Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos
Programa de Pós-Graduação em Química

Vítor Alexandre Nunes de Carvalho

**Efeito da Oxidação Eletroquímica e da Irradiação Ultravioleta na Formação de
Biomoléculas a partir do Tiocianato de Amônio em Condições Pré-bióticas**

São Carlos

2016

Vítor Alexandre Nunes de Carvalho

Efeito da Oxidação Eletroquímica e da Irradiação Ultravioleta na Formação de Biomoléculas a partir do Tiocianato de Amônio em Condições Pré-bióticas

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em ciências.

Área de concentração: Físico-Química.

Orientador: Prof. Dr. Frank Nelson Crespilho

São Carlos

2016

DEDICATÓRIA

Dedico esta Tese aos meus pais João Alves de
Carvalho Neto (*in memoriam*) e Maria
Auxiliadora de Carvalho Nunes Alves.

AGRADECIMENTOS

- Ao orientador Prof. Dr. Frank Nelson Crespilho pela confiança, incentivo e pelos ensinamentos científicos, acadêmicos e pessoais, transmitidos sempre com sabedoria, paciência e respeito. Frank, por tudo isso tenho muita admiração e respeito por você;
- Aos amigos do Grupo de Bioeletroquímica e Interfaces, Ali, Andressa Pereira, Andressa Dancini, Antonio, Claudia, Danielle, Eduardo, Fernanda, João, Kamila, Roberto, Rodrigo Iost, Rodrigo Carvalho e Flávio pela amizade e por ter aprendido muito com todos vocês;
- Aos amigos da pós-graduação, não cabe citar aqui todos os nomes dos que fizeram parte da minha vida nesse período e colaboraram para minha formação pessoal e acadêmica;
- Aos amigos da república Macaco Branco, Antonio, Éverton, Germano, Roberto e Rodrigo, que se tornaram minha família em São Carlos, pela amizade, apoio nos momentos difíceis e alegrias compartilhadas;
- À minha família, em especial aos meus pais João Carvalho (*in memoriam*) e Maria Auxiliadora, pela educação, dedicação, incentivo e apoio nas minhas decisões; e aos meus irmãos Mayra Karine, Leonardo Wilton e Rosa Larisse pelo apoio e amizade.
- À minha namorada Horrara Veríssimo pela dedicação, apoio e incentivo;
- Aos professores do programa de Pós-Graduação em Química do IQSC que de maneira direta e indireta participaram da minha formação acadêmica, em especial ao Prof. Dr. Ernesto Rafael Gonzalez e Prof. Dr. Fabio Henrique Barros de Lima, Prof. Dr. Marcelo Henrique Gehlen e Profa. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro que muito contribuíram nas disciplinas do curso;
- Aos professores que fizeram parte da minha banca de qualificação, Prof. Dr. Antonio Aprígio da Silva Curvelo e Prof. Dr. Hamilton Brandão Varela de Albuquerque, pelas contribuições para o fechamento deste trabalho;

- Ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC-USP) pela infraestrutura concedida, fundamental para o desenvolvimento do meu projeto de doutorado; em especial a Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI);
- Ao Prof. Dr. Daniel Rodrigues Cardoso (IQSC-USP) por ter disponibilizado o gás metano de alta pureza para realização de alguns experimentos;
- À Profa. Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende por ter disponibilizado equipamentos do Laboratório de Química Ambiental (IQSC-USP), essenciais para o desenvolvimento do projeto; em especial a Dra. Maria Diva pelo suporte no LQA;
- Ao Grupo de Química Orgânica de Sistemas Biológicos (IQSC-USP), coordenado pelo Prof. Dr. Roberto Gomes de Sousa Berlinck pela infraestrutura e equipamentos disponibilizados; em especial ao doutorando Éverton Leandro pelo suporte nos experimentos CLAE-DAD-EM;
- Ao Grupo de Eletroquímica (IQSC-USP), em especial ao doutorando José Luís Bott pelo suporte nos experimentos de FTIR *in situ*;
- Ao Prof. Dr. Flavio Leandro de Souza por ter disponibilizado o Laboratório de Energia Alternativa e Nanomateriais da Universidade Federal do ABC para realização de alguns experimentos; e ao doutorando Waldemir Carvalho pelo suporte na calibração das lâmpadas de vapor de mercúrio;
- As agências de fomento CNPq e CAPES pelo apoio financeiro ao nosso grupo, em especial as redes NanoBioMed e INEO que além do apoio financeiro, proporcionaram ambientes agradáveis para discussões científicas, contribuindo para minha formação;
- À FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado referente ao processo 2012/07358-5, pelo apoio financeiro para realização do trabalho e participação em congressos, além do financiamento de outros projetos do grupo;
- Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para conclusão deste trabalho. Obrigado!

*“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

RESUMO

Desde o clássico experimento de Miller em 1953 evidenciando a formação de aminoácidos em condições de Terra primitiva, a química do período pré-biótico ainda é muito discutida. Cita-se, por exemplo, o papel da teoria sulfociânica, que descreve a origem de moléculas orgânicas a partir de compostos contendo enxofre, como o tiocianato de amônio (NH_4SCN). Neste contexto, essa Tese aborda um estudo sobre a investigação do NH_4SCN em condições pré-bióticas. Para isso, experimentos de oxidação eletroquímica e de irradiação ultravioleta (UV) em amostras contendo NH_4SCN em diferentes condições experimentais foram conduzidos. Por eletroquímica acoplada à espectroscopia vibracional no infravermelho (FTIR *in situ*), identificou-se como o primeiro produto da oxidação do NH_4SCN , o dímero tiocianogênio $(\text{SCN})_2$, que é um reconhecido precursor dos oligômeros do período pré-biótico. Em contrapartida, a irradiação UV do NH_4SCN levou a formação de enxofre ortorrômico (S_8) e das bases nitrogenadas 4-(3H)-pirimidinona, citosina, purina e adenina, além de outras moléculas. Provavelmente, o cianeto de hidrogênio (HCN) é um dos precursores das biomoléculas supracitadas, contrariando uma possível rota via $(\text{SCN})_2$. Os resultados desse estudo também reforçam a hipótese de que não há formação direta de aminoácidos por irradiação do NH_4SCN . Desta forma, propõe-se aqui que a formação dos blocos do DNA, as bases nitrogenadas, também possa ser inserida no contexto da teoria sulfociânica.

Palavras chave: Química pré-biótica. Teoria sulfociânica. Tiocianato de amônio. Bases nitrogenadas.

ABSTRACT

Since the classic Miller experiment in 1953 evidencing the amino acids formation under early Earth conditions, the chemistry of the prebiotic period is still very discussed. It is cited, for example, the role of sulfocyanic theory, which describes the origin of organic molecules from sulfur-containing compounds such as ammonium thiocyanate (NH_4SCN). In this context, this thesis shows a study about the investigation of NH_4SCN in prebiotic conditions. Thereby, experiments of electrochemical oxidation and ultraviolet (UV) irradiation were carried out with samples containing NH_4SCN in different experimental conditions. By using electrochemistry coupled to Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR *in situ*), the dimer thiocyanogen $(\text{SCN})_2$ was identified as the first oxidation product of NH_4SCN , which is a recognized precursor of the oligomers from prebiotic period. In counterpart, UV irradiation of the NH_4SCN led to the formation of orthorhombic sulfur (S_8) and the nitrogenous bases 4-(3H)-pyrimidinone, cytosine, adenine and purine, besides other molecules. Probably, hydrogen cyanide (HCN) is one of the precursors of the biomolecules abovementioned, contradicting a possible route via $(\text{SCN})_2$. The results of this study also reinforce the hypothesis that there is no direct formation of amino acids by irradiation of NH_4SCN . Thus, it is proposed here that the formation of DNA blocks, the nitrogenous bases, can also be inserted in the context of sulfocyanic theory.

Keywords: Prebiotic chemistry. Sulfocyanic theory. Ammonium thiocyanate. Nitrogenous bases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo contendo as principais Eras geológicas da Terra.	18
Figura 2 - a) Ilustração esquemática do sistema pré-biótico de Miller. b) Obtenção dos aminoácidos e análise por cromatografia em papel.	20
Figura 3 - Modelo de Terra primitiva enfatizando as condições atmosféricas e oceânicas associadas à formação de precursores para sínteses pré-bióticas, NH_4SCN e H_2CO . O modelo destaca a incidência de radiação ultravioleta em uma atmosfera contendo metano, juntamente com as condições oceânicas (pH 5-8) para formação de H_2CO e NH_4SCN nas regiões superficiais e mais profundas do oceano, respectivamente.	26
Figura 4 - Sistema para simular as condições da Terra primitiva: a) Fonte de alimentação para lâmpada UV (Ace Glass) com a caixa em madeira para abrigar o sistema reacional. b) Tubo em quartzo com lâmpada de vapor de mercúrio de 450 W. c) Banho termostático (<i>MulTemp IV Thermostatic Circulator</i> - GE Healthcare Life Science®) para refrigeração do sistema. d) Sistema em funcionamento.	31
Figura 5 - Esquema ilustrativo do experimento realizado para determinação da potência da lâmpada de vapor de mercúrio em função do comprimento de onda (W vs λ).	32
Figura 6 - Fluxograma com as etapas envolvidas desde os experimentos de irradiação até a análise dos produtos obtidos.	34
Figura 7 - Esquema ilustrativo da célula espectroeletroquímica composta por uma janela de infravermelho de fluoreto de cálcio (CaF_2), e pelos eletrodos (ET: eletrodo de trabalho, ER: eletrodo de referência e CE: contra eletrodo). A ilustração destaca a configuração de fina camada de solução eletrolítica formada entre a superfície eletródica e a janela de CaF_2 , para realização das análises pela técnica de refletância especular (ERS).	39
Figura 8 - a) Potência da lâmpada vapor de mercúrio em função de comprimentos de onda selecionados no intervalo de 200 a 800 nm. b) Espectro de UV-VIS da solução aquosa de tiocianato de amônio no modo absorbância.	43
Figura 9 - Espectro de FTIR do tiocianato de amônio (NH_4SCN) realizado no modo transmitância.	45
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos da oxidação eletroquímica do íon SCN^- : a) Eletrodo de ouro na ausência (linha preta) e na presença de SCN^- (linha vermelha). b) Eletrodo de platina na ausência (linha preta) e na presença de SCN^- (linha preta). Eletrólito: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$	47
Figura 11 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro na presença do SCN^- (12 mM) em eletrólitos com diferentes pH: 3,0 (linha preta); 5,0 (linha vermelha); 7,0 (linha azul) e 8,0 (linha verde). $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrólitos de H_2SO_4 e NH_4OH com pH ajustado nos valores de interesse.	48

Figura 12 - FTIR <i>in situ</i> : espectros coletados de 0,1 a 0,9 V antes da adição de SCN ⁻ (a) e após a adição de SCN ⁻ (b). Espectros coletados em 0,4; 0,5 e 0,6 V em eletrólito contendo SCN ⁻ destacando os picos em 2060 e 2130 cm ⁻¹ (c). Eletrólito: H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 2 \text{ mV s}^{-1}$. E / V vs Ag/AgCl/KCl _{sat} . Eletrodo: ouro.	49
Figura 13 - FTIR <i>in situ</i> : espectros coletados de 0,1 a 0,9 V antes da adição de SCN ⁻ (a) e após a adição de SCN ⁻ (b). Espectros coletados em 0,4; 0,5 e 0,6 V em eletrólito contendo SCN ⁻ destacando os picos em 2060 e 2130 cm ⁻¹ (c). Eletrólito: H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . E / V vs Ag/AgCl/KCl _{sat} . $v = 2 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrodo: platina.	52
Figura 14 - Esquema para obtenção das amostras a partir da irradiação da solução aquosa de tiocianato de amônio 0,1 mol L ⁻¹ , seguida do processo de hidrólise.	54
Figura 15 - Espectros de FTIR do tiocianato de amônio antes (linha preta) e após hidrólise (linha laranja), realizados no modo transmitância.	56
Figura 16 - Rota para hidrólise ácida do íon tiocianato (SCN ⁻).	57
Figura 17 - Espectros de FTIR dos hidrolisados a partir das irradiações por 3 horas (linha azul) e 24 horas (linha vermelha) em comparação com o espectro para o NH ₄ SCN após hidrólise (linha laranja).	59
Figura 18 - Cromatogramas: a) Cisteína (linha verde), metionina (linha vermelha), hidrolisado da irradiação por 3 horas (linha azul) e irradiação por 24 horas (linha cinza). b) NH ₄ SCN hidrolisado (linha preta) e hidrolisado da irradiação por 3 horas (linha azul).	60
Figura 19 - Espectros de massas: a) Cisteína. b) Metionina. c) NH ₄ SCN hidrolisado. d) Hidrolisado da irradiação por 3 horas. e) Hidrolisado da irradiação por 24 horas.	61
Figura 20 - a) Cromatograma do hidrolisado da irradiação por 24 horas. b) Espectro de massas referente ao pico com tempo de retenção em 4,0 minutos.	63
Figura 21 - Estruturas moleculares dos compostos identificados por meio da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM) para o hidrolisado de 24 horas.	64
Figura 22 - Mecanismo de síntese da adenina a partir do cianeto de hidrogênio e da radiação ultravioleta.	65
Figura 23 - a) Espectro de massas da amostra proveniente da suspensão obtida após irradiação da solução de NH ₄ SCN 0,1 mol L ⁻¹ por 24 horas. b) Estruturas moleculares da 4-(3H)-Pirimidinona e da Citosina.	66
Figura 24 - Esquema para obtenção das amostras a partir da irradiação de soluções de tiocianato de amônio 0,1 mol L ⁻¹ . Sobrenadante e precipitado (não hidrolisados).	67
Figura 25 - FTIR: a) Espectros dos precipitados dos experimentos de irradiação por 3 horas (linha preta), 6 horas (linha vermelha), 12 horas (linha verde) e 24 horas (linha azul). b) 24 horas (linha azul) e enxofre padrão (linha laranja).	68

Figura 26 - Difrátogramas: a) Enxofre padrão (linha preta), irradiado por 3 horas (linha vermelha) e irradiado por 24 horas (linha azul). b) Irradiado 24 horas (linha azul) e ficha cristalográfica 8-247 <i>alpha-Sulfur</i> (linha cinza).	69
Figura 27 - Espectros de UV-VIS do NH_4SCN (linha tracejada) e dos sobrenadantes resultantes das irradiações por 3 horas (linha verde), 6 horas (linha vermelha), 12 horas (linha azul) e 24 horas (linha laranja).	71
Figura 28 - Mecanismo de formação do aminoácido glicina via síntese de Strecker.	75
Figura 29 - Espectro de FTIR do hidrolisado a partir do experimento de irradiação da solução de NH_4SCN na presença de CH_4 (linha azul).	76
Figura 30 - Difrátogramas: Irradiado 72 horas (linha verde) e ficha cristalográfica 8-247 <i>alpha-Sulfur</i> (linha cinza).	79
Figura 31 - Ajuste linear da massa dos precipitados em função do tempo de irradiação.	79
Figura 32 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio, metano e óxido de titânio.	80
Figura 33 - Curva de calibração com as concentrações de metanol em função das áreas resultantes da integração dos picos cromatográficos.	81
Figura 34 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio e metano.	82
Figura 35 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo apenas tiocianato de amônio.	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições experimentais para as irradiações realizadas por um período de 72 horas.	35
Tabela 2 - Técnicas e equipamentos utilizados no desenvolvimento do trabalho.	36
Tabela 3 - Atribuição dos picos observados no espectro do tiocianato de amônio em comparação com dados da literatura.	46
Tabela 4 - Atribuição dos picos observados por FTIR in situ para oxidação eletroquímica do íon tiocianato em comparação com dados da literatura.	51
Tabela 5 - Valores das massas em gramas da quantidade de enxofre formado em função do tempo de irradiação.	70
Tabela 6 - Valores das áreas integradas dos picos cromatográficos referentes ao metanol....	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FTIR - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

FTIR *in situ* - Eletroquímica acoplada à espectroscopia vibracional na região do infravermelho

ERS - Espectroscopia por refletância especular

CLAE-DAD-EM - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas

DRX - Difração de raios X

UV-VIS - Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível

CG - Cromatografia gasosa

CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Ag/AgCl/KCl_{sat} - Eletrodo de referência de prata-cloreto de prata em solução saturada de cloreto de potássio

LISTA DE SÍMBOLOS

v - Velocidade de varredura

$\varnothing$ - Diâmetro

λ - Comprimento de onda

Θ - Teta (graus)

e^- - Elétron

h^+ - Buraco

V - Volts

I - Corrente elétrica

A - Ampere

E - Potencial

W - Potência (Watts)

pH - Potencial hidrogeniônico

v - Estiramento de ligação química

δ - Deformação de ligação química

ΔG - Variação da energia livre de Gibbs

n - Número de elétrons

F - Constante de Faraday

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 As Eras geológicas da Terra: um breve histórico	17
1.2 Origem das primeiras moléculas e a química pré-biótica	19
1.3 Condições pré-bióticas: características da Terra primitiva	20
1.4 Teoria sulfocianica: o papel do tiocianato de amônio na química pré-biótica	24
1.5 Modelo de Terra primitiva na teoria sulfocianica	25
1.6 Oxidação do tiocianato ($[\text{SCN}]^-$) em meio aquoso	27
2 OBJETIVO	29
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	30
3.1 Instrumentação para simulação das condições pré-bióticas	30
3.1.1 Desenvolvimento do reator pré-biótico	30
3.1.2 Determinação da intensidade da radiação promovida pela lâmpada	32
3.2 Experimentos de irradiação em condições pré-bióticas	33
3.2.1 Irradiação do tiocianato de amônio	33
3.2.2 Irradiação do tiocianato de amônio na presença do óxido de titânio (TiO_2)	34
3.3 Técnicas de caracterização	35
3.3.1 Voltametria cíclica	37
3.3.2 Preparação da superfície dos eletrodos de trabalho	37
3.3.3 Eletroquímica acoplada à espectroscopia vibracional no infravermelho	38
3.3.4 Espectroscopia vibracional no infravermelho	40
3.3.5 Análise do potencial hidrogeniônico (pH)	40
3.3.6 Difração de raios X	40
3.3.7 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas	41
3.3.8 Cromatografia gasosa	41
3.3.9 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (<i>headspace</i>)	41

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Potência da lâmpada e análise do tiocianato de amônio por UV-VIS	43
4.2 Análise do tiocianato de amônio por FTIR	45
4.3 Oxidação eletroquímica do tiocianato em eletrodos de ouro e platina	46
4.4 Oxidação eletroquímica do tiocianato com FTIR <i>in situ</i>	48
4.5 Irradiação do tiocianato de amônio em atmosfera inerte	53
4.6 Análise dos hidrolisados por FTIR	55
4.6.1 Tiocianato de amônio hidrolisado	55
4.6.2 Produtos das irradiações hidrolisados	58
4.7 Análise dos hidrolisados por CLAE-DAD-EM	59
4.8 Formação de bases nitrogenadas	62
4.9 Análise da suspensão resultante da irradiação por 24 horas	66
4.10 Análise dos irradiados não submetidos à hidrólise	67
4.10.1 Análise dos precipitados por FTIR e DRX	67
4.10.2 Análise dos sobrenadantes por UV-VIS	71
4.11 Irradiação do tiocianato de amônio em atmosfera redutora (metano)	73
4.12 Irradiação do tiocianato de amônio na presença do óxido de titânio	77
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	86
6 CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS	89
ANEXO	101

APRESENTAÇÃO

Visando contribuir com novas evidências a cerca do surgimento das primeiras moléculas orgânicas sob as condições pré-bióticas, esta Tese aborda um estudo sobre a formação de biomoléculas simulando as referidas condições. Na **INTRODUÇÃO** (seção 1) serão abordadas as principais características da Terra primitiva, principalmente em relação à atmosfera e oceanos, bem como o estado da arte na área da química pré-biótica com os principais estudos sobre origem da vida. A seção 2 contempla o **OBJETIVO**, destacando a ideia principal que fundamenta o trabalho. Em seguida, as etapas realizadas para o desenvolvimento desse estudo, incluindo as técnicas utilizadas, serão apresentadas na seção 3, na **PARTE EXPERIMENTAL**. A seção 4 corresponde aos **RESULTADOS E DISCUSSÃO**, na qual serão detalhadas as estratégias experimentais que foram empregadas no trabalho, juntamente com os resultados obtidos que serão descritos seguindo uma forma lógica em função dessas estratégias. Por fim, as considerações finais sobre este estudo serão discutidas na seção 5 e compiladas na seção 6, na **CONCLUSÃO**. De uma forma geral, construiu-se o sistema com os aparatos necessários para realização de experimentos de irradiação em condições pré-bióticas, empregando uma lâmpada de vapor de mercúrio para simular a radiação UV. Posteriormente, realizaram-se os experimentos de irradiação das soluções aquosas contendo tiocianato de amônio em diferentes condições, as quais serão detalhadas no texto.

1 INTRODUÇÃO

1.1 As Eras geológicas da Terra: um breve histórico

Os estudos envolvendo fósseis não fornecem elementos suficientes para elucidações sobre o surgimento da vida, uma vez que os eventos associados a esse surgimento provavelmente ocorreram em escala molecular durante a evolução do planeta, respeitando-se as condições específicas de cada era geológica. Assim, as condições da Terra primitiva tiveram influência direta na formação das primeiras moléculas orgânicas e, conseqüentemente, no surgimento da vida. A hipótese para origem da vida baseada na evolução química é a mais consolidada no meio científico.¹⁻⁵ Considerando a hipótese da evolução química, a vida teria surgido a partir das reações químicas entre moléculas simples que existiam na Terra Primitiva. As moléculas pré-existentes originaram aglomerados orgânicos circundados por uma membrana, os coacervados. Devido à estrutura organizada envolto da membrana, os coacervados seriam capazes de transmitir informações, promover reações químicas e realizar trocas com o meio externo. Assim, estruturas delimitadas por uma membrana e com capacidade de transmissão podem ser consideradas vivas.⁴⁻⁶

O planeta Terra possui cerca de 4,5 bilhões de anos e durante todo esse período passou por transformações até atingir as condições atuais. Por exemplo, no início a Terra era quente e foi se resfriando ao longo do tempo.^{5, 7-10} Esse processo resultou na formação das rochas e na presença de água no estado líquido. A primeira Era geológica se estendeu dos 4,5 bilhões até cerca de 550 milhões de anos atrás e foi denominada de período Pré-cambriano.^{8, 11} A Terra no início Pré-cambriano, especificamente no período conhecido como Hadeano, possuía uma superfície em constante fusão devido as elevadas temperaturas, acima dos 700 °C. Além disso, a superfície terrestre foi constantemente bombardeada por meteoritos que vaporizavam os oceanos.¹⁰ Durante o Hadeano, que se estendeu até por volta dos 3,8 bilhões de anos,¹²⁻¹⁴ o intenso aquecimento impossibilitava a solidificação da maioria dos minerais na forma de rochas e a água juntamente com os outros gases da atmosfera primitiva (CH₄, NH₃, H₂, etc.) permaneciam na fase vapor. Há evidências de que devido ao intenso vulcanismo, a atmosfera desse período foi rica em dióxido de carbono.^{12, 15} Com o passar do tempo a Terra foi se resfriando e as primeiras rochas foram sendo formadas, originando assim os primeiros microcontinentes. Essas características correspondem ao período posterior ao Hadeano, conhecido como Arqueano, no qual a temperatura da Terra diminuiu progressivamente

situando-se abaixo dos 100 °C.^{12, 16} Essas temperaturas mais brandas possibilitaram a condensação do vapor de água e a formação do oceano primitivo, provavelmente mais quente que o atual.¹² Entretanto, no início do período Arqueano ainda foi muito comum o bombardeio de meteoritos, uma vez esse fenômeno se estendeu dos 4,2 até 3,7 bilhões de anos atrás.¹⁷

Assim, o período Arqueano foi caracterizado principalmente pela formação dos oceanos e da crosta sólida primitiva devido ao resfriamento do planeta Terra, o qual foi decorrente das prolongadas precipitações da água contida na atmosfera no estado de vapor, “os grandes dilúvios”. Esse período teve seu início por volta dos 3,8 bilhões de anos, com o fim do Hadeano, e se estendeu até cerca dos 2,5 bilhões de anos.^{12, 18} A Figura 1 ilustra uma linha do tempo resumindo as principais Eras geológicas da Terra.

Figura 1 - Linha do tempo contendo as principais Eras geológicas da Terra.

Fonte: Autoria própria.

A Figura 1 mostra as Eras geológicas destacando as condições iniciais do planeta no período Hadeano, o período Arqueano referente à formação das primeiras biomoléculas e dos seres unicelulares, bem como o surgimento de formas de vida mais complexas no período Cambriano. Os fenômenos relacionados à origem da vida devem ter ocorrido na Terra após seu resfriamento,⁵ visto que as condições iniciais de formação do planeta não seriam apropriadas à origem das primeiras moléculas, portanto, à vida. O interesse de estudo neste

trabalho é justamente a formação das primeiras moléculas orgânicas, a partir das quais formas mais complexas como biopolímeros teriam sido originados, isto é, tem-se aqui um estudo baseado na hipótese da evolução química. Nesse contexto, a química pré-biótica é uma das áreas da química dedicada ao estudo de como se deu a formação das primeiras biomoléculas nas condições de Terra primitiva e, a partir desse estudo essa área visa contribuir com elementos mais consistentes para elucidar o surgimento da vida na Terra.

1.2 Origem das primeiras moléculas e a química pré-biótica

Após diversas teorias que se estendiam desde a geração espontânea, Oparin e Haldane propuseram uma sistemática para estudar a origem da vida na Terra, baseada em reações químicas entre moléculas simples (CO , CH_4 , H_2 , NH_3 , H_2O , etc.) que originariam moléculas mais complexas, como aminoácidos, lipídeos e ácidos nucleicos. Segundo esses cientistas, o acúmulo destas moléculas levaria a formação de biopolímeros (peptídeos, polissacarídeos, nucleotídeos, etc.) que reagiriam entre si originando coacervados, estruturas vivas.^{4, 19} Assim, Oparin e Haldane eram adeptos da hipótese para origem da vida baseada na evolução química.

Em 1953, o clássico experimento de Stanley Miller²⁰ constituiu a primeira evidência experimental que confirmou a hipótese de Oparin-Haldane. Para testar essa hipótese, Miller promoveu a circulação dos gases CH_4 , NH_3 , H_2 e H_2O em um aparato conforme ilustrado na Figura 2a, no qual foram aplicadas descargas elétricas que simulavam os raios e serviam como fonte de energia para as reações. As descargas (raios) podem ter desempenhado um papel significativo para formação dos compostos orgânicos na Terra primitiva. Durante o experimento o sistema foi submetido a aquecimento, assim, a água contida no sistema circulava na fase vapor e, em seguida, era condensada retornando a fase líquida. Ao final do experimento, as substâncias formadas se acumularam na água contida no frasco e a mistura resultante ficou turva, adquirindo uma coloração vermelha. Por meio de cromatografia em papel, Miller confirmou a formação dos aminoácidos glicina, α -alanina, β -alanina, ácido aspártico e α -aminoácido-n-butírico (Figura 2b).²⁰

Figura 2 - a) Ilustração esquemática do sistema pré-biótico de Miller. **b)** Obtenção dos aminoácidos e análise por cromatografia em papel.

Fonte: Adaptação de Carvalho, V. A. N. (2016) a partir de MILLER, S. L., 1953, p. 529.; BERNSTEIN, M., 2006, p. 1692.

O experimento de Miller, além de ter confirmado a hipótese da evolução química para origem da vida, consolidou o início do que chamamos de química pré-biótica, ciência que estuda o surgimento da vida na Terra em condições que se aproximam do ambiente que existiu ou ainda existe em nosso planeta.^{21, 22} O ambiente pré-biótico da Terra possuía um estoque variado de matérias-primas, incluindo um conjunto diversificado de moléculas orgânicas simples que compunham a atmosfera e os oceanos, além dos minerais e das rochas.²³ É importante destacar que se conhece pouco sobre a disponibilidade dos materiais de partida para formação das biomoléculas associadas ao surgimento da vida e também sobre as características físicas dos locais da Terra primitiva onde a vida provavelmente se iniciou.^{10, 22} Diante disso, muitas vezes é difícil decidir se uma síntese pré-biótica é ou não plausível.^{22, 24} Apesar dessa variedade de componentes e das divergentes opiniões sobre as condições do ambiente é de extrema importância o conhecimento das principais características da Terra primitiva para o desenvolvimento de estudos na área de química pré-biótica.

1.3 Condições pré-bióticas: características da Terra primitiva

As condições pré-bióticas englobam as características de todos os ambientes existentes na Terra primitiva. Existem hipóteses considerando que os primeiros aminoácidos podem ter

sido gerados em fontes hidrotermais do oceano ricas em sulfetos,²⁵⁻²⁹ ou até mesmo a partir da entrega de compostos por meteoros e cometas do ambiente interestrelar, conforme a hipótese da Panspermia.³⁰⁻³⁷ Considerando os mais distintos ambientes, a formação das biomoléculas (aminoácidos, açúcares e nucleotídeos) no período pré-biótico ainda é um tema bastante controverso,^{10, 22, 24, 38} pois muitos aspectos como a composição do oceano, atmosfera, temperatura, etc. não estão completamente estabelecidos. Contudo, aqui serão relatadas as principais características da Terra nesse período com base nos estudos que vem sendo realizados na área de química pré-biótica.

Lazcano e Miller apontaram, em 1996, o fato de não existir concordância da comunidade científica em relação à composição da atmosfera primitiva.³⁸ Existem hipóteses que vão desde uma atmosfera fortemente redutora ($\text{CH}_4 + \text{N}_2$, $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$, ou $\text{CO}_2 + \text{H}_2 + \text{N}_2$) até neutra ($\text{CO}_2 + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$) e, mesmo sem evidências geológicas ou razões para sua ausência é bem estabelecido que a atmosfera primitiva não continha O_2 .^{38, 39} A ideia de que a atmosfera se reduziu com o tempo foi reforçada por alguns geocientistas, os quais estabeleceram que esta passou a conter basicamente CO_2 , N_2 , CO , H_2O e quantidades menores de espécies mais reduzidas como H_2S , CH_4 e H_2 .³⁹

A partir do experimento de Miller de 1953, fundamentado em uma atmosfera fortemente redutora, e considerando a existência de outros gases como H_2S , N_2 , CO_2 , etc. na atmosfera primitiva, várias composições gasosas para prováveis atmosferas passaram a ser empregadas em experimentos de química pré-biótica. Em 1958, Miller repetiu seu primeiro experimento utilizando um modelo de atmosfera composto pelos gases H_2S e CO_2 , além do CH_4 e NH_3 . Entretanto, por razões desconhecidas esse experimento não foi divulgado e nem analisado por Miller.⁴⁰ As amostras obtidas sob essas condições de atmosfera ficaram arquivadas e foram recentemente analisadas por Parker *et al.*⁴¹ utilizando métodos cromatográficos mais modernos. Essas análises revelaram que as amostras continham uma variedade de aminoácidos e aminas, incluindo uma grande quantidade de aminoácidos sulfurados.⁴¹ Em 1960, partindo de uma mistura gasosa contendo H_2 , CH_4 , NH_3 , H_2S e H_2O sob a ação de descargas elétricas, Lu H-K e colaboradores obtiveram cisteína, cistina e possivelmente metionina.⁴² Em outro trabalho semelhante de 1972, no qual a composição da atmosfera diferia apenas pela presença de N_2 ao invés de H_2 , Trump *et al.* também observaram a formação de uma quantidade significativa de metionina.⁴³ Na década de 80, Schlesinger *et al.* demonstraram que, além de aminoácidos,⁴⁴ quantidades significativas de cianeto de hidrogênio (HCN), amônia (NH_3) e formaldeído (H_2CO) podem ser produzidas a

partir da ação de descargas elétricas em uma mistura contendo N_2 , CH_4 , CO e CO_2 .⁴⁵ A reação química entre o NH_3 e H_2CO na presença de HCN leva a formação de aminoácidos via síntese de Strecker, umas das principais rotas para formação desse tipo de biomolécula.^{10, 44-48} Assim, esses compostos certamente corresponderam a intermediários chave para formação de biomoléculas no período pré-biótico, incluindo a síntese de purinas e pirimidinas a partir do precursor cianeto de hidrogênio.^{22, 24, 49-53} Portanto, a geração desses precursores nas condições de Terra primitiva pode ter sido fundamental para origem da vida.

Além de atuarem como reagentes para formação dos aminoácidos, a presença de gases como CH_4 e CO_2 também estava relacionada à manutenção do efeito estufa, influenciando sobre a temperatura da Terra primitiva.^{15, 54-58} No entanto, a temperatura do planeta durante o período da origem da vida é desconhecida.^{38, 59-61} Diante disso, existem modelos descrevendo uma Terra quente e fria, sendo ambos aceitáveis.⁵⁹⁻⁶² Alguns modelos de atmosfera primitiva propõem elevadas pressões parciais de CO_2 para aumentar a temperatura da Terra por meio do efeito estufa e, assim, evitar o congelamento total dos oceanos.^{8, 38} Outros modelos consideram que no início, o efeito estufa pode ter sido intensificado pela presença do metano na atmosfera.⁶³⁻⁶⁵ Segundo Wiechert,⁶³ mesmo em pequenas quantidades, a presença do CH_4 teria sido suficiente para manter uma temperatura favorável ao surgimento da vida, já que o metano é cerca de vinte vezes mais eficiente que o dióxido de carbono como um gás de efeito estufa. Dessa maneira, o acúmulo de metano na atmosfera primitiva pode ter desempenhado um papel mais significativo que o CO_2 para proteger a Terra do congelamento.⁶³ Nesse contexto, surge a indagação de qual seria essa temperatura favorável para origem da vida. Apesar da literatura não definir valores exatos de temperatura para os locais da Terra primitiva onde se deu o surgimento da vida, Lazcano *et al.*³⁸ propuseram que a ocorrência de sínteses pré-bióticas nas fontes hidrotermais não eram tão plausíveis, uma vez que os compostos orgânicos ou polímeros são decompostos ao invés de sintetizados temperaturas muito elevadas, no caso entre 100 e 250 °C.^{38, 59, 61} Além disso, polímeros como os peptídeos, RNA e DNA, são rapidamente hidrolisados em vez sintetizados nessas temperaturas.³⁸ Seguindo essa linha de raciocínio, seria mais plausível que os fenômenos associados a esse surgimento tivessem ocorrido em temperaturas entre 2 e 37 °C, uma vez que esse intervalo corresponde as temperaturas favoráveis a existência de vida na atualidade, considerando formas de vida no oceano (2°C) e a temperatura corporal em mamíferos (37°C).³⁸ Conforme abordado, não há uma evidência definitiva para as temperaturas da Terra no período da origem da vida. As informações que se tem sobre esse parâmetro são provenientes de modelos

teóricos que tentam explicar a influência de alguns gases na manutenção do efeito estufa no planeta, evitando assim o congelamento do mesmo.

Além dos estudos envolvendo CO_2 e CH_4 , outros modelos teóricos foram propostos a fim de investigar a influência de outros gases na temperatura da Terra primitiva. A amônia também foi considerada como um dos constituintes essenciais para aquecimento da superfície, entretanto, os modelos de Kuhn *et al.* e Kasting estabeleceram que o NH_3 é fotoquimicamente instável em relação à conversão para N_2 , sendo pouco provável que o NH_3 tenha desempenhado um papel importante na manutenção do efeito estufa para aquecimento da superfície da Terra.^{66, 67} No geral, segundo Kasting *et al.*, se entre os vários gases que formaram a atmosfera primitiva, cada um tenha sido capaz de fornecer uma mínima contribuição para o aquecimento da Terra, o efeito combinado dessas contribuições pode ter sido significativo para manutenção do efeito estufa no período da origem da vida.⁶⁵ Assim, a manutenção desse efeito impediu o congelamento do planeta, garantido as condições climáticas favoráveis para a formação das biomoléculas na Terra primitiva.

Nas sínteses pré-bióticas anteriormente descritas, as descargas elétricas foram empregadas para simular os raios e atuar como fonte de energia. No entanto, outro ponto importante em relação às condições da Terra primitiva está associado à ação da radiação ultravioleta sobre sua superfície, devido à ausência da camada de ozônio na atmosfera. Assim, no início, especificamente no período Arqueano, a Terra com atmosfera anóxia foi atingida por uma radiação com comprimentos de onda acima de 200 nm.⁶⁸ Até o momento, o que foi mencionado nesse texto envolvendo a radiação ultravioleta se limitou ao processo de fotoquímico de conversão da amônia ao gás nitrogênio que possivelmente ocorria na atmosfera primitiva, comprometendo a atuação do NH_3 como um gás de efeito estufa.^{66, 67} Entretanto, a radiação UV é considerada uma das principais fontes de energia para a síntese de biomoléculas na Terra primitiva, além de atuar na formação de precursores para sínteses pré-bióticas, como cianeto de hidrogênio e formaldeído.^{53, 68-71} Uma explicação plausível para formação de HCN por meio da radiação UV foi descrita por Kasting *et al.* em um modelo que considera a fotólise do CH_4 em uma atmosfera contendo N_2 .⁶⁵ No caso do formaldeído, a oxidação fotoquímica de metano ou redução fotoquímica de dióxido de carbono pela radiação ultravioleta correspondem as principais rotas para sua formação.⁷²

Além dos aspectos já mencionados quanto à importância do cianeto de hidrogênio para as sínteses pré-bióticas, outro aspecto relevante em relação à presença desse composto nas

condições de Terra primitiva é que sua reação com o sulfeto de hidrogênio (H_2S) possibilitou a formação de tiocianato ($[\text{SCN}]^-$).⁷⁰ Esse íon tem sido estudado como espécie precursora para formação de biomoléculas nas condições de Terra primitiva, principalmente considerando sua exposição à radiação ultravioleta. Nesse contexto, outra discussão na área de química pré-biótica advém da teoria sulfociânica, a qual reporta a origem de compostos orgânicos, incluindo sulfurados (metionina, cisteína, etc.), a partir de moléculas pré-estabelecidas, tais como o tiocianato de amônio (NH_4SCN).

1.4 Teoria sulfociânica: o papel do tiocianato de amônio na química pré-biótica

A teoria sulfociânica para origem da vida teve seu início antes do clássico experimento de Miller, quando em 1930 Alfonso L. Herrera propôs que compostos como tiocianato de amônio e formaldeído eram a base para formação de biomoléculas relacionadas ao surgimento dos primeiros seres vivos, inserindo sua teoria dentro da hipótese autotrófica para origem da vida.⁷³⁻⁷⁵ Diferentemente da ideia das sínteses pré-bióticas realizadas com gases da atmosfera primitiva, Herrera se baseou em compostos que poderiam ser formados nas condições de Terra primitiva para formular sua teoria, por exemplo, a formação de NH_4SCN a partir de gases vulcânicos.^{73, 75} De acordo com Heyns e colaboradores, o tiocianato de amônio também pode ser sintetizado quando uma mistura de gases contendo CH_4 , NH_3 , H_2O , H_2 , N_2 , CO_2 , H_2S é submetida à ação de descargas elétricas.⁷⁶ Além disso, a reação entre os gases CO_2 , NH_3 e H_2S em fontes hidrotermais também pode ter levado à produção de NH_4SCN .⁷⁷ Dessa forma, a presença de tiocianato de amônio no período pré-biótico é bastante fundamentada.

Com base na teoria sulfociânica e na existência do tiocianato de amônio no ambiente pré-biótico, um estudo realizado por Steinman e colaboradores⁷⁷ mostrou a formação de metionina a partir da irradiação de uma solução aquosa $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN , empregando luz na região do ultravioleta. Essa formação reforça a teoria de que a radiação UV pode ter sido uma importante fonte de energia para a síntese de biomoléculas na Terra primitiva. Em um trabalho semelhante, Santana *et al.*⁷⁰ obtiveram dois sólidos não identificados (branco e amarelo) após hidrólise ácida de amostras provenientes da irradiação de NH_4SCN sob uma atmosfera de nitrogênio. Entretanto, segundo esses pesquisadores nenhum desses sólidos correspondiam a metionina. De acordo com a literatura,^{73, 75} trabalhos pioneiros realizados por Herrera utilizando tiocianato de amônio e formaldeído como substâncias precursoras para reações pré-bióticas, produziram aminoácidos não identificados, além de outros compostos

em um “produto de condensação proteico”, assim por ele relatado. Embora não os tivesse identificado, Herrera acreditava ter sintetizado a glicina, cisteína e cistina.⁷⁴

Perezgasga e colaboradores⁷⁵ reproduziram os experimentos de Herrera e mostraram por meio da cromatografia líquida de alta eficiência a formação dos aminoácidos por ele proposta, incluindo os aminoácidos sulfurados cisteína e metionina. Além disso, nesse trabalho foi reportado o mecanismo do equilíbrio do NH_4SCN em solução aquosa, no qual, o ácido isotiocianico (HNCS) é comumente formado e reage com o íon tiocianato para produzir ácido o cianoditiocarbamato. Em seguida, o cianoditiocarbamato na presença dos íons H^+ e SCN^- , resulta em um composto cíclico caracterizado pela coloração amarela, denominado de ácido isopertiocianico.^{75, 78} Assim, o íon tiocianato corresponde a uma espécie química altamente reativa que pode gerar alguns precursores ou intermediários para síntese de moléculas maiores.⁷⁵

1.5 Modelo de Terra primitiva na teoria sulfocianica

Os experimentos realizados com o tiocianato de amônio e formaldeído foram baseados na síntese de Strecker, cujos mecanismos envolvidos resultam na formação de aminoácidos.^{46, 79} Mesmo com a infinidade de materiais de partida que provavelmente compunham o ambiente da Terra no período pré-biótico, torna-se importante a definição de um modelo que contemple os elementos chave e as condições físicas do ambiente para uma determinada síntese pré-biótica que se considera plausível. Embora não exista um modelo ilustrativo associando as condições de Terra primitiva à formação do tiocianato de amônio e formaldeído, a Figura 3 apresenta um modelo com as condições do oceano e da atmosfera que seriam propícias para geração desses compostos precursores para as biomoléculas. De acordo com esse modelo, os processos nas fontes hidrotermais estariam associados à formação de NH_4SCN , o qual se encontra em equilíbrio em solução aquosa nas regiões oceânicas mais próximas a superfície ($\text{NH}_3 + \text{HNCS}$).⁷⁵ Por outro lado, nas condições da interface entre a superfície oceânica e a atmosfera, sob a irradiação UV, o metano reagiria com a água para formar um aldeído.^{43, 72} Considerando estas condições, uma reação química estabelecida entre o NH_3 e o H_2CO poderá iniciar o mecanismo para formação de aminoácidos.

Figura 3 - Modelo de Terra primitiva enfatizando as condições atmosféricas e oceânicas associadas à formação de precursores para sínteses pré-bióticas, NH_4SCN e H_2CO . O modelo destaca a incidência de radiação ultravioleta em uma atmosfera contendo metano, juntamente com as condições oceânicas (pH 5-8) para formação de H_2CO e NH_4SCN nas regiões superficiais e mais profundas do oceano, respectivamente.

Fonte: Autoria própria.

No geral, grande parte dos trabalhos da literatura reporta a não obtenção de aminoácidos a partir da irradiação UV de soluções aquosas contendo somente tiocianato de amônio. Entretanto, além do trabalho de Steinman *et al.*,⁷⁷ Nakamura *et al.*⁸⁰ mostraram a formação de alguns aminoácidos (exceto aqueles contendo enxofre) por meio da hidrólise do produto obtido a partir da irradiação de uma solução aquosa de NH_4SCN , utilizando feixes de nêutrons. Dessa forma, a formação de oligômeros a partir da irradiação do SCN^- e a subsequente hidrólise para obtenção de monômeros e formação de grupos carboxílicos (CO_2H) pode ser uma das explicações para síntese de aminoácidos partindo do íon tiocianato. Os paratiocianogênios ou politiocianogênios de fórmula geral $\text{S}_y(\text{CN})_x$ são exemplos desses oligômeros obtidos a partir do tiocianogênio ($[\text{SCN}]_2$), um dos produtos da oxidação do íon SCN^- em soluções aquosas.⁸¹

1.6 Oxidação do tiocianato ([SCN]⁻) em meio aquoso

Baseando-se na formação de oligômeros a partir do tiocianogênio, juntamente com a abordagem que considera a formação de moléculas orgânicas sobre a superfície de minerais nas condições de Terra primitiva,⁸²⁻⁸⁴ informações sobre a oxidação do íon tiocianato são muito relevantes no contexto da teoria sulfocianica. Assim, o estudo do comportamento do íon tiocianato sobre superfícies eletródicas em soluções aquosas torna-se relevante para compreensão dos fenômenos de adsorção e verificação dos principais produtos formados a partir da oxidação eletroquímica de SCN⁻.

Existem alguns estudos que reportam a oxidação eletroquímica do íon tiocianato em soluções aquosas e não aquosas sobre diversos eletrodos, como platina e ouro.⁸⁵⁻⁸⁹ Dentre esses, Guo e colaboradores⁸⁵ estudaram a oxidação dos íons iodeto (I⁻) e tiocianato sobre a superfície de eletrodos de ouro e platina, no qual demonstraram os produtos formados a partir oxidação eletroquímica desses íons empregando a espectrometria de massas acoplada à eletroquímica. Para os experimentos empregando o eletrodo de ouro, foi reportado que fenômenos de adsorção estavam envolvidos na formação das espécies I₃⁻ e [SCN]₃⁻, as quais foram identificadas como produtos de oxidação dos íons I⁻ e SCN⁻, respectivamente. Diferentemente do que ocorreu empregando o ouro, nos experimentos envolvendo o eletrodo de platina, os produtos da oxidação foram detectados diretamente e, não se observou a formação de espécies intermediárias adsorvidas.⁸⁵

O íon tritiocianato ([SCN]₃⁻) é tido com um dos principais produtos da oxidação eletroquímica do íon tiocianato em soluções aquosa,⁸⁹ soluções não aquosas como acetonitrila,⁹⁰ e até mesmo em meios constituídos por tiocianatos alcalinos fundidos, por exemplo, KSCN e NaSCN.^{89, 91, 92} Segundo Itabashi,⁸⁹ o mecanismo de oxidação eletroquímica de SCN⁻ em soluções ácidas ocorre de acordo com as seguintes reações:

Seguindo o mecanismo acima, o radical $\text{SCN}^\bullet$ corresponde ao produto inicial da oxidação de SCN^- (Equação 1), que em seguida reage com o SCN^- remanescente na solução para formar a espécie $(\text{SCN})_2^{\bullet-}$ (Equação 2). Este ânion radical, considerado um intermediário na oxidação química de SCN^- , sofre oxidação para tiocianogênio ($[\text{SCN}]_2$), conforme a Equação 4. Entretanto, em soluções aquosas, o $(\text{SCN})_2$ poderá formar o íon $(\text{SCN})_3^-$, outro produto da oxidação de SCN^- em soluções aquosas ácidas (Equação 3).^{85, 89, 93} Além disso, tem sido reportado que tiocianogênio formado pode ser hidrolisado em solução aquosa para produzir íons sulfato e cianeto,^{89, 94} ou também reagir com o excesso de SCN^- do meio para formar o $(\text{SCN})_3^-$,⁸⁵ conforme demonstrado nas Equações 5 e 6.⁹⁴

Considerando o tritocianato como produto da oxidação do SCN^- em soluções ácidas, em alguns casos a concentração de íons hidrogênio na solução diminui, indicando que os íons $(\text{SCN})_3^-$ gerados se estabilizam a partir da reação com os íons H^+ , formando a molécula de $\text{H}(\text{SCN})_3$.⁸⁹

Diante do contexto abordado nesta introdução e baseando-se principalmente na possibilidade da obtenção de biomoléculas a partir de substâncias precursoras como tiocianato de amônio, ou simplesmente do íon SCN^- , apresenta-se aqui um estudo da irradiação de soluções aquosas de NH_4SCN em experimentos semelhantes aos trabalhos supracitados. Além disso, serão detalhas outras estratégias para esse estudo simulando as condições pré-bióticas, baseadas na irradiação das soluções aquosas de NH_4SCN na presença de metano (atmosfera redutora) e semicondutores (minerais). Ainda nesse contexto, reportar-se-ão os experimentos eletroquímicos de voltametria cíclica para investigar a oxidação eletroquímica do íon tiocianato em solução aquosa empregando diferentes superfícies eletródicas.

2 OBJETIVO

Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da irradiação ultravioleta em soluções contendo tiocianato de amônio, bem como utilizar diferentes técnicas de análise para investigar quais biomoléculas podem ser formadas em condições simuladas de Terra primitiva.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A parte experimental deste trabalho consistiu em duas etapas. A primeira envolveu o desenvolvimento do sistema para simulação das condições existentes na Terra primitiva (pré-bióticas) juntamente com a determinação da potência da lâmpada de vapor de mercúrio empregada como fonte de energia (radiação ultravioleta) para as reações. Além disso, realizou-se o estudo da oxidação eletroquímica do íon tiocianato empregando a técnica voltametria cíclica acoplada à espectroscopia vibracional no infravermelho (FTIR *in situ*). A segunda etapa correspondeu aos experimentos visando à formação de compostos orgânicos a partir da irradiação ultravioleta de sistemas contendo tiocianato de amônio em diferentes condições, as quais estavam inseridas no contexto da química pré-biótica. As técnicas de caracterização empregadas para avaliação dos produtos das irradiações serão detalhadas adiante.

3.1 Instrumentação para simulação das condições pré-bióticas

3.1.1 Desenvolvimento do reator pré-biótico

Para a realização dos experimentos de irradiação, desenvolveu-se um sistema composto por um reator conforme mostrado na Figura 4. De acordo com a ilustração, um tubo de quartzo foi utilizado para abrigar uma lâmpada de vapor de mercúrio (Hanovia, 450 W) alimentada por uma fonte *Ace Glass* (Figuras 4a e 4b). Esse tipo de lâmpada promove intenso aquecimento envolvendo temperaturas superiores a 100 °C. Diante disso, o tubo que abrigava a lâmpada encontrava-se diretamente conectado ao banho termostático (Figura 4c), possibilitando um resfriamento eficiente da mesma e, conseqüentemente, do sistema reacional. Devido ao fluxo de água fria em torno da lâmpada, o sistema pré-biótico foi colocado em funcionamento na faixa de temperatura pretendida (35 - 40 °C) por diferentes períodos de tempo, Figura 4d. A interligação entre o banho e o tubo de quartzo para resfriamento da lâmpada está indicada pelos números 1 e 2 nas Figuras 4a e 4b. O número 3 destacado na Figura 4d indica a conexão empregada para injeção de gases feita por meio da linha de gás do laboratório. É importante destacar que para se trabalhar com luz ultravioleta é necessário um ambiente fechado que possa impedir a emissão dessa radiação para o meio externo. Assim, realizaram-se os experimentos de irradiação em uma caixa de madeira fechada com dimensões de 50 cm x 40 cm x 25 cm, conforme mostrado na Figura 4a. Essa

caixa possui uma ventoinha no fundo que funciona como exaustor (Figura 4b) e uma entrada de ar na porta (Figura 4a), projetada de forma a bloquear a radiação para o ambiente externo e possibilitar o processo de exaustão. Esse processo foi fundamental para eliminação do ozônio (O_3), uma vez que moléculas de O_3 são geradas quando a radiação ultravioleta atinge o oxigênio do ar.^{70, 95} Assim, empregou-se essa configuração para maximizar a irradiação do meio reacional, uma vez que a permanência do ozônio absorveria parte da energia oriunda da radiação UV. Isto é, caso o ozônio formado não fosse sendo removido por exaustão, a condição pré-biótica de radiação ultravioleta não seria mantida durante todo período do experimento.

Figura 4 - Sistema para simular as condições da Terra primitiva: **a)** Fonte de alimentação para lâmpada UV (Ace Glass) com a caixa em madeira para abrigar o sistema reacional. **b)** Tubo em quartzo com lâmpada de vapor de mercúrio de 450 W. **c)** Banho termostático (*MulTemp IV Thermostatic Circulator* - GE Healthcare Life Science®) para refrigeração do sistema. **d)** Sistema em funcionamento.

Fonte: Autoria própria.

3.1.2 Determinação da intensidade da radiação promovida pela lâmpada

O valor de 450 W indicado pelo fabricante da lâmpada de vapor de mercúrio, empregada nos experimentos de irradiação, corresponde à potência elétrica da mesma. Entretanto, apenas uma parcela dessa potência está relacionada à radiação que de fato atingia uma determinada área do meio reacional durante as irradiações. A intensidade dessa radiação incidente depende principalmente da distância entre o componente do sistema que emite a radiação (lâmpada) e o componente que recebe (tubo de quartzo contendo as soluções irradiadas). A fim de determinar a intensidade da radiação que de fato atingia o meio reacional durante as irradiações, configurou-se a lâmpada frente a um medidor de potência nas mesmas condições experimentais utilizadas durante as irradiações. Para isso, o detector do medidor de potência foi posicionado a frente da lâmpada na mesma distância em que se posicionou o tubo de quartzo contendo a solução reacional em relação à lâmpada nos experimentos de irradiação, no caso 5 cm (Figura 5). Em relação à condição de temperatura, manteve-se um fluxo de água em volta do tubo de quartzo que continha a lâmpada na mesma temperatura em que o banho termostático foi programado durante os experimentos de irradiação.

Figura 5 - Esquema ilustrativo do experimento realizado para determinação da potência da lâmpada de vapor de mercúrio em função do comprimento de onda (W vs λ).

Fonte: Autoria própria.

Após a lâmpada se encontrar nas condições experimentais idênticas as empregadas nas irradiações, conforme Figura 5, mensurou-se a intensidade da radiação em função de comprimentos de onda previamente selecionados no intervalo entre 200 e 800 nm (W vs λ). Para este experimento foi empregando um medidor de potência Newport, modelo 1918-R.

3.2 Experimentos de irradiação em condições pré-bióticas

3.2.1 Irradiação do tiocianato de amônio

Empregando o sistema ilustrado na Figura 4, irradiaram-se as soluções aquosas de tiocianato de amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (NH_4SCN , Sigma-Aldrich $\geq 99\%$) por períodos de tempo de 3 e 24 horas, visando investigar se há formação de aminoácidos ou outras biomoléculas por influência da radiação UV. O oxigênio do ar contido no interior do reator foi removido pela passagem de gás argônio, isto é, realizaram-se os experimentos em atmosfera inerte. Além da irradiação do NH_4SCN em atmosfera inerte, em um dos experimentos realizado em 24 horas o gás metano (White Martins, CH_4 2.5) foi mantido em fluxo para simular uma atmosfera redutora. Durante as irradiações, manteve-se o meio reacional em uma temperatura na faixa entre 35 e 40 °C. Após este procedimento, as suspensões obtidas foram submetidas ao processo de hidrólise em ácido clorídrico $6,0 \text{ mol L}^{-1}$. Para isso adicionaram-se 50 mL do ácido (HCl, Sigma-Aldrich $\geq 37\%$) a 50 mL da suspensão resultante da irradiação. A suspensão resultante após a mistura foi mantida em refluxo a uma temperatura de 110 °C. Após 24 horas de reação sob agitação em condições de refluxo (110 °C), observou-se a redissolução do precipitado contido na suspensão. Vale ressaltar que o procedimento de hidrólise foi realizado em atmosfera inerte (fluxo de N_2). Após liofilização obtiveram-se os hidrolisados na fase sólida, os quais foram caracterizados.

Adicionalmente, parte da suspensão resultante da irradiação não foi submetida ao processo de hidrólise. Assim, dividiu-se essa fração em precipitado e sobrenadante, os quais também foram caracterizados. Para isso, separou-se o sobrenadante, em seguida, o precipitado obtido foi colocado em um papel de filtro e lavado a quente com água de qualidade Milli-Q na temperatura de 40°C, empregando-se a filtração sob vácuo para remoção do excesso de tiocianato.

O fluxograma da Figura 6 apresenta as etapas envolvidas desde os experimentos de irradiação até a análise dos produtos obtidos. Nesse esquema foram sequenciadas as etapas dos experimentos realizados em atmosfera inerte e em atmosfera redutora, levando em consideração a realização ou não do procedimento de hidrólise, bem como a separação das suspensões obtidas em precipitado e sobrenadante.

Figura 6 - Fluxograma com as etapas envolvidas desde os experimentos de irradiação até a análise dos produtos obtidos.

Fonte: Autoria própria.

Vale ressaltar que para investigação da influência da radiação ultravioleta na formação da suspensão após irradiação, além dos experimentos supracitados, realizou-se um experimento na ausência da radiação (experimento controle). Para realização deste, manteve-se a solução 0,1 mol L^{-1} de tiocianato de amônio por 24 horas nas mesmas condições anteriormente descritas para irradiação em atmosfera inerte. A temperatura do sistema foi mantida na faixa entre 35 e 40 °C empregando-se o banho termostático GE para promover um fluxo de água em volta do recipiente que continha a solução aquosa de NH_4SCN .

3.2.2 Irradiação do tiocianato de amônio na presença do óxido de titânio (TiO_2)

Além das irradiações por até 24 horas, realizaram-se irradiações com duração de 72 horas para avaliação do papel de um semiconductor no sistema pré-biótico contendo tiocianato

de amônio e metano. Para isso, 150 mg do semiconductor óxido de titânio (TiO_2 , Sigma-Aldrich $\geq 99,5\%$) foram adicionados a solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN , na qual manteve-se o gás metano em fluxo e o sistema sob agitação durante o tempo de irradiação de 72 horas. Adicionalmente ao experimento contendo o NH_4SCN , CH_4 e TiO_2 , também realizou-se uma série de outros experimentos como uma espécie de grupo controle para elucidar a cerca da influência do semiconductor no sistema em questão. Cada um desses experimentos foi numerado e as condições utilizadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Condições experimentais para as irradiações realizadas por um período de 72 horas.

Experimento	NH_4SCN	CH_4	TiO_2	Radiação ($h\nu$)
1	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
2	PRESENTE	PRESENTE	AUSENTE	PRESENTE
3	PRESENTE	AUSENTE	PRESENTE	PRESENTE
4	AUSENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
5	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE	AUSENTE
6	PRESENTE	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE
7	AUSENTE	PRESENTE	AUSENTE	PRESENTE
8	AUSENTE	AUSENTE	PRESENTE	PRESENTE

3.3 Técnicas de caracterização

As caracterizações realizadas neste estudo envolveram a voltametria cíclica acoplada à espectroscopia vibracional no infravermelho (FTIR *in situ*), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX), espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível (UV-VIS), cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM), cromatografia Gasosa (CG), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Estes estudos foram realizados utilizando a infraestrutura do nosso grupo, do Grupo de Química Orgânica de Sistemas Biológicos, do Grupo de Eletroquímica, do Laboratório de Química Ambiental e da Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI-IQSC). As especificações

relacionadas aos equipamentos utilizados para realização dessas caracterizações juntamente com as dos equipamentos empregados para outras finalidades, como medição de pH e obtenção de hidrolisados, estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2- Técnicas e equipamentos utilizados no desenvolvimento do trabalho.

TÉCNICA	EQUIPAMENTO
Voltametria Cíclica	Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 128N
Eletroquímica acoplada à Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (FTIR <i>in situ</i>)	Potenciostato Solartron 1285 acoplado ao Espectrofotômetro Nicolet Nexus 670 por meio de uma célula espectroeletroquímica
Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)	Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier, Bruker/Tensor 27
Medição do Potencial Hidrogeniônico (pH)	pHmetro, Gehaka/PG1800
Difração de raios X (DRX)	Difratômetro de Raios X equipado com duas microfones, cobre e molibidênio, Bruker/Apex II Duo
Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Visível (UV-VIS)	Espectrofotômetro de UV-VIS/NIR, Jasco/V-670
Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE-DAD-EM)	Waters Alliance 2695 acoplado com Espectrômetro de Massa Micromass ZQ2000
Cromatografia Gasosa (CG)	Cromatógrafo Gasoso CG-2010 Plus Shimadzu acoplado a um Detector por Ionização em Chama (FID)
Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)	Cromatógrafo Gasoso acoplado com Espectrômetro de Massa GCMS-QP 2010 Plus, Shimadzu
Liofilização	Liofilizador Edwards, modelo F101-02-000

A seguir serão detalhadas as condições experimentais associadas às técnicas de caracterização empregadas destacadas na Tabela 2.

3.3.1 Voltametria cíclica

Para os experimentos eletroquímicos de voltametria cíclica empregou-se uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos acoplada ao potenciostato, na qual se utilizou o prata-cloreto de prata em solução saturada de cloreto de potássio ($\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$) como eletrodo de referência e uma placa de platina como contra eletrodo ($0,5 \text{ cm}^2$ de área). Os eletrodos na forma de discos de ouro e platina obtidos comercialmente ($\varnothing = 5 \text{ mm}$) foram empregados como eletrodos de trabalho. Antes de realizar os experimentos, removeu-se o oxigênio contido no interior da célula pelo fluxo de gás nitrogênio. As soluções eletrolíticas empregadas foram preparadas a partir dos reagentes de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Vetec 95-99%) e hidróxido de amônio (NH_4OH , Vetec 27%). Por fim, todas as varreduras realizadas durante os experimentos de voltametria cíclica foram iniciadas em 0 V e finalizadas neste mesmo potencial.

3.3.2 Preparação da superfície dos eletrodos de trabalho

Antes dos experimentos eletroquímicos, as superfícies dos eletrodos ouro e platina foram submetidas a um procedimento de limpeza que envolveu as etapas de polimento mecânico, oxidação química e tratamento eletroquímico. Para ambos os eletrodos, o polimento mecânico foi realizado utilizando lixas d'água 3M[®] com granulações de 800, 1200, 1500 e 2000, seguido de um polimento em um tecido adequado (pano auto-adesivo Arotec, modelo MAR) contendo uma suspensão de alumina em água (Al_2O_3 , Arotec $0,05 \mu\text{m}$). Vale ressaltar que entre cada troca de granulometria, os eletrodos foram lavados com água de qualidade Milli-Q e colocados em um banho ultrassom para remoção dos resíduos particulados da superfície. Nos dois casos, o procedimento mecânico foi realizado até a superfície apresentar-se espelhada.

Após o polimento mecânico, imergiram-se os eletrodos em uma solução contendo peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , Vetec 30-32%) e ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Vetec 95-99%) na proporção 1:3 (v/v) por 5 minutos. Esse procedimento foi realizado para oxidação química de

possíveis contaminantes adsorvidos nas superfícies eletródicas. Ao final lavaram-se os eletrodos com água ultrapura.

Na etapa eletroquímica, realizaram-se experimentos de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura (100 ciclos a 1 V s^{-1} , 50 ciclos a $0,5 \text{ V s}^{-1}$, 25 ciclos a $0,25 \text{ V s}^{-1}$ e 10 ciclos a $0,1 \text{ V s}^{-1}$) nos intervalos de potencial 0 a $1,6 \text{ V}$ e $-0,2$ a $1,2$ (vs $\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$) para os eletrodos de ouro e platina, respectivamente. A solução eletrolítica de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi sendo trocada entre cada mudança de velocidade de varredura. Por fim, comprovou-se a obtenção de uma superfície adequada a partir do perfil eletroquímico característico que corroborou dados da literatura para os eletrodos de ouro⁹⁶ e platina.⁹⁷

Estes procedimentos de limpeza foram importantíssimos para os experimentos de FTIR *in situ*, visto que a superfície espelhada é essencial para promover a reflexão do feixe de infravermelho incidente, possibilitando assim o emprego da espectroscopia por refletância especular (ERS).

3.3.3 Eletroquímica acoplada à espectroscopia vibracional no infravermelho

Para os experimentos de FTIR *in situ* empregou-se um espectrofotômetro adaptado para a utilização de uma célula espectroeletroquímica. Esse equipamento é equipado com detector de HgCdTe resfriado por nitrogênio líquido. A célula espectroeletroquímica é composta por uma janela de infravermelho de fluoreto de cálcio (CaF_2), por onde o feixe de infravermelho foi direcionado passando através da janela e da camada de eletrólito até chegar a superfície do eletrodo de trabalho, conforme representado esquematicamente na Figura 7. O compartimento do espectrofotômetro por onde passava o feixe de IR foi mantido sob vácuo para eliminação de H_2O e CO_2 atmosféricos, uma vez que essas espécies exibem bandas de absorção no espectro de infravermelho. Vale ressaltar que somente a parte inferior da célula, no caso a que continha a janela de CaF_2 , foi colocada nesse compartimento sob vácuo. Os eletrodos de trabalho, no caso ouro e platina ($\varnothing = 5,0 \text{ mm}$), foram imersos e posicionados sobre a superfície da janela de CaF_2 para formação de uma fina camada de eletrólito na interface entre a janela e o eletrodo (1 a $10 \text{ }\mu\text{m}$). A configuração de fina camada está esquematizada na Figura 7, sendo adotada nesse tipo de sistema para minimizar a perda de energia do feixe através da solução eletrolítica.⁹⁸ Empregou-se $\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ como eletrodo de referência e platina como contra eletrodo. Por se tratar de uma técnica *in situ*, as reações eletroquímicas que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito podem ser estudadas pela

espectroscopia no infravermelho, mais precisamente por ERS, em função do potencial aplicado. Os espectros de FTIR foram coletados em intervalos de 0,1 V durante os experimentos de voltametria cíclica realizados a 2 mV s^{-1} . Cada espectro foi obtido após 16 interferogramas com uma resolução espectral de 8 cm^{-1} em um intervalo de número de onda de 1000 a 4000 cm^{-1} . Assim como nos experimentos de eletroquímica convencional, o oxigênio contido no interior da célula eletroquímica foi removido pelo fluxo de gás nitrogênio antes da realização da voltametria.

Figura 7 - Esquema ilustrativo da célula espectroeletroquímica composta por uma janela de infravermelho de fluoreto de cálcio (CaF_2), e pelos eletrodos (**ET**: eletrodo de trabalho, **ER**: eletrodo de referência e **CE**: contra eletrodo). A ilustração destaca a configuração de fina camada de solução eletrolítica formada entre a superfície eletródica e a janela de CaF_2 , para realização das análises pela técnica de refletância especular (ERS).

Fonte: Autoria própria.

Os espectros de FTIR foram obtidos em função da transmitância, considerando as mudanças de transmitância após o feixe incidir na superfície do eletrodo e ser refletido (R), em relação à transmissão total do feixe (R_0). Partindo desse princípio e considerando que a técnica de FTIR *in situ* empregada foi baseada na refletância especular como mostrado na Figura 7, obtiveram-se espectros para os diferentes valores de potenciais aplicados como

mudanças na refletividade (R/R_0). De acordo com o princípio da técnica de ERS, o que se tem de fato para obtenção dos espectros é uma diferença normalizada $\Delta R/R_0$ entre o espectro da amostra (R'/R_0) obtido em um determinado potencial e um espectro de referência (R/R_0) obtido em um potencial escolhido.^{98, 99} Assim, os espectros são calculados como $(R' - R)/R_0$ promovendo o aparecimento de bandas orientadas de forma oposta, associadas à formação ou ao consumo de espécies.⁹⁸ Para os experimentos de oxidação eletroquímica realizados com o tiocianato, obteve-se um espectro de referência (R/R_0) no potencial de 0 V vs Ag/AgCl/KCl_{sat}.

3.3.4 Espectroscopia vibracional no infravermelho

Os espectros de FTIR no modo de transmitância foram obtidos a partir de pastilhas de brometo de potássio contendo a amostra (KBr espectroscópico, Vetec). Para confecção das pastilhas cerca de 2 mg da amostra juntamente com 98 mg de KBr foram homogeneizados por maceração e prensados. Cada espectro foi obtido após 16 interferogramas com uma resolução espectral de 4 cm⁻¹ em um intervalo de número de onda de 400 a 4000 cm⁻¹.

3.3.5 Análise do potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das soluções precursoras e das suspensões obtidas após os experimentos de irradiação foram mensurados utilizando um pHmetro microprocessado de bancada. Antes das análises calibrou-se o equipamento utilizando soluções tampão de referência obtidas comercialmente (Gehaka: pH 4,01; pH 7,01; pH 10,01).

3.3.6 Difração de raios X

Para a difração de raios X utilizou-se a radiação K α do Cu ($\lambda = 0,15406$ nm) em um intervalo 2θ variando entre 20° e 70° com passos de 0,2° medidos a cada 12 s. O tubo de raios X foi operado sob tensão de 40 kV e corrente de 80 mA. Estas condições foram empregadas nas análises dos precipitados provenientes dos experimentos de irradiação e do óxido de titânio obtido comercialmente.

3.3.7 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

Para as análises por CLAE-DAD-EM empregou-se um cromatógrafo com resolução do sistema Alliance 2695 (Waters) acoplado *on-line* a um detector de arranjo de fotodiodos (PDA 2996, Waters) e um detector de espectrometria de massas (Micromass ZQ2000), utilizando ionização por *eletrospray* nos modos positivo e negativo. As resoluções cromatográficas foram realizadas em uma coluna C₈ (XTerra®), empregando-se um fluxo de 0,7 mL min⁻¹. Metanol (CH₃OH, Pancreac 99,9%) e água (Milli-Q), ambos acidificados com ácido fórmico 0,1%, foram utilizados como eluentes. Empregou-se uma eluição isocrática com 10% de CH₃OH + 90% de H₂O. Para isso foram utilizados solventes de grau analítico PA adequados para cromatografia e água de qualidade Milli-Q. Antes de serem injetadas, as amostras foram dissolvidas em água na concentração de 1mg mL⁻¹. Ao final de cada análise, a coluna foi lavada com 100% de CH₃OH por 5 minutos e então recondicionada.

3.3.8 Cromatografia gasosa

Para as análises por CG empregou-se um cromatógrafo gasoso (CG-2010 Plus, Shimadzu) acoplado a um detector por ionização em chama (FID). As resoluções cromatográficas foram realizadas em uma coluna Agilent®-Innovax (polietilínoglicol) com 30,0 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de fase estacionária. Durante a eluição cromatográfica, empregou-se uma rampa de temperatura com início em 35°C por 2 minutos, em seguida, a temperatura foi sendo aumentada a uma taxa de 10°C por minuto até atingir a temperatura final de 200°C, mantida por 10 minutos. A temperatura do detector, injetor e da coluna foi fixada em 200°C. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,83 mL min⁻¹, empregando-se o *split* na razão de 1:30. Em relação à injeção no cromatógrafo, optou-se pela injeção direta do volume de 1,0 µL de amostra, portanto, a mesma não passou por nenhum tratamento prévio.

3.3.9 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (*headspace*)

As análises empregando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foram realizadas utilizando um amostrador automático *headspace* (AOC-5000 Liquid, *Headspace* and SPME GC Injection System, Shimadzu) acoplado ao CG-EM. O uso da técnica empregando o *headspace* consiste na extração dos compostos orgânicos voláteis

presentes na amostra em fase líquida ou sólida. Assim, após vaporização das substâncias voláteis, um volume fixo de amostra foi introduzido no cromatógrafo gasoso. Para isso, 10 mL de amostra foram colocados em um frasco apropriado, hermeticamente selado com um septo de silicone. Em seguida, as amostras foram injetadas no CG-EM.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Potência da lâmpada e análise do tiocianato de amônio por UV-VIS

Os experimentos que envolveram a utilização da lâmpada de vapor de mercúrio foram fundamentados na possibilidade de formação de moléculas orgânicas a partir da irradiação de soluções aquosas de tiocianato de amônio. Nesse contexto, tornou-se relevante a análise da absorção do NH_4SCN pela espectroscopia na região do ultravioleta-visível seguida da determinação da intensidade da radiação emitida pela lâmpada em função de comprimentos de onda situados nessa mesma região. Para isso, conforme detalhado na seção experimental, a lâmpada foi colocada frente a um medidor de potência (Figura 5) e determinou-se a intensidade da radiação em comprimentos de onda (λ) fixos no intervalo de 200 a 800 nm. Os comprimentos de onda foram selecionados variando-se em 10 nm para o intervalo compreendido entre 200 a 400 nm e em 50 nm para o intervalo de 400 a 800 nm, conforme o gráfico apresentado na Figura 8a. A Figura 8b apresenta o espectro de UV-VIS para a solução aquosa de NH_4SCN registrado no modo absorbância.

Figura 8 - a) Potência da lâmpada vapor de mercúrio em função de comprimentos de onda selecionados no intervalo de 200 a 800 nm. b) Espectro de UV-VIS da solução aquosa de tiocianato de amônio no modo absorbância.

Para realização desses experimentos, configurou-se a lâmpada nas mesmas condições experimentais utilizadas durante as irradiações, isto é, o detector do equipamento empregado para medir a intensidade da radiação foi posicionado na mesma distância entre lâmpada e a solução irradiada (5 cm) e a temperatura do sistema mantida na faixa de entre 35 e 40 °C. De acordo com o gráfico da Figura 8a, a lâmpada emitiu radiação em todo intervalo de comprimentos de onda explorado (200-800 nm), sendo que as maiores intensidades são observadas para os comprimentos de onda na região do ultravioleta, compreendida entre 200 e 400 nm. Para os comprimentos acima de 400 nm (visível), verificou-se um decaimento considerável nas intensidades em relação à intensidade máxima verificada na região do ultravioleta. Na Figura 8a, observa-se a intensidade máxima em 270 nm e a mínima em 800 nm com uma relação de decaimento 75%, indicando que a lâmpada é mais eficiente para sistemas que absorvam luz na região do ultravioleta. De acordo com o espectro de UV-VIS da Figura 8b se observa uma banda de absorção no ultravioleta em 220 nm, indicando que o tiocianato de amônio absorve radiação na região onde a lâmpada emite radiação com maiores intensidades. A absorção em 220 nm corresponde a transições do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ envolvendo elétrons não ligantes. Vale ressaltar que o espectro da solução de NH_4SCN foi registrado na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. Entretanto, como não se verificou nenhuma banda de absorção na região do visível, o gráfico da Figura 8b contempla apenas a região situada entre 200 e 300 nm.

Considerando esses resultados, a lâmpada de vapor de mercúrio emite radiação com maiores intensidades na região de interesse, o ultravioleta, podendo ser empregada para

simulação da condição pré-biótica relacionada à radiação que predominantemente atingiu a superfície da Terra primitiva.

4.2 Análise do tiocianato de amônio por FTIR

Neste trabalho empregou-se a espectroscopia vibracional na região do infravermelho para análise dos produtos provenientes da irradiação das soluções aquosas de tiocianato de amônio. Além disso, realizou-se um estudo da oxidação eletroquímica do íon tiocianato em eletrodo de ouro e platinado por FTIR *in situ*. A Figura 9 apresenta o espectro de infravermelho do tiocianato de amônio realizado no modo transmitância.

Figura 9 - Espectro de FTIR do tiocianato de amônio (NH_4SCN) realizado no modo transmitância.

O espectro do NH_4SCN apresenta uma banda larga entre 3700 e 2500 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação N–H do íon amônio,^{100, 101} na qual comumente aparecem múltiplos picos (2860, 3060 e 3149 cm^{-1})¹⁰¹ referentes às absorções desta ligação. Entretanto, as múltiplas absorções podem não ser evidentes devido à sobreposição com a banda da ligação O–H presente na molécula de água, sendo observado apenas um pico discreto em 2800 cm^{-1} . A banda em 1400 cm^{-1} é atribuída à deformação da ligação N–H do íon amônio. Como o íon $[\text{SCN}]^-$ pode apresentar-se nas formas isoméricas com a carga negativa no nitrogênio ($\text{N}=\text{C}=\text{S}$) ou no enxofre ($\text{S}-\text{C}\equiv\text{N}$), a banda em 1630 cm^{-1} é

característica do estiramento da ligação C=N e a absorção 2063 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$.^{70, 102} Além destas absorções, o íon tiocianato também está relacionado aparecimento dos picos em 490 , 750 e 950 cm^{-1} no espectro da Figura 9. Segundo dados da literatura, as absorções em 490 cm^{-1} e 750 cm^{-1} são referentes à deformação e ao estiramento da ligação C–S, respectivamente.¹⁰²⁻¹⁰⁴ A absorção em 955 cm^{-1} está relacionada à forma isotiocianato, $\text{N}=\text{C}=\text{S}$, do íon tiocianato.¹⁰²

A Tabela 3 apresenta a atribuição dos picos presentes no espectro do tiocianato de amônio da Figura 9 em comparação com dados reportados na literatura.

Tabela 3 - Atribuição dos picos observados no espectro do tiocianato de amônio em comparação com dados da literatura.

Vibração observada (cm^{-1})	Literatura (cm^{-1})	Atribuição
490	480^{104}	$\delta\text{ C-S}$
750	752^{102}	$\nu\text{ C-S}$
955	952^{102}	$\delta\text{ N=C=S}$
1400	1400^{70} ; 1410^{102}	$\delta\text{ N-H}$
1630	1600^{102} ; 1633^{70}	$\nu\text{ C=N}$
2063	2060^{102} ; 2065^{70}	$\nu\text{ C}\equiv\text{N}$
2200-3700	$2600-3300^{100}$; $2500-3500^{101}$	$\nu\text{ N-H}$

(ν = estiramento; δ = deformação)

4.3 Oxidação eletroquímica do tiocianato em eletrodos de ouro e platina

Antes dos experimentos de FTIR *in situ*, realizou-se o estudo da oxidação eletroquímica do íon tiocianato em eletrodos de ouro e platina pela técnica de voltametria cíclica, com intuito de verificar se o material do eletrodo teria influência no potencial de oxidação desse íon. Os voltamogramas obtidos a partir dos experimentos em ouro e platina estão ilustrados na Figura 10.

Figura 10 - Voltamogramas cíclicos da oxidação eletroquímica do íon SCN^- : **a)** Eletrodo de ouro na ausência (linha preta) e na presença de SCN^- (linha vermelha). **b)** Eletrodo de platina na ausência (linha preta) e na presença de SCN^- (linha azul). Eletrólito: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$.

Após adição de SCN^- , verifica-se o aumento das correntes faradaicas em relação às correntes observadas para as varreduras realizadas em eletrólito de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência da espécie eletroativa (linha preta, Figuras 10a e 10b). De acordo com os voltamogramas apresentados para os eletrodos de ouro (linha vermelha, Figura 10a) e platina (linha azul, Figura 10b) no eletrólito contendo 12 mM do íon tiocianato, esse aumento teve início no potencial em torno de $0,5 \text{ V}$, sendo associado ao início da oxidação eletroquímica do SCN^- . Esse potencial é condizente com os valores de $0,44 \text{ V}^{105}$ e $0,60 \text{ V}^{85}$ reportados em

relação ao eletrodo de calomelano saturado. A identificação do produto formado a partir dessa oxidação será discutida mais adiante com base nos resultados obtidos por FTIR *in situ*.

Conforme representado na Figura 3 (introdução), o oceano pré-biótico apresentava um gradiente de pH variando de ácido a alcalino. Nesse contexto, realizou-se a oxidação do SCN^- em função da variação dos valores de pH. A Figura 11 apresenta os voltamogramas em diferentes valores de pH, onde não se observam mudanças significativas no perfil voltamétrico e nem no potencial (0,5 V) no qual o processo de oxidação ocorreu.

Figura 11 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro na presença do SCN^- (12 mM) em eletrólitos com diferentes pH: 3,0 (linha preta); 5,0 (linha vermelha); 7,0 (linha azul) e 8,0 (linha verde). $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrólitos de H_2SO_4 e NH_4OH com pH ajustado nos valores de interesse.

Esse resultado é relevante dentro do contexto da química pré-biótica, uma vez que a oxidação de íons SCN^- nas condições pré-bióticas poderia ocorrer tanto nas fontes hidrotermais como nas regiões superficiais do oceano, isto é, nas regiões mais ácidas e também nas alcalinas, respectivamente.

4.4 Oxidação eletroquímica do tiocianato com FTIR *in situ*

Para identificação dos produtos formados e investigação dos mecanismos envolvidos na oxidação eletroquímica de SCN^- , empregou-se a técnica de voltametria cíclica acoplada à espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR *in situ*). Os espectros de FTIR *in*

situ foram coletados durante os experimentos de voltametria cíclica (varredura de 0,1 a 0,9 V) realizados com os eletrodos de ouro e platina em solução eletrolítica de H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} antes e após a adição do íon tiocianato.

A Figura 12a mostra os espectros de FTIR registrados antes da adição do SCN^- , enquanto que a Figura 12b mostra os espectros coletados após adição dessa espécie eletroativa no sistema contendo o eletrodo de ouro.

Figura 12 - FTIR *in situ*: espectros coletados de 0,1 a 0,9 V antes da adição de SCN^- (a) e após a adição de SCN^- (b). Espectros coletados em 0,4; 0,5 e 0,6 V em eletrólito contendo SCN^- destacando os picos em 2060 e 2130 cm^{-1} (c). Eletrólito: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . $\nu = 2 \text{ mV s}^{-1}$. E / V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$. Eletrodo: ouro.

Comparando-se as Figuras 12a e 12b, observa-se o aparecimento de absorções bem definidas a partir do espectro coletado no potencial de 0,6 V para o sistema contendo SCN^- . Considerando os espectros mostrados na Figura 12b, verifica-se o aparecimento do primeiro pico de absorção exatamente no espectro coletado após 0,5 V, potencial que corresponde ao início da oxidação eletroquímica de SCN^- (Figura 10a). A Figura 12c destaca esse pico em 2130 cm^{-1} que foi atribuído à formação de tiocianogênio ($\text{N}\equiv\text{C}-\text{S}-\text{S}-\text{C}\equiv\text{N}$). Vale ressaltar que o SCN_2 pode absorver entre 2148 e 2174 cm^{-1} dependendo do ambiente eletroquímico.⁸⁶ O pico em 2130 cm^{-1} referente a ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ no SCN_2 é complementar a um pico inverso em 2060 cm^{-1} , correspondente ao estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ no SCN^- .^{86, 99, 103} A absorção em 2060 cm^{-1} também foi verificada na análise por FTIR convencional do NH_4SCN , conforme mostrado na Figura 9. Embora esses picos opostos apareçam mais definidos no espectro coletado em 0,6 V (linha rosa), no espectro coletado exatamente em 0,5 V (linha laranja), potencial correspondente ao início da oxidação de SCN^- , a absorção referente ao tiocianogênio já aparece de forma discreta juntamente com o pico negativo em 2060 cm^{-1} , conforme destacado na Figura 12c.

Observa-se, então, que a oxidação do íon tiocianato resulta na formação de tiocianogênio. Entretanto, próximo a 0,9 V, a absorção em 2130 cm^{-1} praticamente desaparece (Figura 12b), enquanto que, a absorção em 2060 cm^{-1} se mantém devido à presença de SCN^- remanescente. Assim, o tiocianogênio formado provavelmente se decompõe. Esse fato foi abordado por Foley *et al.*, onde os autores verificaram que o tiocianogênio pode ser facilmente hidrolisado a SO_4^{2-} e NO_2^- .^{86, 94} O $(\text{SCN})_2$ se decompõe rapidamente em soluções ácidas e/ou soluções aquosas formando o íon SO_4^{2-} , conforme apresentado anteriormente na Equação 5.

Absorções correspondentes aos produtos da decomposição do $(\text{SCN})_2$ são observadas a partir do espectro coletado no potencial de 0,7 V (Figura 12b, linha cinza), no qual os picos em 1110 e 1200 cm^{-1} estão relacionadas aos íons SO_4^{2-} e NO_2^- , respectivamente.^{86, 103} Ainda na Figura 12b, observam-se bandas de absorção entre 1700 e 2000 cm^{-1} e também entre 2250 e 3000 cm^{-1} . Estas bandas encontram-se evidentes no espectro coletado em 0,9 V (linha marrom), sendo relacionadas com a oxidação do solvente-eletrólito em potenciais mais positivos e não as espécies eletroativas (SCN^-).⁸⁶ A Tabela 4 apresenta a atribuição dos picos contidos nos espectros de FTIR *in situ* para oxidação eletroquímica do íon tiocianato em comparação com dados reportados na literatura para sistemas semelhantes.

Tabela 4 - Atribuição dos picos observados por FTIR *in situ* para oxidação eletroquímica do íon tiocianato em comparação com dados da literatura.

Vibração observada (cm ⁻¹)	Literatura (cm ⁻¹)	Atribuição
2060	2063 ⁹⁹ ; 2064 ⁸⁶	ν C $\equiv$ N no SCN ⁻
2130	2148-2174 ⁸⁶ ; 2133 ⁹⁹	ν C $\equiv$ N no (SCN) ₂
1110	1111 ⁸⁶	ν SO ₄ ²⁻
1200	1215 ⁸⁶	ν NO ₂ ⁻
1700-2000	1600-2000 ⁸⁶	ν H ₂ O

(ν = estiramento; δ = deformação)

Na Figura 13 estão apresentados os espectros de FTIR *in situ* coletados para o estudo da oxidação de tiocianato com o eletrodo de platina. A Figura 13a ilustra os espectros registrados antes da adição do SCN⁻, enquanto que a Figura 13b mostra os espectros coletados após adição dessa espécie eletroativa. Similarmente ao que foi constatado no estudo com o eletrodo de ouro, observou-se o aparecimento de dois picos de opostos, sendo um deles referente ao estiramento da ligação C $\equiv$ N no SCN⁻ e o outro associado a essa mesma ligação presente no tiocianogênio, formado via oxidação de tiocianato. Conforme Figura 13b, as mudanças espectrais são observadas no espectro coletado após 0,5 V, correspondente ao potencial de oxidação de SCN⁻ do tanto no ouro como na platina.

Figura 13 - FTIR *in situ*: espectros coletados de 0,1 a 0,9 V antes da adição de SCN^- (a) e após a adição de SCN^- (b). Espectros coletados em 0,4; 0,5 e 0,6 V em eletrólito contendo SCN^- destacando os picos em 2060 e 2130 cm^{-1} (c). Eletrólito: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . E / V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat.}}$. $\nu = 2 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrodo: platina.

A Figura 13c destaca o aparecimento do pico negativo em 2060 cm^{-1} referente ao consumo de SCN^- em solução e do pico inverso em 2130 cm^{-1} , atribuído à formação de tiocianogênio. Assim, os números de onda referentes às absorções verificadas no espectro coletado para o experimento com a platina corroboram os dados observados para o sistema empregando o eletrodo de ouro. Entretanto, em comparação com os resultados verificados para o eletrodo de ouro (Figura 12c), a absorção referente à formação de $(\text{SCN})_2$ apresenta maior intensidade quando comparada ao sistema empregando platina (Figura 13c). Esse aspecto pode ser relacionado ao fato de que em sistemas para oxidação eletroquímica de SCN^- em ouro ocorre adsorção, uma vez que tanto o enxofre quanto o nitrogênio terminais podem

ligar-se facilmente a superfície desse metal.^{85, 106} Por outro lado, quando se emprega o eletrodo de platina a formação de $(\text{SCN})_2$ ocorre sem a formação de intermediários devido à adsorção de SCN^- , conforme representado na Equação 7.⁸⁶ Dessa forma, pela técnica de FTIR *in situ* baseada na refletância especular, a absorção referente à formação de tiocianogênio no caso do eletrodo de ouro, é mais intensa em relação à platina.

Assim, utilizando técnica de FTIR *in situ* constatou-se que o tiocianogênio é o principal produto da oxidação do íon tiocianato em superfícies eletródicas de ouro e platina, isto é, a oxidação de SCN^- à $(\text{SCN})_2$ corresponde a etapa inicial para geração de outras moléculas a partir do tiocianato. A formação de $(\text{SCN})_2$ é relevante, uma vez que a hidrólise de oligômeros gerados a partir desse dímero pode resultar na formação de biomoléculas, objeto de interesse do estudo abordado neste trabalho.

Outro dado importante que pode ser obtido a partir do estudo de oxidação eletroquímica é o valor da energia necessária para formação do tiocianogênio por meio da oxidação SCN^- . Esse cálculo foi realizado utilizando a Equação 8 que relaciona a energia de com o potencial. Considerando que 0,5 V (*vs* Ag/AgCl/KCl_{sat}) é o potencial de oxidação via dois elétrons, a energia necessária para formação de $(\text{SCN})_2$ é cerca de 12,9 Kcal.

$$\Delta G = -n F \Delta E \quad (8)$$

De posse do sistema apresentado para simulação do ambiente pré-biótico e das análises preliminares envolvendo o NH_4SCN , iniciaram-se os experimentos de irradiação para estudo sobre a formação das primeiras moléculas simulando as condições de Terra primitiva. Inicialmente, partiu-se de sistemas contendo apenas tiocianato de amônio como composto precursor para formação de biomoléculas.

4.5 Irradiação do tiocianato de amônio em atmosfera inerte

Conforme descrito anteriormente, a presença do tiocianato de amônio na Terra primitiva é bem estabelecida pela comunidade científica. Assim, diante da possibilidade de formação de biomoléculas (como aminoácidos) a partir desse composto sob condições

pré-bióticas, realizaram-se experimentos empregando a radiação ultravioleta por diferentes períodos de tempo, utilizando o sistema composto pelos aparatos ilustrados na Figura 4. Seguindo o que foi proposto por Steinman *et al.*,⁷⁷ irradiou-se uma solução aquosa 0,1 mol L⁻¹ de tiocianato de amônio em atmosfera inerte por períodos de 3 e 24 horas. Após as irradiações, observou-se uma turvação nas suspensões obtidas em comparação com a solução de NH₄SCN precursora, conforme mostrado na Figura 14.

Figura 14 - Esquema para obtenção das amostras a partir da irradiação da solução aquosa de tiocianato de amônio 0,1 mol L⁻¹, seguida do processo de hidrólise.

Fonte: Autoria própria.

Conforme o esquema ilustrado na Figura 14, os produtos irradiados durante 3 e 24 horas foram submetidos ao processo de hidrólise em ácido clorídrico 6,0 mol L⁻¹ por 24 horas, com intuito de verificar se há formação de aminoácidos ou outras biomoléculas após os procedimentos de irradiação e hidrólise. Como controle, a hidrólise da solução precursora contendo tiocianato de amônio também foi realizada. O procedimento de hidrólise realizado em meio ácido promoveu o desaparecimento da turbidez presente nas suspensões. Em seguida, os produtos da hidrólise foram passados para fase sólida por meio da liofilização. Por fim, observa-se na Figura 14 que o hidrolisado de 3 horas correspondeu a uma substância branca e o de 24 horas a uma substância amarela, as quais foram caracterizadas e identificadas por FTIR e CLAE-DAD-EM. Em um trabalho que reporta experimentos semelhantes, Santana *et al.*⁷⁰ também obtiveram substâncias com essas colorações, mas não as identificaram.

É importante ressaltar que, inicialmente, visando confirmar se a formação da suspensão mostrada na Figura 14 foi promovida pela ação radiação ultravioleta, realizou-se um experimento com a solução de tiocianato de amônio sem irradiação (Experimento controle). Para isso, deixou-se a solução precursora contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN por um período de 24 horas nas mesmas condições experimentais descritas para o sistema irradiado, as quais incluíram a remoção do O_2 contido no ar pela passagem de gás argônio e a manutenção da temperatura na faixa entre 35 e 40°C. Ao final das 24 horas não se observou nenhuma mudança em relação à solução precursora, ou seja, não houve precipitação com formação de suspensão. Diante disso, constatou-se que as suspensões obtidas eram resultado da influência da radiação ultravioleta.

4.6 Análise dos hidrolisados por FTIR

4.6.1 Tiocianato de amônio hidrolisado

Para avaliar a geração dos compostos orgânicos a partir do tiocianato de amônio sob as condições anteriormente descritas, as amostras sólidas resultantes após a recuperação dos hidrolisados foram analisadas por espectroscopia vibracional na região do infravermelho no modo transmitância. Entretanto, antes da análise dos produtos da irradiação, empregou-se esta técnica para análise do composto precursor (NH_4SCN) antes e depois deste ter sido submetido a um processo de hidrólise, seguindo o mesmo procedimento adotado para hidrolisar os produtos das irradiações. Assim, a Figura 15 ilustra os espectros do tiocianato de amônio antes (linha preta) e após a hidrólise (linha laranja).

Figura 15 - Espectros de FTIR do tiocianato de amônio antes (linha preta) e após hidrólise (linha laranja), realizados no modo transmitância.

Conforme discutido anteriormente e considerando a Figura 15, o espectro do NH_4SCN (linha preta) apresenta uma banda larga entre 3700 e 2500 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação N-H do íon amônio,^{100, 101} na qual segundo dados da literatura comumente aparecem múltiplos picos (2860 , 3060 e 3149 cm^{-1})¹⁰¹ referentes às absorções desta ligação, os quais não estão evidentes devido à sobreposição com a banda da ligação O-H . Diferentemente, observou-se o aparecimento desses múltiplos picos no espectro do NH_4SCN hidrolisado (linha laranja), com absorções em 2800 , 3030 e 3130 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação N-H do íon amônio. A banda em 1400 cm^{-1} atribuída à deformação da ligação N-H do íon amônio foi mantida após hidrólise do tiocianato de amônio, Figura 15.

Considerando o pico referente ao estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ em 2063 cm^{-1} para o NH_4SCN , observa-se que após a hidrólise esta absorção aparece em um comprimento de onda muito menor, no caso 2000 cm^{-1} (espectro laranja). Entretanto, esse pico continua sendo característico do grupo isotiocianato,¹⁰⁰ e essa diferença na frequência de absorção provavelmente está relacionada às mudanças na estrutura do grupo promovidas pelo processo de hidrólise. Outra diferença significativa neste mesmo espectro comparado ao do NH_4SCN é o desaparecimento do pico em 1630 cm^{-1} e o surgimento de um pico absorção em 1750 cm^{-1} . Segundo dados da literatura essa absorção é característica da ligação C=O , associada à formação de carbonila após hidrólise da nitrila ($\text{C}\equiv\text{N}$).¹⁰⁰ Na região de menores frequências

observam-se dois picos não verificados no espectro do NH_4SCN antes da hidrólise (linha preta), um em 685 cm^{-1} e outro em 1065 cm^{-1} . Para determinar as ligações associadas a esses picos é importante se ter uma ideia do que ocorre durante a hidrólise do tiocianato de amônio. Assim, considerando a hidrólise deste composto em meio ácido, a descrição detalhada da rota referente a esse processo, proposta com base em mecanismos reportados na literatura¹⁰⁷ está ilustrada na Figura 16.

Figura 16 - Rota para hidrólise ácida do íon tiocianato (SCN^-).

Fonte: Adaptação de Carvalho, V. A. N. (2016) a partir de KATAYAMA, Y., 1992, p. 9175.

Baseado no mecanismo proposto por Katayama *et al.*, a hidrólise ácida do íon tiocianato leva a formação de uma estrutura que contém um grupo carboxílico e a perda da hidroxila resulta na forma $\text{S}=\text{C}=\text{O}$. Dessa forma, o grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) está presente no composto obtido após hidrólise, corroborando o pico de absorção que aparece no espectro do NH_4SCN hidrolisado em 1750 cm^{-1} (Figura 15, linha laranja). As absorções em 490 e

750 cm^{-1} observadas no espectro do NH_4SCN (Figura 15, linha preta) não apareceram no espectro do NH_4SCN hidrolisado, indicando que a ligação C-S da forma $\text{S}-\text{C}\equiv\text{N}^-$ não está presente após a hidrólise, aspecto que também corrobora o que foi observado no mecanismo devido à formação de $\text{S}=\text{C}$. Por outro lado, a absorção em 1065 cm^{-1} não corrobora a rota proposta, pois corresponde à vibração da ligação $\text{S}=\text{O}$,^{100, 102} grupo não observado no mecanismo representado para hidrólise do tiocianato. Contudo, a análise do tiocianato hidrolisado foi utilizada como suporte para análise dos hidrolisados provenientes dos experimentos de irradiação.

4.6.2 Produtos das irradiações hidrolisados

A Figura 17 corresponde aos espectros na região do infravermelho para as amostras provenientes das irradiações durante 3 e 24 horas e para o NH_4SCN , após terem sido submetidas ao processo de hidrólise. Para o hidrolisado de 3 horas (linha azul) e o hidrolisado de 24 horas (linha vermelha), os picos de absorção observados são condizentes com os picos presentes no espectro do NH_4SCN hidrolisado (linha laranja). Isso mostra que mesmo após irradiação, a solução contém o tiocianato em excesso. Assim, os resultados de FTIR evidenciam que as sínteses realizadas não levaram a formação de aminoácidos. Os espectros dos padrões de metionina e cisteína, por exemplo, possuem um perfil bem diferente e apresentam bandas características dessa classe de compostos, como o estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ do ácido carboxílico, geralmente entre 1700-1725 cm^{-1} .¹⁰⁰ No caso dos compostos obtidos a partir das irradiações e posterior hidrólise a absorção referente à carbonila aparece em 1750 cm^{-1} (Figura 17).

Figura 17 - Espectros de FTIR dos hidrolisados a partir das irradiações por 3 horas (linha azul) e 24 horas (linha vermelha) em comparação com o espectro para o NH_4SCN após hidrólise (linha laranja).

Analisando cada espectro individualmente, observa-se que o espectro do hidrolisado de 3 horas (linha azul) possui um perfil bem semelhante ao da substância precursora submetida à hidrólise. Todavia, verifica-se apenas no espectro do hidrolisado de 24 horas (linha vermelha) a absorção em 1630 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{N}$.^{70, 102} Essa absorção mostra que o hidrolisado de 24 horas provavelmente possui uma estrutura diferente em relação ao hidrolisado de 3 horas e, obviamente, ao NH_4SCN hidrolisado. Assim, vale ressaltar a importância do emprego técnicas de maior sensibilidade para um estudo mais aprofundado a cerca dos produtos resultantes das irradiações com tiocianato de amônio no intuito de verificar a formação de outras biomoléculas a partir desse composto.

4.7 Análise dos hidrolisados por CLAE-DAD-EM

Para uma investigação mais detalhada dos produtos resultantes da hidrólise, as amostras também foram analisadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM), Figura 18. Os produtos da hidrólise, obtidos a partir das irradiações realizadas em 3 e 24 horas, foram analisados em comparação com o NH_4SCN hidrolisado e com os padrões de aminoácidos sulfurados (cisteína e metionina). Na Figura 18a, a correlação entre os cromatogramas mostra uma diferença entre os tempos de retenção

(t_R) dos produtos formados a partir dos experimentos de irradiação por 3 horas ($t_R = 4,5$ min) e 24 horas ($t_{R1} = 4,0$ min e $t_{R2} = 4,5$ min), com relação aos tempos de retenção de 5,0 e 6,5 minutos observados para a cisteína e metionina, respectivamente. Para o tiocianato de amônio verifica-se o valor de $t_R = 4,5$ minutos, conforme cromatograma da Figura 18b (linha preta).

Figura 18 - Cromatogramas: **a)** Cisteína (linha verde), metionina (linha vermelha), hidrolisado da irradiação por 3 horas (linha azul) e irradiação por 24 horas (linha cinza). **b)** NH_4SCN hidrolisado (linha preta) e hidrolisado da irradiação por 3 horas (linha azul).

De acordo com a Figura 18b, observa-se o mesmo tempo de retenção para o NH_4SCN hidrolisado e para o irradiado por 3 horas, indicando por CLAE que esse período de irradiação não promoveu a formação de nenhum composto novo a partir do tiocianato de amônio nas condições empregadas. Retomando a Figura 18a, observa-se que o cromatograma obtido para o hidrolisado de 24 horas exibe dois picos (linha cinza). Nesse cromatograma, o pico mais intenso exibe o mesmo tempo de retenção em relação ao NH_4SCN hidrolisado ($t_R = 4,5$ min), entretanto, o pico menos intenso em 4,0 minutos corresponde a outros compostos formados a partir da substância precursora. De acordo com os dados da espectrometria de massas, o espectro da amostra de 24 horas para esse tempo de retenção ($t_R = 4,0$ min) é bem diferente do espectro do NH_4SCN hidrolisado em termos de alguns sinais m/z observados, conforme será discutido com detalhes adiante.

Os espectros de massas dos hidrolisados corroboraram os dados observados nos cromatogramas, uma vez que os sinais observados para os hidrolisados não corresponderam aos obtidos para os padrões de aminoácidos em m/z 122 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cisteína) e m/z 150 $[\text{M}+\text{H}]^+$

(metionina), conforme mostrado na Figura 19. Além desses picos referentes aos íons moleculares dos padrões, sinais de fragmentação correspondentes à perda dos grupos hidroxila e carboxílico são observados em m/z 105 e 75,9 para cisteína e m/z 133,1 e 104,0 para metionina (Figuras 19a e 19b). Estes dados estão em concordância com a proposta de fragmentação relatada por Hunt *et al.*¹⁰⁸, na qual foram reportados esses mesmos sinais m/z .

Figura 19 - Espectros de massas: **a)** Cisteína. **b)** Metionina. **c)** NH_4SCN hidrolisado. **d)** Hidrolisado da irradiação por 3 horas. **e)** Hidrolisado da irradiação por 24 horas.

Analisando individualmente os espectros de massas dos hidrolisados para os tempos de retenção de 4,5 minutos, verifica-se que os sinais m/z nos espectros das amostras obtidas a partir das irradiações por 3 e 24 horas (Figuras 19d e 19e) também aparecem no espectro do NH_4SCN hidrolisado (Figura 19c). Isso indica que houve tiocianato remanescente em solução após a irradiação e, mesmo que durante esses tempos de irradiação suspensões tenham sido formadas, têm-se apenas modificações referentes à hidrólise do tiocianato. Alguns mecanismos relacionados à hidrólise NH_4SCN nas condições experimentais empregadas foram considerados, como mostrado na Figura 16. No entanto, nenhum dos possíveis compostos resolvidos corroborou os dados observados experimentalmente pela análise de espectrometria de massas (picos m/z), Figura 19c.

Por outro lado, o espectro de massas do hidrolisado de 24 horas referente ao pico em 4,0 minutos apresentou sinais m/z que não apareceram no espectro do tiocianato de amônio. Esses sinais não correspondem a sinais de fragmentação de aminoácidos sulfurados (Figuras 19a e 19b), descartando a formação desses compostos a partir da irradiação de uma solução aquosa de tiocianato de amônio nas condições empregadas e, subsequente hidrólise, conforme reportado na literatura.⁷⁷ Entretanto, identificou-se a formação de bases nitrogenadas por meio dos resultados de CLAE-DAD-EM para o hidrolisado de 24 horas, os quais serão detalhados a seguir.

4.8 Formação de bases nitrogenadas

Para melhor visualização dos picos com tempos de retenção em 4,0 e 4,5 minutos, o cromatograma para o hidrolisado de 24 horas da Figura 18a está apresentado na Figura 20a. Conforme discutido anteriormente, o pico de maior intensidade ($t_R = 4,5$ min) está associado a presença de tiocianato remanescente em solução mesmo após a irradiação, uma vez que os sinais m/z no espectro de massas do hidrolisado de 24 horas coincidem com os observados para o tiocianato hidrolisado. No entanto, o pico de menor intensidade ($t_R = 4,0$ min) originou um espectro de massas diferente em relação ao espectro observado para o composto precursor, Figura 20b.

Figura 20 - a) Cromatograma do hidrolisado da irradiação por 24 horas. b) Espectro de massas referente ao pico com tempo de retenção em 4,0 minutos.

Após análise do espectro de massas mostrado na Figura 20b e baseando-se em dados da literatura,¹⁰⁹ considera-se a formação de bases nitrogenadas a partir da irradiação da solução de tiocianato de amônio por 24 horas e subsequente processo de hidrólise. Os sinais m/z em 96,9 $[M+H]^+$, 111 $[M+H]^+$, 121 $[M+H]^+$ e 139,1 $[M+3H]^+$ observados no espectro da Figura 20b correspondem a 4-(3H)-pirimidinona, citosina, purina e adenina, respectivamente. A estrutura molecular desses compostos está representada na Figura 21.

Figura 21 - Estruturas moleculares dos compostos identificados por meio da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM) para o hidrolisado de 24 horas.

Fonte: Autoria própria.

Os mesmos sinais m/z verificados no espectro de massas da Figura 20b, incluindo outro sinal em 136 $[M+H]^+$ referente a adenina, foram reportados por Shanker *et al.* em um estudo de química pré-biótica, no qual os autores mostraram a formação de bases nitrogenadas a partir da formamida na presença de óxido de ferro, utilizado como catalisador.¹⁰⁹ Para isso, a formamida foi submetida a aquecimento numa faixa de temperatura entre 100 a 160 °C durante períodos de tempo variando de 12 a 96 horas na presença do óxido de ferro. Após as análises por cromatografia líquida (HPLC) e espectrometria de massa (ESI-MS), os autores observaram que os produtos foram sendo formados gradualmente após 12 horas, e que a concentração dos mesmos se tornou constante após 48 horas. Os principais produtos por eles identificados foram a purina, purina 9-(hidroxiacetil), 4-(3H)-pirimidinona, citosina e adenina.¹⁰⁹

Comparativamente ao trabalho supracitado, o estudo apresentado neste trabalho parte de um princípio completamente diferente, uma vez que foi fundamentado na irradiação de uma solução contendo NH_4SCN , empregando radiação UV. Seguindo essa linha de raciocínio, seria mais plausível considerar a formação de bases nitrogenadas a partir do cianeto de hidrogênio que pode ser gerado durante o processo de irradiação do tiocianato. Conforme citado na introdução desse trabalho, o HCN é considerado um dos principais precursores para síntese de purinas e pirimidinas,^{22, 24, 49, 50, 53} classes nas quais as bases nitrogenadas estão subdivididas. A síntese de adenina e purina a partir do HCN foi primeiramente demonstrada por Oro e Kimbal,⁴⁹ em que as bases foram por meio da condensação do cianeto de hidrogênio. No entanto, aqui a formação das bases nitrogenadas certamente está associada à influência da radiação ultravioleta. Considerando mecanismos

reportados na literatura, a formação de adenina sob a influência da radiação UV ocorre conforme apresentado na Figura 22.

Figura 22 - Mecanismo de síntese da adenina a partir do cianeto de hidrogênio e da radiação ultravioleta.

Fonte: Adaptação de Carvalho, V. A. N. (2016) a partir de FERRIS, J. P., 1978, p. 294.

No geral, a síntese de purinas e pirimidinas se baseia na oligomerização do cianeto de hidrogênio.^{10, 49-51, 53} De acordo com o mecanismo da Figura 22, a primeira etapa para síntese da adenina corresponde à formação da iminonitrila a partir da dimerização do HCN.⁵³ Em seguida, essa espécie forma um tetrâmero, a diaminomaleonitrila, podendo apresentar-se nas formas *cis* e *trans*. Por meio da radiação ultravioleta a diaminomaleonitrila é convertida no composto cíclico 4-aminoimidazol-5-carbonitrila. Por fim, a 4-aminoimidazol-5-carbonitrila reage com HCN formando a adenina.⁵³ Esse mecanismo descrito para síntese de adenina, provavelmente corresponde também a via de formação da purina, uma vez que esse composto possui estrutura semelhante a da adenina (Figura 21), diferindo apenas pela ausência do grupo NH_2 .

Ainda seguindo o mecanismo proposto, constatou-se que a formação da adenina e da purina provavelmente não estava associada ao processo de hidrólise. Vale resaltar que se tratando da formação de biopolímeros a partir oligomerização de cianeto de hidrogênio, o processo de hidrólise geralmente desempenha um importante papel na formação das bases nitrogenadas em questão, principalmente pela quebra dos oligômeros resultantes da polimerização. Entretanto, para o sistema pré-biótico em questão o processo de hidrólise deve tido maior influência na formação dos compostos carbonilados, no caso a

4-(3H)-pirimidinona e citosina, representadas na Figura 21. Para avaliar esse fato, realizou-se o mesmo experimento de CLAE-DAD-EM para a amostra proveniente da suspensão obtida após irradiação, desconsiderando o processo de hidrólise.

4.9 Análise da suspensão resultante da irradiação por 24 horas

A Figura 23 ilustra o espectro de massas da amostra obtida a partir suspensão resultante da irradiação por 24 horas, a qual não foi submetida à hidrólise. Para isso, liofilizou-se uma fração da suspensão e a amostra sólida obtida foi analisada por CLAE-DAD-EM.

Figura 23 - a) Espectro de massas da amostra proveniente da suspensão obtida após irradiação da solução de NH_4SCN $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por 24 horas. **b)** Estruturas moleculares da 4-(3H)-Pirimidinona e da Citosina.

Analisando o espectro de massas da Figura 23a, não se observa o sinal m/z 96,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ referente ao composto 4-(3H)-pirimidinona, observado no espectro de massas do hidrolisado de 24 horas (Figura 20b). Outro detalhe importante no espectro da Figura 23a está relacionado à formação da citosina mesmo sem o processo de hidrólise, confirmado pelo sinal em m/z 110,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Em relação à adenina, não se obteve o sinal em m/z 139 $[\text{M}+3\text{H}]^+$ como no espectro da Figura 20b, entretanto, o sinal em m/z 136,9 no espectro da Figura 23a é correspondente a esse composto protonado na forma $[\text{M}+2\text{H}]^+$. Por outro lado, não se verificou a formação da purina (m/z 121 $[\text{M}+\text{H}]^+$) somente com o procedimento de irradiação da solução de tiocianato de amônio, uma vez que o sinal m/z referente a esse composto não

apareceu no espectro de massas da amostra não hidrolisada. Dessa forma, constatou-se que o processo de hidrólise desempenha um papel fundamental na formação das bases nitrogenadas a partir do HCN, corroborando alguns trabalhos da literatura em que as sínteses pré-bióticas de purinas e pirimidinas são acompanhadas da hidrólise.^{53, 110}

A análise do produto irradiado por 24 horas não submetido do processo de hidrólise forneceu informações importantes a cerca da formação das bases nitrogenadas. Diante desses aspectos, decidiu-se analisar os produtos irradiados sem submetê-los a esse processo.

4.10 Análise dos irradiados não submetidos à hidrólise

O esquema da Figura 24 mostra que parte da suspensão resultante da irradiação não submetida à hidrólise foi separada em precipitado e sobrenadante, os quais também analisados conforme será detalhado adiante.

Figura 24 - Esquema para obtenção das amostras a partir da irradiação de soluções de tiocianato de amônio 0,1 mol L⁻¹. Sobrenadante e precipitado (não hidrolisados).

Fonte: Autoria própria.

4.10.1 Análise dos precipitados por FTIR e DRX

Após obtenção dos precipitados e sobrenadantes, iniciaram-se as caracterizações no intuito de determinar a composição do precipitado formado por influência da radiação ultravioleta e elucidar o que de fato ocorreu quando as soluções de tiocianato foram irradiadas. Os precipitados obtidos foram colocados em um papel de filtro e lavados a quente

com água de qualidade Milli-Q na temperatura de 40°C para remoção do excesso de tiocianato. Esse procedimento foi realizado empregando o processo de filtração sob vácuo. Após sucessivas lavagens, mantiveram-se os precipitados hermeticamente em um dessecador contendo sílica como agente de secagem. Esse procedimento foi realizado para os produtos provenientes de irradiações por períodos de tempo de 3, 6, 12 e 24 horas, os quais foram analisados por FTIR conforme Figura 25. Os tempos de 6 e 12 horas foram inclusos para uma avaliação da influência do período de irradiação na quantidade de precipitado formado.

Figura 25 - FTIR: a) Espectros dos precipitados dos experimentos de irradiação por 3 horas (linha preta), 6 horas (linha vermelha), 12 horas (linha verde) e 24 horas (linha azul). **b)** 24 horas (linha azul) e enxofre padrão (linha laranja).

De acordo com a Figura 25, os espectros de infravermelho para os precipitados obtidos após irradiação por períodos de tempo variando de 3 a 24 horas apresentam uma absorção de baixa intensidade em 471 cm⁻¹ (Figura 25a), característica de uma vibração de deformação axial da ligação S-S, dissulfeto.¹¹¹ Esse resultado evidencia que o tiocianato de amônio se decompõe pela influência radiação UV, levando a formação de enxofre coloidal. Para comparação, o enxofre padrão também foi submetido à análise por FTIR, conforme mostrado na Figura 25b. Considerando o espectro obtido para o padrão (linha azul), observa-se um pico de absorção no mesmo número de onda constatado para os precipitados, 471 cm⁻¹. Além da técnica de FTIR, por difração de raios X (Figura 26a) também se observa que os perfis cristalográficos dos precipitados resultantes das irradiações durante 3 e 24 horas são semelhantes ao do enxofre padrão, revelando que se tratavam de materiais com mesma fase

cristalográfica. Além disso, esses difratogramas corroboram dados de difração para um padrão de enxofre reportado na literatura.¹¹²

A fase cristalográfica do enxofre formado foi identificada utilizando um banco de dados do *Crystallographica Search-Match* como referência. Conforme Figura 26b, o difratograma do irradiado por 24 horas corroborou os dados da ficha cristalográfica com numeração 8-247 (*alpha-Sulfur*), correspondente ao enxofre de estrutura ortorrômbica (S_8). Portanto, o enxofre resultante das irradiações nos demais tempos também apresenta essa mesma estrutura cristalina.

Figura 26 - Difratogramas: **a)** Enxofre padrão (linha preta), irradiado por 3 horas (linha vermelha) e irradiado por 24 horas (linha azul). **b)** Irradiado 24 horas (linha azul) e ficha cristalográfica 8-247 *alpha-Sulfur* (linha cinza).

Assim, os resultados de FTIR juntamente com os de DRX confirmaram que o emprego da radiação ultravioleta na solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN resulta na formação de enxofre coloidal, considerando o intervalo de tempo de irradiação de 3 a 24 horas de irradiação. Tendo em vista isso, realizou-se uma avaliação em termos de rendimento correlacionando a quantidade de precipitado formado com o tempo de irradiação, conforme os dados da Tabela 5.

Tabela 5 - Valores das massas em gramas da quantidade de enxofre formado em função do tempo de irradiação.

Tempo de irradiação (horas)	Massa de enxofre após irradiação (gramas)	Rendimento da formação de enxofre (%)
3	0,0262	0,82
6	0,0370	1,15
12	0,0465	1,45
24	0,0598	1,87

Para obtenção dos dados da Tabela 5, 75 mL de uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN foram empregados em cada experimento de irradiação, seguindo os tempos em questão. Em seguida, os precipitados obtidos foram lavados e secos seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. De acordo com os valores de massa da Tabela 5, verifica-se que o tempo de irradiação influenciou apenas no aumento da quantidade de enxofre formado, uma vez que por DRX constatou-se que os precipitados obtidos a partir das irradiações no menor e maior tempo empregados resultaram na formação desse composto. Além disso, considerando a massa de enxofre em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ do íon tiocianato contida nos 75 mL da solução, verificou-se que a massa do precipitado formado correspondeu a menos de 2% mesmo para a irradiação durante 24 horas. Isso significa que apenas uma pequena quantidade do enxofre no íon tiocianato foi convertida a enxofre na forma ortorrômbica, ou seja, ainda restou muito tiocianato remanescente em solução (sobrenadante) mesmo após a irradiação, conforme observado nos resultados de FTIR e CLAE-DAD-EM para os hidrolisados.

4.10.2 Análise dos sobrenadantes por UV-VIS

Após análise dos precipitados, os sobrenadantes provenientes das irradiações nos diferentes tempos foram submetidos a análise por espectroscopia na região do UV-VIS. A Figura 27 mostra espectros de UV-VIS registrados no modo absorbância para a solução aquosa precursora de NH_4SCN e para os sobrenadantes obtidos após as irradiações em diferentes períodos de tempo.

Figura 27 - Espectros de UV-VIS do NH_4SCN (linha tracejada) e dos sobrenadantes resultantes das irradiações por 3 horas (linha verde), 6 horas (linha vermelha), 12 horas (linha azul) e 24 horas (linha laranja).

Os espectros de UV-VIS foram registrados na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. Entretanto, não se verificou nenhuma banda de absorção na região do visível. Dessa forma, os espectros da Figura 27 mostram apenas a região compreendida entre 200 e 300 nm, na qual se observa uma banda de absorção na região do UV em 220 nm tanto para a solução precursora contendo apenas tiocianato de amônio antes da irradiação e quanto para os sobrenadantes obtidos a partir da irradiação dessa solução por diferentes períodos de tempo. Para determinar qual transição está associada a essa absorção é importante considerar as duas formas isoméricas do íon tiocianato apresentadas anteriormente. Entretanto, cabe ressaltar que a forma na qual a carga negativa situa-se no enxofre ($\text{S}^-\text{C}\equiv\text{N}$) é a mais abundante em uma solução aquosa de tiocianato.⁷⁵

Em moléculas saturadas contendo átomos com elétrons não ligantes, como é o caso do nitrogênio e enxofre, transições $n \rightarrow \sigma^*$ tornam-se importantes.¹⁰⁰ Tióis e sulfetos geralmente absorvem entre 200 e 220 nm, enquanto que a absorção do cromóforo $R-C\equiv N$ com transição $n \rightarrow \pi^*$ ocorre abaixo de 200 nm, com λ em torno de 160 nm, região não contemplada no espectro devido a limitações da técnica empregada.¹⁰⁰ Dessa forma, a absorção em 220 nm observada nos espectros da Figura 27 corresponde a transições do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ envolvendo elétrons não ligantes. Observa-se uma diminuição sutil da banda de absorção (220 nm) em função do aumento do tempo de irradiação. Como a absorção neste comprimento de onda está associada ao enxofre no grupo $[SCN]^-$, à medida que o S_8 vai sendo formado durante a irradiação, a concentração do íon tiocianato vai diminuído e, conseqüentemente, a banda de absorção diminui no espectro de UV-VIS. A sutileza na diferença da absorção entre os tempos pode ser explicada com base nos dados da Tabela 5, visto que a quantidade de S_8 é pequena, principalmente quando se compara o espectro para o sobrenadante resultante da irradiação de 3 horas (linha verde) com o do NH_4SCN (linha tracejada).

Considerando os resultados de DRX e UV-VIS, a irradiação UV da solução aquosa contendo íons tiocianato e amônio (Equação 9) promoveu a formação de enxofre coloidal de acordo com a reação apresentada na Equação 10.

Conforme Equação 10, durante o processo de decomposição do íon tiocianato foram produzidos íons cianeto e enxofre na estrutura ortorrômbica. A análise do pH das suspensões obtidas mostrou que houve um consumo de prótons (H^+) durante as irradiações. Considerando, por exemplo, o tempo de 24 horas verificou-se uma variação significativa no pH do meio, o qual passou de 6,7 para 8,2 após irradiação. Vale ressaltar que essa mudança é resultado do processo de irradiação, uma vez que para o experimento controle (ausência de irradiação) não houve mudança no pH após 24 horas. Dessa forma, os íons cianeto formados durante a decomposição do SCN^- (Equação 10), juntamente com os prótons liberados a partir do NH_4^+ seriam responsáveis pela formação do cianeto de hidrogênio. Assim, o cianeto de hidrogênio (HCN) é o composto precursor para as bases nitrogenadas obtidas neste trabalho, contrapondo uma possível rota via $(SCN)_2$ que estava prevista pelo estudo de FTIR *in situ*.

Contudo, deve-se considerar que em solução aquosa o tiocianato de amônio pode seguir o equilíbrio representado pela Equação 11, onde o ácido tiociânico formado (HNCS) também está em equilíbrio com seu tautômero, o ácido isotiociânico (HNCS).⁷⁵

Considerando a Equação 11, o cianeto de hidrogênio (HCN) também pode ser formado pela radiação ultravioleta no ácido isotiociânico. Contudo, a formação das bases nitrogenadas confirmada pela espectrometria de massas pode ser fundamentada no HCN como substância precursora, obtida durante a irradiação de soluções aquosas de tiocianato de amônio 0,1 mol L⁻¹. Por outro lado, de acordo com os resultados apresentados para as irradiações dessas soluções nas condições experimentais empregadas, não se obteve a metionina como reportado por Steinman e colaboradores.⁷⁷ A formação desse aminoácido também não foi confirmada em experimentos semelhantes reportados na literatura.^{43, 70} Dessa forma, a síntese de metionina ou de outros aminoácidos somente a partir do tiocianato de amônio não parece ser muito plausível. Neste contexto, a introdução de outro reagente (metano) no sistema contendo tiocianato de amônio foi considerada visando à síntese de aminoácidos.

4.11 Irradiação do tiocianato de amônio em atmosfera redutora (metano)

Uma das principais rotas para formação de aminoácidos é baseada na síntese de Strecker.^{46, 48} O mecanismo para esta síntese inicia-se a partir da reação entre amônia e um aldeído, por exemplo, o formaldeído (H₂CO) empregado nas sínteses pré-bióticas realizadas por Herrera.^{74, 75} Assim, adotou-se uma nova estratégia visando à formação aminoácidos a partir da irradiação de NH₄SCN, correspondente a inserção do metano no meio reacional. Considerando as condições apresentadas no modelo de Terra primitiva mostrado na Figura 3, uma das primeiras etapas do mecanismo de síntese é baseada na reação entre o metano e água para formação do formaldeído (Equação 12). Em seguida, seguindo a síntese de Strecker, o H₂CO reage com NH₃ para formar um intermediário imina e o cianeto de hidrogênio é adicionado para formar uma aminonitrila (Equação 13). O HCN pode ser obtido por meio da irradiação do ácido tiociânico,¹¹³ ácido comumente formado em soluções aquosas contendo NH₄SCN.^{75, 113} Além disso, com base nos resultados obtidos para as irradiações com o tiocianato de amônio, a formação do enxofre coloidal libera íons cianeto (CN⁻) de acordo com

a reação da Equação 10. Por fim, a hidrólise ácida do grupo nitrila presente na aminonitrila resulta em uma carbonila de ácido carboxílico, levando a formação do aminoácido de estrutura mais simples, a glicina (Equação 14).

As reações apresentadas correspondem ao mecanismo descrito de forma resumida, o qual serviu de base para realização do experimento de irradiação do NH_4SCN na presença de CH_4 visando à síntese de glicina. A Figura 28 contempla todas as etapas do mecanismo para formação do aminoácido com base nas Equações 13 e 14 e nos mecanismos reportados na literatura,⁴⁸ levando em consideração o modelo de Terra primitiva proposto na Figura 3 (introdução).

A primeira etapa do mecanismo, não apresentada na Figura 28, está relacionada à ocorrência de radiações radiculares promovidas pela irradiação UV, resultando no formaldeído. Para isso, radicais $\bullet\text{CH}_3$ são formados a partir do metano e radicais $\bullet\text{OH}$ a partir da água. A união desses radicais resulta em metanol (CH_3OH), o qual atua como intermediário para formação do produto final, no caso o formaldeído.^{65, 114}

A segunda etapa do mecanismo (Figura 28) corresponde à formação da aminonitrila por meio da reação entre o formaldeído e amônia, na qual ocorre a formação de uma imina que sofre uma adição nucleofílica do grupo nitrila. Na terceira etapa, corresponde ao processo de hidrólise, no qual o ácido promove a protonação do nitrogênio da nitrila. Em seguida, a molécula de água ataca o carbono desse grupo ao invés do outro carbono presente na aminonitrila. Como o nitrogênio atua como uma base mais forte que o oxigênio, este perde um próton enquanto que o nitrogênio recebe, originando uma amida protonada. Por fim, a amida é hidrolisada a ácido carboxílico resultando no aminoácido glicina.

Diante do contexto apresentado, irradiou-se uma solução aquosa de tiocianato de amônio, na qual o gás metano foi mantido em fluxo por um período de 24 horas utilizando o sistema mostrado na Figura 4. Conforme mencionado na seção experimental e com base na etapa III do mecanismo apresentado na Figura 28, o produto proveniente da irradiação foi hidrolisado em meio ácido e, em seguida, submetido à análise por meio da espectroscopia vibracional na região do infravermelho. A Figura 29 apresenta o espectro de FTIR do hidrolisado resultante da irradiação da solução NH_4SCN com CH_4 .

Figura 29 - Espectro de FTIR do hidrolisado a partir do experimento de irradiação da solução de NH_4SCN na presença de CH_4 (linha azul).

Considerando o espectro de FTIR da Figura 29, as absorções observadas não são características de aminoácidos. O perfil do espectro do hidrolisado apresentado na Figura 29 é muito semelhante ao do espectro do NH_4SCN hidrolisado mostrado na Figura 15 (linha laranja), além disso, observou-se que as absorções presentes nesses dois espectros são idênticas quando se comparou os mesmos. Entretanto, quando os produtos da irradiação dos sistemas contendo apenas NH_4SCN foram analisados empregando a espectrometria de massas, informações relevantes foram obtidas a cerca da formação de bases nitrogenadas. Nesse contexto, amostra hidrolisada proveniente da irradiação com metano foi então submetida à análise por CLAE-DAD-EM. O espectro de massas obtido para essa amostra não apresentou sinais m/z referentes a aminoácidos, entretanto, apresentou sinais referentes à formação bases nitrogenadas anteriormente verificadas para a irradiação de NH_4SCN em

atmosfera inerte. Portanto, o gás utilizado não teve influência nessa síntese conforme o mecanismo proposto na Figura 28. Assim, aminoácidos não foram gerados a partir da irradiação da solução de NH_4SCN por um período de 24 horas, mesmo na presença de metano.

Considerando os experimentos realizados por Herrera e reproduzidos por Perezgasga, a inserção de um aldeído (exemplo, H_2CO) ao meio contendo NH_4SCN seria mais consistente para as sínteses de aminoácidos (glicina, cisteína, metionina, etc.).⁷⁵ No entanto, o diferencial da estratégia empregada nesta etapa do trabalho correspondeu a realização destas sínteses a partir de uma proposta ainda não reportada na literatura, em que o composto aldeído poderia ser formado no meio reacional para estabelecer o mecanismo de geração de aminoácidos via síntese de Strecker. Entretanto, conforme resultados obtidos isso não foi observado experimentalmente.

4.12 Irradiação do tiocianato de amônio na presença do óxido de titânio

Dentre os vários semicondutores existentes, optou-se pelo óxido de titânio (TiO_2) para os experimentos de irradiação na presença de um catalisador. Além de se tratar de um catalisador modelo com desempenho melhor do que os catalisadores de platina em alguns casos, apresentar estabilidade em uma ampla faixa de valores de pH,^{115, 116} o TiO_2 absorve luz na região do ultravioleta,¹¹⁷ radiação predominante no período pré-biótico. Os óxidos são em geral materiais semicondutores, no quais a estrutura de bandas é constituída por uma banda valência preenchida por elétrons e uma banda de condução com níveis de energia desocupados. Entre estas bandas existe um espaçamento que corresponde a uma diferença de energia, comumente chamada de energia do *band gap*. Essa diferença está relacionada à quantidade de energia mínima necessária para que o elétron seja transferido para banda de condução, tornando-se livre.¹¹⁸ Dessa forma, quando um semicondutor é irradiado por fótons com energia superior ou igual ao seu *gap*, elétrons são promovidos para banda de condução, deixando na banda de valência portadores de carga positiva denominados de buracos. No caso particular do óxido de titânio o valor dessa energia é de 3,2 eV.¹¹⁹

Assim, quando o óxido de titânio é irradiado com energia suficiente para geração de pares elétron/buraco, a formação de radicais $\bullet\text{OH}$ é proporcionada pelo processo de oxidação da molécula de água. De maneira análoga ao que foi descrito anteriormente, os radicais hidroxilas reagiriam com os radicais $\bullet\text{CH}_3$ provenientes da irradiação do metano, levando a

formação de metanol. Em seguida o metanol formado pode ser oxidado a formaldeído ainda devido à presença do semicondutor. Baseando-se em reações catalisadas por semicondutores reportadas na literatura,^{114, 120, 121} as reações representadas pelas Equações 15, 16 e 17 descrevem as etapas da formação do formaldeído esperadas para o sistema pré-biótico em questão.

As reações apresentadas serviram de suporte para os experimentos de irradiação visando avaliar a influência do semicondutor de TiO_2 na formação do formaldeído ou de outros intermediários de reação como o metanol e, conseqüentemente, fornecer elementos para confirmar se esse tipo de material desempenha um papel semelhante ao das rochas que contribuíram para as sínteses pré-bióticas, principalmente atuando como catalisadores. Para realização desses experimentos, nanopartículas de óxido de titânio ($\varnothing \sim 21 \text{ nm}$) foram adicionadas a solução aquosa de tiocianato de amônio e o metano foi mantido em fluxo no sistema. Entretanto, a única diferença em termos das condições anteriormente empregadas para os sistemas irradiados correspondeu ao aumento do tempo de irradiação para 72 horas.

Tendo em vista essa mudança no tempo, inicialmente, realizou-se a irradiação do tiocianato de amônio na ausência do semicondutor e do metano durante 72 horas para avaliar se o precipitado obtido por meio desse procedimento continuava sendo somente o enxofre coloidal, conforme verificado para irradiações em tempos de até 24 horas. Assim, o precipitado obtido a partir da irradiação de 75 mL de NH_4SCN $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi lavado e seco seguindo o mesmo protocolo anteriormente descrito e, em seguida, analisado por difração de raios X (Figura 30).

Figura 30 - Difratomogramas: Irradiado 72 horas (linha verde) e ficha cristalográfica 8-247 *alpha-Sulfur* (linha cinza).

Na Figura 30, comparando-se o difratograma obtido para o precipitado proveniente da irradiação por 72 horas (linha verde) com o difratograma referente à ficha cristalográfica do enxofre ortorrômbico (linha cinza) fica evidente a formação desse composto, mesmo com o aumento do tempo de síntese. Nesse caso, obteve-se uma massa de 0,1578 g para o precipitado, indicando que a quantidade de enxofre formado aumentou consideravelmente em relação ao valor de 0,0598 g obtido para irradiação em 24 horas. Por meio de um gráfico das massas dos precipitados obtidos em função dos tempos de irradiação empregados (Tabela 5), observa-se que a quantidade de enxofre (S_8) aumenta linearmente com o tempo (Figura 31).

Figura 31 - Ajuste linear da massa dos precipitados em função do tempo de irradiação.

Após o experimento de irradiação somente com o tiocianato de amônio, realizou-se o experimento contendo óxido de titânio e metano. Para este experimento, 150 mg de nanopartículas de TiO_2 foram adicionados a solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4SCN . Em seguida, o sistema contendo as nanopartículas foi irradiado por 72 horas sob as mesmas condições descritas para os experimentos anteriores em que o CH_4 foi mantido em fluxo. Após esse procedimento separou-se por centrifugação o precipitado, contendo TiO_2 e o enxofre, do sobrenadante. Posteriormente, analisou-se parte desse sobrenadante retirado da amostra irradiada por cromatografia gasosa, conforme cromatograma ilustrado na Figura 32.

Figura 32 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio, metano e óxido de titânio.

Por cromatografia gasosa, foi possível determinar e quantificar o metanol presente no sobrenadante proveniente da irradiação. Primeiramente, injetou-se $1 \mu\text{L}$ do sobrenadante e após a corrida cromatográfica foram destacados quatro picos, conforme cromatograma da Figura 32. Os picos em destaque corresponderam aos tempos de retenção de 2,7; 11,1; 15,3 e 25,5 minutos. Dentre estes, o tempo de retenção de 2,7 é devido à presença do metanol na amostra analisada. Após a determinação desse composto, construiu-se uma curva de calibração com intuito de quantificação. Para construção dessa curva empregou-se o metanol de alta pureza (CH_3OH , Pancreac 99,9%) em concentrações conhecidas de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0%. De posse dessas soluções, foram realizadas injeções em triplicata para cada uma das concentrações, cujas áreas resultantes da integração dos picos estão apresentadas na Tabela 6. Vale ressaltar que utilizando as soluções contendo metanol de alta pureza, os tempos de retenção para as análises cromatográficas também foram de aproximadamente 2,7

minutos (dados não mostrados), assim como observado para a amostra proveniente da irradiação.

Tabela 6 - Valores das áreas integradas dos picos cromatográficos referentes ao metanol.

Concentração (%)	Área 1	Área 2	Área 3
0,5	706712	697607	697490
1,0	1341618	1315142	1334283
1,5	2262191	2489303	2489770
2,0	3457111	3491480	3585033
2,5	4246362	4290062	4009602
3,0	5145828	5174750	5166370

A partir dos dados da Tabela 6, obteve-se o gráfico da concentração em função dos valores das áreas (Figura 33), sendo que os valores apresentados no eixo y correspondem à média das três áreas, uma vez que os experimentos foram realizados em triplicata. Além disso, o desvio padrão também foi considerado. Os valores de média e desvio padrão foram obtidos utilizando o programa Origin[®] 8.0.

Figura 33 - Curva de calibração com as concentrações de metanol em função das áreas resultantes da integração dos picos cromatográficos.

Considerando o gráfico da Figura 33, aplicou-se a ferramenta *linear fit* do programa Origin selecionando a interseção em zero. Assim, constatou-se que o gráfico da concentração em função das áreas obtidas pela integração dos picos apresentou um perfil linear, portanto, segue a equação da reta $y = ax + b$. Nesta equação **y** corresponde à área, **a** é o coeficiente angular, **x** é a concentração e **b** o intercepto, no caso fixado em 0. O valor de **y** foi obtido a partir das áreas observadas nos cromatogramas da amostra, ou seja, as análises do sobrenadante também foram realizadas em triplicata. Relacionando-se a razão entre a média das áreas obtidas para amostra e o coeficiente angular obtido pela curva de calibração, obteve-se a concentração de metanol no sobrenadante resultante da irradiação, correspondente a 0,13%.

Esses resultados de determinação e quantificação do metanol no sobrenadante resultante da irradiação da solução contendo NH_4SCN , CH_4 e TiO_2 , mostraram que a presença do catalisador proporcionou a formação do CH_3OH de acordo com os mecanismos descritos pelas Equações 15 e 16. Entretanto, para confirmar se a presença do catalisador teve influência na formação do CH_3OH , realizou-se um experimento de irradiação por 72 horas com NH_4SCN e CH_4 na ausência do TiO_2 . Em seguida, o sobrenadante resultante dessa irradiação também foi analisado por CG empregando-se as mesmas condições e parâmetros utilizados anteriormente. O cromatograma obtido está ilustrado na Figura 34.

Figura 34 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio e metano.

De acordo com a Figura 34, O cromatograma não apresenta pico no tempo de retenção referente ao metanol (~ 2,7 minutos). Além disso, observam-se picos nos mesmos tempos de retenção verificados no cromatograma obtido para o experimento contendo TiO_2 , incluindo um pico em 4,5 minutos que também aparece no cromatograma da Figura 27. Portanto, esse resultado comprova que o óxido de titânio inserido no sistema catalisou a reação de oxidação da água para formação de radicais hidroxilas, proporcionando a formação do metanol. Dessa forma, os catalisadores em sistemas sob condições pré-bióticas podem desempenhar um papel fundamental na formação de compostos, mesmo que estes sejam apenas intermediários ou reagentes precursores para a síntese de biomoléculas. Além disso, esse resultado fundamenta ainda mais a ideia de que os minerais presentes na Terra primitiva podem ter contribuído para as sínteses pré-bióticas, sobretudo, por conta das suas propriedades catalíticas.

Adicionalmente, realizaram-se uma série de experimentos como grupo controle para elucidar a cerca da utilização do catalisador e, assim, obter informações mais consistentes sobre a influência do TiO_2 nas sínteses pré-bióticas. Numerou-se cada um desses experimentos e as condições utilizadas estão detalhadas no procedimento experimental, conforme Tabela 1. Essa tabela contempla os experimentos realizados com duração de 72 horas, nos quais as condições experimentais foram alteradas em função da presença ou da ausência dos componentes NH_4SCN , CH_4 , TiO_2 e do emprego da radiação.

O experimento de número **6** correspondeu à irradiação da solução contendo somente NH_4SCN . De acordo com o cromatograma referente a esse experimento (Figura 35), observam-se picos nos tempos de retenção de 4,5 e 11,1; 15,3 minutos, os quais são condizentes com os picos observados para os sistemas contendo CH_4 e TiO_2 . Esses mesmos também foram verificados quando se irradiou o tiocianato de amônio na presença somente do catalisador (dados não mostrados), experimento **3**. Isso evidencia que esses picos são referentes a compostos formados a partir da irradiação de sistemas contendo apenas NH_4SCN , uma vez que o TiO_2 e CH_4 não tiveram influência no aparecimento dos mesmos. Vale ressaltar que se realizou uma corrida cromatográfica com a solução precursora (NH_4SCN $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e nenhum pico foi obtido.

Figura 35 - Cromatograma para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo apenas tiocianato de amônio.

É importante destacar que alguns experimentos listados na Tabela 1, juntamente com a análise da solução de NH_4SCN por CG foram realizados somente para efeito de comprovação (grupo controle) dos resultados obtidos a partir do experimento de irradiação com NH_4SCN , CH_4 e TiO_2 , uma vez que a cromatografia gasosa é limitada para análise de gases e compostos voláteis. Conforme esperado, os cromatogramas obtidos a partir dos experimentos 5, 7 e 8 não apresentaram nenhum pico. Por outro lado, o experimento 4 não mostrou resultados dentro do esperado, pois como se tratou da irradiação do sistema contendo metano e o catalisador (TiO_2) esperava-se observar a formação de metanol. Isso indica que a presença do NH_4SCN provavelmente influenciou na formação do CH_3OH , entretanto, ainda não se tem uma resposta sobre como isso ocorreu.

A fim de identificar os compostos voláteis formados durante as irradiações, visto que para as amostras resultantes dos experimentos 1 (NH_4SCN , CH_4 e TiO_2), 2 (NH_4SCN e CH_4) e 6 (NH_4SCN) foram observados picos na análise por cromatografia gasosa, essas amostras foram submetidas à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Para isso, empregou-se o amostrador *headspace* acoplado ao cromatógrafo.

Os resultados prévios de CG-EM contidos no anexo indicam a presença da hidrazina carboxamida ($\text{CH}_5\text{N}_3\text{O}$), também conhecida como aminoureia, nas amostras provenientes dos experimentos 1 e 2, evidenciando que a formação desse composto deve ser resultado da irradiação do sistema contendo NH_4SCN e CH_4 . Os espectros de massas para essas amostras

(anexo) apresentaram um sinal em m/z 75 correspondente a massa de 75 g mol^{-1} do composto hidrazina carboxamida, identificada utilizando o banco de dados do equipamento.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos estudos de voltametria cíclica empregando os eletrodos de ouro e platina na presença de SCN^- verificou-se um aumento das correntes faradaicas em relação às correntes observadas para as varreduras realizadas na ausência dessa espécie eletroativa. Esse aumento tem início de 0,5 V, sendo associado ao início da oxidação eletroquímica do íon SCN^- . Esse valor equivale a 12,9 Kcal, energia mínima para o primeiro estágio de oxidação do tiocianato. Além disso, verificou-se que o material da superfície eletródica não influenciou no potencial de oxidação desse íon. Por FTIR *in situ*, identificou-se o $(\text{SCN})_2$ como primeiro produto da oxidação eletroquímica de SCN^- .

Diferentemente do que foi reportado por Steinman *et al.*, a irradiação das soluções aquosas $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tiocianato de amônio e subsequente hidrólise não resultou na formação de aminoácidos, uma vez que as absorções observadas por FTIR não correspondem a esses compostos. Além disso, os tempos de retenção verificados para os produtos da hidrólise obtidos a partir dos experimentos de irradiação por 3 horas ($t_R = 4,5 \text{ min}$) e 24 horas ($t_{R1} = 4,0 \text{ min}$ e $t_{R1} = 4,5 \text{ min}$) são diferente em relação aos padrões de cisteína ($t_R = 5,0 \text{ min}$) e metionina ($t_R = 6,5 \text{ min}$). Mesmo com a inserção do metano no sistema contendo NH_4SCN , visando o estabelecimento de uma síntese de Strecker, também não se observou a formação de aminoácidos. O que aconteceu durante a irradiação foi decomposição do NH_4SCN levando a formação de enxofre coloidal (S_8) e cianeto de hidrogênio (HCN). As análises dos precipitados não hidrolisados por FTIR e DRX, oriundos dessas irradiações, confirmaram a formação de enxofre ortorrômbico. O HCN formado durante a irradiação por 24 horas atuou como precursor para obtenção das bases nitrogenadas 4-(3H)-pirimidinona, citosina, purina e adenina, as quais foram identificadas por CLAE-DAD-EM. Dessa forma, a formação das biomoléculas em questão não seguiu a rota via $(\text{SCN})_2$ sugerida pelos experimentos de FTIR *in situ*.

Nanopartículas de TiO_2 foram empregadas em experimentos de irradiação com NH_4SCN e CH_4 para simular o papel dos minerais na Terra primitiva. Ao final desses experimentos, determinou-se a geração de metanol por meio da cromatografia gasosa. Ainda por essa técnica foi possível quantificar o CH_3OH presente no sobrenadante oriundo da irradiação, obtendo-se 0,13%. A formação desse composto é relevante, pois além do CH_3OH corresponder a um intermediário para síntese de biomoléculas, esse resultado mostrou que os

minerais presentes na Terra primitiva podem ter contribuído para as sínteses pré-bióticas, sobretudo, por conta das suas propriedades catalíticas.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, apresentou-se a formação de bases nitrogenadas a partir do hidrolisado da irradiação de tiocianato de amônio por 24 horas em condições pré-bióticas. As bases 4-(3H)-pirimidinona, citosina, purina e adenina foram identificadas por CLAE-DAD-EM. A irradiação UV do NH_4SCN levou a formação de enxofre ortorrômico (S_8) e cianeto de hidrogênio (HCN). O HCN atuou como precursor das biomoléculas supracitadas. Nanopartículas de óxido de titânio (TiO_2) foram empregadas em experimentos de irradiação com NH_4SCN e CH_4 para simular o papel dos minerais na Terra primitiva. Por cromatografia gasosa, identificou-se metanol como um dos produtos dessa irradiação. O metanol formado durante a irradiação na presença do catalisador TiO_2 pode atuar como intermediário para a síntese de biomoléculas.

REFERÊNCIAS

1. CALVIN, M. Chemical Evolution: Life is a logical consequence of known chemical principles operating on the atomic composition of the universe. **American Scientist**, v. 63, n. 2, p. 169-177, 1975.
2. MAHER, K. A.; STEVENSON, D. J. Impact frustration of the origin of life. **Nature**, v. 331, p. 612-614, 1988.
3. UREY, H. C. On the early chemical history of the earth and the origin of life. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 38, n. 4, p. 351-363, 1952.
4. ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V. Algumas controvérsias sobre a origem da vida. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1599-1602, 2008.
5. CERQUEIRA, Andrea Viana. **Representações sociais de dois grupos de professores de biologia sobre o ensino de Origem da Vida e Evolução Biológica: aspirações, ambiguidades e demandas profissionais**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Educação em Ciências e Saúde) - Núcleo de Tecnologia Educacional para a Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
6. FENCHEL, T. **The origin and early evolution of life**. New York: Oxford University, 2002. 224 p.
7. PACE, N. R. Origin of life-facing up to the physical setting. **Cell**, v. 65, n. 4, p. 531-533, 1991.
8. KASTING, J. F. Earth's early atmosphere. **Science**, v. 259, n. 5097, p. 920-926, 1993.
9. RICHTER, F. M. Models for the Archean thermal regime. **Earth and Planetary Science Letters**, v. 73, n. 2, p. 350-360, 1985.
10. ORGEL, L. E. The origin of life - a review of facts and speculations. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 23, n. 12, p. 491-495, 1998.
11. SCHOPFT, J. W. The oldest fossils and what they mean. In: MAJOR events in the history of life. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1992. 29 p.

12. SLEEP, N. H. The hadean-archaeon environment. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 6, p. 1-14, 2010.
13. HOPKINS, M. D.; HARRISON, T. M.; MANNING, C. E. Constraints on Hadean geodynamics from mineral inclusions in > 4Ga zircons. **Earth and Planetary Science Letters**, v. 298, n. 3, p. 367-376, 2010.
14. HAZEN, R. M.; PAPINEAU, D.; BLEEKER, W.; DOWNS, R. T.; FERRY, J. M.; MCCOY, T. J.; SVERJENSKY, D. A.; YANG, H. Mineral evolution. **American Mineralogist**, v. 93, n. 11-12, p. 1693-1720, 2008.
15. SHAW, G. H. Earth's atmosphere-Hadean to early Proterozoic. **Chemie der Erde-Geochemistry**, v. 68, n. 3, p. 235-264, 2008.
16. GAUCHER, E. A.; GOVINDARAJAN, S.; GANESH, O. K. Palaeotemperature trend for Precambrian life inferred from resurrected proteins. **Nature**, v. 451, n. 7179, p. 704-707, 2008.
17. 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**, v. 298, n. 3, p. 443-449, 2010.
18. GARGAUD, M. **Encyclopedia of astrobiology**. New York: Springer, 2011. v. 1.
19. PENNY, D. An interpretive review of the origin of life research. **Biology and Philosophy**, v. 20, n. 4, p. 633-671, 2005.
20. MILLER, S. L. A production of amino acids under possible primitive earth conditions. **Science**, v. 117, n. 3046, p. 528-529, 1953.
21. ZAIA, D. A. M. Da geração espontânea á química prebiótica. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 260-264, 2003.
22. ORGEL, L. E. Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, n. 2, p. 99-123, 2004.
23. HAZEN, R. M.; SVERJENSKY, D. A. Mineral surfaces, geochemical complexities, and the origins of life. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 5, p. 1-21, 2010.

24. ORGEL, L. E.; LOHRMANN, R. Prebiotic chemistry and nucleic acid replication. **Accounts of Chemical Research**, v. 7, n. 11, p. 368-377, 1974.

25. NITSCHKE, W.; RUSSELL, M. J. Hydrothermal focusing of chemical and chemiosmotic energy, supported by delivery of catalytic Fe, Ni, Mo/W, Co, S and Se, forced life to emerge. **Journal of Molecular Evolution**, v. 69, n. 5, p. 481-496, 2009.

26. NAKAMURA, R.; TAKASHIMA, T.; KATO, S.; TAKAI, K.; YAMAMOTO, M.; HASHIMOTO, K. Electrical current generation across a black smoker chimney. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 42, p. 7692-7694, 2010.

27. MACLEOD, G.; MCKEOWN, C.; HALL, A. J.; RUSSELL, M. J. Hydrothermal and oceanic pH conditions of possible relevance to the origin of life. **Origins of Life and Evolution of the Biosphere**, v. 24, n. 1, p. 19-41, 1994.

28. MARTIN, W.; BAROSS, J.; KELLEY, D.; RUSSELL, M. J. Hydrothermal vents and the origin of life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n.11, p. 805-814, 2008.

29. BAROSS, J. A.; HOFFMAN, S. E. Submarine hydrothermal vents and associated gradient environments as sites for the origin and evolution of life. **Origins of Life and Evolution of the Biosphere**, v. 15, n. 4, p. 327-345, 1985.

30. GOLDMAN, N.; REED, E. J.; FRIED, L. E.; KUO, I. F. W.; MAITI, A. Synthesis of glycine-containing complexes in impacts of comets on early Earth. **Nature chemistry**, v. 2, n. 11, p. 949-954, 2010.

31. KOBAYASHI, K.; TAKANO, Y.; MASUDA, H.; TONISHI, H.; KANEKO, T.; HASHIMOTO, H.; SAITO, T. Possible cometary organic compounds as sources of planetary biospheres. **Advances in Space Research**, v. 33, n. 8, p. 1277-1281, 2004.

32. TAKANO, Y.; TAKAHASHI, J. -I.; KANEKO, T.; MARUMO, K.; KOBAYASHI, K. Asymmetric synthesis of amino acid precursors in interstellar complex organics by circularly polarized light. **Earth and planetary science letters**, v.254, n.1, p.106-114. 2007.

33. BOTTA, O.; BADA, J. L. Extraterrestrial organic compounds in meteorites. **Surveys in Geophysics**, v. 23, n. 5, p. 411-467, 2002.

34. ANDERS, E. Pre-biotic organic matter from comets and asteroids. **Nature**, v. 342, n. 6247, p. 255-257, 1989.

35. HAYATSU, R.; ANDERS, E. Organic compounds in meteorites and their origins. In: COSMO-and geochemistry. New York: Springer, 1981. p. 1-37. (Topics in Current Chemistry, 29).
36. ORÓ, J. Comets and the formation of biochemical compounds on the primitive Earth. **Nature**, v. 190, p. 389-390, 1961.
37. BRACK, A. From interstellar amino acids to prebiotic catalytic peptides: a review. **Chemistry & Biodiversity**, v. 4, n. 4, p. 665-679, 2007.
38. LAZCANO, A.; MILLER, S. L. The origin and early evolution review of life: prebiotic chemistry, the pre-RNA world, and time. **Cell**, v. 85, n. 6, p. 793-798, 1996.
39. CLEAVES, H. J.; CHALMERS, J. H.; LAZCANO, A.; MILLER, S. L.; BADA, J. L. A reassessment of prebiotic organic synthesis in neutral planetary atmospheres. **Origins of Life and Evolution of Biospheres**, v. 38, n. 2, p. 105-115, 2008.
40. PARKER, E. T.; CLEAVES, H. J.; CALLAHAN, M. P.; DWORKIN, J. P.; GLAVIN, D. P.; LAZCANO, A.; BADA, J. L. Prebiotic synthesis of methionine and other sulfur-containing organic compounds on the primitive Earth: a contemporary reassessment based on an unpublished 1958 Stanley Miller experiment. **Origins of Life and Evolution of Biospheres**, v. 41, n.3, p. 201-212, 2011.
41. PARKER, E. T.; CLEAVES, H. J.; DWORKIN, J. P.; GLAVIN, D. P.; CALLAHAN, M.; AUBREY, A.; LAZCANO, A.; BADA, J. L. Primordial synthesis of amines and amino acids in a 1958 Miller H₂S-rich spark discharge experiment. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 14, p. 5526-5531, 2011.
42. Lu, H. K. Formation of sulfur-containing amino acids by electric discharge in a reductive atmosphere, **Chem Abstracts**, v.54, p. 4209-4210, 1960.
43. VAN TRUMP, J. E.; MILLER, S. L. Prebiotic synthesis of methionine. **Science**, v. 178, n. 4063, p. 859-860, 1972.
44. SCHLESINGER, G.; MILLER, S. L. Prebiotic synthesis in atmospheres containing CH₄, CO, and CO₂. **Journal of Molecular Evolution**, v. 19, n. 5, p. 376-382, 1983.
45. SCHLESINGER, G.; MILLER, S. L. Prebiotic synthesis in atmospheres containing CH₄, CO, and CO₂. **Journal of Molecular Evolution**, v. 19, n. 5, p. 383-390, 1983.

46. MILLER, S. L.; VAN TRUMP, J. E. The Strecker synthesis in the primitive ocean. In: ORIGIN of life. New York: Springer, 1981. p. 135-141.

47. MILLER, S. L. The mechanism of synthesis of amino acids by electric discharges. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 23, p. 480-489, 1957.

48. PASCAL, R.; BOITEAU, L.; COMMEYRAS, A. From the prebiotic synthesis of α -amino acids towards a primitive translation apparatus for the synthesis of peptides. In: PREBIOTIC chemistry. New York: Springer, 2005. v. 259, p. 69-122.

49. ORÓ, J.; KIMBALL, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 94, n. 2, p. 217-227, 1961.

50. ORÓ, J.; KIMBALL, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions: II. Purine intermediates from hydrogen cyanide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 96, n. 2, p. 293-313, 1962.

51. KLISS, R. M.; MATTHEWS, C. N. Hydrogen cyanide dimer and chemical evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 48, n. 8, p. 1300-1306, 1962.

52. SANCHEZ, R.; FERRIS, J.; ORGEL, L. E. Conditions for purine synthesis: did prebiotic synthesis occur at low temperatures? **Science**, v. 153, n. 3731, p. 72-73, 1966.

53. FERRIS, J. P.; JOSHI, P. C.; EDELSON, E. H.; LAWLESS, J. G. HCN: a plausible source of purines, pyrimidines and amino acids on the primitive Earth. **Journal of molecular evolution**, v. 11, n. 4, p. 293-311, 1978.

54. KASTING, J. F.; POLLACK, J. B.; CRISP, D. Effects of high CO₂ levels on surface temperature and atmospheric oxidation state of the early Earth. **Journal of atmospheric chemistry**, v. 1, n. 4, p. 403-428, 1984.

55. KASTING, J. F.; ACKERMAN, T. P. Climatic consequences of very high carbon dioxide levels in the Earth's early atmosphere. **Science**, v. 234, n. 4782, p. 1383-1385, 1986.

56. OWEN, T.; CESS, R. D.; RAMANATHAN, V. Enhanced CO₂ greenhouse to compensate for reduced solar luminosity on early Earth. **Nature**, v. 277, p. 640-642, 1979.

57. PAVLOV, A. A.; KASTING, J. F.; BROWN, L. L.; RAGES, K. A.; FREEDMAN, R. Greenhouse warming by CH₄ in the atmosphere of early Earth. **Journal of Geophysical Research**, v. 105, n. 11, p. 11981-11990, 2000.

58. HAQQ-MISRA, J. D.; DOMAGAL-GOLDMAN, S. D.; KASTING, P. J.; KASTING, J. F. A revised, hazy methane greenhouse for the Archean Earth. **Astrobiology**, v. 8, n. 6, p. 1127-1137, 2008.

59. MIYAKAWA, S.; CLEAVES, H. J.; MILLER, S. L. The cold origin of life: A. Implications based on the hydrolytic stabilities of hydrogen cyanide and formamide. **Origins of Life and Evolution of the Biosphere**, v. 32, n. 3, p. 195-208, 2002.

60. MIYAKAWA, S.; CLEAVES, H. J.; MILLER, S. L. The cold origin of life: B. Implications based on pyrimidines and purines produced from frozen ammonium cyanide solutions. **Origins of Life and Evolution of the Biosphere**, v. 32, n. 3, p. 209-218, 2002.

61. MILLER, S. L.; LAZCANO, A. The origin of life - did it occur at high temperatures? **Journal of Molecular Evolution**, v. 41, n. 6, p. 689-692, 1995.

62. MILLER, S. L.; BADA, J. L. Submarine hot springs and the origin of life. **Nature**, v. 384, p. 609-611, 1988.

63. WIECHERT, U. H. Earth's early atmosphere. **Science**, v. 298, n. 5602, p. 2341-2343, 2002.

64. HABICHT, K. S.; GADE, M.; THAMDRUP, B.; BERG, P.; CANFIELD, D. E. Calibration of sulfate levels in the Archean ocean. **Science**, v. 298, n. 5602, p. 2372-2374, 2002.

65. KASTING, J. F.; ZAHNLE, K. J.; WALKER, J. C. G. Photochemistry of methane in the Earth's early atmosphere. **Precambrian Research**, v. 20, n. 2, p. 121-148, 1983.

66. KUHN, W. R.; ATREYA, S. K. Ammonia photolysis and the greenhouse effect in the primordial atmosphere of the Earth. **Icarus**, v. 37, n. 1, p. 207-213, 1979.

67. KASTING, J. F. Stability of ammonia in the primitive terrestrial atmosphere. **Journal of Geophysical Research**, v. 87, n. 4, p. 3091-3098, 1982.

68. MILLER, S. L.; HAROLD, C. L. Organic compound syntheses on the primitive earth. **Science**, v. 130, p. 251, 1959.

69. KOBAYASHI, K.; MASUDA, H.; USHIO, K.-I.; OHASHI, A.; YAMANASHI, H.; KANEKO, T.; TAKAHASHI, J.-I.; HOSOKAWA, T.; HASHIMOTO, H.; SAITO, T. Formation of bioorganic compounds in simulated planetary atmospheres by high energy particles or photons. **Advances in Space Research**, v. 27, n. 2, p. 207-215, 2001.

70. DE SANTANA, H.; PELISSON, L.; JANIASKI, D. R.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. UV Radiation and the reaction between ammonium and thiocyanate under prebiotic chemistry conditions. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 75, n. 10, p. 1381-1389. 2010.

71. ABELSON, P. H. Chemical events on the primitive earth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 55, n. 6, p. 1365-1372, 1966.

72. PINTO, J. P.; GLADSTONE, G. R.; YUNG, Y. L. Photochemical production of formaldehyde in Earth's primitive atmosphere. **Science**, v. 210, n. 4466, p. 183-184, 1980.

73. NEGRÓN-MENDOZA, A. Alfonso L. Herrera: A Mexican pioneer in the study of chemical evolution. **Journal of Biological Physics**, v. 20, n. 1, p. 11-15, 1995.

74. HERRERA, A. L. A new theory of the origin and nature of life. **Science**, v. 96, n. 2479, p. 14-14, 1942.

75. PEREZGASGA, L.; SILVA, E.; LAZCANO, A.; NEGRÓN-MENDOZA, A. The sulfocyanic theory on the origin of life: towards a critical reappraisal of an autotrophic theory. **International Journal of Astrobiology**, v. 2, n. 4, p. 301-306, 2003.

76. Raulin, F.; Toupance, G. The role of sulphur in chemical evolution. **Journal of Molecular Evolution**, v. 9, n. 4, p. 329-338, 1977.

77. STEINMAN, G.; SMITH, A. E.; SILVER, J. J. Synthesis of a sulfur-containing amino acid under simulated prebiotic conditions. **Science**, v. 159, n. 3819, p. 1108-1109, 1968.

78. HALL, W. H.; WILSON, I. R. Rates of formation of isoperthiocyanic acid (5-Amino-1,2,4-dithiazole-3-thione) from thiocyanate in aqueous solution. **Australian Journal of Chemistry**, v. 22, n. 3, p. 513-518, 1969.

79. RUIZ-MIRAZO, K.; BRIONES, C.; DE LA ESCOSURA, A. Prebiotic systems chemistry: new perspectives for the origins of life. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 1, p. 285-366, 2014.
80. NAKAMURA, K.; KOGA, T. Irradiation of aqueous solution of thiocyanate by radiation emitted from $^{10}\text{B}(\text{n},\alpha)^7\text{Li}$ reaction. **Journal of Nuclear Science and Technology**, v. 19, n. 5, p. 422-424, 1982.
81. CATALDO, F.; KEHEYAN, Y. About a new class of inorganic polymers: the polythiocyanogens $[\text{S}_x(\text{CN})_2]_x$. **Polyhedron**, v. 21, n. 18, p. 1825-1835, 2002.
82. BERNAL, J. D. **The physical basis of life**. London: Routledge and Paul, 1951. 80 p.
83. SCHOONEN, M.; SMIRNOV, A.; COHN, C. A perspective on the role of minerals in prebiotic synthesis. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, v. 33, n. 8, p. 539-551, 2004.
84. LAMBERT, J. F. Adsorption and polymerization of amino acids on mineral surfaces: a review. **Origins of Life and Evolution of Biospheres**, v. 38, n. 3, p. 211-242, 2008.
85. GUO, T.; LI, L.; CAMMARATA, V.; ILLIES, A. Electrochemical/Electrospray Mass Spectrometric Studies of I^- and SCN^- at Gold and Platinum Electrodes: Direct Detection of $(\text{SCN})_3^-$. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 16, p. 7821-7825, 2005.
86. FOLEY, J. K.; PONS, S.; SMITH, J. J. Fourier transform infrared spectroelectrochemical studies of anodic processes in thiocyanate solutions. **Langmuir**, v. 1, n. 6, p. 697-701, 1985.
87. ONG, T. H.; DAVIES, P. B.; BAIN, C. D. Adsorption of thiocyanate on polycrystalline silver and gold electrodes studied in situ by sum-frequency spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 46, p. 12047-12050, 1993.
88. RONG, C.; XIEN, H. Electrosorption of thiocyanate anions on active carbon felt electrode in dilute solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 290, n. 1, p. 190-195, 2005.
89. ITABASHI, E. Identification of electrooxidation products of thiocyanate ion in acidic solutions by thin-layer spectroelectrochemistry. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 177, n. 1, p. 311-315, 1984.

90. CAUQUIS, G.; PIERRE, G. La formation transitoire de l'ion complexe $(\text{SCN})_3^-$ au cours de l'oxydation électrochimique de l'ion thiocyanate dans l'acétonitrile. **Bulletin de la Société Chimique de France**, v. 6, p. 2244, 1972.

91. PANZER, R. E.; SCHAER, M. J. Electrochemistry in fused alkali thiocyanates. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 112, n. 11, p. 1136-1143, 1965.

92. PUCCIARELLI, F.; CESCO, P.; HEYROVSKÝ, M. Electrolytic oxidation of molten thiocyanate and the effect of light. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 126, n. 6, p. 972-981, 1979.

93. VÁSQUEZ MOLL, V. D.; ARVIA, A. J. Potentiostatic transients related to the electrolytic oxidation of KSCN and mixtures of NaSCN+ KSCN melts on polycrystalline platinum. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 196, n. 2, p. 291-300, 1985.

94. BROADHURST, J. L.; DU PEREZ, J. G. H. A thermodynamic study of the dissolution of gold in an acidic aqueous thiocyanate medium using iron (III) sulphate as an oxidant. **Hydrometallurgy**, v. 32, n. 3, p. 317-344, 1993.

95. HASHEM, T. M.; ZIRLEWAGEN, M.; BRAUN, A. M. Simultaneous photochemical generation of ozone in the gas phase and photolysis of aqueous reaction systems using one VUV light source. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 41-48, 1997.

96. ANGERSTEIN-KOZLOWSKA, H.; CONWAY, B. E.; HAMELIN, A.; STOICOVICIU, L. Elementary steps of electrochemical oxidation of single-crystal planes of Au-I. Chemical basis of processes involving geometry of anions and the electrode surfaces. **Electrochimica Acta**, v.31, n.8, p.1051-1061. 1986.

97. DOS SANTOS, V. P.; TREMILIOSI FILHO, G. Correlação entre a estrutura atômica superficial e o processo de adsorção-dessorção reversível de hidrogênio em eletrodos monocristalinos Pt (111), Pt (100) e Pt (110). **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 856-863, 2001.

98. IWASITA, T.; NART, F. C. In situ infrared spectroscopy at electrochemical interfaces. **Progress in Surface Science**, v. 55, n. 4, p. 271-340, 1997.

99. LU, G.-Q.; SUN, S.-G.; CAI, L.-R.; CHEN, S.-P.; TIAN, Z.-W.; SHIU, K.-K. In situ FTIR spectroscopic studies of adsorption of CO, SCN^- , and poly (o-phenylenediamine) on electrodes of nanometer thin films of Pt, Pd, and Rh: Abnormal infrared effects (AIREs). **Langmuir**, v. 16, n. 2, p. 778-786, 2000.

100. PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to spectroscopy**. Belmont: Thomson Brooks/Cole, 2009. 752 p.

101. MILLER, F. A.; WILKINS, C. H. Infrared spectra and characteristic frequencies of inorganic ions. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 8, p. 1253-1294, 1952.

102. AWADHIA, A.; AGRAWAL, S. L. Structural, thermal and electrical characterizations of PVA: DMSO: NH_4SCN gel electrolytes. **Solid State Ionics**, v. 178, n. 13, p. 951-958, 2007.

103. NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. New York: Wiley Online Library, 1986. 448p.

104. CUI, Y.; ZHANG, J.; ZHANG, G.; HUANG, J.; LIU, P.; ANTONIETTI, M.; WANG, X. Synthesis of bulk and nanoporous carbon nitride polymers from ammonium thiocyanate for photocatalytic hydrogen evolution. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 34, p. 13032-13039, 2011.

105. ITABASHI, E. Spectroelectrochemical characterization of iron (III)-thiocyanate complexes in acidic thiocyanate solutions at an optically transparent thin-layer-electrode cell. **Inorganic Chemistry**, v. 24, n. 24, p. 4024-4027, 1985.

106. ASHLEY, K.; PONS, S. Infrared spectroelectrochemistry. **Chemical Reviews**, v. 88, n. 4, p. 673-695, 1988.

107. KATAYAMA, Y.; NARAHARA, Y.; INOUE, Y.; AMANO, F.; KANAGAWA, T.; KURAISHI, H. A thiocyanate hydrolase of *Thiobacillus thioparus*. A novel enzyme catalyzing the formation of carbonyl sulfide from thiocyanate. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9170-9175, 1992.

108. HUNT, D. F.; YATES, J. R.; SHABANOWITZ, J.; WINSTON, S.; HAUER, C. R. Protein sequencing by tandem mass spectrometry. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 17, p. 6233-6237, 1986.

109. SHANKER, U.; BHUSHAN, B.; BHATTACHARJEE, G. Formation of nucleobases from formamide in the presence of iron oxides: Implication in chemical evolution and origin of life. **Astrobiology**, v. 11, n. 3, p. 225-233, 2011.

110. ORÓ, J. Synthesis of adenine from ammonium cyanide. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 2, n. 6, p. 407-412, 1960.

111. PAPALEO, R. M.; HALLEN, A.; SUNDQVIST, B. U. R.; FARENZENA, L.; LIVI, R. P.; DE ARAUJO, M. A.; JOHNSON, R. E. Chemical damage in poly (phenylene sulphide) from fast ions: Dependence on the primary-ion stopping power. **Physical Review B**, v. 53, n. 5, p. 2303-2313, 1996.
112. ZHANG, B.; QIN, X.; LI, G. R.; GAO, X. P. Enhancement of long stability of sulfur cathode by encapsulating sulfur into micropores of carbon spheres. **Energy & Environmental Science**, v. 3, n. 10, p. 1531-1537, 2010.
113. RUSCIC, B.; BERKOWITZ, J. The H-NCS bond energy, H f (HNCS), H f (NCS), and IP (NCS) from photoionization mass spectrometric studies of HNCS, NCS, and (NCS)₂. **The Journal of Chemical Physics**, v. 101, n. 9, p. 7975-7989, 1994.
114. DUNN, W. W.; AIKAWA, Y.; BARD, A. J. Heterogeneous photosynthetic production of amino acids at platinum/titanium dioxide suspensions by near ultraviolet light. **Journal of the American Chemical Society**, v. 103, n. 23, p. 6893-6897, 1981.
115. CHEN, X.; MAO, S. S. Titanium dioxide nanomaterials: synthesis, properties, modifications, and applications. **Chemical Reviews**, v.107, n.7, p.2891-2959. 2007.
116. STERTE, J. Synthesis and properties of titanium oxide cross-linked montmorillonite. **Clays and Clay Minerals**, v. 34, n. 6, p. 658-664, 1986.
117. SOUZA, F. L.; LOPES, K. P.; LONGO, E.; LEITE, E. R. The influence of the film thickness of nanostructured α -Fe₂O₃ on water photooxidation. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 11, n. 8, p. 1215-1219, 2009.
118. CALLISTER, W. D.; RESTHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais uma introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2012. 817p.
119. LINSEBIGLER, A. L.; LU, G.; YATES JR, J. T. Photocatalysis on TiO₂ surfaces: principles, mechanisms, and selected results. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 3, p. 735-758, 1995.
120. REICHE, H.; BARD, A. J. Heterogeneous photosynthetic production of amino acids from methane-ammonia-water at platinum/titanium dioxide. Implications in chemical evolution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 101, n. 11, p. 3127-3128, 1979.

121. GONDAL, M. A.; HAMEED, A.; YAMANI, Z. H.; ARFAJ, A. Photocatalytic transformation of methane into methanol under UV laser irradiation over WO_3 , TiO_2 and NiO catalysts. **Chemical Physics Letters**, v. 392, n. 4, p. 372-377. 2004.

ANEXO

A1 - Dados de CG-EM para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio, metano e óxido de titânio.

A2 - Dados de CG-EM para o sobrenadante resultante da irradiação (72 horas) do sistema contendo tiocianato de amônio e metano.