

ESTUDO DA TRANSIÇÃO DE FASE NO AMINOÁCIDO L-ALANINA

Mariana Sversut Gibin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Francielle Sato (Orientadora),
e-mail: marigibin32@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas e da Terra /
Maringá, PR.

Física / Física da Matéria Condensada

Palavras-chave: Espectroscopia Raman, L-Alanina, pH;

Resumo

O conhecimento de propriedades físicas e químicas dos aminoácidos é essencial para suas utilizações nas áreas farmacêuticas, alimentícias, entre outras. Com este intuito, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo sobre possíveis transições de fase, em nível molecular, da solução aquosa do aminoácido L-Alanina em meios ácido e básico. Para tal, utilizou-se a técnica de Espectroscopia FT-Raman a qual permite uma análise qualitativa a respeito dos modos vibracionais de um composto. Comparando-se os resultados obtidos, foi observado forte influência do meio ácido, na cadeia lateral do aminoácido. A técnica de FT-Raman mostrou-se uma ferramenta promissora para análise de alterações moleculares nas soluções de L-Alanina em diferentes meios.

Introdução

O L-Alanina é um dos 20 aminoácidos encontrados na natureza, e como característica principal dos aminoácidos, também possui um grupo carboxílico (COOH) e um grupo amina (NH₂). Seu radical é um grupamento metil (CH₃), que tem por propriedade definir o aminoácido e o caracterizar em tamanho, carga elétrica, polarizabilidade, propriedades químicas, ópticas, funcionais e estruturais. Atua principalmente no processo de construção e manutenção de proteínas, auxiliando na formação dos neurotransmissores e na regulação de glicose. Em soluções aquosas de pH neutro, os aminoácidos podem exibir distribuição de carga neutra, porém com a variação de pH podem passar exibir forma protonada e desprotonada, ocasionando em modificações moleculares no aminoácido [1].

Materiais e métodos

Preparação de Amostra:

Foi analisado inicialmente o aminoácido L-Alanina (Sigma Aldrich) em pó com 99,5% de pureza, posteriormente as análises da L-Alanina solubilizada em água, e por fim as soluções aquosas em meio ácido e básico. Na solução aquosa de L-Alanina utilizou-se como limite, a solubilidade máxima do aminoácido de 1,875 mol/L [2]. Já para as análises

em meios ácido (HCL à 1 mol/L) e básico (NaOH à 1 mol/L) utilizou-se 1 mol/L de solução aquosa de L-Alanina.

Todas as soluções foram preparadas adicionando água ultra pura (tipo I - Milli-Q) com a ajuda de um agitador magnético (Corning, modelo PC 420), na velocidade 6 por 30 min, adicionando-se aos poucos o aminoácido, até a concentração desejada. Para as soluções ácidas e básicas, foram adicionados além da água, o ácido e a base até o pH desejado.

Espectroscopia Raman:

Os espectros foram obtidos por meio da espectroscopia Raman por transformada de Fourier (FT-Raman), utilizando-se um espectrômetro de FTIR (Bruker, modelo Vertex 70) acoplado ao módulo Raman (Bruker, Ram II module) com excitação 1064 nm.

Os parâmetros experimentais utilizados foram: 128 varreduras por espectro no sólido e nas soluções aquosas e, 500 nas soluções ácida e básica. Potência nominal de 500 mW, resolução espectral de 4 cm^{-1} e intervalo espectral de 4000 a 400 cm^{-1} . Estas condições de medida foram as que minimizam contribuições de luminescência e espalhamento Rayleigh, além disso com a menor relação sinal-ruído em todos os espectros.

Resultados e Discussão

O policristal L-Alanina foi caracterizado por FT-Raman e as atribuições referentes às bandas Raman foram baseadas na literatura [3][4]. Cada banda Raman refere-se aos modos vibracionais da amostra. Estas bandas características podem alteradas quando uma perturbação acarreta mudanças em nível molecular na amostra, ou seja, pode haver mudança no modo vibracional, o qual pode ser observado em um espectro pelo deslocamento, aparecimento e/ou desaparecimento de bandas. Estas características podem ser analisadas como possíveis transições de fase em aminoácidos.

A Fig. 1(A) apresenta os espectros Raman da solução aquosa de L-Alanina comparada a água pura e ao aminoácido em pó. Já nas Fig. 1(B) e (C) uma comparação entre a solução aquosa e a mesma solubilizada em meios básico e ácido, respectivamente.

Nota-se na Fig. 1(A) que água líquida possui um par de bandas largas de Raman, uma centrada em aproximadamente 1600 cm^{-1} e outra de 3200 à 3400 cm^{-1} [5], sendo a primeiro referente a uma deformação angular (δ OH) e o segundo, associado ao estiramento (ν OH), porém os demais picos na solução aquosa possuem os mesmos centros atribuídos a L-Alanina em pó. Os pequenos deslocamentos ocorridos nos espectros das soluções de L-Alanina, como é o caso do pico 852 cm^{-1} que passou a ser 848 cm^{-1} e, também, 1409 cm^{-1} que se tornou 1413 cm^{-1} , pode estar relacionado com a transferência de carga envolvendo o grupo carboxílico e o grupo amina [6]. Deve-se observar que em 500 cm^{-1} ocorre um aumento na intensidade que está relacionado a um espalhamento intenso por parte da solução.

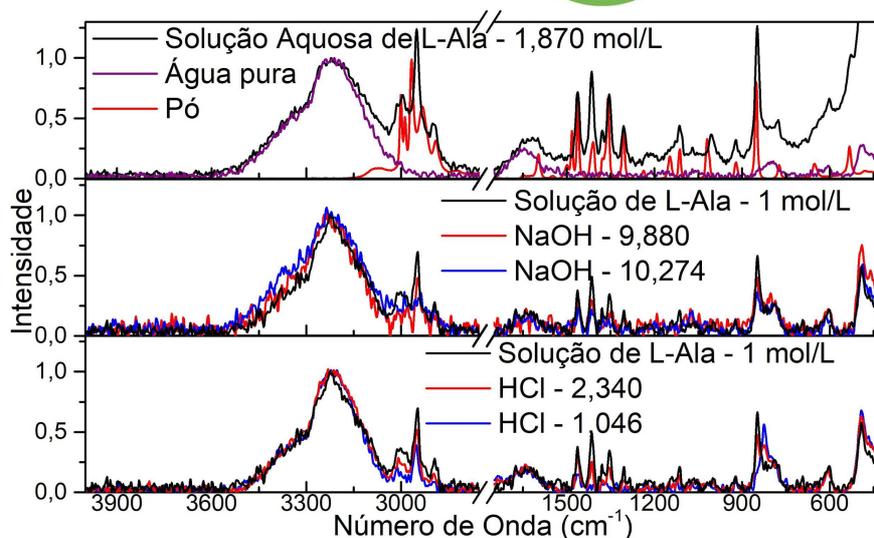


Fig. 1: Espectros Raman normalizados das soluções de L-Alanina (L-Ala) em meios (A) neutro, (B) básico e (C) ácido.

Já para as soluções ácidas, apresentada na Fig. 2(C), o pH equivalente a 2,340 seria o ponto de pKa do aminoácido, sendo o pKa a medida correspondente à tendência com que um grupo cede um próton, e o pH igual à 1,036 foi escolhido pois é uma região onde a solução está protonada e todas as interações moleculares já foram efetivadas.

Sendo assim, ao comparar o centro dos picos nos espectros da solução aquosa e as soluções contendo ácido, nota-se pequenos deslocamentos nos picos referentes aos modos vibracionais de CH_3 . Isto pode estar relacionado a um dipolo formado entre a própria molécula e toda a sua vizinhança, causando alterações moleculares, pois, a atração e repulsão entre diferentes íons pode acarretar em mudanças nos modos vibracionais, observados na espectroscopia Raman. Também, na banda 852 cm^{-1} , que se refere ao estiramento entre o carbono principal do aminoácido e o radical metil do L-Alanina, há uma evidência de que o ácido realmente tem forte influência na cadeia lateral do aminoácido, de forma não reversível, pois impede que a molécula retorne a sua configuração original quando se encontra protonada. Não foram verificadas alterações moleculares com relação à cadeia principal do L-Alanina.

Em contrapartida, a solução básica, Fig. 1(B), apresenta pequenos deslocamentos no radical, ocorrida também, devido a influência de cargas da vizinhança na própria molécula. Porém, a banda em 852 cm^{-1} permanece inalterada, tanto para o pKa quanto para a solução desprotonada, sendo possível, a pressuposição que a base não gera danos ao modo vibracional do radical. Sendo assim, espera-se mudanças na cadeia principal do aminoácido, principalmente, no agrupamento amina, pois quando o pH é básico, o grupo amina é que fica responsável por receber prótons da solução. Isto é observado nas proximidades de 3200 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} [7],

que não permitiu a visualização devido à grande influência da água no espectro.

Conclusões

Conclui-se que a Espectroscopia FT-Raman pode ser utilizada como técnica para análise de possíveis transições de fase em soluções aquosas de L-Alanina em meios básicos e ácidos, mediante a análise de alterações em nas bandas Raman permitindo identificar mudanças em nível molecular, e localizando as alterações no radical ou na cadeia principal da L-Alanina. Deste ponto de vista é possível o emprego da técnica de FT-Raman para outros aminoácidos, e ainda podendo ser realizados estudos para a verificação de transições de fase moleculares em função de outros parâmetros, como variação de temperatura.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao CNPq pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho. Também, à Finep, ao COMCAP, a UEM e a Profª Drª. Francielle Sato.

Referências

- [1] D. L. Nelson; M. M. Cox. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6. Ed. [s.l.]: Artmed, 2014.;
- [2] Zhu, G.; Zhu, X.; Fan, Q.; Wan, X., **“Raman spectra of amino acids and their aqueous solutions”**. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy – 78 (2011) 1187–1195;
- [3] de Lima Junior, J.A.; **“Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-Metionina e DL-Alanina e de Nanotubos de Carbono.”** Tese de Doutorado, Programa de Pós graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008;
- [4] Garcia, A. R.; Barros, R. B., Fidalgo, A., Ilharco, L. M., **“Interactions of L-Alanine with Alumina as Studied by Vibrational Spectroscopy”**. Langmuir 2007, 23, 10164-10175;
- [5] Carey, D.M.; Korenowski, G. M., **“Measurement of Raman spectrum of liquid water”**. Journal of chemical physics - Volume 108, Number 7;
- [6] Stewart, S.; Fredericks, P.M., **“Surface-enhanced Raman spectroscopy of amino acids adsorbed on an electrochemically prepared silver surface”**. Spectrochimica Acta Part A 55 (1999) 1641-1660.
- [7] Socrates, G.; **“Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Table and Charts”**. John Wiley e Sons, 2004 - Pág. 331.