

Estudo sistemático da detecção e identificação de aminoácidos por amperometria pulsada.

Leonardo Domingues (IC)*, Paulo Teng An Sumodjo(PQ), M. Terêsa M. Miranda (PQ) email: dominguesleo@gmail.com

Instituto de Química – Universidade de São Paulo;

Palavras Chave: amperometria pulsada, ácido aspártico, HPLC

Introdução

As técnicas que permitem separar, identificar e quantificar aminoácidos em amostras naturais e sintéticas são amplamente exploradas nos laboratórios de química de peptídeos e/ou proteínas. As mais utilizadas atualmente são as cromatografias líquidas de alta eficiência (HPLCs) com ou sem a derivatização prévia dos aminoácidos que empregam a detecção por absorção ou emissão de luz¹. A possibilidade de detecção dos aminoácidos não derivatizados separados por HPLC por amperometria pulsada em eletrodo de ouro em meio básico também passou a ser explorada na última década. Entretanto, pouco ainda se sabe sobre os mecanismos moleculares deste tipo de oxidação para os 20 diferentes aminoácidos usuais. O conhecimento destes mecanismos ajuda na compreensão e otimização do processo de detecção. O objetivo deste estudo é elucidar os mecanismos de oxidação eletroquímica de Ácido Aspártico (Asp), Metionina (Met) e Leucina (Leu), aminoácidos que dão um sinal menor que os demais em concentrações idênticas. A técnica potenciodinâmica é método notoriamente utilizado para estudos de elucidação de mecanismos de reações eletroquímicas. Nesta comunicação, discutem-se resultados preliminares do estudo da eletro-oxidação potenciodinâmica do Asp em meio alcalino (condição de detecção).

Resultados e Discussão

Empregou-se um programa de perturbação de potencial que consistiu na aplicação de um potencial constante, (E_{apl}), por um determinado tempo (t_{apl}) seguido de duas varreduras triangulares sucessivas entre -0,8 e 0,6V. Da análise dos voltamogramas cíclicos conclui-se que o Asp se oxida sobre o eletrodo de ouro. Variando t_{apl} observa-se que a variação de carga de oxidação (Q), do Asp com t_{apl} apresenta um máximo, ao redor de 2 minutos (Figura 1a). Isto é um indicativo de que durante t_{apl} em E_{apl} ocorre uma adsorção do Asp sobre o eletrodo. Variando E_{apl} observa-se que, dentro do erro experimental, Q independe de E_{apl} .

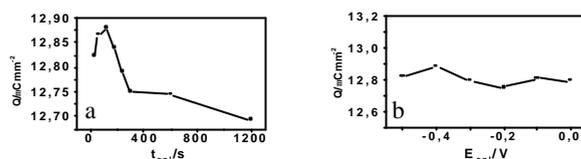
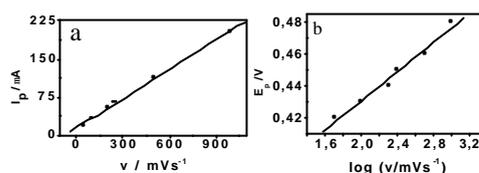


Figura 1. Dependência da carga com o tempo (a) e com o potencial de adsorção (b).

Da análise dos ensaios variando a velocidade de varredura (v), verificou-se que a corrente de pico (I_p) e o potencial de pico (E_p) correspondente variam linearmente com v e com o $\lg(v)$, respectivamente



(Figura 2).

Figura 2. $I_p \times v$ (a) e $E_p \times v$ (b).

Este comportamento pode ser explicado pelo modelo da Pseudo-Capacitância, de Srinivasan e Gileadi², que prevê que a etapa mais lenta da oxidação envolve a transferência de elétrons para espécies adsorvidas. Pelo coeficiente angular do gráfico da Figura 2b (45,65 mV), esta etapa envolve 2 elétrons.

Conclusões

Foi verificada a adsorção e oxidação do Asp sobre o eletrodo de ouro. Os resultados obtidos indicam que a etapa lenta do processo é a oxidação de espécies adsorvidas. Estudos semelhantes³ realizados com glicina indicam uma etapa de perda de CO₂ adsorvido sobre eletrodo envolvendo 1 elétron. Portanto, pela natureza química do Asp, pode-se admitir que ocorra uma etapa de perda de 2 carboxilas, não resolvidas na escala de tempo de nossos experimentos, envolvendo 2 elétrons.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (bolsa e apoio financeiro) e a FAPESP (apoio financeiro).

¹Smillie, L.B.; Natriss, M. In: Mant, C.T. & Hodges, R.S. (Eds) *High-performance liquid chromatography of peptides and proteins*, CRC Press, Boca Raton, 1991, pp. 847-858;

² Srinivasan, S; Gileadi, E. *Electrochim. Acta* **1966**, 11, (3), 321-335.

³ C. -H. Zen *et al*, *Electrochim. Acta* **2004**, 49, 1249-1255