CO<sub>2</sub> não ocorre variação no momento de dipolo e essa vibração é inativa no espectro de infravermelho. Os dois modos "bending" são degenerados e possuem o mesmo número de onda no espectro de FTIR (McQuarrie e Simon, 1997).

### A.2.2) Espectroscopia vibracional Raman

O espectro Raman é devido ao espalhamento inelástico de uma radiação monocromática que incide sobre uma molécula. Embora a molécula passe de um estado vibracional para outro, o fenômeno é fisicamente diferente em relação a espectroscopia no infravermelho, onde ocorre absorção da radiação (Sala, 2008).

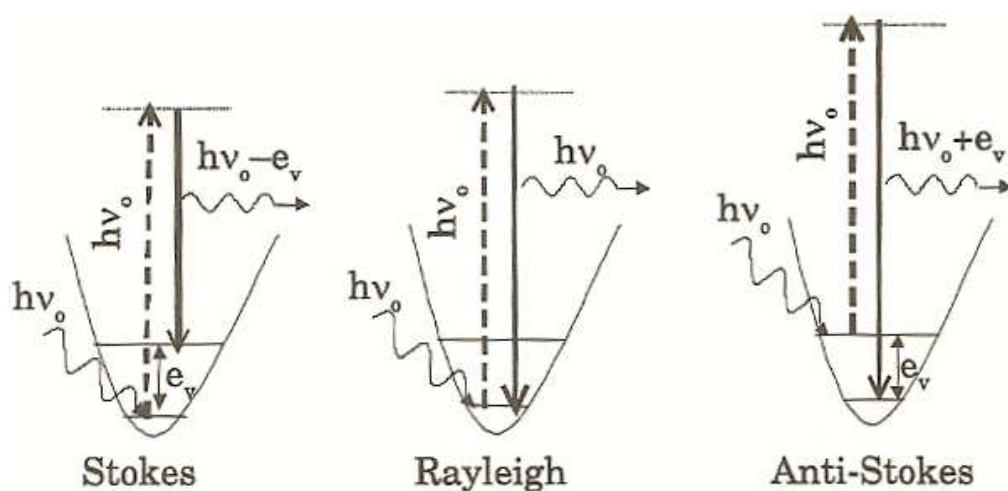
No efeito Raman, a atividade está ligada à variação do momento de dipolo induzido na molécula pelo campo elétrico da radiação incidente. É diferente do infravermelho, onde na absorção da radiação ocorre a variação do momento de dipolo da molécula com a vibração. Portanto, tanto em moléculas diatômicas heteronucleares como o HCl e as homonucleares como Cl<sub>2</sub> apresentam atividade em um espectro Raman, pois em ambas existe a variação na polarizabilidade com a vibração (Sala, 2008).

O mecanismo de espalhamento está representado na Figura 35. No espalhamento Raman Stokes a molécula no estado fundamental sofre colisão com o fóton de energia  $h\nu_0$ , e passa para um estado intermediário (ou virtual), que não precisa ser um estado estacionário da molécula. Posteriormente, decai em seguida para um estado vibracional excitado, de energia  $e_v$  e o fóton espalhado terá energia  $h\nu_0 - e_v$ , que é menor que o fóton incidente. No espalhamento Rayleigh, após a interação com o fóton a molécula retorna ao estado inicial de energia, e o fóton é espalhado sem modificação na frequência (espalhamento elástico).

No espalhamento Raman anti-Stokes o fóton encontra a molécula em um estado excitado e decai para o estado fundamental. Esta diferença de energia é cedida ao fóton e espalhado com um valor de  $h\nu_0 + e_v$ . Como a população dos estados excitados são menores, pois, seguem a distribuição de Boltzmann, deve-se esperar para as bandas anti-Stokes menor intensidade em relação as da Stokes. Isto é verificado experimentalmente, onde a relação das intensidades anti-Stokes/Stokes é dada por (Sala, 2008):

$$\frac{I_A}{I_S} = \left( \frac{\nu_0 + \nu_v}{\nu_0 - \nu_v} \right)^4 e^{-\frac{e_v}{kT}} \quad (44)$$

Para frequências baixas as intensidades Stokes e anti-Stokes são comparáveis, mas para frequências vibracionais muito altas é difícil de se observar as bandas anti-Stokes (Sala, 2008).



**Figura 35:** Mecanismo no espalhamento Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes

Fonte: Sala, 2008.

### A.2.3) Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Normalmente compostos dos elementos representados contêm todos os elétrons emparelhados e não sofrem qualquer efeito quando um campo magnético é aplicado. Entretanto, alguns compostos dos elementos do bloco d e f e moléculas que contêm radicais livres possuem elétrons desemparelhados que resulta em um momento magnético de spin. Essas espécies na presença de um campo magnético sofrem uma interação de energia potencial dada pela equação a seguir (Ball, 2005):

$$\Delta E = g\mu SB \quad (45)$$

sendo que  $g$  é chamado de fator eletrônico, igual a 2,002 para um elétron livre,  $\mu$  o momento de dipolo magnético,  $B$  o campo magnético aplicado na espécie no eixo  $Z$ , em unidades de Tesla (T), e  $S$  é o momento magnético de spin total dado pela equação (Ball, 2005):

$$S = \sum m_s, m_s = -\frac{1}{2} \text{ ou } +\frac{1}{2} \quad (46)$$

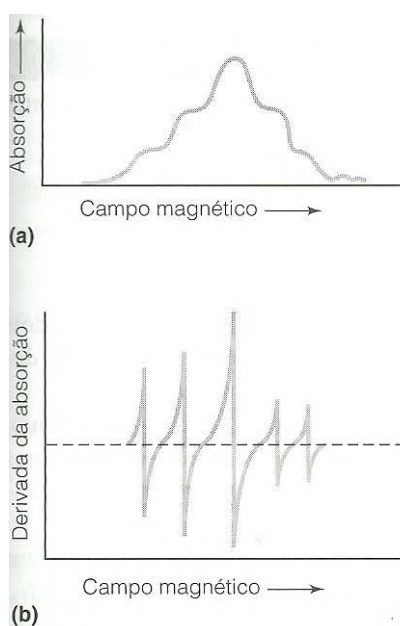
Para espécies com apenas um elétron desemparelhado, como ocorre nos radicais livres,  $S$  é simplesmente  $+1/2$  ou  $-1/2$ , e quando submetido a um campo magnético implica em um sistema com dois níveis de energia, onde aquele com spin paralelo ao campo é o de menor energia e o anti-paralelo o de maior energia. Portanto, se a espécie com um elétron desemparelhado for irradiada com o comprimento de onda adequado, o elétron passa do estado de mais baixa energia, com  $m_s = -1/2$ , para

o estado de mais alta energia, com  $m_s = +1/2$ . A diferença de energia para sistemas desse tipo é  $g\mu_B$  e pela equação de Bohr (equação 35), a frequência em  $s^{-1}$  ou Hz da radiação absorvida é dado por (Ball, 2005):

$$h\nu = g\mu_B$$

$$\nu = \frac{g\mu_B}{h} \quad (47)$$

A energia de absorção, para promover transições de spin eletrônico é da ordem de  $1,855 \times 10^{-23}$  J/T, que representa frequências da região de microondas (normalmente expressas em gigahertz ou GHz). Logo, para se obter um espectro de RPE a amostra é irradiada com radiação microondas, em uma frequência fixa, e varia-se o campo magnético. Grande parte dos espectros obtidos são conglomerados de linhas muito próximas, não resolvidas, sendo convencional fazer os gráficos da derivada da absorção em função da variação do campo magnético (**Figura 36**). Dessa maneira, as diferentes absorções são intensificadas (Ball, 2005).



**Figura 36:** Espectro de absorção de RPE (a) e derivada do espectro RPE (b)

Fonte: Ball, 2005

A discussão anterior foi feita considerando que na presença de um campo magnético todos os elétrons absorvem a mesma radiação de microondas. Neste caso, existe um único valor de  $g_e$ . Porém, existem espécies que possuem mais de um elétron desemparelhado, e o valor de  $g$  depende do ambiente em que cada um desses elétrons estão. Como os núcleos também tem spins, existe uma interação, ou

acoplamento, entre o spin dos elétrons desemparelhados e o momento do spin nuclear, chamado I (Ball, 2005).

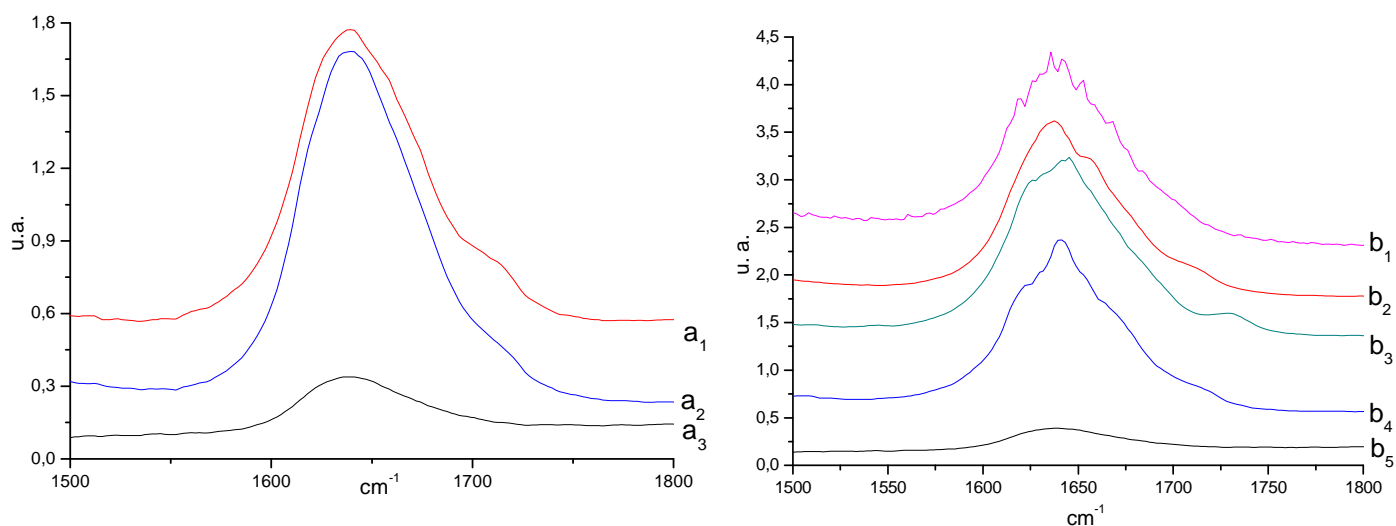
Em uma molécula ou uma substância inorgânica com vários núcleos com spins diferentes de zero, os spins nucleares podem acoplar-se, gerando um spin nuclear total,  $M_{I, mol}$ , dado por (Ball, 2005):

$$M_{I, mol} = \sum_{Núcleos} M_I \quad (48)$$

onde  $M_I$  é o spin de um núcleo individual. A espécie possui  $2M_{I, mol} + 1$  orientações possíveis de spin nuclear total, no eixo em que o campo magnético B está aplicado (eixo Z). Cada orientação se acopla de uma maneira diferente com o spin eletrônico, onde esse acoplamento é conhecido como acoplamento hiperfino. Isso gera múltiplas absorções, para um spin eletrônico, gerando no espectro RPE múltiplas linhas para cada elétron desemparelhado (Ball, 2005).

### Anexo 3

#### A.3) Espectros FTIR da zeólita natural após teste de adsorção de timina e uracila em pH2 e adenina, timina, uracila e citosina em pH8 em água ultrapura



**Figura 37:** Espectro IV de a<sub>1</sub>) Timina adsorvida em água ultrapura em pH2; a<sub>2</sub>) Uracila adsorvida em solução de água ultrapura em pH 2; a<sub>3</sub>) Zeólita Natural; b<sub>1</sub>) Adenina adsorvida em água ultrapura em pH8; b<sub>2</sub>) Timina adsorvida em água ultrapura em pH8; b<sub>3</sub>) Citosina adsorvida em água ultrapura em pH8; b<sub>3</sub>) Uracila adsorvida em água ultrapura em pH8; b<sub>5</sub>) Zeólita natural;