



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Adsorção de L-Cisteína em Pirrotita: um Estudo em Química Prebiótica

KARINA DANIELE MANNRICH

Florianópolis
Novembro de 2015

Karina Daniele Mannrich

Adsorção de L-Cisteína em Pirrotita: um Estudo em Química Prebiótica

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Luís Otávio de Brito Benetoli

Florianópolis
Novembro de 2015

KARINA DANIELE MANNRICH

**Adsorção de L-Cisteína em Pirrotita: um Estudo em Química
Prebiótica**

Prof. Dr. Alexandre Luís Parize
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luís Otávio de Brito Benetoli
Orientador

Prof. Dr. Luciano Vitali

Dr^a. Vanderléia Gava Marini

Florianópolis
Novembro de 2015

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador prof. Dr. Luís Otávio de Brito Benetoli pela oportunidade de realização deste trabalho, pelas horas dedicadas me ensinando e por toda a ajuda e cobrança durante o decorrer deste ano.

A todos os colegas do laboratório 214, principalmente aos amigos César Arpini, Felipe Cassini e Rafael Brognoli, pela ajuda e incentivo.

Aos professores que contribuíram para minha formação e que me fizeram amar a Ciência.

Agradeço a Thaisy, do LabInc, pela ajuda com os espectros de infravermelho.

Agradeço ao João Eduardo Linhares e ao João Pedro Gambin por tantas horas discutindo Química e pela amizade.

Ao meu grande amigo Everton (Touver), que sempre me ajudou e que não me deixou desistir. Muito obrigada.

Aos amigos que fui fazendo em cada lugar que morei, que foram uma família em cada lugar e que de alguma forma contribuíram para que essa etapa fosse concluída, principalmente aos amigos da casa vermelha, em especial a Camille Van Tornhout, por me ajudar a ver o mundo de forma diferente.

Agradeço aos meus pais e aos meus irmãos, por me ajudarem como possível, mesmo que de longe.

Todos os amigos e pessoas que conheci que contribuíram direta ou indiretamente até esta etapa, mudando minha visão de mundo e contribuindo pro meu crescimento pessoal.

SUMÁRIO

Resumo.....	10
1. Introdução	11
2. Revisão da Literatura	12
2.1. Química prebiótica: a química da origem da vida	12
2.1.1. Mundo do ferro e enxofre.....	13
2.2. Aminoácidos.....	13
2.2.1. Cisteína.....	14
2.3. Minerais	15
2.3.1. Pirrotita.....	15
2.4. Interação Sólido-Líquido	16
2.4.1. Cinética de adsorção	17
3. Objetivos	18
3.1 Objetivo Geral	18
3.2 Objetivos específicos	18
4. Metodologia.....	19
4.1. Reagentes.....	19
4.2. Soluções	19
4.2.1. Solução de água do mar artificial (4 Ga).....	19
4.3. Determinação espectrofotométrica da Cisteína	20
4.4. Avaliação da cinética de sorção.....	20
4.4. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT IR).....	21
5. Resultados e Discussão	22
5.1. Cinética da reação	22
5.1.1. Efeito da concentração inicial e da temperatura.	22
5.1.2. Obtenção das constantes de velocidade em função da temperatura.....	23
5.1.3. Energia de ativação para a reação	24

5.2. Interação Cisteína - Pirrotita.....	27
5.2.1. Análise por espectroscopia no infravermelho.....	27
5.3. Evolução Molecular.....	31
6. Conclusão	33
7. Referências Bibliográficas	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da L-Cisteína	15
Figura 2. Cristal de Pirrotita.....	16
Figura 3. Variação da concentração de Cys <i>versus</i> tempo para diferentes concentrações iniciais na temperatura de (a) 15 °C, (b) 25 °C, (c) 35 °C e (d) 45 °C.	22
Figura 4. Cinética de adsorção de pseudo-primeira ordem para concentração inicial de Cys 1,5 g L ⁻¹	24
Figura 5. Gráfico de Arrhenius para reação de Cys (1,5 g L ⁻¹) com a pirrotita na faixa de temperatura (a) 25-45 °C e (b) 15-25 °C.....	25
Figura 6. Perfil de reação proposto para um caminho reacional na síntese da Cistina a partir de Cys e Pirrotita.....	26
Figura 7. Espectros de FT IR, sendo (a) Pirrotita, (b) Cys pura, (c) Cistina pura e (d) precipitado.....	28
Figura 8. Reação de oxidação da Cys á Cistina através da formação de uma ligação dissulfeto.	29
Figura 9. Espectro FT IR para a Cistina (vermelho) e para o precipitado resultante da reação (preto).....	29
Figura 10. Espectro FT IR para a precipitado (verde), cistina (azul) e para Cys (vermelho)	30
Figura 11. Espectro FT IR para a Cys (preto) e para o precipitado resultante da reação (vermelho).	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de pK_{a1} (α -COOH), pK_{a2} (α -NH ₂), pK_{aR} (grupo sulfidril) e pI para o aminoácido Cys.....	13
Tabela 2. Efeito da temperatura sobre k_{ads} para solução de Cys 1,5 g L ⁻¹	23

LISTA DE ABREVIações

Cys – L-Cisteína

Pyr - Pirita

UV-Vis – ultravioleta e visível

PBQ- p-benzoquinona

Ga – Giga anos

FT IR – Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier

Resumo

O presente trabalho baseia-se na teoria do mundo de ferro e enxofre desenvolvida por Wächterhauser, ele propõe que um metabolismo químico de superfície poderia ter surgido e evoluído a partir da superfície de minerais contendo ferro e enxofre. Estudou-se a interação do aminoácido L-Cisteína (Cys) com a Pirrotita (FeS), um dos minerais propostos por Wächterhauser - em condições prebióticas - ou seja, meio reacional contendo água do mar sintética simulando o oceano de 4 bilhões de anos atrás em pH 2. Quatro faixas de temperatura diferentes foram estudadas e diferentes concentrações da Cys. Os resultados obtidos mostraram que todo o aminoácido foi consumido durante a reação, acompanhada por espectroscopia UV-Vis. A partir dos dados obtidos, foi possível determinar parâmetros cinéticos, como constante de velocidade e energia de ativação. O precipitado obtido ao término da reação foi analisado por espectroscopia na região do infravermelho e comparado com os espectros das substâncias puras de: Pirrotita, Cys e Cistina. O espectro do precipitado apresentou um ajuste perfeito ao espectro obtido para a cistina, confirmando sua presença. Com base nos dados experimentais, um possível caminho reacional foi proposto.

Palavras chave: Cisteína, pirrotita, origem da vida, química prebiótica.

1. Introdução

Em 2007, Benetoli et al¹ mostraram que a L-Cisteína (Cys) era capaz de tornar a superfície da Pirita (Pyr) eletricamente negativa, correspondendo a uma diminuição do potencial zeta do mineral. Estudos anteriores², também apontaram que a Cys era capaz de reduzir o ferro contido na bentonita de Fe³⁺ para Fe²⁺. Portanto, a produção de cistina a partir de Cys transfere elétrons para a superfície da Pyr, tornando a superfície do mineral eletricamente negativa ($2\text{Cys} \rightarrow \text{Cistina}_{\downarrow(x)} + \text{Cistina}_{(\text{sol}) (1-x)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$)¹.

Na sequência, em 2009, Benetoli³, investigou o efeito da adsorção de Cys sobre as propriedades elétricas superficiais da Pyr. O principal resultado obtido foi a produção de Cistina a partir da oxidação química da Cys na presença de Pyr. Os elétrons envolvidos na reação entre Cys e minerais poderiam ser utilizados por monômeros inorgânicos, por exemplo, pré-adsorvidos na superfície do mineral, conduzindo, através de uma série de reações acopladas, a produção de biomoléculas essenciais ao surgimento da vida como conhecemos.

Os dados preliminares obtidos nesses trabalhos anteriores motivaram o desenvolvimento desta proposta de trabalho de conclusão de curso, tendo como objetivo principal investigar de modo amplo a reação entre Cys e a pirrotita, em condições prebióticas.

2. Revisão da Literatura

2.1. Química prebiótica: a química da origem da vida

Não sabemos como a vida se originou na Terra, mas grande parte das evidências apontam que as primeiras formas de vida se originaram a partir das evoluções de compostos orgânicos de forma abiótica.⁴

Somente após os experimentos de Pasteur, no fim do século XIX, a hipótese da geração espontânea - matéria inanimada dando origem a seres vivos - foi derrubada, e partir de então várias teorias vêm sendo construídas sobre como a vida poderia ter se formado na Terra.⁵

No início do século XX, Oparin propôs que a atmosfera na Terra Primitiva era altamente redutora, essa idéia foi estendida por Bernal e Urey (Miller, 1955). Com base nessa proposta, Miller conduziu experimentos com descarga elétrica em atmosfera altamente redutora, a partir de moléculas simples (metano, amônia, hidrogênio) gerando biomoléculas, entre elas, aminoácidos, que são moléculas essenciais a todos os seres vivos. Pode-se dizer que os experimentos de Miller iniciaram os estudos na área de química prebiótica.⁵

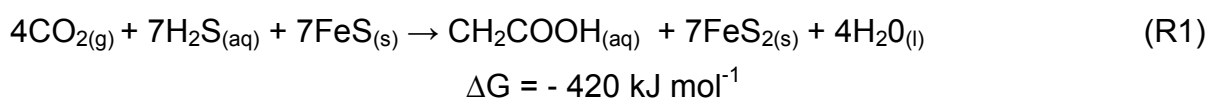
Dentre as sugestões de como a vida se formou em nosso planeta, Bernal (1951) propôs que minerais poderiam ter exercido papel fundamental para a evolução química. Wächtershäuser (1988) desenvolveu a idéia de Bernal propondo teoricamente um mundo baseado em ferro e enxofre, ocorrendo na superfície de minerais, como por exemplo, pirita e pirrotita.^{5,6,7}

A química prebiótica é uma área da ciência que estuda a origem da vida através de reações químicas ou de processos que poderiam ter contribuído para o surgimento de vida em nosso planeta.⁵ Os estudos de química prebiótica devem reproduzir os ambientes existentes na Terra Primitiva, de aproximadamente 3,5 – 3,9 bilhões de anos atrás, época em que se estima o aparecimento das primeiras formas de vida.⁸

2.1.1. Mundo do ferro e enxofre

Em 1988 o químico alemão Wächtershäuser propôs que a superfície de alguns minerais poderia fornecer um ambiente propício para que pudessem ocorrer reações químicas relevantes à origem da vida. A teoria baseia-se em um metabolismo quimioautotrófico de superfície, onde moléculas orgânicas são adsorvidas na superfície de um mineral, que na proposta de Wächtershäuser poderia ser: pirita ou pirrotita; tendo por resultado uma série de reações que ocorrem na interface.^{5,7}

Estudou-se nessa teoria que sulfetos de ferro, seriam capazes de fixar CO₂, tornando possíveis reações de oxi-redução na presença de ácido sulfídrico, gerando a pirita e moléculas orgânicas, conforme a reação:



A energia livre de Gibbs para esta reação, conforme os cálculos de Wächtershäuser, possui $\Delta G = - 420 \text{ kJ mol}^{-1}$, o que a torna espontânea na condição proposta. Os resultados teóricos previstos por Wächtershäuser foram, tão logo publicados, comprovados experimentalmente, fazendo da teoria do mundo de ferro-enxofre umas das mais bem aceitas em âmbito científico.⁶

2.2. Aminoácidos

Os Aminoácidos são os monômeros de proteínas e peptídeos, moléculas construtoras de unidades mais complexas, essenciais para a manutenção da vida. O funcionamento das células é ligado diretamente à ocorrência de milhares de reações, grande parte delas catalisadas por proteínas conhecidas como enzimas. Tendo em vista a função essencial dos aminoácidos para a manutenção da vida, tenta-se entender também o papel dessas biomoléculas na química prebiótica. Presume-se que os aminoácidos tenham tido papel de construção de catalisadores primitivos, com propriedades similares as proteínas atuais.⁹

A primeira síntese prebiótica bem sucedida de aminoácidos foi realizada por Miller e Urey em 1953, usando descargas elétricas em atmosfera altamente redutora, contendo CH_4 , NH_3 , H_2O e H_2 . A síntese teve como resultado uma mistura racêmica de aminoácidos e outras moléculas orgânicas relevantes para a origem da vida.⁴

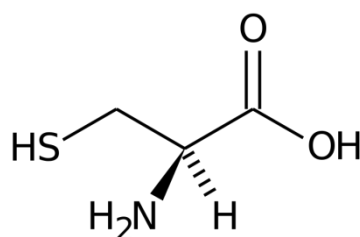
Em bioquímica, são vinte os aminoácidos fundamentais que formam blocos construtores para uma ampla variedade de proteínas. Todos os aminoácidos, com exceção da prolina, possuem um grupo carboxílico livre e um grupo amino livre ligado ao carbono α . São diferenciados uns dos outros por grupamentos laterais, chamados grupos R. No caso da Cys, o grupamento R contém uma sulfidril $-\text{SH}$.¹⁰

2.2.1. Cisteína

A Cys, que está presente nas proteínas dos seres vivos atuais, é um aminoácido contendo como grupamento lateral um tiol, sendo um dos aminoácidos codificados pelo código genético. A Cys é um aminoácido reativo, devido à presença do grupo funcional sulfidril o que o torna importante em muitos processos, como por exemplo, sua capacidade bio-lixivante. Capaz de realizar interações com ferro e sua ligação se assemelha a ligação Fe-S da ferredoxina, uma proteína ferro-enxofre presente no metabolismo dos seres vivos, mediadora da transferência de elétrons.

A molécula de L-Cisteína (Figura 1) apresenta um alto grau de complexidade química, devido a presença de três diferentes grupos funcionais: amino ($-\text{NH}_2$), carboxílico ($-\text{COOH}$) e sulfidril ($-\text{SH}$). Parte desta complexidade provém do fato desta molécula assumir formas carregadas e neutras dependendo do pH do meio. No estado gasoso sua forma mais estável é não iônica, já em estado sólido é encontrada normalmente na forma isoeletrônica, com o grupo carboxílico desprotonado e o grupo amino carregado positivamente.¹¹ Em solução ácida, o aminoácido está completamente protonado (pK_{a1}), portanto carregado positivamente. Em meio alcalino (pK_{a2}) a forma aniônica é predominante e em pH aproximadamente 5, o aminoácido apresenta a sua forma isoeletrica (pI). Já em pH 8,18 o grupo R da Cys (pK_{aR}) está ionizado (Tabela 1).

Figura 1. Estrutura da L-Cisteína



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Cisteína> (acessado em 16/11/15)

Tabela 1. Valores de pK_{a1} (α -COOH), pK_{a2} (α -NH₂), pK_{aR} (grupo sulfidril) e pI para o aminoácido Cys.

pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{aR}	pI
1,96	10,28	8,18	5,07

2.3. Minerais

O possível papel dos minerais para a origem da vida na Terra primitiva vem há muito tempo sendo estudado pela comunidade científica. Bernal (1951) foi o primeiro a sugerir que a superfície de minerais poderia ser relevante para os processos de evolução química, onde poderiam ter atuado como catalisadores, pré-concentrando monômeros e os protegendo da degradação hidrolítica.¹²

Entretanto, somente em 1988, a ideia de um metabolismo quimioautotrófico primitivo de superfície foi teoricamente proposta por Wächtershäuser, onde a superfície da pirita e da pirrotita são tomadas como possíveis candidatos ao processo de evolução molecular.¹³

2.3.1. Pirrotita

A pirrotita é o mineral precursor na formação da pirita, tendo por fórmula química FeS, e é um dos minerais propostos por Wächtershäuser como tendo uma

superfície propícia para a adsorção de outras moléculas, sendo dessa forma um catalisador de reações que poderia dar origem a moléculas mais complexas, necessárias a evolução molecular.^{7,5}

Figura 2. Cristal de Pirrotita



Fonte: <http://www.irocks.com/minerals/specimen/37613> (acessado em 16/11/15)

2.4. Interação Sólido-Líquido

O primeiro estágio de reações prebióticas foi, provavelmente, o processo de adsorção. Devido às superfícies carregadas, minerais podem adsorver moléculas orgânicas presentes na água ao redor, concentrando-as e fornecendo um ambiente catalítico que possibilita a formação de moléculas maiores, incluindo proteínas e peptídeos.^{15,16}

Adsorção consiste na retenção de substâncias líquidas, gasosas ou dissolvidas em sua superfície e pode ocorrer de duas formas: como adsorção física (fisiossorção) ou como adsorção química (quimiossorção). O processo de adsorção acontece na interface, dependendo de fatores como solubilidade do adsorbato, carga superficial do sólido, pH do meio, temperatura e da estrutura da espécie química adsorvente.¹⁴

Para exemplificar esse processo, pode-se pensar na superfície da pirita, carregada positivamente em meio ácido, onde moléculas orgânicas carregadas negativamente podem ser adsorvidas possibilitando outras reações de superfície. Nesse caso particular, um modelo de metabolismo primitivo autotrófico de superfície.⁵

2.4.1. Cinética de adsorção

Para uma reação prebiótica ser relevante, não somente a capacidade de adsorção e espontaneidade de uma reação deve ser favorável ao produto como também a mesma reação deve ocorrer numa velocidade apreciável. Portanto, os minerais de relevância prebiótica não somente favoreceram a pré-concentração de biomoléculas como também podem ter acelerado suas reações.

Assim, para examinar os parâmetros cinéticos da adsorção, como transferência de massa na solução e a reação química, podem ser usados vários modelos cinéticos. Uma boa correlação dos dados experimentais com um modelo cinético pode nos revelar o mecanismo de adsorção, se ele acontece por quimiossorção ou fisiossorção, por exemplo.²¹

Um modelo cinético adequado aos estudos de adsorção é o de pseudo-primeira ordem segundo proposta de Lagergren. Nesse modelo os dados de adsorção são ajustados de acordo com a equação a seguir:

$$\log (q_e - q) = \log q_e - k_{ads} t \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, q (mg.g^{-1}) é a quantidade de adsorbato adsorvida no tempo t , q_e é a quantidade máxima de adsorbato adsorvida, ou seja no equilíbrio, k_{ads} é a constante de velocidade de adsorção, obtida num gráfico de $\log (q_e - q)$ vs t .²³

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Estudar parâmetros cinéticos bem como o papel da reação de L-cisteína com pirrotita para a evolução molecular, simulando condições prebióticas em pH 2.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a cinética de adsorção da L-cisteína em diferentes temperaturas e concentrações do aminoácido;
- Determinar parâmetros cinéticos como a ordem de reação, constantes de velocidade e a energia de ativação;
- Estudar a interação entre o aminoácido e o mineral utilizando a espectrofotometria na região do infravermelho;
- Propor um possível caminho reacional nas condições estudadas.

4. Metodologia

4.1. Reagentes

Os reagentes e solventes utilizados nos experimentos foram adquiridos comercialmente (Sigma - Aldrich, Merck, Acros e Vetec) e empregados sem purificação, com exceção da p-benzoquinona (PBQ) (Sigma-Aldrich) que foi purificada por sublimação. Cys e pirrotita foram adquiridas da Vetec e Merck, respectivamente.

4.2. Soluções

- Solução de Cys $1,5 \text{ g L}^{-1}$ em água do mar artificial: foram dissolvidos $0,375 \text{ g}$ de cloridrato de Cys em água do mar artificial, tendo o pH ajustado para 2 pela adição de HCl, e avolumada para 250 mL . A partir dessa solução estoque, foram preparadas soluções em balões volumétricos de 50 mL com concentração de $0,5 \text{ g L}^{-1}$; $0,75 \text{ g L}^{-1}$ e $1,0 \text{ g L}^{-1}$.
- Solução de ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: $2,86 \text{ mL}$ de ácido acético glacial em água deionizada, avolumado para 500 mL .
- Solução de PBQ: foram dissolvidos 11 mg de PBQ purificada para cada 1 mL de dimetil sulfóxido (DMSO).

4.2.1. Solução de água do mar artificial (4 Ga).

A solução de água do mar artificial, descrita por Zaia (2012), é preparada com as seguintes quantidades dos sais dissolvidos em um litro de água deionizada: $0,2710 \text{ g}$ de NaSO_4 ; $0,5 \text{ g}$ de MgCl_2 ; $0,5 \text{ g}$ de KBr ; $0,4 \text{ g}$ de K_2SO_4 ; 15 g de MgSO_4 ; $2,5 \text{ g}$ de CaCl_2 . Logo após o preparo da solução, a mesma foi regulada para pH 2 pela adição de HCl, e mantida em temperatura ambiente até os experimentos.

4.3. Determinação espectrofotométrica da Cisteína

Para determinação da concentração de Cys durante os experimentos foi utilizado o método da PBQ.²² Amostras com concentrações conhecidas de Cys foram preparadas e a elas foram adicionadas quantidades de ácido acético e PBQ/DMSO. Essas amostras foram homogeneizadas em um vórtex (warmnest vx-38) e aquecidas até 37 °C em um banho termostaticado (termostaticador marca Centauro) durante 10 min. Ao retirar as amostras do banho, as mesmas foram homogeneizadas novamente no vórtex. Após a temperatura das amostras se estabilizarem à temperatura ambiente, elas foram analisadas por espectrofotometria na região do UV-Vis. Uma curva de calibração em triplicata foi construída e o $\lambda_{\text{máx}}$ determinado em 485 nm. A concentração das amostras foi determinada através da comparação com esta curva de calibração.

4.4. Avaliação da cinética de adsorção.

As corridas cinéticas foram realizadas em água do mar artificial a partir de quatro soluções de concentrações iniciais conhecidas em pH 2,0: 1,5 g L⁻¹; 1,0 g L⁻¹; 0,75 g L⁻¹ e 0,5 g L⁻¹. Concomitantemente, uma solução branco contendo somente a solução de água do mar pH 2,0 foi utilizada como controle. Essas soluções foram transferidas para frascos do banho termostaticado com agitação mecânica, onde havia sido adicionado previamente 0,2 g de pirrotita (granulometria < 0,105 mm) em cada frasco. Os experimentos foram realizados em quatro temperaturas diferentes: 15 °C, 25 °C, 35 °C e 45 °C.

Alíquotas foram coletadas dos frascos em intervalos de tempo pré-determinados, de acordo com cada temperatura. Após coletadas, as amostras foram transferidas para tubos eppendorf e centrifugadas (marca Excelsa II, modelo 206BL), onde o sobrenadante foi analisado UV-Vis e o precipitado, seco em estufa a 40 °C, utilizado nas análises de espectroscopia no infravermelho (FT IR).

4.4. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT IR).

As análises foram conduzidas em amostras com e sem aminoácido adsorvido, como descrito anteriormente no preparo das amostras. Para produção das pastilhas, pesou-se aproximadamente 1 mg de amostra e 200 mg de KBr, seguida de moagem até se obter uma mistura de pó fino que por fim foi prensada sob 10 toneladas. Estas pastilhas foram postas no caminho óptico do equipamento, e assim, analisou-se as porcentagens da transmitância (%T) da luz, em espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 100 FT IR. Os espectros FT IR foram analisados no programa Origin.

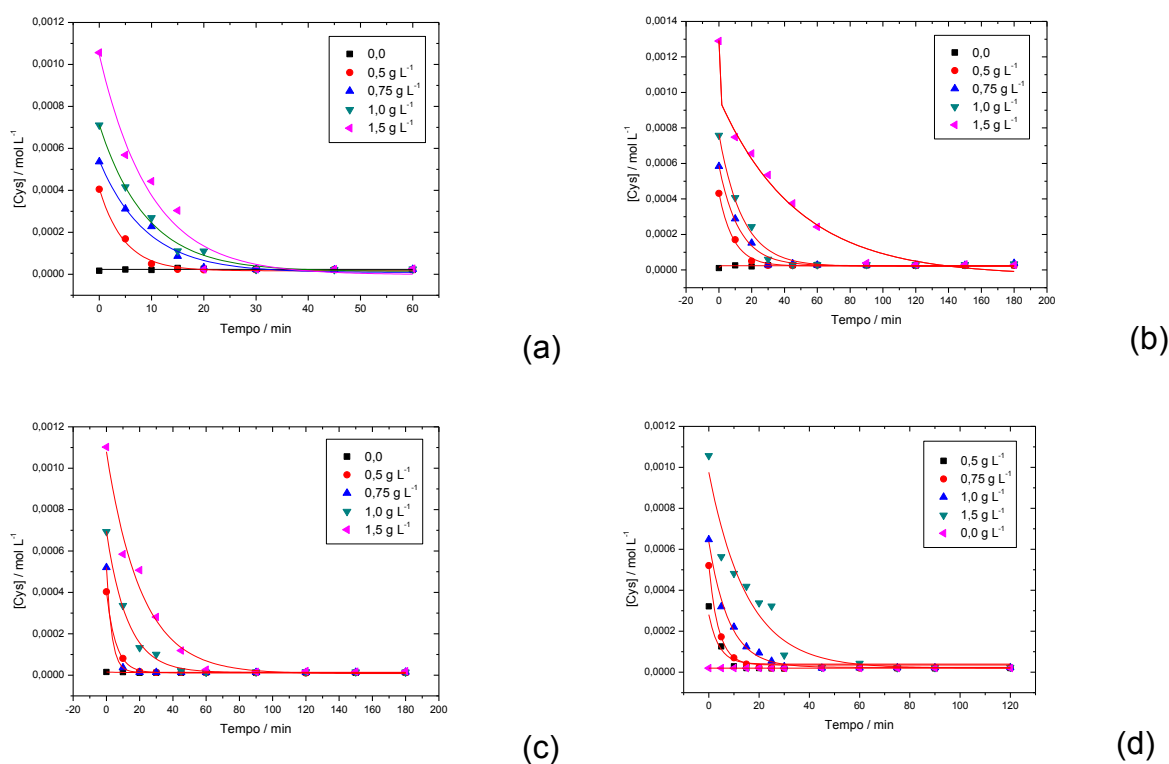
5. Resultados e Discussão

5.1. Cinética da reação

5.1.1. Efeito da concentração inicial e da temperatura.

O estudo de adsorção da Cys em função do tempo de tratamento é apresentado em diferentes temperaturas na Figura 3.

Figura 3. Variação da concentração de Cys *versus* tempo para diferentes concentrações iniciais na temperatura de (a) 15 °C, (b) 25 °C, (c) 35 °C e (d) 45 °C.



Fonte: a autora (2015)

Analisando a Figura 3, constatou-se que para todos os casos estudados a Cys foi totalmente consumida no intervalo de tempo monitorado. Além disso, a Cys foi consumida em tempos menores para concentrações menores. Para todas as concentrações e temperaturas uma função exponencial decrescente de primeira

ordem foi ajustada.

De acordo com cada exponencial ajustado pode-se comparar o tempo necessário para o consumo total com o efeito da temperatura. Para a concentração inicial de $1,5 \text{ g L}^{-1}$, o aumento da temperatura fez com que o tempo necessário para o consumo total da Cys diminuísse de 137 min em $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 3b), para 105 min em $35 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 3c), e finalmente aumentando a temperatura para $45 \text{ }^\circ\text{C}$ o tempo caiu para 81 min (Figura 3d). Já para o estudo realizado a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 3a) um comportamento inesperado ocorreu para todas as concentrações iniciais estudadas, onde o tempo de consumo total foi menor do que o tempo necessário em temperaturas mais elevadas. De modo a avaliar esse efeito uma duplicata foi realizada e o mesmo comportamento foi observado.

Para as outras concentrações iniciais o efeito do aumento de temperatura também corresponde, de modo geral, a um menor tempo de consumo, exceto, como mencionado anteriormente, para a temperatura de 15°C .

5.1.2. Obtenção das constantes de velocidade em função da temperatura.

Os dados obtidos a partir da Figura 3 foram linearizados de acordo com os modelos cinéticos de ordem zero, pseudo-primeira ordem e segunda ordem. O modelo cinético de primeira ordem levou aos melhores coeficientes de correlação e, portanto, foi adotado na obtenção das constantes.

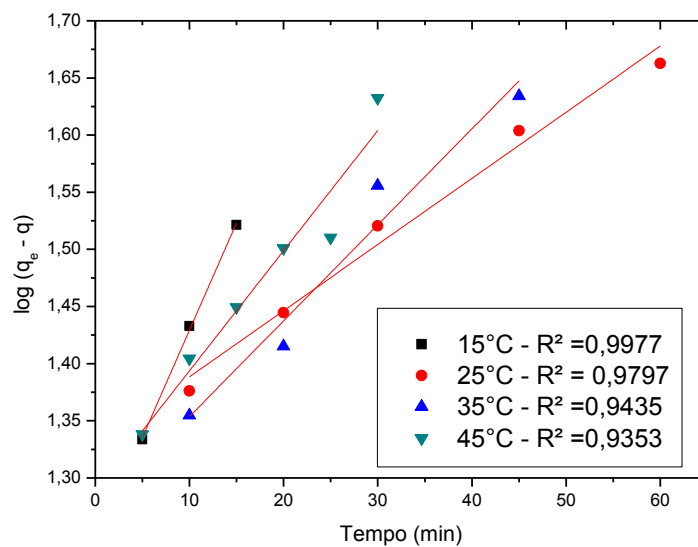
A equação de Lagergren, essencialmente um modelo cinético de primeira ordem, foi utilizada na determinação das constantes de velocidade (k_{ads}) em função da temperatura, conforme apresentado na Figura 4. É possível observar que a inclinação das curvas aumenta com o aumento da temperatura na faixa de 25 a $45 \text{ }^\circ\text{C}$. Quando os experimentos foram realizados a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ a velocidade da reação e, portanto k_{ads} , aumentou significativamente em comparação as outras faixas estudadas. Esse mesmo comportamento foi observado quando as concentrações iniciais de Cys foram ajustadas para 1,0; 0,75 e $0,5 \text{ g L}^{-1}$. Este resultado aponta para um comportamento anômalo na reação entre Cys e pirrotita em baixas temperaturas, o que sugere que a reação não segue um comportamento tipo Arrhenius em todas as faixas de temperatura.

A Tabela 2 mostra o valor de k_{ads} nas temperaturas estudadas.

Tabela 2. Efeito da temperatura sobre k_{ads} para solução de cys 1,5 g L⁻¹.

Temperatura (°C)	k_{ads} (min ⁻¹)
15	$1,88 \times 10^{-2}$
25	$5,79 \times 10^{-3}$
35	$8,4 \times 10^{-3}$
45	$1,05 \times 10^{-2}$

Figura 4. Cinética de adsorção de pseudo-primeira ordem para concentração inicial de Cys 1,5 g L⁻¹.



Fonte: a autora (2015)

5.1.3. Energia de ativação para a reação

Os dados obtidos na Tabela 2 foram utilizados para o cálculo da energia de ativação de acordo com a equação de Arrhenius:

$$k = A e^{-E_a/RT} \quad (\text{Eq 2})$$

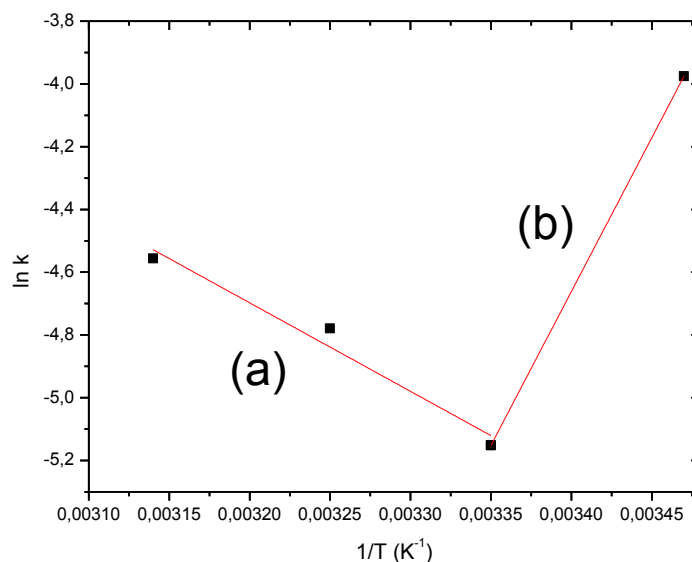
Que na sua forma linearizada leva à:

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (\text{Eq 3})$$

Onde k (min^{-1}) é a constante de velocidade para a reação, A (min^{-1}) é o fator pré-exponencial, ou fator de frequência, E_a (kJ mol^{-1}) é a energia de ativação global para a reação, R a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e T é a temperatura (K).

O plote de $\ln k$ versus $1/T$ fornece como coeficiente angular $-E_a/R$, que permite o cálculo da energia de ativação, como mostrado na figura 5.

Figura 5. Gráfico de Arrhenius para reação de Cys ($1,5 \text{ g L}^{-1}$) com a pirrotita na faixa de temperatura (a) 25-45 °C e (b) 15-25 °C.



Fonte: a autora (2015)

A partir da Figura 5 é possível observar duas regiões: uma região de inclinação negativa, mostrada em (a) e uma região com inclinação positiva, mostrada em (b). A região em (a), correspondente a faixa de temperatura mais elevada, leva a um valor de energia de ativação de $+23,4 \text{ kJ mol}^{-1}$, enquanto a região (b), correspondente a faixa de temperatura mais baixa, leva a um valor de energia de ativação de $-81,5 \text{ kJ mol}^{-1}$.

É possível interpretar os valores de energia de ativação obtidos admitindo que a energia encontrada corresponda ao valor global da energia de ativação da reação, que leva em conta as etapas diretas e inversas num possível mecanismo reacional.

Numa primeira etapa, a Cys seria adsorvida pela pirrotita levando a produção

de um complexo Cys-FeS, como mostrado a seguir:

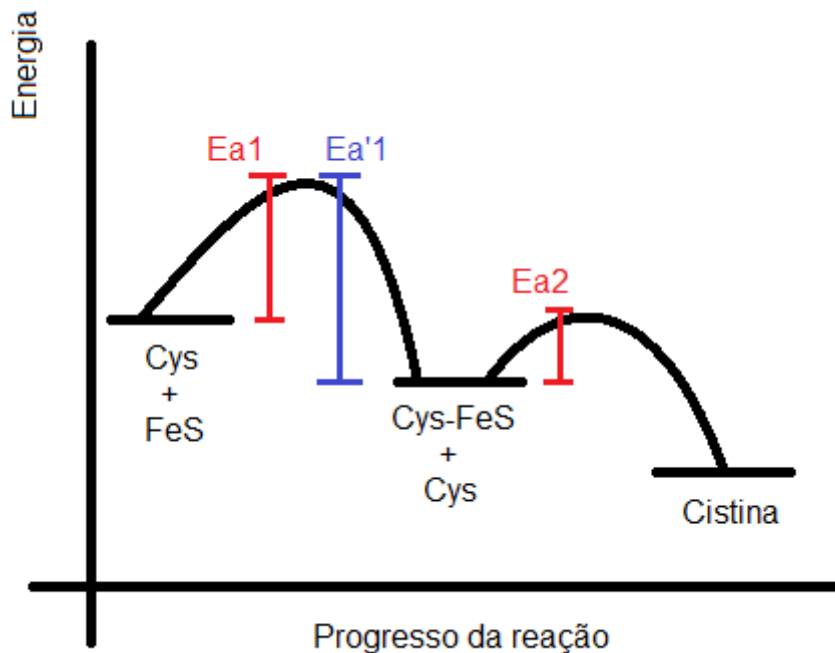


Numa segunda etapa, o complexo Cys-FeS reagiria com a Cys, formando o produto da reação, Cistina.



Admitindo a sequência de etapas anteriores, o perfil reação a seguir pode ser utilizado na interpretação da energia de ativação global.

Figura 6. Perfil de reação proposto para um caminho reacional na síntese da Cistina a partir de Cys e Pirrotita.



Fonte: a autora (2015)

Admitindo um comportamento de Arrhenius para sequência de etapas propostas conforme a Figura 6, a energia de ativação global pode ser interpretada como: (i) se a soma das energias de ativação da etapa 1 (E_{a1}) e da etapa 2 (E_{a2}) for maior do que a energia de ativação da etapa inversa ($E_{a'1}$), que corresponde a

dessorção da Cys, a energia de ativação global é positiva ($E_{a1} + E_{a2} > E_{a'1}$), como observado na Figura 5 (a); (ii) se a soma das energias de ativação da etapa 1 (E_{a1}) e da etapa 2 (E_{a2}) for menor do que a energia de ativação da etapa inversa ($E_{a'1}$), a energia de ativação global é negativa ($E_{a1} + E_{a2} < E_{a'1}$), como observado na figura 5 (b), o que significa que a velocidade da reação diminui com o aumento da temperatura.

5.2. Interação Cisteína - Pirrotita

5.2.1. Análise por espectroscopia no infravermelho

Após as análises, o precipitado resultante do experimento realizado a 25 °C foi seco em estufa e analisado por FT IR. O espectro obtido para o precipitado foi comparado aos espectros da pirrotita pura, da Cys pura e da cistina pura e os mesmos são apresentados na Figura 7.

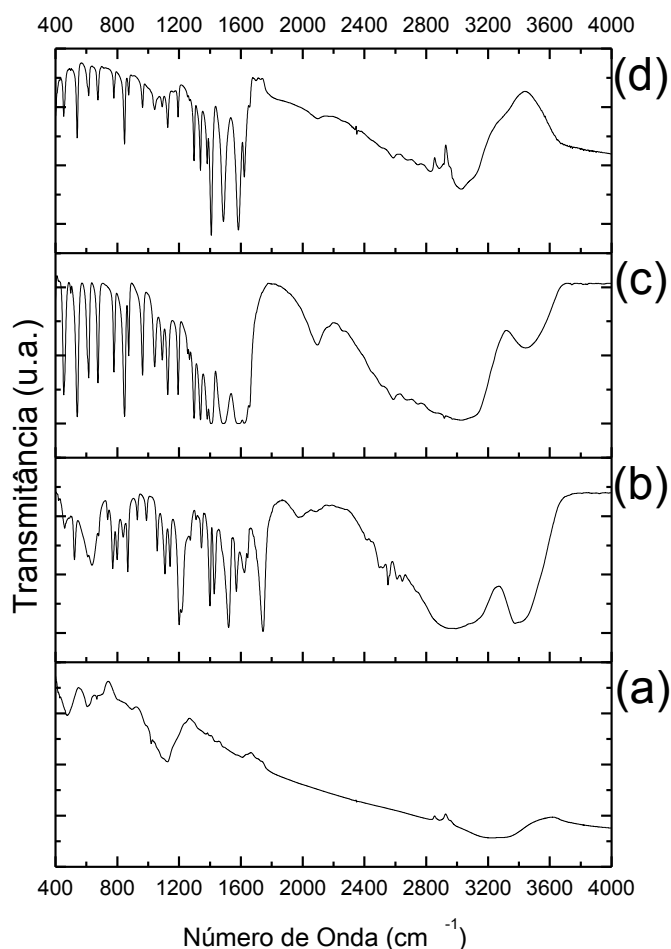
O espectro da Pirrotita (Figura 7a) apresenta bandas na região de 900-1100 cm^{-1} devido a produtos de oxidação como, por exemplo, $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. Essas bandas também foram observadas por Penha et al¹⁴, para o caso da pirita.

O espectro da Cys (Figura 7b), na sua forma de cloridrato, apresenta como características principais: (i) uma banda larga de absorção na região de 3333-2380 cm^{-1} , correspondente a sobreposição das bandas da ligação O-H e da banda de estiramento de NH_3^+ ; (ii) um banda fraca assimétrica de torção de NH_3^+ ocorre em 1610-1590 cm^{-1} e outra relativamente forte, simétrica, ocorre na região de 1550-1481 cm^{-1} ; (iii) uma forte banda ocorre na região de 1220-1190 cm^{-1} característica do estiramento C-(C=O)-O; (iv) uma forte absorção da carbonila pode ser observada em 1755-1730 cm^{-1} . (v) Uma banda de estiramento S-H que possui absorção entre 2600-2550 cm^{-1} e é geralmente uma banda fraca que pode não ser detectada em soluções diluídas; (vi) uma banda de estiramento da ligação C-S ocorre na região de 700-600 cm^{-1} , porém é uma banda muito fraca e de posição variada, o faz com que essa banda seja de pouco valor para determinações estruturais.

O espectro da cistina (Figura 7c), um dímero de cisteína, caracterizado pela presença de uma ligação dissulfeto, apresenta uma banda de estiramento devido à presença desse grupo e ocorre entre 500-400 cm^{-1} , entretanto a intensidade dessa

banda é muito fraca. Uma implicação da reação de dimerização que leva a síntese da cistina é o fato de que, a cistina não deve apresentar a banda de estiramento S-H, presente no espectro da Cys.

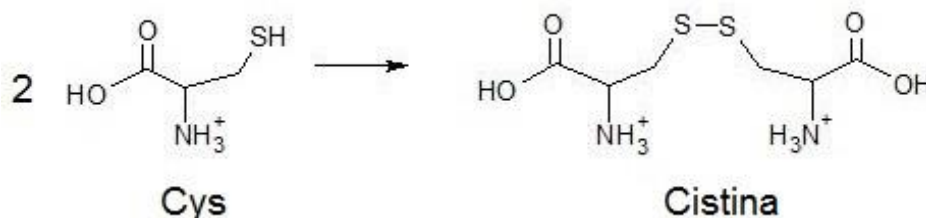
Figura 7. Espectros de FT IR, sendo (a) Pirrotita, (b) Cys pura, (c) Cistina pura e (d) precipitado.



Fonte: a autora (2015)

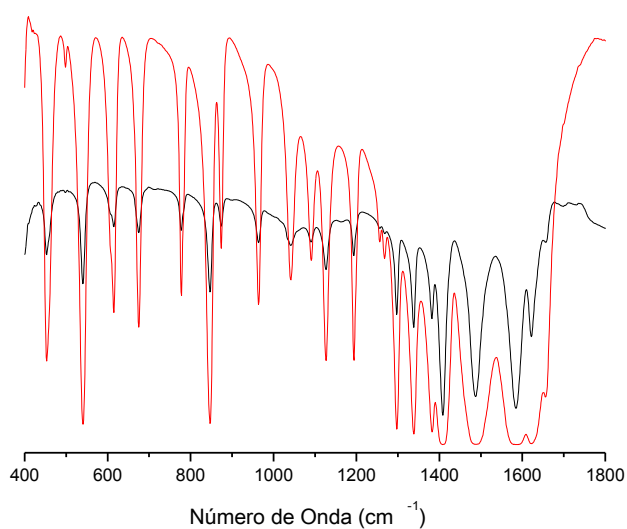
O espectro do precipitado (Figura 7d) apresenta como aspecto notável a sobreposição de bandas com o espectro da cistina (Figura 7c). Esse ajuste perfeito fica mais fácil de observar na figura 10, onde os espectros da cistina e do precipitado podem ser facilmente visualizados. A Cistina (Figura 8) é proposta aqui neste trabalho como possível produto resultante da dimerização da Cys, através de uma ligação dissulfeto, como mostrado na reação a seguir:

Figura 8. Reação de oxidação da Cys á Cistina através da formação de uma ligação dissulfeto.



Fonte: a autora (2015)

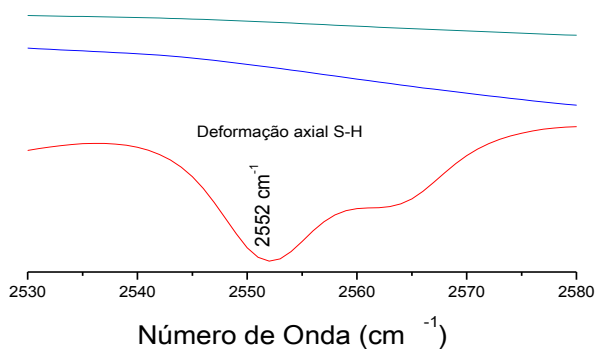
Figura 9. Espectro FT IR para a Cistina (vermelho) e para o precipitado resultante da reação (preto).



Fonte: a autora (2015)

Outro aspecto relevante para a caracterização do precipitado obtido é a ausência da banda 2552 cm^{-1} (presente no espectro da Cys) atribuída ao estiramento vibracional do grupo S-H, como pode ser observado na Figura 10.

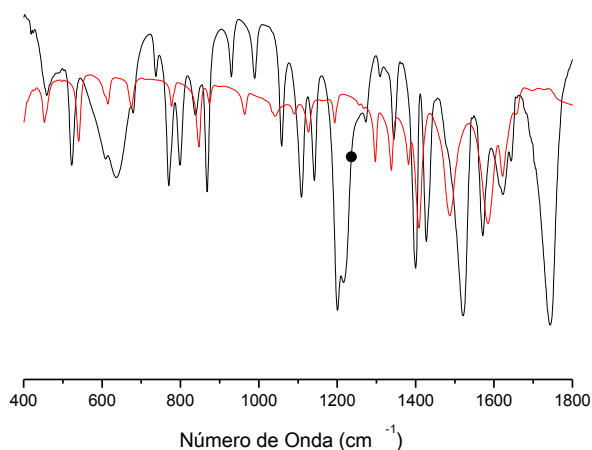
Figura 10. Espectro FT IR para a precipitado (verde), cistina (azul) e para Cys (vermelho)



Fonte: a autora (2015)

A Figura 11 mostra o espectro FT IR comparativo entre a Cys e o precipitado onde fica evidente a discrepância dos espectros. Isso reforça a hipótese de que o precipitado obtido no fim da reação, de acordo com os espectros FT IR, é a Cistina, um dímero de Cys.

Figura 11. Espectro FT IR para a Cys (preto) e para o precipitado resultante da reação (vermelho).



Fonte: a autora (2015)

5.3. Evolução Molecular

Os peptídeos e proteínas atuais se formaram a partir de monômeros de aminoácidos. Neste trabalho a reação entre a Cys e a pirrotita foi investigada e segundo os dados de infravermelho levaram a produção de Cistina, um dímero de Cys que caracteriza um processo de evolução molecular, a produção de uma estrutura mais complexa a partir de uma molécula mais simples.

Como sugerido anteriormente (seção 5.1.3), numa primeira etapa, a Cys seria adsorvida pela pirrotita levando a produção de um complexo Cys-FeS, como mostrado a seguir:



Em uma segunda etapa, o complexo Cys-FeS reagiria com a Cys, formando o produto da reação, a Cistina.



O precipitado resultante da reação mostrou um ajuste perfeito ao espectro FT-IR da Cistina, indicando que o produto principal da reação é o dímero.

A lei de velocidade para formação da Cistina pode ser enunciada como:

$$\frac{d[\text{Cistina}]}{dt} = k_{prod}[\text{Cys} - \text{FeS}][\text{Cys}] \quad (\text{Eq4})$$

Admitindo que o complexo Cys-FeS, o intermediário de reação, pode ser tratado de acordo com a aproximação do estado estacionário, sua concentração seria determinada como segue:

$$\frac{d[\text{Cys-FeS}]}{dt} = k_{ads} [\text{Cys}][\text{FeS}] - k_{prod}[\text{Cys} - \text{FeS}][\text{Cys}] \cong 0 \quad (\text{Eq5})$$

$$[Cys - FeS] = \frac{k_{ads}[FeS]}{k_{prod}} \quad (Eq6)$$

A substituição na equação 4, leva à:

$$\frac{d[Cistina]}{dt} = k_{ads}[FeS][Cys] \quad (Eq7)$$

Como a concentração de FeS é aproximadamente constante durante todos os experimentos, a lei de velocidade obtida na equação 7 se reduz a:

$$\frac{d[Cistina]}{dt} = k_{obs}[Cys] \quad \text{onde: } k_{obs} = k_{ads}[FeS] \quad (Eq8)$$

Que é uma equação de pseudo-primeira ordem em relação a Cys, corroborando a equação de Lagergren. Outro aspecto importante da lei de velocidade obtida é que a constante de velocidade observada corresponde diretamente a constante de adsorção envolvida na primeira etapa (R2). A consequência direta é que a etapa determinante da velocidade consiste na etapa de adsorção e tão logo uma molécula de Cys se adsorva sobre a FeS, a cistina é rapidamente produzida.

Em suma, a reação estudada apresenta um caminho reacional simplificado de um processo de evolução molecular. Assim como a reação de dimerização foi favorecida, dados tempos de reação mais longos, assim como condições reacionais diversas, tais como pH alcalino, uso de outros minerais, etc., a formação de estruturas moleculares ainda mais complexas (trímeros, tetrâmeros, etc) poderia ser favorecida através da formação de ligações peptídicas. Isto permanecerá como trabalho futuro.

6. Conclusão

Neste trabalho, a reação entre a Cys e a pirrotita realizada em água do mar sintética de 4 bilhões de anos atrás em pH 2 foi estudada. Em todas as concentrações estudadas (1,5; 1,0; 0,75 e 0,5 g L⁻¹) a Cys foi totalmente consumida.

O aumento da temperatura de 25 para 35 °C e de 35 para 45 °C fez com que a velocidade da reação aumentasse quando a concentração de Cys inicial foi 1,5 g L⁻¹. Por outro lado, a diminuição da temperatura da reação de 25 para 15 °C, foi também acompanhada de um aumento na velocidade da reação. Esse comportamento sugere que a energia de ativação global para a reação tem valor positivo (+23,4 kJ mol⁻¹) na faixa 25-45 °C e negativo (-81,5 kJ mol⁻¹) de 15-25 °C.

Os dados de infravermelho mostraram, inequivocamente, que o precipitado obtido ao final da reação apresenta o mesmo espectro obtido para a Cistina pura, apontando para a reação de oxidação da Cys na presença da pirrotita através da ligação dissulfeto.

A partir dos dados experimentais, um possível caminho reacional foi proposto, onde a Cys é adsorvida na pirrotita em uma primeira etapa (determinante da velocidade) seguida pela rápida formação do produto, Cistina. A proposta leva a uma lei de velocidade de pseudo-primeira ordem em relação à Cys, corroborando o modelo proposto por Lagergren.

Finalmente, a reação da Cys com a pirrotita, levou à formação de um produto mais complexo do ponto de vista molecular, num cenário em química prebiótica, conhecido como mundo do ferro e enxofre, caracterizando um processo de evolução molecular.

7. Referências Bibliográficas

- 1 - Benetoli et al., XV SBQ sul. Ponta Grossa, PR. FQ-041. 2007.
- 2 - Benetoli et al., Orig. Life Evol. Biosph. 37:479-493. 2007.
- 3 - Benetoli. L.O.B., XVII SBQ sul. Rio Grande, RS. FQ-041. 2009.
- 4 - Cleaves H. J.; Lazcano , A. ; The Origin of Biomolecules. In Chemical Evolution II: From the Origins of Life to Modern Society; Zaikowski, L., et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2009.
- 5 - Zaia, D. A. M.; A origem da vida e a química prebiótica. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 25, n. 1, p. 3-8, jan./jun. 2004
- 6 - Luisi, P. L.; The emergency of life: from chemical origins to synthetic biology. Cambridge University Press. 2006.
- 7 - Cody, G. D.; Transition metal sulfides and the origins of metabolism. Annual Reviews. Washington D.C. 2004.
- 8 - Mojzsis, S. J.; Arrhenius, G.; McKeegan, K. D.; Evidence for life on earth before 3,800 million years ago. Nature . 1996 , 384, 55-59.
- 9 - Lahav, N.; Chang, S.; The possible role of solid surface area in condensation reactions during chemical evolution. Journal of Molecular Evolution. 1976, 8, 357-380.
- 10 - Lehninger, A. L.; Bioquímica. 2.ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, Cap 4, 1976.
- 11- Ataman, E.; Isvoranu, C.; Andersen, J. N. ; Schnadt, J.; Schulte, K. Unconventional Zwitterionic State of L –Cysteine. J.Phys.Chem.Lett. 2011, 2,1677–168
- 12 - Darnell, J.; Lodish, H.; Baltimore, D.; Molecular cell biology. Scientific American Books, New York, p 48 1990.
- 13 - Benetoli, L. O. B. ; Souza, C. M. D. Silva, K. L. da; Souza Jr, I. G. de; Santana, H. de; Paesano Jr, A.; Costa, A. C. S. da; Zaia, C.T.B.V.; Zaia, 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.
- 14- Meurer; E. J.; Fundamentos de Química do solo. 1.ed. Porto Alegre: Gênese, 2000.
- 15 - Bernal, J. D.; The physical basis of life; Londres: Routledge e Keagan Paul,

1951.

16 - Ferris, J. P.; Catalysis and prebiotic RNA synthesis. *Origins Life and Evolution of the Biosphere*. 1993, 23, 307-315.

17 - Penha, F. G.; Spier V. C. ; Debacher N.A.; Adsorção de xantatos sobre pirita. *Química nova*. 2001 , 24, 5, 612-615.

18 - Sodré, F. F.; Lenzi, E.; Costa, A. C. S. da; Utilização de modelos físico-químicos de adsorção no estudo do comportamento do cobre em solos argilosos. *Química nova*. 2001 , 24, 3, 324-330.

19-Erbil,H.Y.; *Surface Chemistry Of Solid and Liquid Interfaces*. Blackwell Publishing. 2006.

20 - Almeida, C.A.P.; Machado, C.; Debacher, N.A.; Adsorption of methylene blue as a model for the use of Barro Branco as an alternative adsorbent for color removal. *Progr Colloid Polym Sci*. 2004. 128, 278–282.

21 - Spinelli, V. A.; Laranjeira, M.C.M.; Fávere, V. T.; Cinética e Equilíbrio de Adsorção dos Oxiânions Cr (VI), Mo (VI) e Se (VI) pelo Sal de Amônio Quaternário de Quitosana. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. 2005. 15, 3, p. 218-223.

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

23 - Atkins, P.W. *Físico-Química*. Vol. 3. Oxford Univ. Press, 6. ed. 1999.

24 - Silverstein, R. M., Webster, F. X.; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 6ª. ed. LTC Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2000.