

ANÁLISE DO VENENO DAS FORMIGAS *ECTATOMMA VIZOTTOI* E *ECTATOMMA BRUNNEUM* ATRAVÉS DAS TÉCNICAS DE ESPECTROSCOPIA ÓPTICA: FTIR E RAMAN

Fernando R. da Conceição ¹, Luis H. C. Andrade ²

¹ Bolsista PIBIC/UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, C.P. 351, CEP 79804-970, Dourados, MS, e-mail: fernandorc fisica@hotmail.com

² Professor orientador - Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica-UEMS

Resumo

A técnica de espectroscopia envolvendo experimentos de absorção óptica (AO) é uma ferramenta que permite a análise tanto molecular quanto atômica de materiais e vem sendo utilizada para a caracterização de diferentes tipos de amostras, as quais podem se encontrar em qualquer estado físico. Em particular, quando a técnica é aplicada na região do infravermelho médio, permite distinguir as diferentes espécies químicas envolvidas no material, através das frequências e dos modos vibracionais intrínsecos de cada composto químico. Sendo assim, esta técnica permite identificar a “impressão digital” química do material analisado. Associado a esta técnica, temos a AO por fotoacústica a qual tem a vantagem de ser mais sensível na análise de materiais opacos ou que possuem formas irregulares. O resultado espectral da AO infravermelho obtido pela técnica fotoacústica é proporcional ao sinal de AO convencional, de modo que pode ser analisado empregando os mesmos mecanismos. Da interação entre as atividades do Laboratório de Ecologia e de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (GEOF) do Centro Integrado de Análise e Monitoramento Ambiental (CInAM) vários estudos tem sido realizados utilizando esta metodologia em materiais biológicos, no caso do presente projeto optamos em analisar e identificar os compostos químicos presentes nos e venenos das espécies de formigas *Ectatomma vizottoi* e a *Ectatomma brunneum*.

Palavras – Chave: Absorção Óptica. Infravermelho-Médio. Materiais Biológicos.

Abstract

The technique of absorption spectroscopy experiments involving optical (AO) is a tool that allows the analysis on both molecular and atomic materials has been used for characterization of different types of samples, which may be in any physical state. In particular, when the technique is applied in the infrared, distinguishes the different chemical species involved in

the material through the frequencies and the intrinsic vibrational modes of each chemical compound. Thus, this technique allows to identify the "fingerprint" of chemical assay. Associated with this technique, we have the AO by photoacoustic which has the advantage of being more sensitive in the analysis of opaque materials or that have irregular forms. The result gives the infrared spectra obtained by photoacoustic technique is proportional to signal to the conventional, so it can be analyzed using the same mechanisms. The interaction between the activities of the Laboratory of Ecology and photothermal Optics and Spectroscopy (Geof) Center of Integrated Analysis and Environmental Monitoring (CInAM) several studies have been conducted using this methodology in biological materials in the case of this project we chose to analyze and identify the chemical compounds and poisons present in the species of ants *Ectatomma vizottoi* and *Ectatomma brunneum*.

Key-Works: Optical absorption. Middle-infrared. Biological Materials.

Introdução

A espectroscopia fotoacústica (PAS, do inglês photoacoustic spectroscopy), teve sua origem baseada em um efeito de absorção óptica, cujo efeito térmico produzem ondas sonoras que poderiam ser detectadas através de um microfone. Este efeito foi investigado pela primeira vez nos anos 1880 por Alexandre Graham Bell et all (1880, p.305), em seus estudos sobre o photofone. Desde então, o efeito fotoacústico tem sido usado para análise de gases, sólidos ou líquidos (ROSENCWAIG, A. 1980; LIN, J. W. e DUBEK, L. P. 1979, p. 51 a 1627; McCLELLAND, J. F. 1983, p. 55 a 89A; BETTERIDGE, D. e MEYLOR, P. J., 1984, p. 14 e 267). Com o advento de lasers sintonizáveis no infravermelho este efeito passou a ter maior importância. A vantagem desse método em relação à absorção óptica convencional é a possibilidade de realizar absorção óptica em materiais não transparentes a luz.

A espectroscopia infravermelha fornece informações sobre a composição química e estrutural de materiais e vem se mostrando uma ferramenta importante para análise de materiais orgânicos (SHERMAN HSU, p. 247-283; GREGOR, K. et all. 2002, p. 115-119; POHLE. W.; et all, 2000, p. 463-467.; GAUGER. D.R.; POHLE. W.; 2005, p. 211-215). Devido a esses motivos, o trabalho tem como objetivo mostrar e analisar as diferenças nas composições químicas dos venenos de formigas das espécies *Ectatomma vizottoi* e a *Ectatomma brunneum* via espectroscopia fotoacústica.

Metodologia

Coleta e tratamento das amostras

As espécies de formigas *Ectatomma vizottoi* e *Ectatomma brunneum* foram coletadas de um ninho subterrâneo no campus da UEMS, Dourados (22°13'16''S/54°48' 20''W), Centro Oeste do Brasil.

Nesta etapa foram coletadas trinta formigas das espécies *Ectatomma vizottoi* e *Ectatomma brunneum*, as quais foram divididas em dois lotes de quinze formigas de cada espécie. Estas espécies passaram pelos processos que são descritos a seguir:

Extração das amostras:

Para a extração dos venenos utilizou-se um sistema com formato cúbico constituído por uma base formada por fios de cobres, com espaçamento em torno de 2 cm e com paredes de vidro, onde as formigas foram submetidas a pulsos elétricos com duração de aproximadamente 3 segundos e a uma tensão de 1000 volts. Os pulsos elétricos foram controlados através de um micro controlador BSTAMP com linguagem PBASIC (EDWARDS, Scott; p. 02-04). Através dos dados coletados foi possível determinar os picos mais significativos, os quais foram usados para identificar as composições químicas presentes nos venenos das formigas (espécies *Ectatomma vizottoi* e *Ectatomma brunneum*) e diagnosticar as suas principais diferenças.

Caracterização das amostras

Os experimentos de FTIR-PAS foram realizados usando o espectrofotômetro por transformada de Fourier (Nexus 870 - Nicolet) com o acessório de detecção fotoacústico – PAS no range espectral de 400 a 4000 cm^{-1} , atingindo assim a região conhecida como impressão digital do material (400 e 1500 cm^{-1}).

Para caracterização dos compostos químicos presentes nos venenos, foram utilizados 0,02g de venenos das formigas da espécie *Ectatomma vizottoi* e 0,02g da espécie *Ectatomma brunneum*.

Durante todo o experimento o espectrofotômetro foi purgado usando ar seco a fim de eliminar o vapor de água e o CO_2 do interferômetro, enquanto a câmara do microfone foi purgada com Hélio gasoso para aumentar a sensibilidade do sistema de fotoacústica.

Os espectros foram obtidos entre 4000 e 400 centímetros^{-1} , com 8 centímetros^{-1} de resolução e 128 varreduras para cada amostra, como padrão espectral médio. Os dados foram processados com programa de aquisição Omnic.

Para cada amostra foram retirados 8 espectros, os quais foram normalizados pela área.

Após a normalização uma média dos espectros foram feitas, e desta forma encontramos os picos do espectro de maior relevância, os quais serviram para determinarmos os compostos químicos presentes nas amostras.

Resultados e Discussão

Ectatomma vizottoi

A Fig. 1 mostra os espectros dos venenos das formigas da espécie *Ectatomma vizottoi* após a realização das medidas de FTIR. Estes espectros já estão normalizados pela área, nele podemos observar que os espectros são obtidos em questão de bandas de absorção.

A partir destes espectros podemos determinar os picos mais significativos, que estão na Fig. 2, os quais foram usados para identificar as composições químicas presentes nos venenos das formigas da espécie *Ectatomma vizottoi*. Nestes espectros foram identificados 12 grupos funcionais, os quais estão listados na tabela 1, juntamente com os seus respectivos números de onda e modos vibracionais.

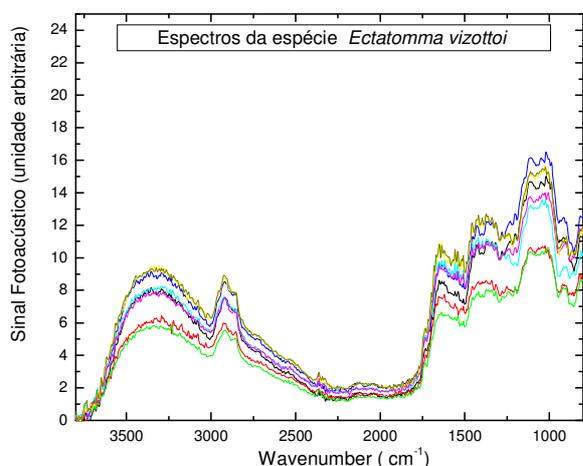


Figura 1 - Espectros obtidos das amostras de venenos da espécie *Ectatomma vizottoi*.

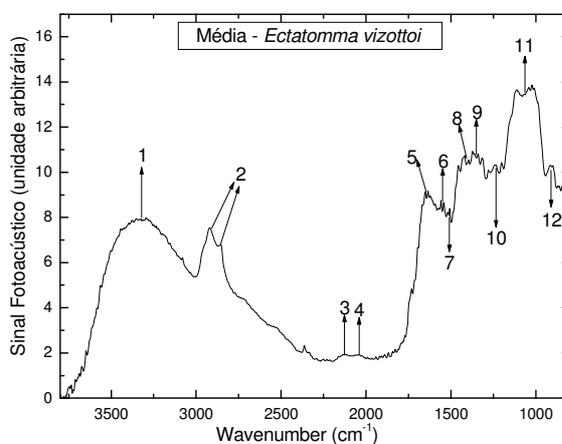


Figura 2 – Média dos espectros da espécie *Ectatomma vizottoi*.

Tabela 1: Representação dos picos enumerados no espectro da média - *Ectatomma vizottoi*.

Pico	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo de vibração
1	3317,8	=OH	Estiramento
2	2919,7	=C-H	Estiramento
3	2125,2	-C ≡ C	Estiramento
4	2044,2	-C ≡ N, -C ≡ C	Estiramento

5	1641,2	=C=C	Estiramento
6	1545,3	=NO ₂	Estiramento Assimétrico
7	1509,3	=C-O	Estiramento
8	1419,3	=SO ₂	Estiramento Assimétrico
9	1363,4 (2 bandas)	=C-H	Estiramento e Elástico
10	1237,4	=C-N	Estiramento
11	1063,5	=C-O	Estiramento
12	905,6	=C-H	Elástico

Conforme apresentado na tabela 1, podemos verificar que os venenos das formigas *Ectatomma vizottoi* apresentam vários compostos orgânicos. Estes compostos foram identificados através da média dos espectros dos venenos. Os picos 1 e 2 são característicos de materiais orgânicos, os quais estão relacionados com os grupos funcionais O-H e C-H respectivamente.

Os picos de 5 ao 9, estão localizados na região conhecida como impressão digital do material. Esses picos fornecem informações sobre a composição química mais importante do material. Nesta região foram identificados diferentes grupos funcionais, os quais vibram em modos distintos, devido cada composto orgânico absorver em diferentes números de ondas.

Ectatomma brunneum

As Figs. 3 e 4 mostram os espectros dos venenos de formigas da espécie *Ectatomma brunneum* após a realização das medidas de FTIR. Para os espectros desta espécie, foram realizados os mesmos tratamentos referentes aos espectros da espécie *Ectatomma vizottoi*.

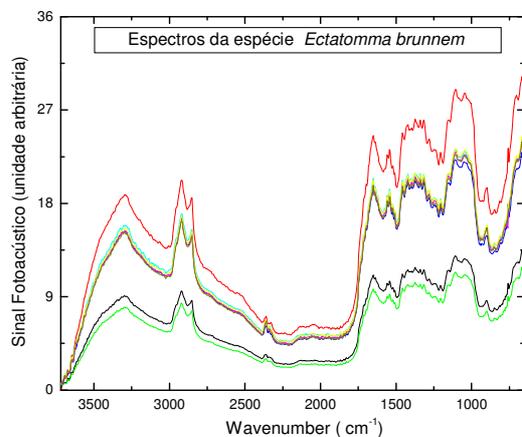


Figura 3 - Espectros obtidos das amostras de venenos da espécie *Ectatomma brunneum*.

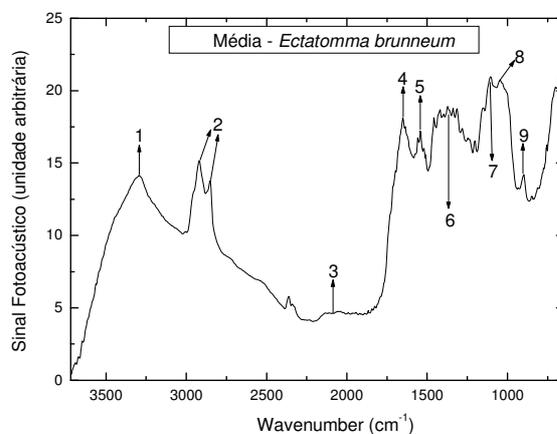


Figura 4 – Média dos espectros da espécie *Ectatomma brunneum*.

Tabela 2: Picos com seus respectivos grupos funcionais da espécie *Ectatomma brunneum*.

Pico	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo de vibração
1	3296,5	N-H	Estiramento
2	2918,7	C-H	Estiramento
3	2087	C ≡ C, C ≡ N	Estiramento
4	1651,2	NH ₂	Tesoura
5	1541,3	NO ₂	Estiramento Assimétrico
6	1375,3	C-CH ₃	Desdobramento Assimétrico
7	1107,5	PO ₄ ⁻³	Estiramento
8	1045,5	S=O	Estiramento
9	899,6	O-H	Desdobramento fora do plano

De acordo com (SMITH, Braian C; p. 132), verificou-se que o espectro dos venenos das formigas da espécie *Ectatomma brunneum* apresentaram semelhanças com o espectro da queratina, as quais estão presentes nos picos 1, 4 e 5. Conforme apresentado na tabela 2, o pico 1 está associado aos compostos orgânicos dos nitrogênios, mais especificamente ao

grupos dos amidos secundários o qual possui o composto N-H e modo vibracional do tipo estiramento assimétrico.

O pico 4 pertence ao grupos dos amidos primários, tendo o composto químico NH_2 e modo vibracional do tipo tesoura.

O pico 5 que está relacionado com o grupo funcional dos nitro. Conforme apresentado na tabela 2, este apresenta o composto químico NO_2 e modo vibracional do tipo estiramento assimétrico. Portanto, podemos observar que exceto ao pico 1, todos os outros picos apresentados na tabela 2, estão localizados na região conhecida como impressão digital do material e por esse motivo podemos verificar os compostos presentes nas amostras dos venenos desta espécie.

***Ectatomma vizottoi* – 2º Medida**

A fim de verificarmos realmente as diferenças nas composições químicas presentes nos venenos, foram extraídos mais 0,01g de venenos de formigas da espécie *Ectatomma vizottoi*, as quais foram submetidas a mesma metodologia descrita anteriormente.

As Figs. 5 e 6 mostram os espectros dos venenos desta espécie após a realização das medidas de FTIR. Nestes espectros após identificarmos os picos mais significativos foi possível determinar 15 grupos funcionais, os quais estão listados na tabela 3.

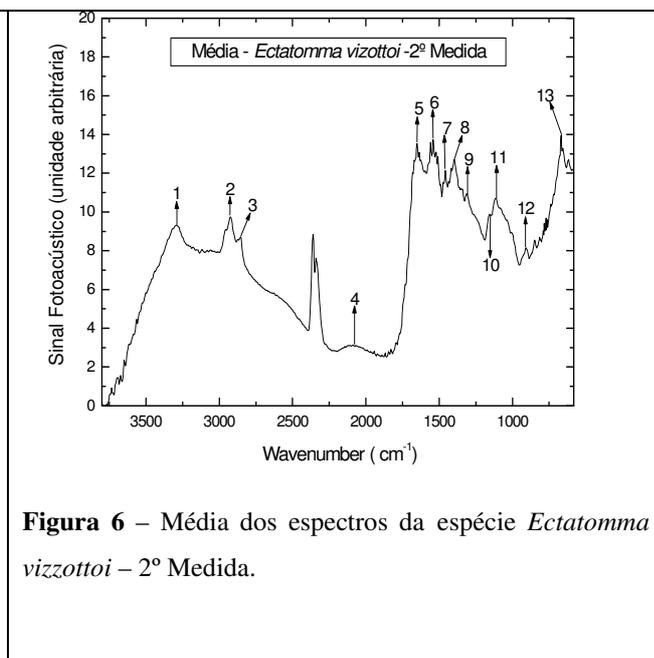
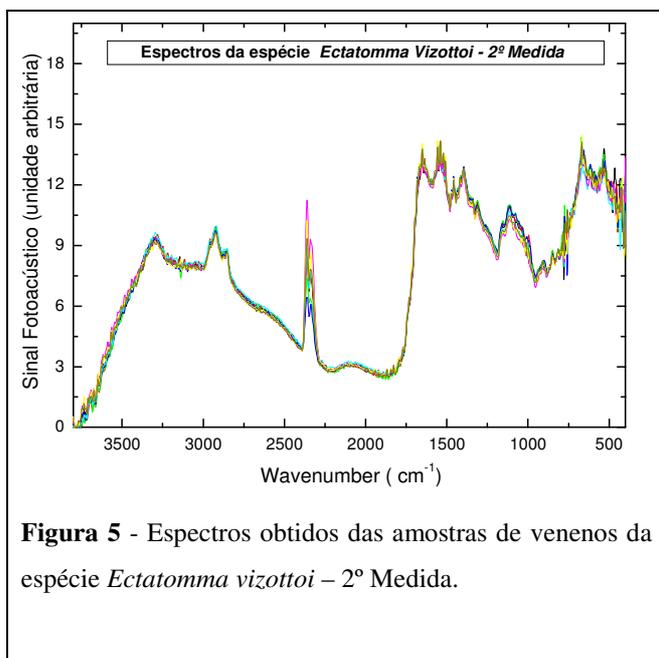


Tabela 3: Representação dos picos enumerados no espectro da média - *Ectatomma brunneum* – 2º Medida.

Pico	Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Modo de vibração
------	-------------------------------------	-----------------	------------------

1	3293,875	N-H	Estiramento Assimétrico
2	2923,604	CH ₃	Estiramento Assimétrico
3	2854,178	C-H	Estiramento Geral de Aldeído
4	2090,492	C ≡ C, C ≡ N	Estiramento
5	1650,795	NH ₂	Tesoura
6	1542,799	NO ₂	Estiramento Assimétrico
7	1457,945	CH ₃	Modo Guarda Chuva
8	1396,233	SO ₂	Estiramento Assimétrico
9	1311,379	SO ₂	Estiramento Assimétrico
10	1153,242	SO ₂	Estiramento Simétrico
11	1114,672	C-O-C	Estiramento Assimétrico
12	906,394	O-H	Desdobramento Fora do Plano
13	667,260	S-O	Desdobramento

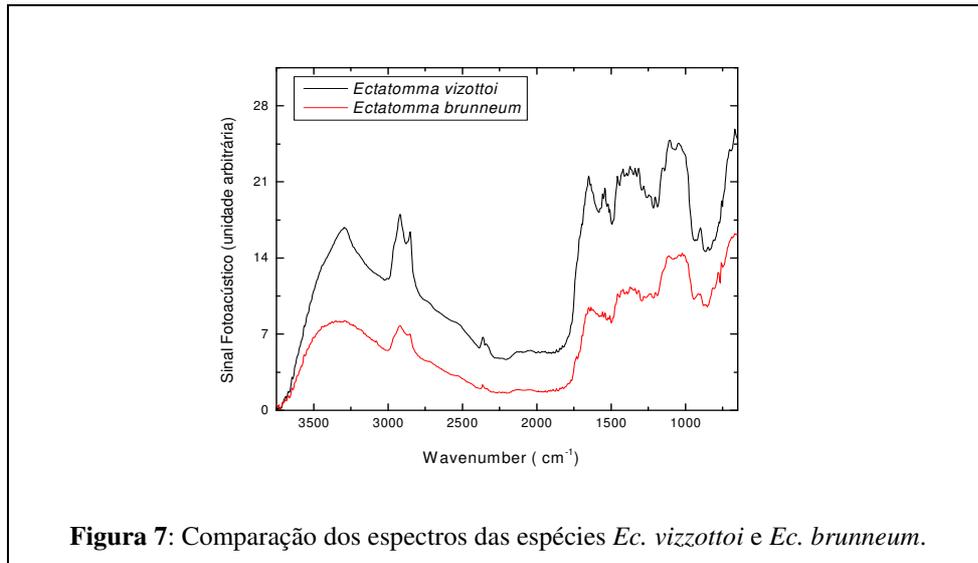
Conforme descrito na tabela 3, os picos 1, 5 e 6 são referentes aos grupos funcionais N-H, NH₂ e NO₂ respectivamente. A presença destes grupos funcionais neste espectro indica que estes pertencem ao grupo dos amidos secundários, evidenciando a presença de queratina na amostra analisada.

Os picos 5 ao 9 estão localizados em uma região conhecida como a impressão digital do material. Dentre esses, os picos 8, 9 e 10 estão relacionados com o modo de vibração característico ao SO₂, onde os picos 8 e 9 pertencem ao grupo funcional dos sulfatos e sulfanos respectivamente, tendo um modo de vibração do tipo estiramento assimétrico. Enquanto o pico 10 possui um modo de vibração do tipo estiramento simétrico, sendo esta região de vibração característica ao grupo funcional dos sulfatos.

O pico 11 corresponde ao modo de vibração característico ao grupo funcional dos éteres saturados, o qual de acordo com (SMITH, Braian C; p. 132) encontra-se nas regiões entre 1150 e 1070 cm⁻¹, e modo de vibração do tipo estiramento assimétrico.

Comparação entre os espectros *Ectatomma vizottoi* e *Ectatomma brunneum*.

Realizadas as análises das composições químicas presentes nos venenos das formigas das espécies *Ectatomma vizottoi* e *Ectatomma brunneum*, pode-se fazer uma comparação entre os espectros de cada espécie presentes nas secs. 4.1 e 4.2

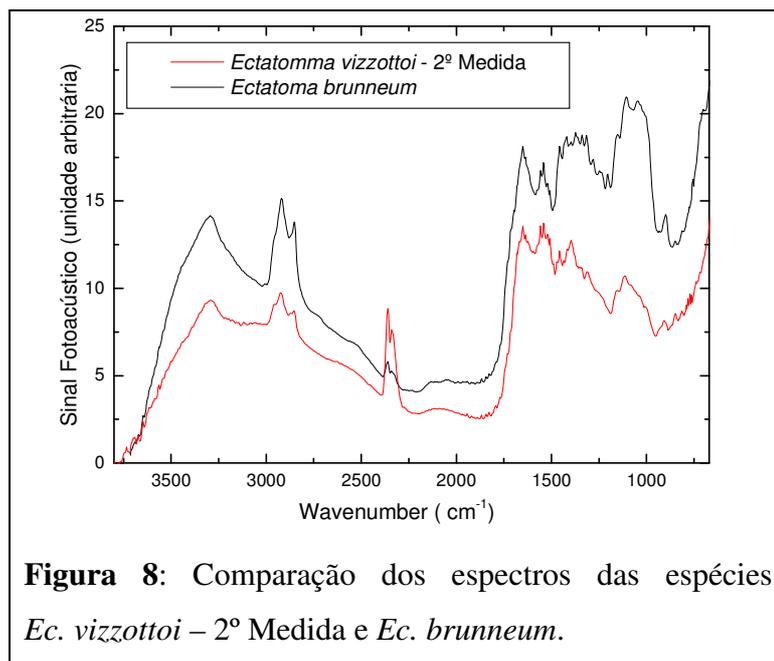


A Fig. 7 mostra uma comparação no comportamento dos espectros dos venenos das espécies de formigas *Ec. Vizottoi* e *Ec. brunneum*. Podemos verificar que os espectros possuem características distintas, as quais estão relacionadas com as composições químicas presentes no veneno de cada espécie.

Para a espécie de formigas *Ec. vizottoi*, estão presentes os compostos químicos listados na tabela 1 e para espécie de formigas *Ec. brunneum* estão listados na tabela 2, estes compostos químicos quando comprados fornecem informações dos pontos onde as espécies se diferenciam.

Comparação entre os espectros *Ectatomma vizottoi* – 2º Medida e *Ectatomma brunneum*.

A Fig.8 mostra uma comparação entre os espectros das espécies *Ec. brunneum* e *Ec. vizottoi* – 2º Medida.



As diferenças mais significativas estão presentes nas composições químicas dos venenos dessas espécies quando comparados. Essas diferenças podem ser apresentadas e verificadas na tabela 4.

Tabela 4: Comparação entre os grupos funcionais dos venenos das espécies – *Ectatomma vizzottoi* – 2ª Medida com *Ectatomma brunneum*.

Picos	Grupo funcional <i>Ec. vizzottoi</i> – 2º Medida	Grupo funcional <i>Ec. brunneum</i>
1	N-H	N-H
2	CH ₃	C-H
3	C-H	C ≡ C, C ≡ N
4	C ≡ C, C ≡ N	NH ₂
5	NH ₂	NO ₂
6	NO ₂	C-CH ₃
7	CH ₃	PO ₄ ⁻³
8	SO ₂	S=O
9	SO ₂	O-H
10	SO ₂	-
11	C-O-C	-
12	O-H	-
13	S-O	-

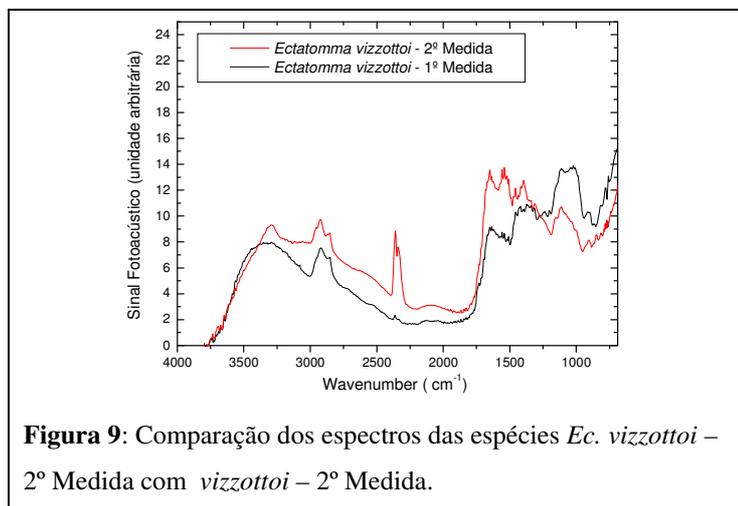
De acordo com a tabela 4 pode-se verificar que as duas espécies de formigas se diferem nas quantidades de grupos funcionais, sendo 15 grupos presentes na espécie de formigas *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida, enquanto na espécie *Ectatomma brunneum* apresentam somente 9.

A diferença no comportamento dos espectros apresentados na Fig. 8 pode ser justificada por ambas as espécies apresentarem grupos funcionais distintos, os quais estão apresentados na tabela 4. Estas diferenças estão relacionadas com os diferentes modos de vibrações presente nos venenos das espécies.

Uma outra característica importante, é que ambas as espécies possuem o grupo funcional característico ao grupo da queratina, sendo esta identificada, na espécie *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida, através dos picos 1, 5 e 6, e na espécie *Ectatomma brunneum* através dos picos 1, 4 e 5.

Comparação entre os espectros *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida e *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida.

Na Fig. 9 está apresentada uma comparação entre os espectros das composições químicas dos venenos de formigas da mesma espécie, a *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida.



Podemos notar que o comportamento dos espectros são distintos para a mesma espécie de formigas, pois de acordo com a tabela 5 esta diferença está relacionado como os diferentes compostos orgânicos presentes nas composições químicas dos venenos desta espécie.

Tabela 5: Comparação entre os grupos funcionais dos venenos das espécies –

Ectatomma vizzottoi – 1º Medida com *Ectatomma vizzottoi* – 2º Medida.

Picos	Grupo funcional <i>Ec. vizzottoi</i> – 1º Medida	Grupo funcional <i>Ec. vizzottoi</i> – 2º Medida
1	=OH	N-H
2	=C-H	CH ₃
3	-C ≡ C	C-H
4	-C ≡ N, -C ≡ C	C ≡ C, C ≡ N
5	=C=C	NH ₂
6	=NO ₂	NO ₂
7	=C-O	CH ₃
8	=SO ₂	SO ₂
9	=C-H	SO ₂
10	=C-N	SO ₂
11	=C-O	C-O-C
12	=C-H	O-H
13	=OH	S-O
14	=C-H	-
15	-C ≡ C	-

A diferença entre estes compostos podem estar associados com a alimentação dessas formigas, pois a mesma pertence a família das *Ectatomma vizzottoi*, porém estas foram coletadas de colônias distintas, ou seja de forma aleatória, podendo os indivíduos de cada colônia ingerir diferentes tipos alimentos, influenciando desta forma na composição química dos venenos destas formigas aqui analisadas.

Através desses resultados, podemos concluir que foi possível diferenciar as composições químicas dos venenos das espécies de formigas *Ec. vizzottoi* e *Ec. brunneum*, e até mesmo diferenciar variações das composições em venenos de formigas pertencentes a mesma espécie. Mostrando desta forma que o método da espectroscopia fotoacústica é acurado a ponto de identificar qualitativamente as diferenças nas composições químicas de seus venenos.

Além dos resultados apresentados nesta etapa do projeto, esta pesquisa contribui para fortalecer a natureza multidisciplinar dos laboratórios do CInAM, que vem se estruturando para se destacar como elemento gerador de tecnologias integradas, capazes de atender às questões importantes no contexto municipal e regional.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio do PIBIC/UEMS por ter concebido a bolsa de iniciação científica durante a realização do presente projeto.

A Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul pela a oportunidade de estar apresentado os resultados deste trabalho no 7º Semex/ENIC.

Aos grandes amigos Gustavo Targino Valente e Josué Gabriel de Leão pela ajuda na coleta das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELL, A. G., *Am. Sci.* **20**, 305 (1880).

BETTERIDGE, D. AND MEYLOR, P. J., *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* 14, 267 (1984).

EDWARDS, Scott. *Programmin And Customizin the Basic Stamp*, p. 02-04.

GAUGER, D.R.; POHLE, W. FT-IR spectroscopy for exposing the CH vibrational bands from the polar parts of pjospholipids. *Journal Molecular Structure*, p. 211-215, 2005.

GREGOR, K.; HANS, L.; RUDOLF, K. Fourier transform mid-infrared spectroscopy with attenuated total reflection (FT-IR/ATR) as a toll for the detection of *Fusarium* fungi on maize. *Vibrational Spectroscopy*, v. 29, p. 115-119, 2002.

LIN, J. W. AND DUBEK, L. P., *Anal. Chem.* 51, 1627 (1979).

McCLELLAND, J. F., *Anal. Chem.* 55, 89A (1983).

POHLE, W.; GAUGER, D.R.; et al. FTIR-spectroscopic characterization of phosphocholine-headgroup model compounds. *Journal of Molecular Structure*, p. 463-467, 2000.

ROSENCWAIG, A. (1980) *Photoacoustic and Photoacoustic Spectroscopy. Chem. Anal.* Wiley Interscience.

SHERMAN HSU, C.P. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, p.

247-283.

SMITH, Braian C. Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach, p. 132.