



Universidade Federal do Ceará  
Departamento de Física  
Programa de Pós-Graduação em Física

Gardênia de Sousa Pinheiro

**Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo  
 $\alpha$ -L-Aspartil-L-Alanina em Condições  
Extremas de Temperatura**

Fortaleza-CE, 11 de Abril de 2013.

Gardênia de Sousa Pinheiro

**Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo  
 $\alpha$ -L-Aspartil-L-Alanina em Condições  
Extremas de Temperatura**

*Orientador: Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo*

*Co-orientador: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire*

Tese submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

Fortaleza-CE, 11 de Abril de 2013.

Gardênia de Sousa Pinheiro

**Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo  
 $\alpha$ -L-Aspartil-L-Alanina em Condições  
Extremas de Temperatura**

Tese submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

**Comissão julgadora:**

---

Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo – UFC (Orientador)

---

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire – UFC (Co-orientador)

---

Prof. Dr. Josué Mendes Filho – UFC

---

Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala – UFC

---

Prof. Dr. Waldeci Paraguassu Feio – UFPA

---

Prof. Dr. Paulo Sérgio Pizani – UFSCar

Fortaleza-CE, 11 de Abril de 2013.

# Dedicatória

---

À toda a minha família.  
Em especial, ao meu pai Manoel Ribeiro Filho  
(*in memoriam*).

# Agradecimentos

---

- A Deus pelo dom da vida e por todas as conquistas nela realizada;

- Ao professor Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo pela orientação, pela grande contribuição que deu à minha formação desde o início da minha graduação, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e cumplicidade. Gostaria de deixar aqui registrado a minha estima, gratidão e admiração;

- Ao professor Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire pela co-orientação, pela grande contribuição que deu à minha formação de pesquisadora, pelos incentivos e discussões de resultados.

- A toda a minha família pelo apoio incondicional e por ser a minha maior fonte de incentivo. Ao meu pai Manoel Ribeiro Filho (*in memorian*), à minha avó Irismar Souza Ribeiro e à minha mãe Maria Gorete Pereira de Sousa que me criaram com amor e atenção e nunca mediram esforços para que eu tivesse uma boa educação. Aos meus irmãos Jéssica de Sousa, Oscar de Sousa e Bruno Exedito de Sousa pela compreensão e atenção. Aos tios José Rocha (*in memorian*) e Lucimar Paz, aos primos José Rocha Filho, Cecília Shirley e Júlio César Paz por sempre torcerem por mim. À Francisca Alene (em especial), Leonardo Prado e Arielle Maria pelo apoio e atenção em momentos difíceis. Todos tiveram um papel muito importante nessa etapa da minha vida, principalmente por me incentivarem para que eu seguisse em busca dos meus sonhos. A eles, a minha eterna gratidão;

- Aos professores do grupo de Espectroscopia Vibracional e Molecular pela ajuda no que foi necessário, desde a montagem de experimentos à discussão dos resultados. Em especial, aos professores Dr. Josué Mendes Filho e Dr. Alejandro Pedro Ayala, por terem auxiliado na minha formação acadêmica, inclusive nas discussões dos trabalhos desenvolvidos nesta tese;

- Ao Cleânio da Luz Lima, pela amizade, pela ajuda nos experimentos sempre que foi necessário e pelas valiosas discussões.

- Aos meus amigos Aldilene Saraiva, Roberto Maluf, Anaxágoras Maia e Francisco Ferreira pela amizade dispensada e pelos momentos de descontração;

- À Coordenação de Pós-Graduação em nome do seu coordenador Dr. Antônio Gomes de Souza Filho por toda assistência para com os seus alunos;

- A todos os professores das disciplinas que fiz durante a pós-graduação, pela contribuição que deram a minha formação.

- Aos secretários do Departamento e da Pós-Graduação Maria Creuza, Rejane Coelho, Ana Cleide Ferreira, Jailson Santos, Michele Ferreira e Vera Lúcia dos Santos por toda assistência dada sempre que foi preciso;

- Aos funcionários da Oficina Mecânica do departamento, em nome da pessoa do Sr. Sales, por todo o suporte necessário durante os experimentos e pelos momentos de descontração;

- Ao IPDI (Instituto de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação do Ceará) pela disponibilização de parte dos equipamentos utilizados nos experimentos de análise térmica e de espectroscopia de infravermelho;

- A todos os colegas de pós-graduação pela boa convivência;

- A todos que, de alguma forma, torceram por mim ou me incentivaram;

- Finalmente, ao CNPq, pelo apoio financeiro.

## Resumo

---

No presente trabalho o dipeptídeo  $\alpha$ -L-Aspartil-L-alanina ( $\alpha$ -Asp-Ala), cuja fórmula molecular é  $C_7H_{12}N_2O_5$ , foi estudado através de espectroscopia vibracional (Raman e de infravermelho) e análise térmica. Os experimentos de análise térmica (calorimetria diferencial de varredura e termogravimetria) foram realizados no intervalo de temperatura de 113 a 513 K. Experimentos de espectroscopia Raman sob condições extremas de temperatura (18 a 413 K) foram realizados no intervalo espectral de 20 a  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Como técnica complementar, experimentos de espectroscopia de infravermelho no intervalo de temperatura de 83 a 413 K na região espectral entre 400 a  $4000\text{ cm}^{-1}$  foram realizados. Da análise dos resultados, é possível concluir que: (i) o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala manteve-se estável a baixas temperaturas (18 a 293 K); (ii) o material estudado sofre uma transição de fase reversível de primeira ordem (tipo ordem-desordem) em 373 K, onde são observadas várias mudanças nos espectros vibracionais, principalmente nos modos vibracionais das unidades que participam diretamente das ligações de hidrogênio. (iii) A transição de fase sofrida pelo cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala (em torno de 373 K) envolve modificações nas ligações de hidrogênio, possivelmente a ruptura de pelo menos uma delas, além de mudança na conformação das moléculas na célula unitária.

# Abstract

---

In the present study the dipeptide  $\alpha$ -L-aspartyl-L-alanine ( $\alpha$ -Asp-Ala) whose molecular formula is  $C_7H_{12}N_2O_5$ , was studied using vibrational spectroscopy (IR and Raman) and thermal analysis. The thermal analysis experiments (differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis) were performed in the temperature range 113-513 K. Raman spectroscopy experiments under extreme conditions of temperature (18-413 K) were performed in the spectral range 20-3400  $cm^{-1}$ . As complementary technique, spectroscopy experiments infrared in the temperature range 83-413 K in the spectral region between 400 and 4000  $cm^{-1}$  were performed. From the analysis of the results, it is possible to conclude that: (i) no indication of a phase transition undergone by the  $\alpha$ -Asp-Ala crystal at low temperatures (18 to 293 K) was observed, (ii) the studied material undergoes a reversible first order phase transition from order-disorder type at 373 K, where several changes were observed in the vibrational spectra, especially with vibrational modes of the units that participate directly of the hydrogen bonds; (iii) The phase transition undergone by the  $\alpha$ -Asp-Ala crystal (about 373 K) involves changes in hydrogen bonds, possibly rupture of at least one of them, and change in the conformation of the molecules in the unit cell.



# Sumário

---

Resumo .....	iv
Abstract.....	v
Sumário.....	vi
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas .....	xiv
Capítulo 1 – Introdução .....	1
Capítulo 2 – A Estrutura do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala .....	3
Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais.....	8
3.1 A amostra de $\alpha$ -Asp-Ala.....	8
3.2 Experimentos de Análise Térmica.....	10
i. Análise Termogravimétrica (TGA).....	10
ii. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	11
3.3 Experimentos de Espectroscopia Raman.....	12
i. Experimentos de Espectroscopia Raman a baixas temperaturas.....	13
ii. Experimentos de Espectroscopia Raman a altas temperaturas.....	14
3.4 Experimentos de Espectroscopia de infravermelho.....	15
Capítulo 4 – Propriedades Térmicas do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala .....	17
4.1 Termogravimetria (TGA) .....	17
4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	19
i. Baixas Temperaturas .....	19
ii. Altas Temperaturas.....	20
4.3 Conclusões.....	22
Capítulo 5 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala à Temperatura Ambiente .....	23

5.1 Teoria de grupos para o cristal de $\alpha$ -Asp-Ala.....	23
5.2 Espectroscopia Vibracional .....	25
i. Região de vibração dos modos externos (região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ ) .....	25
ii. Região de vibração entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ .....	26
iii. Região de vibração entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	29
iv. Região de vibração entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	31
v. Região de vibração entre 2800 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	33
5.3 Conclusões.....	35
Capítulo 6 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala a Baixas Temperaturas .....	39
6.1 Espectroscopia Raman.....	39
i. Região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ .....	40
ii. Região espectral entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ .....	43
iii. Região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	48
iv. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	50
v. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	54
vi. Anarmonicidade .....	57
6.2 Espectroscopia de infravermelho.....	61
i. Região espectral entre 400 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	61
ii. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	65
iii. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	69
6.3 Conclusões.....	73
Capítulo 7 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala a Altas Temperaturas	74
7.1 Espectroscopia Raman.....	74
i. Região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ .....	74
ii. Região espectral entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ .....	77

iii. Região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	81
iv. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	83
v. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	86
7.2 Espectroscopia de infravermelho.....	93
i. Região espectral entre 470 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	93
ii. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	97
iii. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	101
7.3 Conclusões.....	105
Capítulo 8 – Conclusões e Perspectivas.....	107
8.1 Conclusões.....	107
8.2 Perspectivas .....	108
Apêndice A - Análise de Componentes Principais .....	110
A.1 Introdução .....	110
A.2 Descrição Matemática da PCA.....	111
Referências Bibliográficas .....	114

# Lista de Figuras

---

Figura 1 – Fórmula estrutural da Asp-Ala. ....	3
Figura 2 – Célula unitária do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. ....	4
Figura 3 – Célula unitária do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala vista ao longo do eixo a. ....	5
Figura 4 – Conformação zwitteriônica da molécula de $\alpha$ -Asp-Ala ....	5
Figura 5 – Pó comercial utilizado nos experimentos com cristais de $\alpha$ -Asp-Ala. ...	8
Figura 6 – Difratoogramas experimental e teórico obtidos para o cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. ....	9
Figura 7 – STA 449 F3 da Netzsch utilizado no experimento de análise termogravimétrica. ....	10
Figura 8 – DSC 204 F1 da Netzsch utilizado nos experimentos de calorimetria exploratória diferencial (DSC). ....	11
Figura 9 – Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento. ....	12
Figura 10 – Sistema de micro-análise utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman. ....	13
Figura 11 – Criostato utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman a baixas temperaturas. ....	14
Figura 12 – Sistema utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman a altas temperaturas. ....	15
Figura 13 – Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) utilizado. ....	16
Figura 14 – Criostato utilizado nos experimentos de FT-IR em diferentes valores de temperaturas. ....	16
Figura 15 – Análise termogravimétrica (TG) do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. ....	18
Figura 16 – Curva DSC do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala em baixas temperaturas. ....	19
Figura 17 – Calor específico ( $C_p$ ) em função da temperatura do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. ....	20

Figura 18 – Calorimetria exploratória diferencial (DSC) do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. .....	21
Figura 19 – Espectro Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 20 a 200 $\text{cm}^{-1}$ . .....	26
Figura 20 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 200 a 800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	27
Figura 21 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 800 a 1200 $\text{cm}^{-1}$ . .....	29
Figura 22 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 1200 a 1800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	31
Figura 23 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 2800 a 3450 $\text{cm}^{-1}$ . .....	34
Figura 24 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ em um experimento de resfriamento da amostra. .....	40
Figura 25 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ . .....	42
Figura 26 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	43
Figura 27 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	47
Figura 28 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ . .....	48
Figura 29 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ . .....	49
Figura 30 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ . .....	51
Figura 31 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste matemático para todos os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ . (a) Modos lineares; (b-c) Modos exponenciais. ....	53
Figura 32 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ . .....	55

Figura 33 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste matemático para todos os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ . (a) Modos lineares; (b) Modo exponencial.....	56
Figura 34 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 400 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	62
Figura 35 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	63
Figura 36 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala. ....	63
Figura 37 – (a) Espectro de infravermelho médio do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para a região 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal. ....	64
Figura 38 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala em função da temperatura na região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	65
Figura 39 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	66
Figura 40 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do $\alpha$ -Asp-Ala.....	67
Figura 41 – (a) Espectro de infravermelho médio do $\alpha$ -Asp-Ala para a região 1200-1800 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal. ....	68
Figura 42 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2800 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	69
Figura 43 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	70
Figura 44 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do $\alpha$ -Asp-Ala.....	71
Figura 45 – (a) Espectro de infravermelho médio do $\alpha$ -Asp-Ala para a região 2800-3450 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal. ....	72
Figura 46 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ .....	75
Figura 47 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ .....	76
Figura 48 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ .....	77

Figura 49 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$ .....	79
Figura 50 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	81
Figura 51 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	82
Figura 52 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	84
Figura 53 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	85
Figura 54 – Espectros Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	87
Figura 55 – Gráfico do número de onda <i>versus</i> temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	89
Figura 56 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 470 e 1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	93
Figura 57 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	94
Figura 58 – Peso da duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do $\alpha$ -Asp-Ala. ....	95
Figura 59 – (a) Espectro de infravermelho médio do $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal. ....	96
Figura 60 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$ .....	97
Figura 61 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	98
Figura 62 – Peso da duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do $\alpha$ -Asp-Ala. ....	99
Figura 63 – (a) Espectro de infravermelho médio do $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal. ....	100
Figura 64 – Espectros de infravermelho do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ .....	101

Figura 65 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais. ....	102
Figura 66 – Peso das duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do $\alpha$ -Asp-Ala. ....	103
Figura 67 – (a) Espectro de infravermelho médio do $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal. ....	104



## Lista de Tabelas

---

Tabela 1 – Dados cristalográficos para o cristal de $\alpha$ -Asp-Ala.....	4
Tabela 2 – Distâncias intramoleculares da molécula de $\alpha$ -Asp-Ala [28].....	6
Tabela 3 – Ângulos das ligações intramoleculares da molécula de $\alpha$ -Asp-Ala [28].....	6
Tabela 4 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala [28].....	7
Tabela 5 – Tabela de caracteres do grupo $C_2$ [31]. .....	24
Tabela 6 – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala à temperatura ambiente .....	36
Tabela 7 – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes à região espectral entre 20 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ para valores de temperatura entre 18 e 293 K. ....	58
Tabela 8 – Coeficientes do ajuste exponencial (equação 6) para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ para valores de temperatura entre 18 e 293 K. ....	60
Tabela 9 – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450 $\text{cm}^{-1}$ para valores de temperatura entre 298 e 428 K. ....	90

# Capítulo 1 – Introdução

---

Estudos de moléculas biológicas têm despertado de longa data o interesse científico interdisciplinar. De fato, numerosos estudos experimentais têm sido relatados sobre esses compostos usando uma série de técnicas e métodos diferentes para explorar as suas características físico-químicas e biológicas tanto a partir de uma base de conhecimento fundamental quanto do ponto de vista da aplicação (industrial e medicinal). Estas investigações incluem diversas áreas tais como síntese (nos estados sólidos e líquidos), bem como mecanismos de reações e produção de estruturas análogas (e derivados) [1–3]. Além disso, a sua diversa ocorrência, isoladamente e determinação estrutural a partir de fontes naturais (incluindo microrganismos [4,5], mamíferos superiores [6,7] e em alimentos [8,9]) têm chamado a atenção dos pesquisadores. Sem surpresa, o seu potencial farmacológico também não escapou à atenção [10–12].

Por definição, molécula biológica é qualquer molécula que é produzida por um organismo vivo, incluindo macromoléculas, tais como proteínas, polissacarídeos, lipídios e ácidos nucleicos, assim como as moléculas menores, tais como os aminoácidos e peptídeos, onde o último é o objeto de estudo deste trabalho.

As funções biológicas dos peptídeos em sistemas vivos estão relacionadas com as suas estruturas tridimensionais. Propriedades conformacionais dos peptídeos biologicamente ativos são importantes para a investigação da sua estrutura funcional. Além disso, as propriedades eletrônicas e vibracionais de uma molécula estão relacionadas com a sua conformação [13].

Investigações teóricas, estruturais e espectroscópicas têm sido extensivamente relatadas, incluindo estudos utilizando difração de raios-x, ressonância magnética nuclear, espectroscopia de dicroísmo circular ou de uma combinação destas técnicas [14–19]. Apesar disso, experimentos detalhados de espectroscopia vibracional em peptídeos têm, até a data, sido menos comuns, com algumas exceções [1,13,20–26].

A alanina desempenha um papel importante no sistema nervoso central, atuando na formação de neurotransmissores. Também atua na regulação dos níveis de

glicose e no sistema imunológico, através da produção de linfócitos. Este aminoácido ativa a gluconeogênese, acelerando o metabolismo do álcool e do acetaldeído. A mesma tem se mostrado um fármaco antibacteriano promissor.

O dipeptídeo  $\alpha$ -L-aspartil-L-alanina ( $\alpha$ -Asp-Ala) é um neurotransmissor e desempenha um papel fisiológico na transmissão sináptica. É interessante notar que o dipeptídeo é uma parte da sequência de muitos peptídeos que ocorrem naturalmente, incluindo VIP (peptídeo intestinal vasoativo), ACTH 18-39, DSIP (peptídeo indutor do sono delta) e eledoisina [27].

No presente trabalho, foi desenvolvido um estudo espectroscópico vibracional do dipeptídeo  $\alpha$ -Asp-Ala, no estado sólido, em condições extremas de temperatura, suportado por análise térmica. Apesar da espectroscopia vibracional ter se tornado uma importante técnica para caracterização estrutural de moléculas biológicas, estudos deste material ainda não foram relatados. No capítulo 2 é apresentada a estrutura detalhada do cristal estudado. O aparato experimental utilizado nos é apresentado no capítulo 3. Em seguida, no capítulo 4, são apresentados os resultados da análise térmica obtidos para o cristal estudado. No capítulo 5, a teoria de grupos para o cristal estudados é feita, além da classificação estimada dos modos vibracionais à temperatura ambiente. Na sequência, no capítulo 6, os resultados de espectroscopia vibracional (Raman e infravermelho) a baixas temperaturas do cristal são discutidos. No capítulo 7, os resultados obtidos de espectroscopia a altas temperaturas são apresentados e discutidos. Finalmente, no capítulo 8 são apresentadas as conclusões e perspectivas do presente trabalho.

# Capítulo 2 – A Estrutura do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala

Neste capítulo são apresentadas as características estruturais do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala estudados neste trabalho.

À temperatura ambiente, o dipeptídeo  $\alpha$ -L-Aspartil-L-alanina ( $\alpha$ -Asp-Ala), cuja fórmula molecular é  $C_7H_{12}N_2O_5$ , tem estrutura monoclinica com duas moléculas por célula unitária. A fórmula estrutural da molécula de Asp-Ala está representada na Figura 1. O cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertence ao grupo espacial não-centrossimétrico  $C_2^2$  ( $P2_1$ ) e as dimensões da célula unitária são:  $a = 4,788(1)$  Å,  $b = 16,493(4)$  Å e  $c = 5,807(1)$  Å; e ângulo  $\beta = 107,55^\circ$  [28]. Os principais dados cristalográficos são apresentados na Tabela 1. A célula unitária do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala, determinada por Gorbitz [28] a partir de difração de raios-X, é mostrada na Figura 2, assim como as interações intermoleculares no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. As moléculas de  $\alpha$ -Asp-Ala formam uma rede tridimensional através de ligações de hidrogênio entre as carboxilas e o grupo amino. A Figura 2 mostra que a estrutura cristalina é estabilizada por ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo O-H...O, N-H...O e C-H...O, que estão tracejadas em verde, vermelho e azul, respectivamente. A visão da célula unitária do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala ao longo do eixo  $a$  é mostrada na Figura 3.

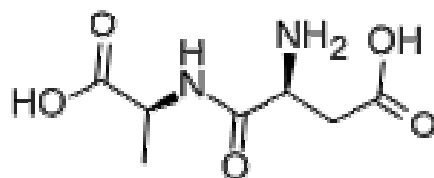


Figura 1 – Fórmula estrutural da Asp-Ala.

Tabela 1 – Dados cristalográficos para o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

Fórmula molecular	$C_7H_{12}N_2O_5$
Massa molar	204,2 g/mol
Estrutura	monoclínica
Grupo espacial	$P2_1 (C_2^2)$
Parâmetros de rede	$a = 4,788(1) \text{ \AA}$ $b = 16,493(4) \text{ \AA}$ $c = 5,807(1) \text{ \AA}$ $\beta = 107,55^\circ$
Volume da célula unitária	$449,2(2) \text{ \AA}^3$
Número de moléculas por célula unitária	2

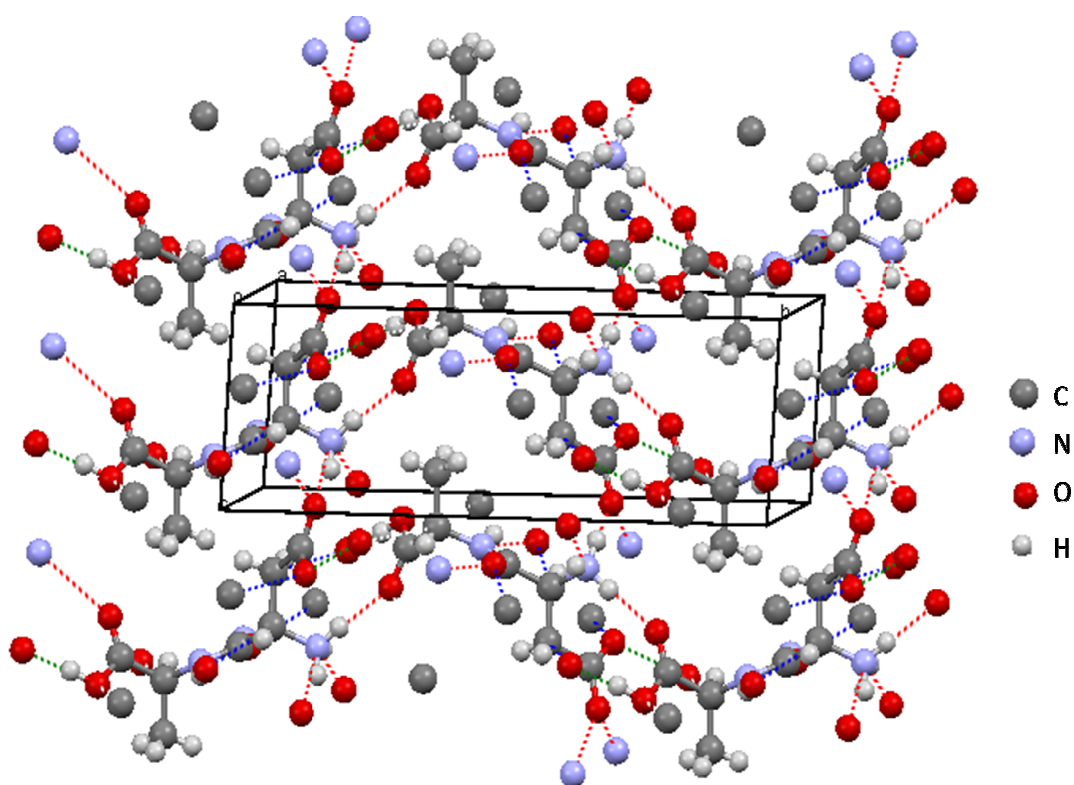


Figura 2 – Célula unitária do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

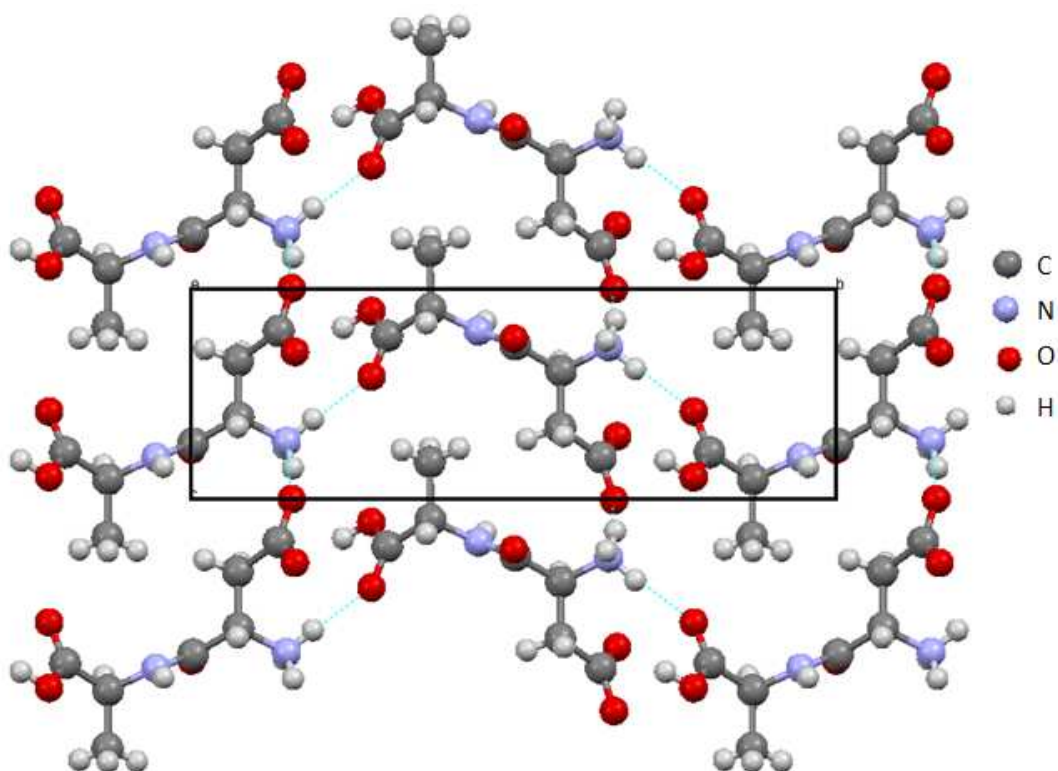


Figura 3 – Célula unitária do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala vista ao longo do eixo a.

Na Figura 4 está representada a conformação zwitteriônica da molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala com a identificação dos seus respectivos átomos, onde a numeração dos átomos de hidrogênio foi omitida. É possível observar que, nessa conformação, um dos hidrogênios pertencentes à carboxila é deslocado para o grupo amino. As distâncias intramoleculares e os ângulos de ligações estão listados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente, conforme obtidas por Gorbitz *et al.* [28].

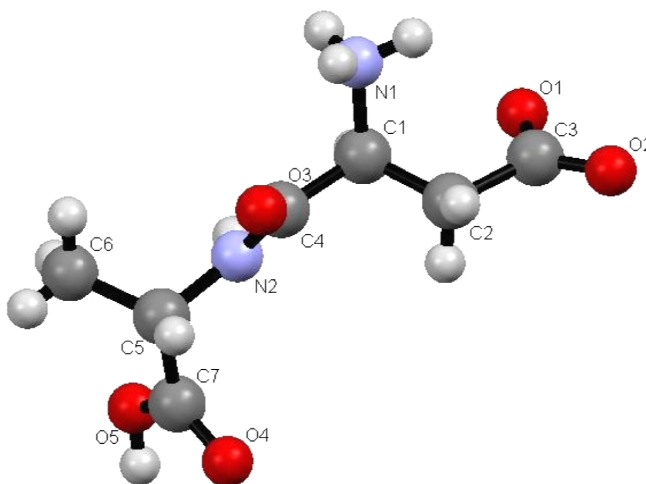


Figura 4 – Conformação zwitteriônica da molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala

Tabela 2 – Distâncias intramoleculares da molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala [28].

Ligações	Distância intramolecular (Å)
O(2)-C(3)	1,249
O(1)-C(3)	1,264
C(3)-C(2)	1,540
C(2)-C(1)	1,520
C(1)-N(1)	1,498
C(1)-C(4)	1,521
C(4)-O(3)	1,239
C(4)-N(2)	1,328
N2-C(5)	1,464
C(5)-C(7)	1,531
C7-O(4)	1,214
C(7)-O(5)	1,310
C(5)-C(6)	1,522

Tabela 3 – Ângulos das ligações intramoleculares da molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala [28].

Ligações	Ângulo (°)
O(1)-C(3)-O(2)	125
O(1)-C(3)-C(2)	116
O(2)-C(3)-C(2)	119
C(3)-C(2)-C(1)	113
C(2)-C(1)-N(1)	111
N(1)-C(1)-C(4)	109
C(2)-C(1)-C(4)	110
C(1)-C(4)-O(3)	120
C(1)-C(4)-N(2)	116
O(3)-C(4)-N(2)	124
C(4)-N(2)-C(5)	122
N(2)-C(5)-C(6)	112
N(2)-C(5)-C(7)	107
C(6)-C(5)-C(7)	115
O(4)-C(7)-O(5)	125
O(5)-C(7)-C(5)	114

Na Tabela 4 estão listados os comprimentos das ligações de hidrogênio. O grupo aspartil da molécula está situado muito próximo do grupo carboxil da molécula vizinha, e a ligação de hidrogênio formada entre essas duas unidades é a mais curta já observada em peptídeos (2,502 Å) [28].

Tabela 4 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala [28].

Ligações	Distância (Å)	Distância (Å)	Ângulo (°)
D-H...A	H...A	D...A	D-H...A
O(5)-H...O(1)	1,59	2,502	172
N(1)-H...O(2)	1,94	2,781	152
N(1)-H...O(2)	2,07	2,885	148
N(1)-H...O(4)	1,92	2,822	174
N(2)-H...O(3)	2,14	2,893	148
C(1)-H...O(3)	2,43	3,289	153
C(2)-H...O(1)	2,46	3,311	148



## Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais

---

Neste capítulo são apresentados os arranjos experimentais utilizados neste trabalho. Inicialmente, a amostra utilizada é apresentada. Em seguida, os equipamentos de espectroscopia (Raman e de infravermelho) e seus acessórios são descritos. E por fim, os equipamentos de análise térmica (análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial) são apresentados.

### 3.1 A amostra de $\alpha$ -Asp-Ala

As amostras policristalinas de  $\alpha$ -Asp-Ala utilizadas neste trabalho foram originadas do pó comercial fabricado pela Sigma Aldrich (referência A1277 - Figura 5).

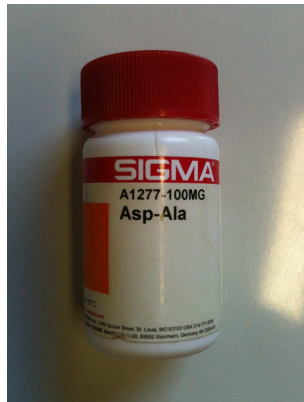


Figura 5 – Pó comercial utilizado nos experimentos com cristais de  $\alpha$ -Asp-Ala.

Com o intuito de confirmar a estrutura cristalina da amostra utilizada foi realizado um experimento de difração de raios-x de policristais a temperatura ambiente. Esse experimento foi realizado no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Molecular do Departamento de Física da UFC onde foi utilizado um Difrátômetro de Raios-X (modelo D8 Advance, da Bruker Optics) utilizando radiação monocromática de Cu K $\alpha$ . Nesse experimento foi utilizada a configuração  $\theta - 2\theta$ , com  $2\theta$  variando no intervalo de 5 a 50° e passo 0,05°.

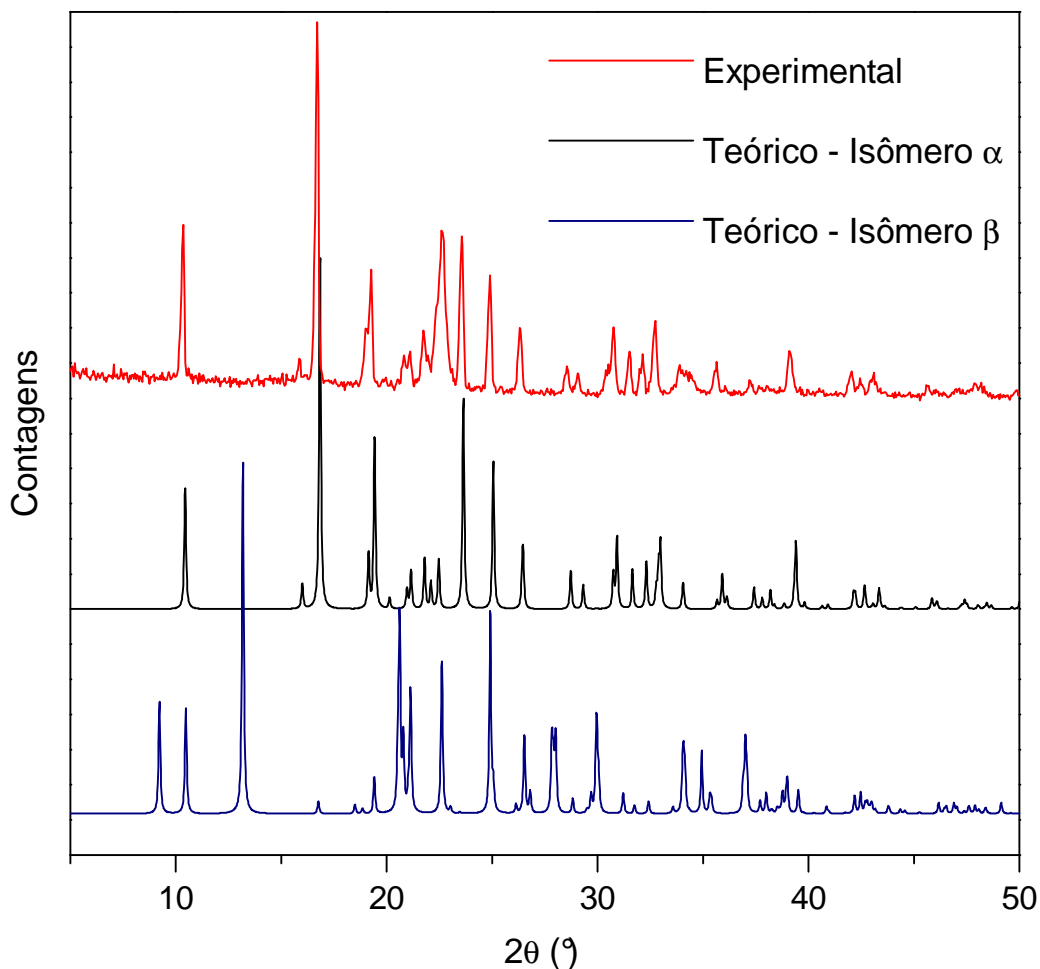


Figura 6 – Difratomogramas experimental e teórico obtidos para o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

Utilizando o programa Mercury (versão 3.0), distribuído pelo Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), e a partir do arquivo CIF (Crystallographic Information File) publicado por Görbitz [28] obteve-se o difratograma de raios-x de policristais teórico para as duas formas isoméricas do cristal de Asp-Ala. A Figura 6 mostra os difratogramas experimental e teórico obtidos. É possível observar nesta figura uma correspondência de posições e intensidades nos difratogramas experimental e o do isômero  $\alpha$ , o que nos leva a afirmar que os dois padrões de difração correspondem à mesma estrutura cristalina. Além disso, pode-se notar um pequeno deslocamento dos picos de difração. Isso pode ser explicado devido ao fato de que a estrutura cristalina obtida por Gorbitz [28] foi determinada a uma temperatura de 120 K.

## 3.2 Experimentos de Análise Térmica

Experimentos de análise térmica (análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial) foram realizados com o objetivo de verificar a estabilidade térmica do material e averiguar a reversibilidade de possíveis transições de fase.

### i. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada utilizando o equipamento STA 449 F3 (Figura 7), da Netzsch, no intervalo de temperatura de 308 a 623 K usando uma taxa de aquecimento de 5 K/min em atmosfera de nitrogênio. A massa utilizada foi de 10 mg e o cadinho usado era de alumínio.



Figura 7 – STA 449 F3 da Netzsch utilizado no experimento de análise termogravimétrica.

## ii. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC, do inglês) foi realizada utilizando o equipamento DSC 204F1 (Figura 8), da Netzsch, sendo o experimento realizado em atmosfera de nitrogênio ( $N_2$ ) e com cadinhos de alumínio. Para a etapa de resfriamento da amostra, foi utilizado nitrogênio líquido ( $N_2$ ). Para o cálculo do calor específico da amostra, utilizou-se a safira como amostra de referência. A massa utilizada foi de 2 mg.



Figura 8 – DSC 204 F1 da Netzsch utilizado nos experimentos de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

### 3.3 Experimentos de Espectroscopia Raman

Os espectros Raman dos cristais foram obtidos utilizando um sistema de micro-Raman que utiliza uma geometria de retroespalhamento (Figura 9). Essa configuração consiste na incidência de um feixe de radiação eletromagnética ( $\vec{E}_i$ ) na amostra que é aproximadamente paralela à radiação espalhada ( $\vec{E}_e$ ). A luz espalhada foi coletada através do sistema T64000 da Jobin Yvon – Horiba (Figura 10), que consiste de um espectrômetro triplo, ao qual foi acoplado um sistema de micro-análise, um micro-computador e um sistema de detecção tipo CCD (*Coupled Charge Device*) resfriado a nitrogênio líquido. Os experimentos realizados utilizaram um laser de argônio (Ar), modelo Innova 70 da Coherent Inc., emitindo na linha de 514,5 nm com potências de saída entre 150 e 250 mW. A região espectral observada nessas análises foi de 20 a 3450  $\text{cm}^{-1}$ . Pelo caminho óptico foram posicionados espelhos e lentes. O sistema de micro-análise é constituído de uma câmera de vídeo ligada a um monitor e adaptada a um microscópio confocal Olympus BX40 (Figura 10) com uma lente objetiva plano-cromática com distância focal de 20 mm e abertura numérica 0,35, microscópio que tem como objetivo focalizar o feixe do laser sobre a superfície da amostra com precisão. As fendas do espectrômetro foram ajustadas de modo a fornecer uma resolução espectral da ordem de 2  $\text{cm}^{-1}$ . O sistema é alinhado utilizando uma amostra padrão de silício usando a sua banda Raman posicionada em 521  $\text{cm}^{-1}$ . Uma interface apropriada possibilita a transferência dos sinais coletados no espectrômetro para o computador.

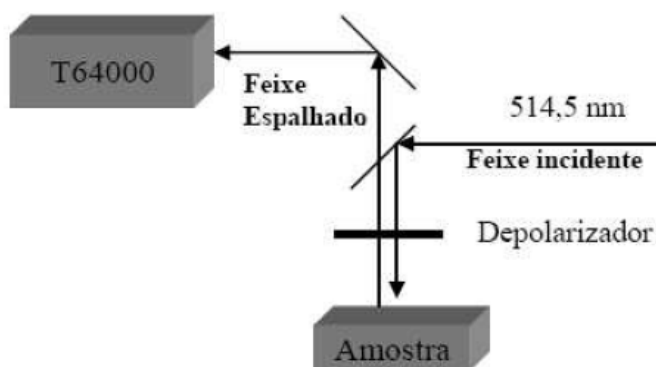


Figura 9 – Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento.



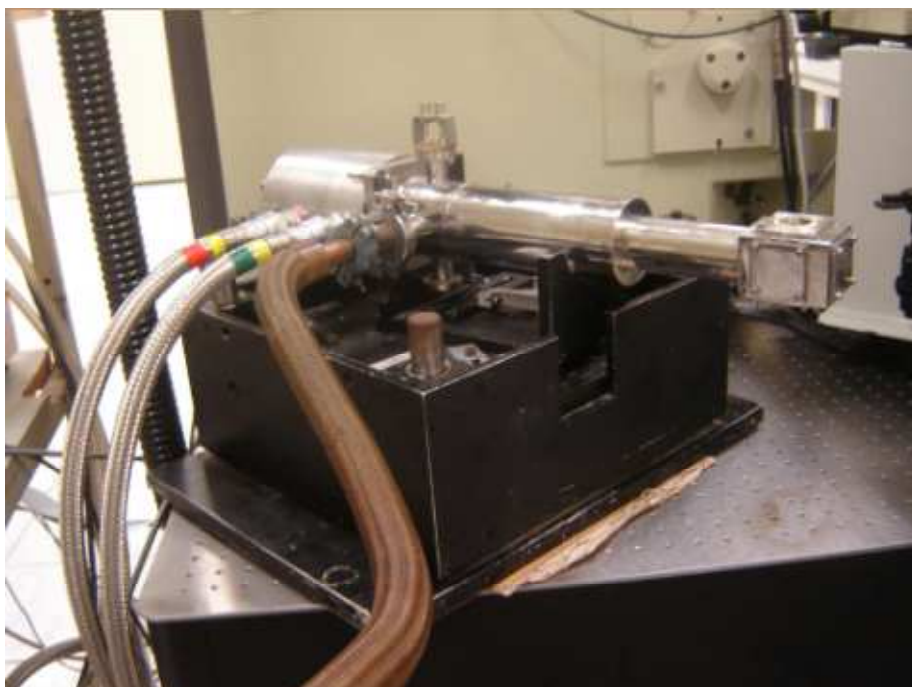


Figura 11 – Criostato utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman a baixas temperaturas.

Os experimentos foram realizados desde a temperatura ambiente (293 K) até a temperatura de 18 K. A temperatura foi medida utilizando um termopar do tipo T (Cobre/Constantan) ligado a um controlador de temperatura Lakeshore modelo 330 cuja precisão é de  $\pm 0,1$  K.

## **ii. Experimentos de Espectroscopia Raman a altas temperaturas**

Para os experimentos a altas temperaturas foi utilizado um forno resistivo (Figura 12) fabricado no nosso Departamento sob a orientação do professor Dr. Alejandro Pedro Ayala. O forno foi construído baseado no forno modelo TS15000 da Linkam Scientific Instruments. A refrigeração do forno foi feita com água e o controle de temperatura foi realizado utilizando um termopar tipo S (Platina/Ródio-Platina) e um controlador modelo HW4200 da Coel Controles Elétricos Ltda.

Os experimentos no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala foram realizados desde a temperatura ambiente (298 K) até a temperatura de 428 K.



Figura 12 – Sistema utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman a altas temperaturas.

### 3.4 Experimentos de Espectroscopia de infravermelho

Os experimentos de espectroscopia de infravermelho (FT-IR) foram realizados utilizando um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier Vertex 70 (da Bruker Optics - Figura 13). Os espectros de infravermelho (IR) foram obtidos utilizando os métodos de transmitância (pastilhamento com KBr) ou de reflectância (reflectância total atenuada - ATR). O equipamento constava de um detector de DLATGS (L-alanina deuterada dopada com sulfato de triglicina), janelas e *beamsplitter* de KBr e uma fonte de amplo espectro (Globar). Os espectros foram obtidos no modo absorvância utilizando 256 varreduras e uma resolução espectral de  $2\text{ cm}^{-1}$ .

Para o experimento em diferentes temperaturas, foi utilizado um criostato com acesso óptico resfriado a nitrogênio líquido (modelo VPF-100, da Janis Research Company Inc.) e um controlador de temperatura Lakeshore (modelo 330 - Figura 14) com precisão de  $\pm 0,1\text{ K}$ .





Figura 13 – Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) utilizado.



Figura 14 – Criostato utilizado nos experimentos de FT-IR em diferentes valores de temperaturas.

# Capítulo 4 – Propriedades Térmicas do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala

---

Experimentos de análise térmica foram realizados a fim de se estudar a estabilidade térmica do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. As técnicas utilizadas foram a Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*)

## 4.1 Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada a fim de verificar a estabilidade térmica do material e sua temperatura de decomposição. A análise do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala foi realizada no intervalo de temperatura de 308 a 623 K usando uma taxa de aquecimento de 5 K/min em atmosfera de nitrogênio. A massa utilizada foi de 10 mg e o cadinho utilizado era de alumínio.

A Figura 15 mostra a curva termogravimétrica (TG) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala, juntamente com a sua respectiva derivada (DTG).

Dessa análise, podemos observar dois eventos de perda de massa. Os eventos observados indicam que a decomposição do material ocorre em duas etapas:

- (i) O primeiro evento observado durante esse experimento tem início em torno de 453 K e finaliza em 473 K, onde é observada uma perda de massa de 17,5 %;
- (ii) O segundo processo de decomposição, que inicia em 523 K, evidencia uma perda de massa de 48,2 % da massa total.

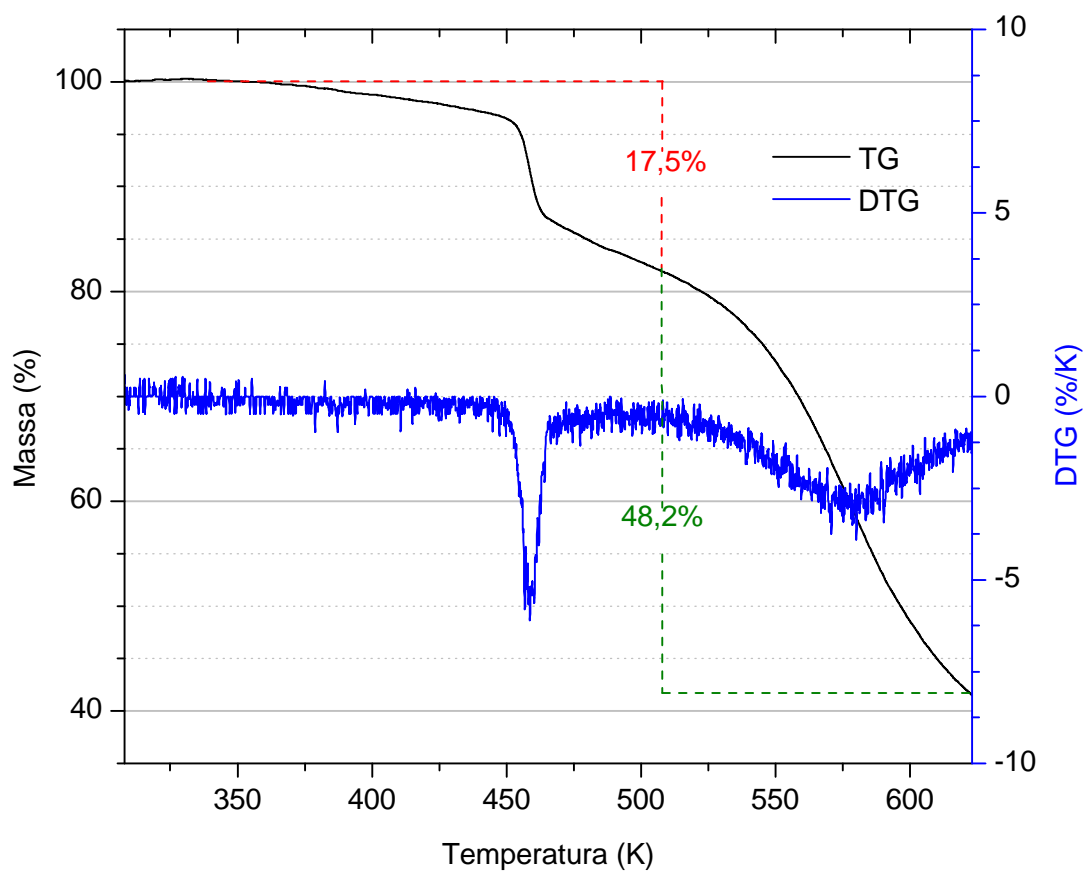


Figura 15 – Análise termogravimétrica (TG) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

## 4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Experimentos de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC, do inglês) foram realizados a fim de se investigar a existência de transições de fase no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

### i. Baixas Temperaturas

O experimento de DSC em baixas temperaturas foi realizado no intervalo de temperatura entre 150 e 300 K, utilizando uma taxa de aquecimento de 5 K/min. A atmosfera utilizada foi de nitrogênio e cadinho de alumínio. Para resfriar a amostra foi utilizado nitrogênio líquido ( $N_2$ ). A massa utilizada foi de 2 mg.

A Figura 16 apresenta a curva DSC para o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em baixas temperaturas. Desta figura, é possível concluir que o cristal estudado é estável para o intervalo de temperatura entre 150 e 300 K.

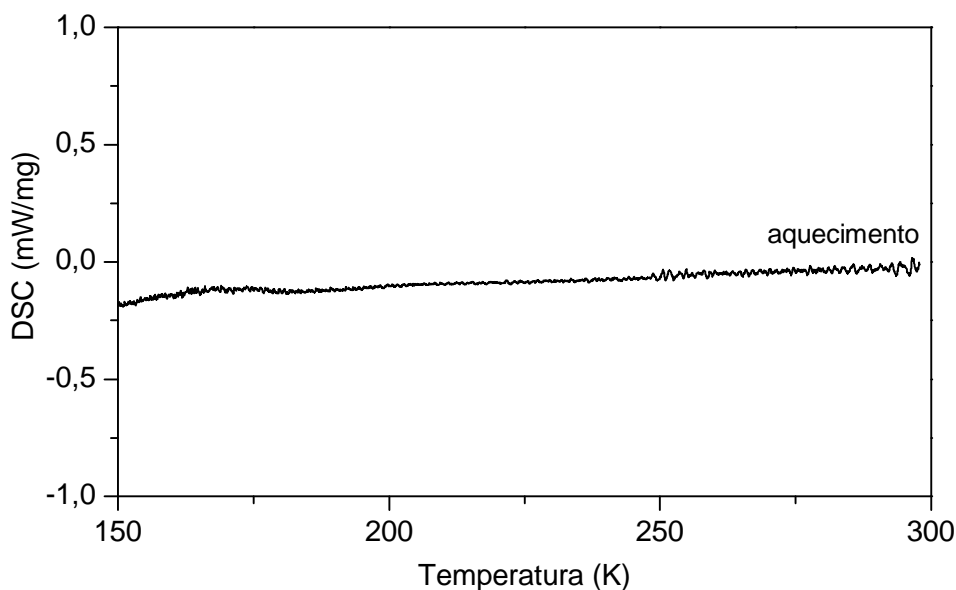


Figura 16 – Curva DSC do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em baixas temperaturas.

## ii. Altas Temperaturas

O experimento de DSC em altas temperaturas foi realizado juntamente com o cálculo de calor específico no intervalo de temperatura entre 293 e 623 K, utilizando uma taxa de aquecimento de 5 K/min. A atmosfera utilizada foi de nitrogênio e o cadinho de alumínio. Para o cálculo do calor específico da amostra, utilizou-se a safira como amostra de referência. A massa utilizada foi de 2 mg.

A Figura 17 apresenta a curva do calor específico ( $C_p$ ) para o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. Nessa figura são observados três eventos endotérmicos:

(i) Um primeiro evento inicia em 376 K e possui variação de entalpia (numericamente igual à área do pico) é 28,21 J/g. Desta curva, juntamente com o resultado obtido da análise termogravimétrica (Figura 15), podemos afirmar que o cristal sofre uma transição de fase de primeira ordem em 376 K;

(ii) O evento que inicia em 454 K está associado à primeira etapa da decomposição do material, como mostrado na Figura 15. O segundo evento termina em 465 K e possui  $\Delta H = 259,3$  J/g;

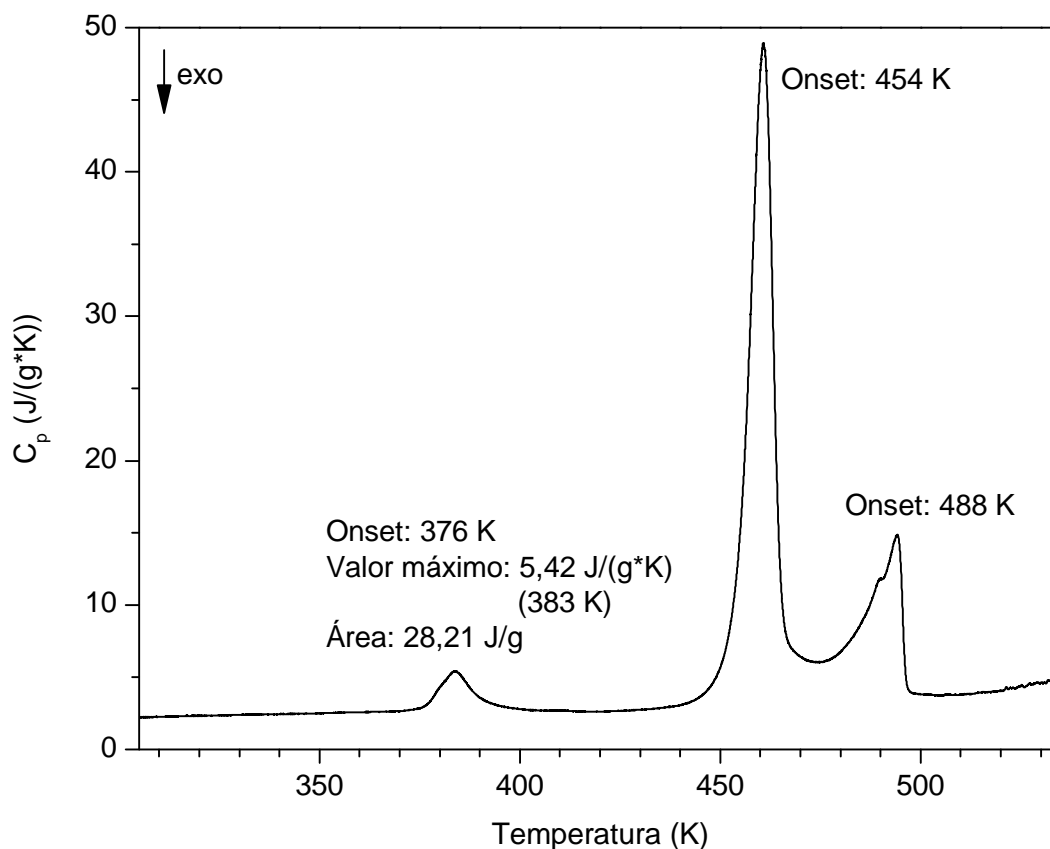


Figura 17 – Calor específico ( $C_p$ ) em função da temperatura do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

(iii) O último evento (que inicia em 488 K e termina em 517 K) corresponde à segunda etapa de decomposição do material. Este evento possui uma variação de entalpia ( $\Delta H$ ) igual a 75,3 J/g.

Com o intuito de se investigar melhor o primeiro evento observado (na Figura 17) foi realizado um segundo experimento no intervalo de 300 a 410 K, em que a amostra foi aquecida e em seguida foi resfriada.

A Figura 18 apresenta a análise DSC do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. Esta figura apresenta um evento endotérmico (no aquecimento), que se inicia em torno de 376 K, característico de uma transição de fase. Ao resfriar a amostra, é possível verificar a reversibilidade da transição observada em 376 K e  $\Delta H = 28,21$  J/g. É importante ressaltar que a temperatura de início da transição de fase (*onset*) foi verificada também em 376 K, indicando que o material não apresenta histerese térmica.

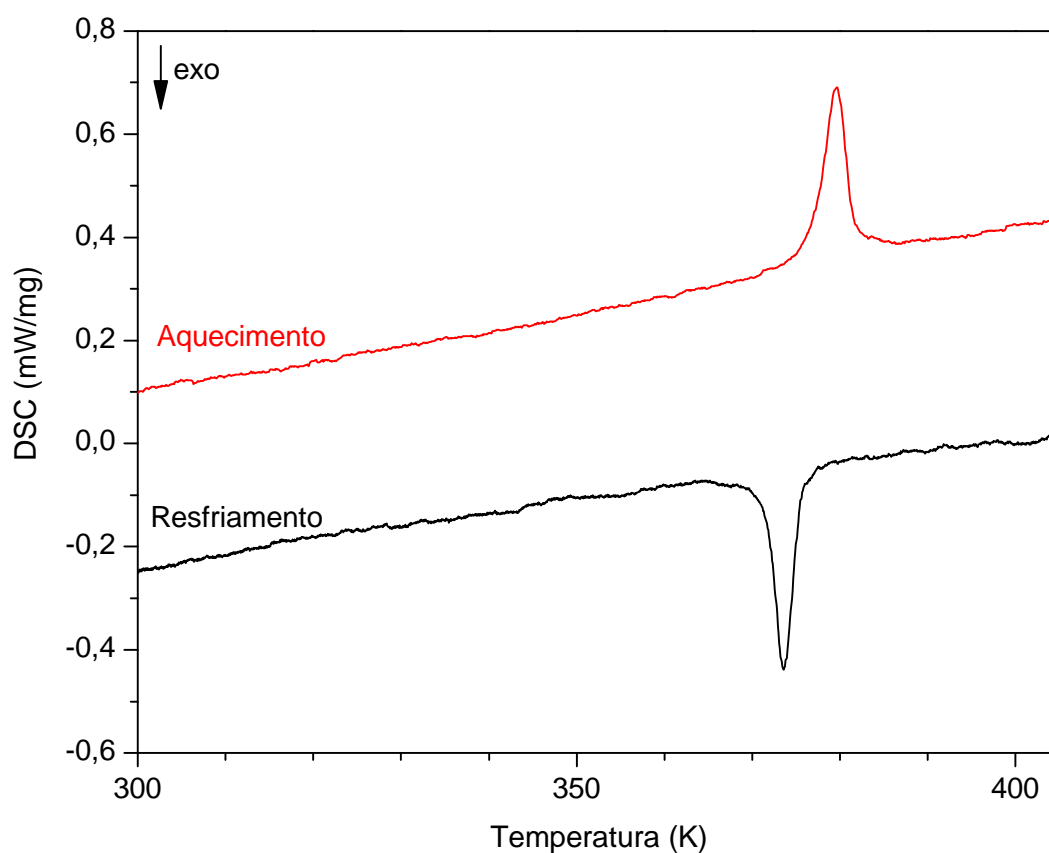


Figura 18 – Calorimetria exploratória diferencial (DSC) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.

Conhecendo a variação de entalpia da transição, é possível calcular a variação da entropia ( $\Delta S$ ) através da equação

$$\Delta S = \frac{\Delta H}{T} = \frac{28,21 \text{ J}}{376 \text{ g} \cdot \text{K}} \cdot \frac{204,18 \text{ g}}{\text{mol}} = 15,32 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \quad (1)$$

Com o valor obtido para a variação de entropia através do termograma, é possível determinar se a transição é do tipo displaciva ou ordem-desordem. Em uma transição displaciva entre duas estruturas ordenadas, a variação de entropia é pequena e da ordem de  $\Delta S \approx 0,1 R$  (onde  $R$  é a constante universal dos gases). Por outro lado, no caso ordem-desordem, se a transição ocorre a partir de uma fase de baixa temperatura ordenado para uma fase de alta temperatura desordenada, a variação de entropia é da ordem de  $\Delta S \approx R \ln 2 \approx 0,693 R$  [29,30].

A variação de entropia encontrada para a transição de fase observada corresponde a

$$\Delta S = 15,32 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \cdot \frac{R}{8,31 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}}} = 1,84 R \cong R \ln 6 \quad (2)$$

resultado que nos leva a conclusão de que a transição observada possui um mecanismo do tipo ordem-desordem.

### 4.3 Conclusões

A análise térmica (Análise Termogravimétrica e Calorimetria Diferencial de Varredura) foi realizada para o intervalo de temperatura entre 150 K e 623 K. Os resultados desta análise indicam que o material é estável para valores de temperatura entre 150 e 376 K. Duas modificações sofridas pelo cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala foram observadas em altas temperaturas. A primeira modificação está associada a uma transição de fase reversível de primeira ordem (tipo ordem-desordem) sofrida pelo cristal entre 376 e 380 K e a segunda alteração está associada à decomposição do cristal (iniciada em 454 K).

# Capítulo 5 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala à Temperatura Ambiente

---

Neste capítulo iremos apresentar a teoria de grupos para o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala e os resultados obtidos utilizando espectroscopia vibracional (Raman e infravermelho) à temperatura ambiente, além de uma classificação tentativa dos modos vibracionais observados. Os espectros obtidos foram comparados e uma classificação tentativa dos modos vibracionais foi realizada por comparação com bandas previamente classificadas em outros cristais orgânicos, dando ênfase aos resultados obtidos em cristais de L-alanina e ácido L-aspártico.

## 5.1 Teoria de grupos para o cristal de $\alpha$ -Asp-Ala

A molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala possui 26 átomos por molécula e duas moléculas por célula unitária, o que totaliza 52 átomos por célula. Assim, são previstos 156 modos normais de vibração. Sabendo que o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertence ao grupo espacial  $C_2^2$  ( $P2_1$ ), usaremos o método dos sítios de simetria proposto por Rousseau *et al.* [31] para obter o número de modos vibracionais previsto para esse material. Os possíveis sítios de simetria ocupados por este material são:

$$C_2^2 = [aC_1(2)], \quad (1)$$

indicando que todos os possíveis sítios possuem simetria local  $C_1$  e são ocupados por dois átomos. Separando a molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala nos seguintes grupos poliatômicos:  $CH_3$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  e  $H_2C(NH)COOH$ , temos que a tabela de caracteres do grupo  $C_2$  para o cristal estudado é mostrado na Tabela 5.



Tabela 5 – Tabela de caracteres do grupo  $C_2$  [31].

Grupo $C_2$	E	$C_2$	T	$n_i$	T'	R'	$n_i'$	Raman	IR
A	1	1	1	78	11	12	54	$x^2, y^2, z^2, xy$	$z, R_z$
B	1	-1	2	78	10	12	54	$yz, xz$	$x, y, R_x, R_y$
$\varphi_g$	$0^\circ$	$180^\circ$	$\Gamma = 78(A + B)$ $\Gamma_{acústico} = A + 2B$ $\Gamma_{rede} = 11A + 10B$ $\Gamma_{libraciona} = 12(A + B)$ $\Gamma_{internos} = 54(A + B)$						
$\omega_g$	52	0							
$\omega_g(S)$	8	0							
$\omega_g(S-P)$	8	0							
$\chi(T)$	3	-1							
$\chi(n_i)$	156	0							
$\chi(T')$	21	1							
$\chi(R')$	24	0							

$\varphi_g$ : ângulo de rotação;  $\omega_g$ : número de átomos na célula primitiva;  $\omega_g(S)$ : número de grupos de átomos;  $\omega_g(S-P)$ : número de grupos poliatômicos;  $\chi(T)$ : caráter dos modos translacionais;  $\chi(n_i)$ : caráter de  $\Gamma$  total;  $\chi(T')$ : caráter dos modos da rede;  $\chi(R')$ : caráter dos modos libracionais.

Os 156 modos normais de vibração estão distribuídos entre modos acústicos, modos da rede, libracionais e internos dos grupos poliatômicos da seguinte forma:

$$\Gamma_{acústico} = A + 2B, \quad (2)$$

$$\Gamma_{rede} = 11A + 10B, \quad (3)$$

$$\Gamma_{libraciona} = 12(A + B), \quad (4)$$

$$\Gamma_{internos} = 54(A + B). \quad (5)$$

Assim, são previstos 108 modos de vibração internos e 45 modos externos:

$$\Gamma_{externos} = \Gamma_{rede} + \Gamma_{libraciona} = 11A + 10B + 12(A + B)$$

$$\Gamma_{externos} = 23A + 22B \quad (6)$$

e

$$\Gamma_{internos} = 54(A + B) \quad (7)$$

onde todos os modos são ativos tanto no Raman quanto no infravermelho.

## 5.2 Espectroscopia Vibracional

Com o intuito de caracterizar o dipeptídeo  $\alpha$ -Asp-Ala, os espectros vibracionais da amostra foram investigados através das espectroscopias Raman e de infravermelho médio. Para facilitar a discussão, o espectro vibracional foi dividido em cinco regiões. É importante mencionar que as vibrações, na maioria dos casos, não são precisamente localizadas na molécula. Portanto, a classificação estimada nas seções posteriores corresponde à vibração com maior contribuição para a banda classificada.

### i. Região de vibração dos modos externos (região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$ )

Nesta região (também chamada de região dos modos da rede) são encontrados os modos externos de vibração do cristal e vibrações internas de baixas energias, que são fundamentais para um correto entendimento da estabilidade estrutural do material estudado.

É importante ressaltar que os modos externos vibracionais podem ser originados das ligações de hidrogênio intermoleculares do cristal [32]. Assim, classificar os modos vibracionais desta região é uma tarefa difícil, uma vez que, até o momento não existem métodos computacionais elaborados e confiáveis (utilizando Mecânica Quântica) a fim de calcular o espectro vibracional de aminoácidos para a região de baixo número de onda.

Entre as vibrações intramoleculares, apenas a rotação de uma pequena parte da molécula em relação à outra parte (ou a dobra de um destes fragmentos), pode ser caracterizada na região de baixos números de onda [33].

O espectro Raman obtido para essa região espectral é mostrado na Figura 19. De 20 a 200  $\text{cm}^{-1}$  são encontrados 13 modos de vibração. Costuma-se classificar como modos externos os modos com número de onda inferior a 200  $\text{cm}^{-1}$  [34]. No entanto, a banda observada em 182  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída à uma torção da unidade  $\text{CO}_2^-$  pertencente ao grupo L-alanil,  $\tau(\text{CO}_2^-)$ . A mesma vibração foi observada em 184  $\text{cm}^{-1}$  na L-alanina [35]. Portanto, com exceção de tal banda, todos os modos observados nesta região foram classificados como modos da rede.

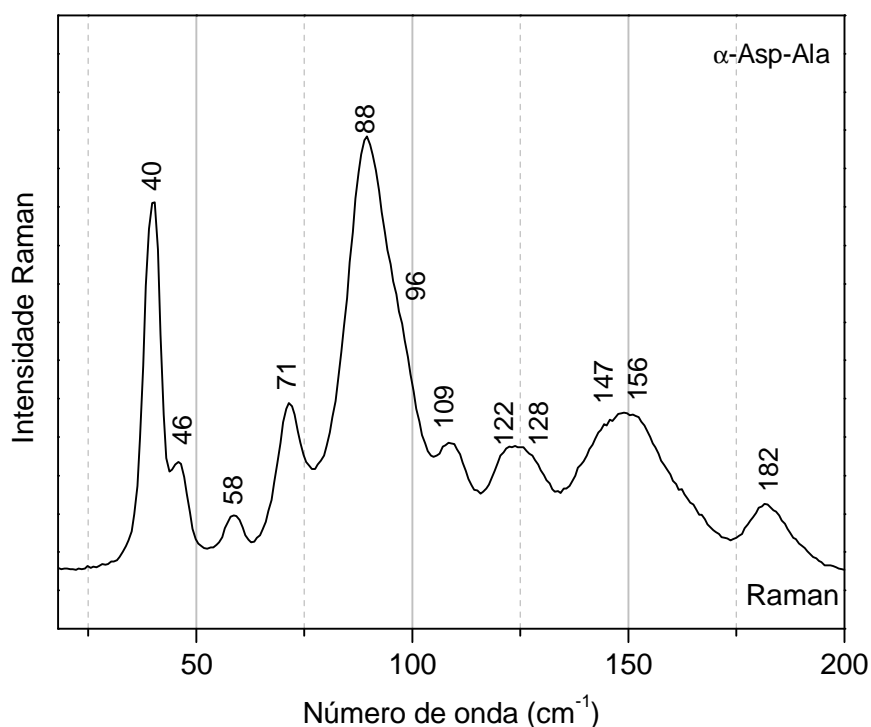


Figura 19 – Espectro Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 20 a 200  $\text{cm}^{-1}$ .

## ii. Região de vibração entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$

Nesta região são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula e às vibrações de baixa energia. Os espectros Raman e de absorção de infravermelho para a região espectral entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$  foram comparados e são ilustrados na Figura 20.

As bandas localizadas em 223  $\text{cm}^{-1}$ , 227  $\text{cm}^{-1}$  e 316  $\text{cm}^{-1}$  foram classificadas como deformações do esqueleto da molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala, em concordância com Matei *et al.* [36], Almeida *et al.* [37] e Wang *et al.* [38]. A banda posicionada em 325  $\text{cm}^{-1}$  também corresponde a uma deformação do esqueleto,  $\delta(\text{esq})$ , visto que esta vibração foi observada na L-alanina em 326  $\text{cm}^{-1}$  [38,39], em 324  $\text{cm}^{-1}$  [36] e em 329  $\text{cm}^{-1}$  [40].

A banda observada em 265  $\text{cm}^{-1}$  nos dois espectros vibracionais (Raman e infravermelho), foi identificada como uma deformação do CCNC do grupo L-alanil,  $\delta(\text{CCNC})$ , uma vez que esta vibração foi encontrada na L-alanina [38].

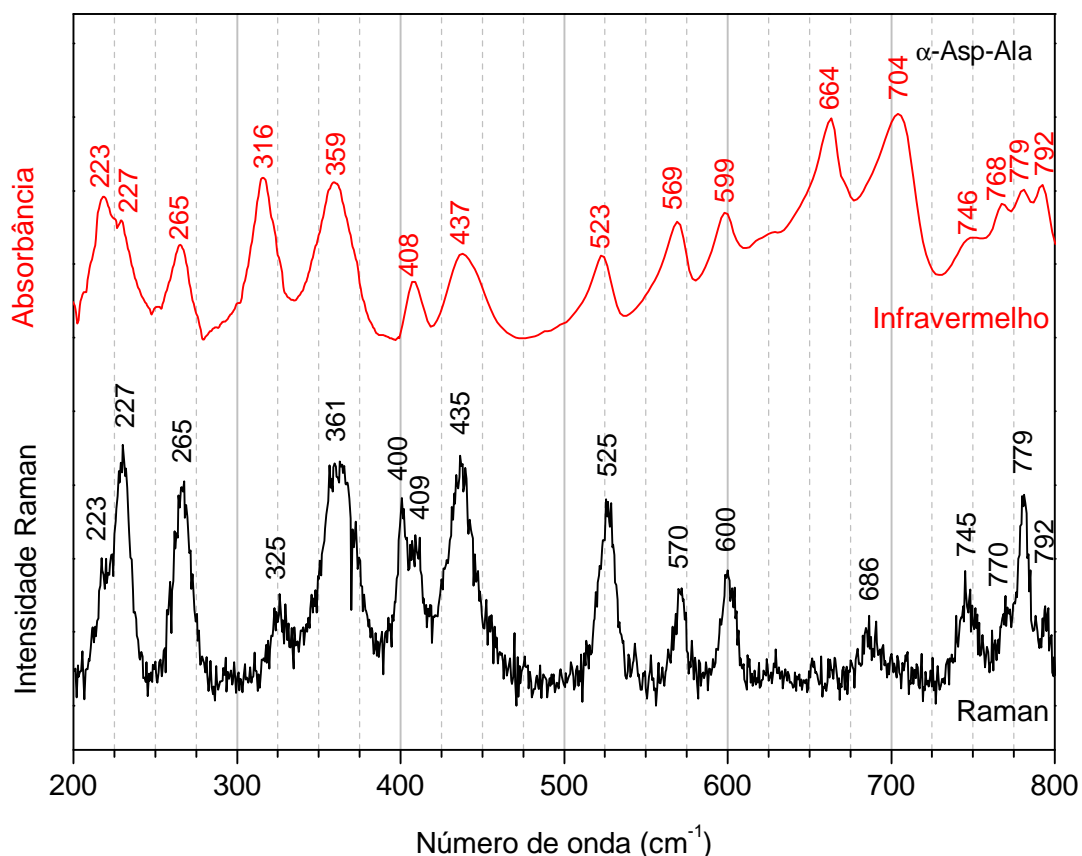


Figura 20 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 200 a 800  $\text{cm}^{-1}$ .

A banda observada em 359  $\text{cm}^{-1}$  e 361  $\text{cm}^{-1}$  utilizando espectroscopias de infravermelho e Raman (na Figura 20), respectivamente, pode ser atribuída à deformação do esqueleto,  $\delta(\text{esq})$ , visto que Matei *et al.* [36] atribuiu esta classificação a um modo observado em 360  $\text{cm}^{-1}$  no ácido L-aspártico. Esta banda também foi observada em 360  $\text{cm}^{-1}$  na L-asparagina monohidratada [41], em 358  $\text{cm}^{-1}$  na L-valina [42]. A banda encontrada em 400  $\text{cm}^{-1}$  através de espectroscopia Raman também foi identificada como uma deformação do esqueleto da molécula,  $\delta(\text{esq})$ , em concordância com os resultados obtidos por diversos autores para o cristal de L-alanina [35,38,40,43].

A banda observada em 525  $\text{cm}^{-1}$  através de espectroscopia Raman (em 523  $\text{cm}^{-1}$  via espectroscopia de infravermelho) foi atribuída ao *rocking* da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $r(\text{CO}_2^-)$ . Essa banda foi observada por Wang *et al.* [38] e Machida *et al.* [40] em 532  $\text{cm}^{-1}$  ao estudarem a L-alanina, por Susi *et al.* [43] e Diem *et al.* [35] em 531  $\text{cm}^{-1}$  e

527  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, ao estudarem o mesmo cristal. É interessante ressaltar que existe um deslocamento das bandas para menores números de onda, devido à unidade carboxila participar diretamente de uma das ligações de hidrogênio do cristal. O mesmo deslocamento acontece com as vibrações relativas às unidades  $\text{NH}_3^+$ , que também participa diretamente das ligações de hidrogênio. Assim, classificamos a banda posicionada em 408  $\text{cm}^{-1}$  e 409  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman e de infravermelho, respectivamente, como uma torção da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\tau(\text{NH}_3^+)$ . Essa banda foi observada no cristal de L-alanina em 409  $\text{cm}^{-1}$  e em 414  $\text{cm}^{-1}$  no ácido L-aspartico [36].

A banda encontrada em 600  $\text{cm}^{-1}$  através de espectroscopia Raman e em 599  $\text{cm}^{-1}$  por espectroscopia de infravermelho foi identificada como uma deformação da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$ . Esta vibração foi observada em 595  $\text{cm}^{-1}$  no dipeptídeo aspartil-aspartico e no ácido L-aspartico [22,36]. A mesma atribuição foi dada às bandas observadas em 569  $\text{cm}^{-1}$  e 570  $\text{cm}^{-1}$ , observadas nos espectros de infravermelho e Raman, respectivamente, em concordância com os resultados obtidos por Matei *et al.* [36].

Lima Jr. *et al.* [42] e Chesalov *et al.* [44], ao estudarem os cristais de L-valina e de  $\alpha$ -glicil-glicina, respectivamente, observaram uma banda posicionada em 666 e 663  $\text{cm}^{-1}$  e classificaram-na como uma vibração do tipo *wagging* da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\omega(\text{CO}_2^-)$ . Em concordância com esse resultado, atribuímos à banda observada em 664  $\text{cm}^{-1}$  a uma vibração do mesmo tipo,  $\omega(\text{CO}_2^-)$ .

Uma banda localizada em 745  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman foi classificada como uma deformação da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$ , visto que esta vibração foi observada em 746  $\text{cm}^{-1}$  no L-isoleucina [37].

A banda encontrada em 770  $\text{cm}^{-1}$  através de espectroscopia Raman (e em 768  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho) foi classificada como uma deformação da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$ . A mesma vibração foi observada em 772  $\text{cm}^{-1}$  na L-alanina [43] e nos dipeptídeos glutamil-glutâmico e aspartil-aspartico [22]. A mesma classificação foi dada ao modo observado em 779  $\text{cm}^{-1}$ , visto que a molécula de  $\alpha$ -Asp-Ala possui duas carbonilas ( $\text{CO}_2^-$ ) que participam de duas ligações de hidrogênio distintas, com diferentes comprimentos de ligação (2,502 Å e 2,822 Å), o que nos leva a concluir que podem existir dois valores distintos para esta vibração ( $\delta(\text{CO}_2^-)$ ). Outro fato que nos leva a tal conclusão é que Wolpert *et al.* [45], ao estudar o cristal de L-alanina, classificaram da mesma forma uma banda posicionada em 777  $\text{cm}^{-1}$ .

### iii. Região de vibração entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 21 apresenta os espectros Raman e de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 800  $\text{cm}^{-1}$  e 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Nesta região encontram-se os modos de vibração associados às deformações angulares da unidade  $\text{CO}_2^-$ , vibrações do tipo *rocking* das unidades  $\text{CH}_2$  e  $\text{NH}_3^+$  e estiramentos CC e CN.

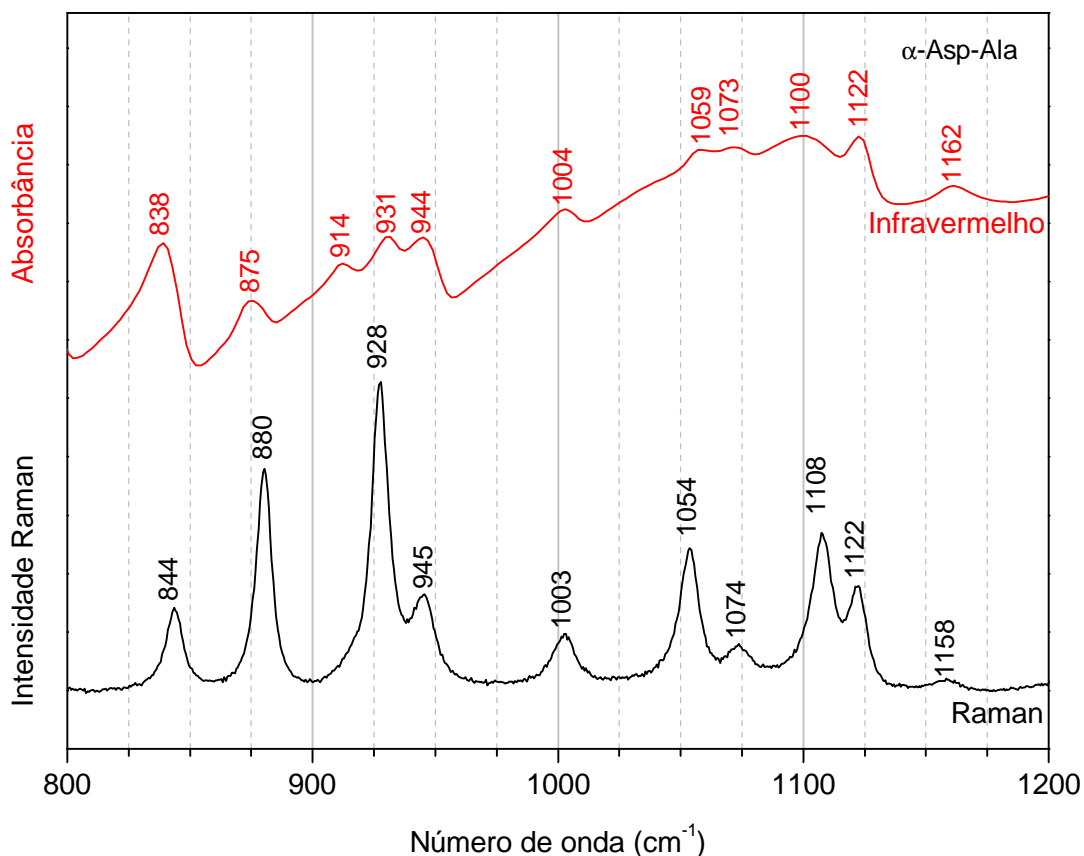


Figura 21 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 800 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

Navarrete *et al.* [22], ao estudarem o dipeptídeo Asp-Asp através de espectroscopia vibracional, observaram dois modos de vibração localizados em 880  $\text{cm}^{-1}$  como *rocking* do  $\text{CH}_2$ ,  $r(\text{CH}_2)$ . Usando este argumento, classificamos da mesma forma a banda localizada em 875  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho e em 880  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman. A banda observada em 914  $\text{cm}^{-1}$  através de espectroscopia de infravermelho foi atribuída a um estiramento CC,  $\nu(\text{CC})$ , visto que a mesma vibração

foi encontrada no dipeptídeo Asp-Asp e no ácido DL-aspártico em  $916\text{ cm}^{-1}$  [22,46], na L-asparagina monohidratada em  $913\text{ cm}^{-1}$  [41] e na L-treonina em  $910\text{ cm}^{-1}$  [47].

A banda localizada em  $928\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman (e seu respectivo valor no espectro de infravermelho) foi classificada como uma deformação fora do plano do COH pertencente ao ácido carboxílico [22],  $\delta_{\text{op}}(\text{COH})$ .

A banda observada em  $1003\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi classificada como uma combinação de estiramentos CC e CN,  $\nu(\text{CC})+\nu(\text{CN})$ . Vibrações desse tipo foram observadas na L-alanina, na L-asparagina monohidratada, na L-lisina e na L-leucina em  $1004\text{ cm}^{-1}$  [24,41,48,49], no dipeptídeo aspartil-aspártico em  $999\text{ cm}^{-1}$  [22], na glutamina em  $1000\text{ cm}^{-1}$  [50] e no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina em  $1003\text{ cm}^{-1}$  [44]. A mesma classificação foi dada às bandas posicionadas no espectro Raman em  $1054\text{ cm}^{-1}$  e  $1074\text{ cm}^{-1}$ , visto que tais vibrações foram observadas em  $1052\text{ cm}^{-1}$  na glutamina [50], em  $1059\text{ cm}^{-1}$  e  $1073\text{ cm}^{-1}$  no dipeptídeo glutamil-glutâmico [22], em  $1063\text{ cm}^{-1}$  no dipeptídeo aspartil-aspártico [22], em  $1072\text{ cm}^{-1}$  no ácido DL-aspártico [46] e em  $1076\text{ cm}^{-1}$  na L-asparagina monohidratada [41].

No espectro de infravermelho a banda observada em  $1100\text{ cm}^{-1}$  foi classificada como uma deformação do esqueleto da molécula,  $\delta(\text{esq})$ , visto que vibrações desse tipo foram observadas em  $1100\text{ cm}^{-1}$  na  $\alpha$ -glicil-glicina [44], em  $1101\text{ cm}^{-1}$  na L-treonina [47] e em  $1097\text{ cm}^{-1}$  na glutamina [50] e no dipeptídeo aspartil-aspártico [22].

A banda observada em  $1108\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi classificado como um estiramento assimétrico do CCN,  $\nu_a(\text{CCN})$ , uma vez que esta vibração foi observada na L-alanina em  $1110\text{ cm}^{-1}$  por Diem *et al.* [35]. A banda localizada em  $1158\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman (e em  $1162\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho) foi classificada como uma vibração do tipo *rocking* da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $r(\text{NH}_3^+)$ , a mesma atribuição foi dada a uma banda observada em  $1162\text{ cm}^{-1}$  observada no dipeptídeo aspartil-aspártico [22] e na glutamina [50].

#### iv. Região de vibração entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 22 apresenta os espectros vibracionais Raman e de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 1200  $\text{cm}^{-1}$  e 1800  $\text{cm}^{-1}$ . Esta região contém bandas associadas a deformações das unidades CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, estiramento das unidades C=O e CO<sub>2</sub><sup>-</sup>, entre outras.

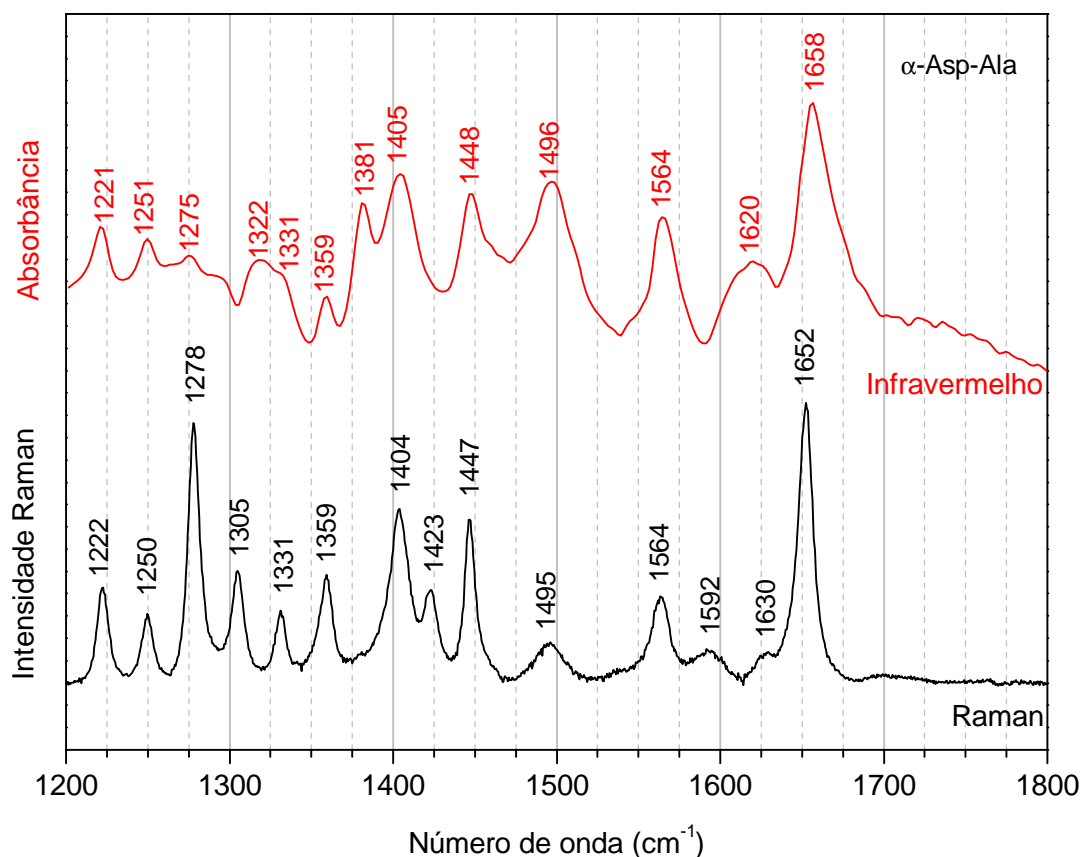


Figura 22 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 1200 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

A banda observada em 1222  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman (e em um valor similar no espectro de infravermelho) foi classificada como uma vibração do tipo *twisting* do CH<sub>2</sub>, *tw*(CH<sub>2</sub>). Tal fato está de acordo com o observado no dipeptídeo aspartil-aspartico em 1220  $\text{cm}^{-1}$  [22].

Uma banda localizada em 1250  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman foi classificada como uma vibração do estiramento do C-O pertencente ao ácido carboxílico contido no peptídeo,  $\nu$ (C-O), visto que esta vibração foi observada em 1250  $\text{cm}^{-1}$  no ácido L-



aspártico e no ácido L-glutâmico [45] e em  $1253\text{ cm}^{-1}$  no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina [44].

Uma banda intensa posicionada em  $1278\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi atribuída a uma vibração do tipo *wagging* do  $\text{CH}_2$ ,  $\omega(\text{CH}_2)$ , a mesma vibração foi observada em  $1278\text{ cm}^{-1}$  no ácido DL-aspártico [46].

As bandas observadas em  $1331$  e  $1359\text{ cm}^{-1}$  em ambos os espectros foram classificadas como uma deformação do CH,  $\delta(\text{CH})$ , o que concorda com os resultados obtidos por Moreno *et al.* [41], Navarrete *et al.* [22], Lima Jr. *et al.* [42] e Machida *et al.* [40], ao estudarem a L-asparagina monohidratada, o dipeptídeo aspartil-aspártico, a L-valina e a L-alanina, respectivamente.

Uma banda localizada em  $1381\text{ cm}^{-1}$  foi observada apenas no espectro de infravermelho, a mesma foi atribuída a uma deformação simétrica do  $\text{CH}_3$ ,  $\delta_s(\text{CH}_3)$ . A mesma vibração foi observada em  $1378\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina [45], em  $1379\text{ cm}^{-1}$  na L-valina [45] e na L-alanina [43] e em  $1383\text{ cm}^{-1}$  na L-treonina [47].

A banda observada em  $1404\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman (localizada em  $1405\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho) corresponde ao estiramento simétrico da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\nu_s(\text{CO}_2^-)$ . No dipeptídeo aspartil-aspártico esta vibração foi encontrada em  $1404\text{ cm}^{-1}$  [22], no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina em  $1406\text{ cm}^{-1}$  [44], na L-cisteína e na DL-cisteína em  $1401\text{ cm}^{-1}$  [51].

A banda localizada em  $1423\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi classificada como uma deformação no plano da unidade COH pertencente ao ácido carboxílico,  $\delta_{ip}(\text{COH})$ , visto que esta vibração foi encontrada em  $1420\text{ cm}^{-1}$  na L-treonina [52].

A banda localizada em  $1447\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman pode ser atribuída a uma deformação assimétrica do  $\text{CH}_3$ ,  $\delta_a(\text{CH}_3)$ , em acordo com os resultados obtidos por Lima Jr. *et al.* [42] e Almeida *et al.* [37] nos cristais de L-valina ( $1449\text{ cm}^{-1}$ ) e de L-isoleucina ( $1447\text{ cm}^{-1}$ ).

A banda posicionada em  $1495\text{ cm}^{-1}$  foi classificada tentativamente como uma deformação simétrica do  $\text{NH}_3^+$ ,  $\delta_s(\text{NH}_3^+)$ , tendo em vista que esta vibração foi encontrada em  $1490\text{ cm}^{-1}$  na L-treonina [47], em  $1492\text{ cm}^{-1}$  e  $1494\text{ cm}^{-1}$  no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina [44] e em  $1498\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina [35,43].

A classificação da banda encontrada em  $1573\text{ cm}^{-1}$  para a L-histidina é tida como uma deformação assimétrica da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\delta_a(\text{NH}_3^+)$  [53], no caso do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala esta banda foi observada em  $1564\text{ cm}^{-1}$ . A mesma atribuição foi dada à

banda localizada em  $1592\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman, visto que esta vibração foi observada em  $1595\text{ cm}^{-1}$  na L-cisteína e em  $1596\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina e na L-valina [45].

A banda localizada em  $1620\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho (e em  $1630\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman) foi identificada como oriunda do estiramento assimétrico da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$ , por este valor estar próximo do valor encontrado na L-isoleucina [37] e na L-leucina [48].

As últimas bandas desta região, localizadas em  $1652\text{ cm}^{-1}$  e  $1658\text{ cm}^{-1}$ , foram identificadas como um estiramento C=O pertencente à amida,  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , em virtude de esta vibração aparecer em  $1646\text{ cm}^{-1}$  no N-acetil-L-aspartico [54] e em  $1659\text{ cm}^{-1}$  no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina [44].

#### **v. Região de vibração entre $2800$ e $3450\text{ cm}^{-1}$**

A Figura 23 apresenta os espectros vibracionais (Raman e infravermelho) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre  $2800\text{ cm}^{-1}$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$ . Esta região é caracterizada por vibrações do tipo estiramento das unidades CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{NH}_3^+$  e NH, além de sobretons e combinações.

Estas bandas fornecem informações sobre o empacotamento cristalino, ou seja, esta região é muito sensível a mudanças conformacionais no cristal. É importante ressaltar que as bandas relacionadas às unidades CH,  $\text{CH}_2$ , NH e  $\text{NH}_3^+$  podem sofrer deslocamentos para menores números de onda devido ao fato destas unidades participarem diretamente das pontes de hidrogênio.

De uma forma geral, percebemos que as bandas que aparecem na Figura 23 no espectro de infravermelho são largas e de baixa intensidade. No espectro Raman, tais bandas apresentam-se estreitas e intensas.

Uma observação inicial é de que o cristal estudado se encontra na forma anidra, visto que nenhuma banda com número de onda maior do que  $3300\text{ cm}^{-1}$  foi observada. De fato, quando vibrações de estiramento do OH estão presentes, uma banda larga centrada em aproximadamente  $3400\text{ cm}^{-1}$  é observada.

Lima Jr. *et al.* [55] e Berezhinsky *et al.* [56], ao estudarem os aminoácidos L-metionina e  $\beta$ -alanina, respectivamente, atribuíram às bandas localizadas em  $2852$  e  $2848\text{ cm}^{-1}$  a um estiramento simétrico do  $\text{CH}_2$ ,  $\nu_s(\text{CH}_2)$ . Assim, atribuímos a mesma classificação à banda observada em  $2852\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho.

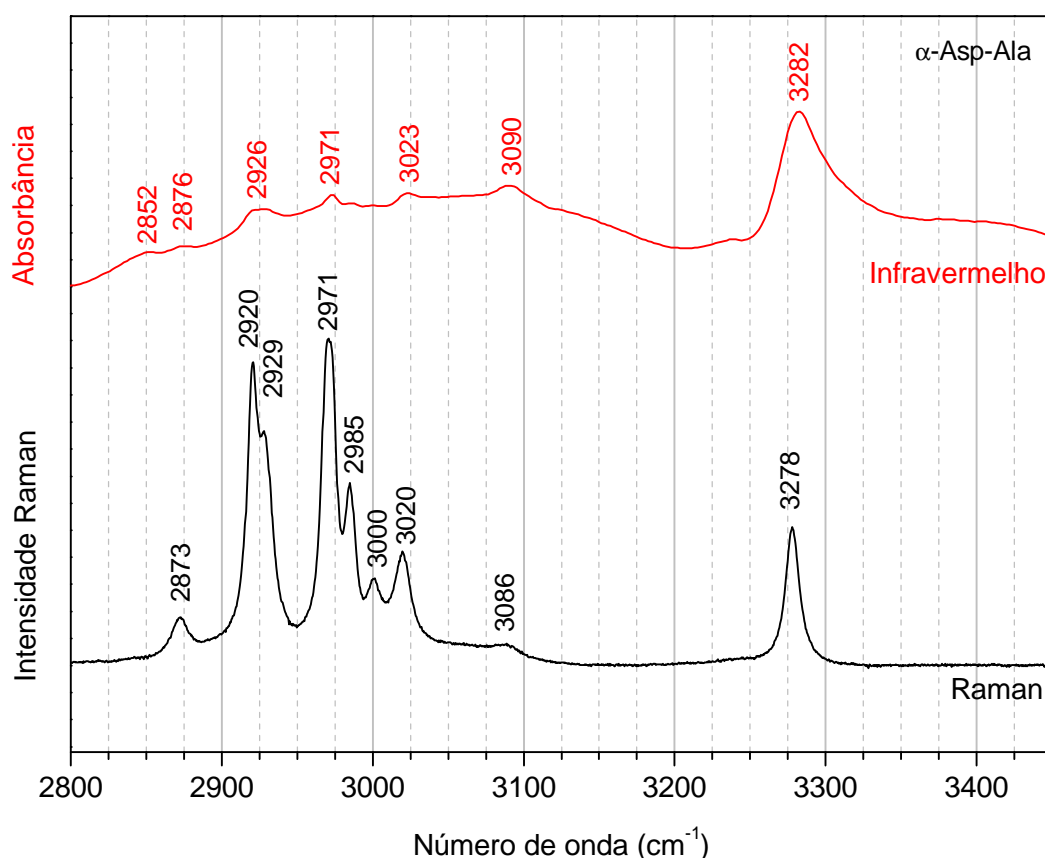


Figura 23 – Espectros Raman e de absorção de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral de 2800 a 3450  $\text{cm}^{-1}$ .

A banda posicionada em 2876  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída a um estiramento simétrico do grupo  $\text{CH}_3$ ,  $\nu_s(\text{CH}_3)$ , uma vez que esta vibração foi observada em 2871  $\text{cm}^{-1}$ , 2874  $\text{cm}^{-1}$  e 2880  $\text{cm}^{-1}$  na L-leucina [48,57], na L-treonina [58] e na L-isoleucina [37].

Uma banda intensa observada em 2920  $\text{cm}^{-1}$  apenas no espectro Raman foi classificada como um estiramento do CH,  $\nu(\text{CH})$ . Esta vibração foi observada na L-metionina (2920  $\text{cm}^{-1}$ ) [55] e na L-treonina (2921  $\text{cm}^{-1}$ ) [58] em valores de número de onda similares.

As bandas localizadas em 2929 e 2926  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros Raman e de infravermelho, respectivamente, foram classificadas de forma estimada como um estiramento assimétrico da unidade  $\text{CH}_2$ ,  $\nu_a(\text{CH}_2)$ , em concordância com os resultados obtidos por diversos autores em diferentes aminoácidos e peptídeos [44,48,54,56,57,59,60].

As bandas localizadas em 2971 e 2985  $\text{cm}^{-1}$  no espectro Raman foram atribuídas a um estiramento assimétrico do  $\text{CH}_3$ ,  $\nu_a(\text{CH}_3)$ , visto que estas vibrações

foram observadas em  $2971\text{ cm}^{-1}$  na L-leucina e na L-metionina [48,55,57], em  $2985\text{ cm}^{-1}$  na DL-alanina [61], em  $2987\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina [43,62] e em  $2982\text{ cm}^{-1}$  na L-valina [42].

A banda posicionada em  $3000\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi atribuída a um estiramento simétrico do grupo  $\text{NH}_3^+$ ,  $\nu_s(\text{NH}_3^+)$ , uma vez que esta vibração foi observada em  $2999\text{ cm}^{-1}$  e  $3003\text{ cm}^{-1}$  na L-valina [42] e na DL-alanina [61].

As bandas posicionadas em  $3020$  e  $3086\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman (e seus respectivos valores no espectro de infravermelho) foram classificadas como um estiramento assimétrico da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\nu_a(\text{NH}_3^+)$ . Esta vibração foi observada em  $3026\text{ cm}^{-1}$  na L-treonina [47], em  $3080\text{ cm}^{-1}$  na DL-alanina [61], em  $3082\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina [43,62] e em  $3093\text{ cm}^{-1}$  na L-asparagina monohidratada [41].

A banda localizada em  $3278\text{ cm}^{-1}$  no espectro Raman foi atribuída a um estiramento NH pertencente à amida,  $\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$ . A mesma vibração foi observada no dipeptídeo  $\alpha$ -glicil-glicina em  $3286\text{ cm}^{-1}$  [44].

### 5.3 Conclusões

Experimentos de espectroscopia vibracional (Raman e infravermelho) foram realizados em amostras de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre  $20$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$  para o espectro Raman e entre  $400$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$  para o espectro de infravermelho. A classificação tentativa de todos os modos vibracionais observados no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala através de espectroscopias Raman e de absorção de infravermelho está listada na Tabela 6.

Tabela 6 – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de  $\alpha$ -Asp-  
Ala à temperatura ambiente

Número de onda		Classificação tentativa	Referências
Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	Infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ )		
40		Rede	[32–34]
46		Rede	[32–34]
58		Rede	[32–34]
71		Rede	[32–34]
88		Rede	[32–34]
96		Rede	[32–34]
109		Rede	[32–34]
122		Rede	[32–34]
128		Rede	[32–34]
147		Rede	[32–34]
156		Rede	[32–34]
182		$\tau(\text{CO}_2^-)$	[35]
223	223	$\delta(\text{esq})$	[36–38]
227	227	$\delta(\text{esq})$	[36–38]
265	265	$\delta(\text{CCNC})$	[38]
	316	$\delta(\text{esq})$	[36–38]
325			
361	359	$\delta(\text{esq})$	[36,41,43]
400		$\delta(\text{esq})$	[35,38,40,43]
409	408	$\tau(\text{NH}_3^+)$	[36]
435	437		
525	523	$r(\text{CO}_2^-)$	[35,38,40,43]
570	569	$\delta(\text{CO}_2^-)$	[36]
600	599	$\delta(\text{CO}_2^-)$	[22,36]
	664	$\omega(\text{CO}_2^-)$	[42,44]
686			
	704		
745	746	$\delta(\text{CO}_2^-)$	[37]
770	768	$\delta(\text{CO}_2^-)$	[22,43]

Tabela 6 (continuação) – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala à temperatura ambiente.

Número de onda		Classificação tentativa	Referências
Raman (cm <sup>-1</sup> )	Infravermelho (cm <sup>-1</sup> )		
779	779	$\delta(\text{CO}_2^-)$	[45]
792	792		
844	838		
880	875	$r(\text{CH}_2)$	[22]
	914	$\nu(\text{CC})$	[22,41,46,47]
928	931	$\delta_{\text{op}}(\text{COH})$	[22]
945	944		
1003	1004	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$	[22,24,41,44,48–50,63]
1054	1059	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$	[22,50]
1074	1073	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$	[22,41,46]
	1100	$\delta(\text{esq})$	[22,44,47,50]
1108		$\nu_a(\text{CCN})$	[35]
1122	1122		
1158	1162	$r(\text{NH}_3^+)$	[22,50]
1222	1221	$\text{tw}(\text{CH}_2)$	[22]
1250	1251	$\nu(\text{C-O})$	[44,45]
1278	1275	$\omega(\text{CH}_2)$	[46]
1305			
	1322		
1331	1331	$\delta(\text{CH})$	[22,40–42]
1359	1359	$\delta(\text{CH})$	[22,40–42]
	1381	$\delta_s(\text{CH}_3)$	[43,45,47]
1404	1405	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$	[22,44,51]
1423		$\delta_{\text{ip}}(\text{COH})$	[52]
1447	1448	$\delta_a(\text{CH}_3)$	[37,42]
1495	1496	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$	[35,43,44,47]
1564	1564	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	[53]
1592		$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	[45]

Tabela 6 (continuação) – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala à temperatura ambiente.

Número de onda		Classificação tentativa	Referências
Raman (cm <sup>-1</sup> )	Infravermelho (cm <sup>-1</sup> )		
1630	1620	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$	[37,48]
1652	1658	$\nu(\text{C=O})$	[44,54]
	2852	$\nu_s(\text{CH}_2)$	[55,56]
2873	2876	$\nu_s(\text{CH}_3)$	[37,48,57,58]
2920			[55,58]
2929	2926	$\nu_a(\text{CH}_2)$	[44,48,54,56,57,59,60]
2971	2971	$\nu_a(\text{CH}_3)$	[48,55,57]
2985		$\nu_a(\text{CH}_3)$	[42,43,61,62]
3000		$\nu_s(\text{NH}_3^+)$	[42,61]
3020	3023	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$	[47]
3086	3090	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$	[41,43,61,62]
3278	3282	$\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$	[44]

# Capítulo 6 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala a Baixas Temperaturas

---

Com o intuito de entender o comportamento do cristal de dipeptídeo  $\alpha$ -Asp-Ala a baixas temperaturas, foram realizados experimentos de espectroscopia vibracional em diferentes condições térmicas. O comportamento dos modos vibracionais e os coeficientes do ajuste matemático do número de onda dos modos Raman em função da temperatura são apresentados. Para a análise dos espectros de infravermelho foi utilizada uma técnica chamada Análise das Componentes Principais (PCA) e os resultados obtidos são apresentados.

## 6.1 Espectroscopia Raman

Foram realizados experimentos de espectroscopia Raman na região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  no intervalo de temperatura entre 18 e 293 K, a qual foi denominada região de baixas temperaturas.

O procedimento consistiu em partir da temperatura ambiente e resfriar a amostra até que fossem atingidos os valores de temperatura desejados. Para cada valor de temperatura, esperou-se um tempo de 15 minutos para que a amostra atingisse o equilíbrio térmico.

Após a obtenção dos espectros, os dados obtidos foram analisados utilizando-se os programas Peakfit da SPSS Inc. e Origin da Origin Lab Corporation. Os espectros foram ajustados por decomposição dos picos, onde foi utilizada a função lorentziana. Em seguida, foram extraídos dados como posição e largura de linha das bandas Raman observadas.

Para facilitar a discussão, os espectros Raman foram divididos em cinco regiões que são mostradas a seguir.



### i. Região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 24 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diversas temperaturas na região espectral entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$ . Esta região é característica dos modos associados às vibrações externas do cristal (modos da rede) e está intrinsecamente relacionada com a estabilidade do material. Portanto, mudanças observadas nessa região são fortes indícios de uma transição de fase sofrida pelo cristal.

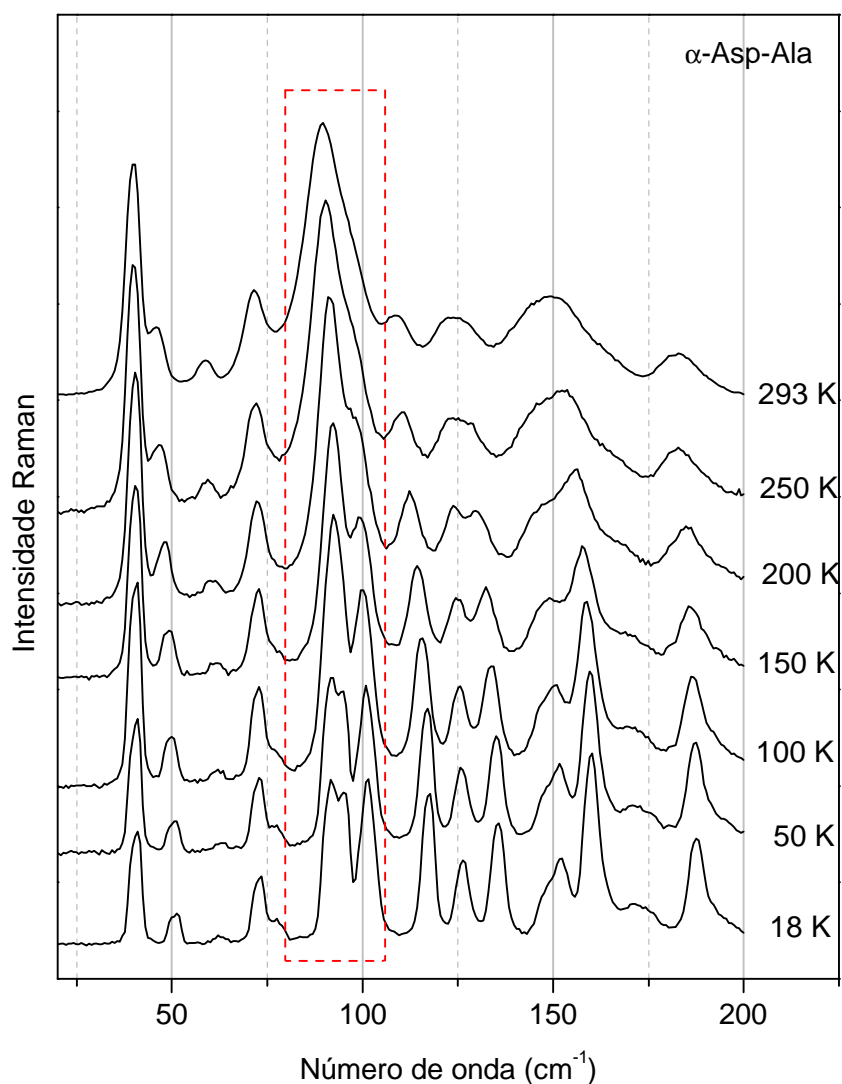


Figura 24 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$  em um experimento de resfriamento da amostra.

O primeiro modo desta região, posicionado em  $40\text{ cm}^{-1}$  no espectro de 293 K, apresenta uma redução na sua intensidade com a diminuição da temperatura, assim como o modo localizado em  $58\text{ cm}^{-1}$ .

O modo posicionado em  $46\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente (293 K) apresenta um deslocamento para a região de maior número de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura. Este modo, com a diminuição de temperatura, torna-se menos intenso assim como o modo que aparece inicialmente em  $71\text{ cm}^{-1}$ .

No espectro de 100 K, é observado um modo localizado em  $77\text{ cm}^{-1}$ . Esse modo não foi observado nos espectros anteriores devido à sua baixa intensidade, visto que com a diminuição da temperatura, ele fica mais intenso.

Uma banda larga e assimétrica que aparece com número de onda entre 75 e  $100\text{ cm}^{-1}$ , à temperatura ambiente foi ajustada com três bandas. No espectro a temperatura de 18 K elas estão completamente separadas.

Uma banda localizada em  $109\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente apresenta baixa intensidade. Com a redução da temperatura a banda torna-se mais estreita e intensa.

Dois picos foram usados para ajustar uma banda larga com número de onda de aproximadamente  $125\text{ cm}^{-1}$ . Ambos são largos e de baixa intensidade à temperatura ambiente. Com a diminuição da temperatura os modos ficam mais intensos e encontram-se completamente separados para temperaturas menores que 200 K. A banda larga posicionada em  $150\text{ cm}^{-1}$  também foi ajustada com duas bandas, visto que as mesmas encontram-se completamente separadas para temperaturas menores do que 100 K.

A banda localizada em  $184\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, relativo à torção da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\tau(\text{CO}_2^-)$ , apresenta-se de forma larga, e com a diminuição da temperatura, ela torna-se mais estreita.

A Figura 25 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos pertencentes a esta região. Os coeficientes do ajuste estão listados na Tabela 7 que se encontra no final da seção.

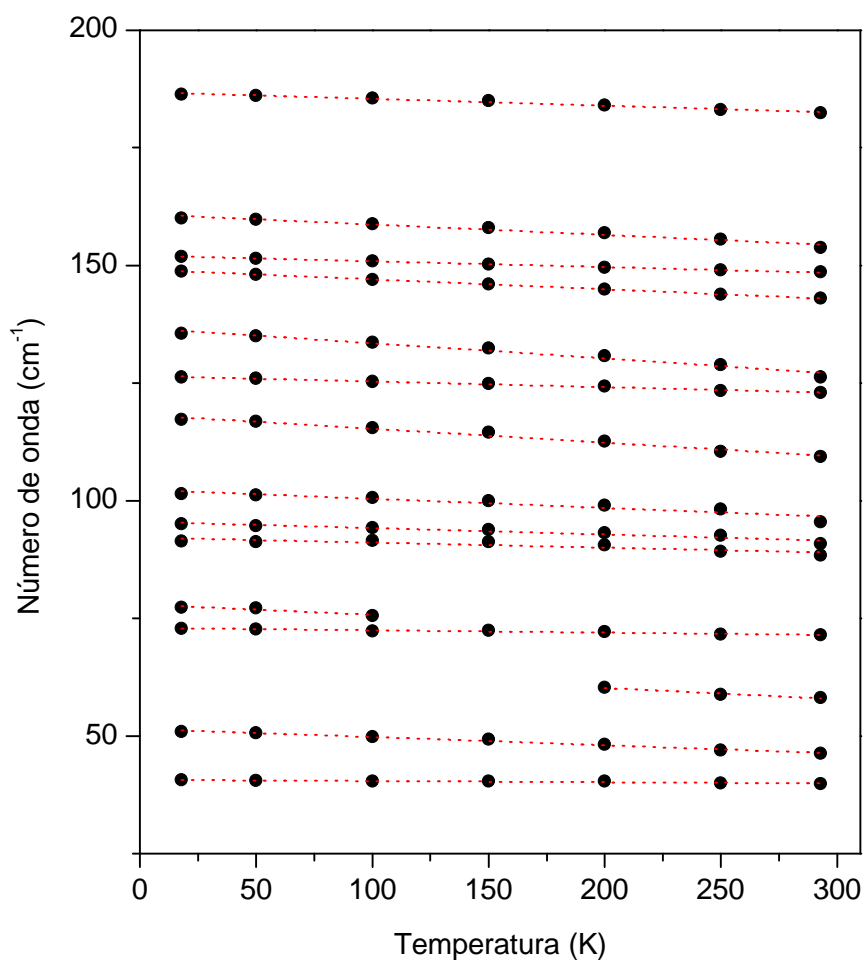


Figura 25 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$ .

Na Figura 25 é possível observar que todos os modos pertencentes a esta região sofrem um deslocamento para maior número de onda com a diminuição da temperatura (*blue shift*).

Além de variações na intensidade e estreitamento das bandas mediante a redução da temperatura, não foi verificada nenhuma mudança nesta região. Como esta região está relacionada com as vibrações que envolvem as ligações de hidrogênio do cristal, bem como às vibrações da rede, podemos afirmar que não existe nenhum indício de que o material sofra uma transição de fase estrutural para o intervalo de temperatura estudado. Este comportamento é semelhante ao que acontece com a L-histidina [64] e com a L-isoleucina [37], quando submetidos às condições de baixas temperaturas. O espectro Raman destes cristais, em particular para a região de vibração dos modos da rede, não apresentam qualquer evidência de transições de fase sofridas pelos cristais.

## ii. Região espectral entre 200 e 800 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 26 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$ . Nesta região são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula e às vibrações de baixa energia, como já comentado no capítulo anterior.

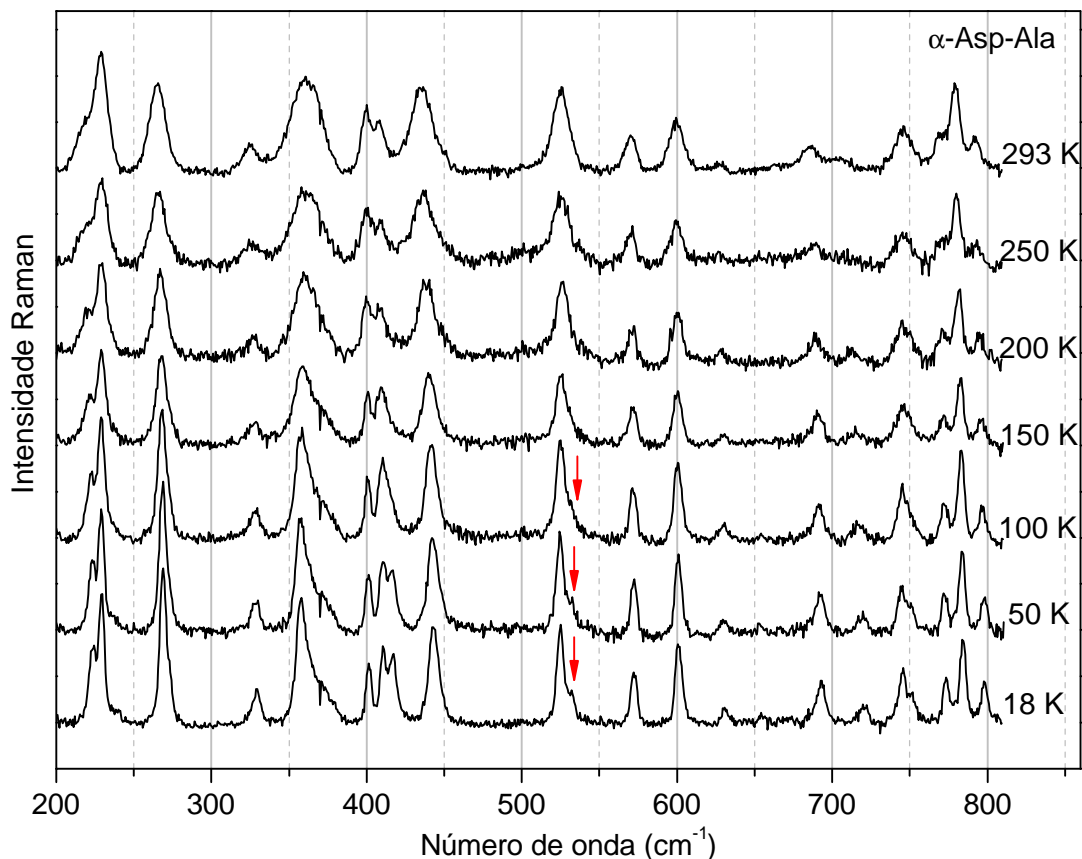


Figura 26 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$ .

A primeira banda observada nesta região, localizada em 227  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, apresenta uma assimetria. Com a redução da temperatura, fica evidente que esta assimetria é causada pela presença de uma segunda banda com número de onda ligeiramente menor do que o primeiro (223  $\text{cm}^{-1}$ ).

O modo de vibração com número de onda de 265  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, que está relacionado com a deformação do grupo L-alanil, possui intensidade

fortemente dependente da temperatura visto que o mesmo se torna intenso com a diminuição da temperatura.

A banda larga centrada em  $363\text{ cm}^{-1}$  foi ajustada com dois picos ( $360$  e  $367\text{ cm}^{-1}$ ) à temperatura ambiente. A última banda ( $367\text{ cm}^{-1}$ ) possui intensidade fracamente dependente da temperatura.

As bandas que aparecem em  $325$  e  $626\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente não sofrem grandes variações nas suas intensidades com a diminuição da temperatura.

Dois bandas (em  $399$  e  $409\text{ cm}^{-1}$ ) podem ser visualizadas à temperatura ambiente ( $293\text{ K}$ ). Contudo, com a redução da temperatura, é possível observar que existem três bandas, sendo uma inicialmente de baixa intensidade. Esta banda tem sua intensidade aumentada com a diminuição da temperatura e a partir de  $50\text{ K}$  as três bandas encontram-se completamente separadas.

Nesta região é importante destacar, encontra-se uma banda associada à torção da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\tau(\text{NH}_3^+)$ , que tentativamente foi classificada como a banda localizada em  $409\text{ cm}^{-1}$ . É bastante sugestivo o aparecimento de uma terceira banda nesta região a baixas temperaturas. Devido ao fato de ser uma banda que está associada a uma parte da molécula do  $\alpha$ -Asp-Ala participante de uma ligação de hidrogênio, seria esperado um comportamento diferenciado em relação a outras bandas (como verificaremos mais adiante, as modificações observadas no espectro Raman são mais claras do que no espectro de infravermelho). Isto porque na maioria dos cristais de aminoácidos e de dipeptídeos cada próton do grupo  $\text{NH}_3^+$  está acoplado a moléculas vizinhas por ligações de hidrogênio do tipo  $-\text{N}-\text{H}\dots\text{O}$ ; assim, o comportamento do grupo  $\text{NH}_3^+$  como um todo está correlacionado com o comportamento dinâmico das ligações de hidrogênio [38].

O comportamento térmico do modo de torção do grupo  $\text{NH}_3^+$ ,  $\tau(\text{NH}_3^+)$ , na L-alanina, por exemplo, é bastante complexo [38]. À temperatura ambiente a banda possui um formato no qual aparecem “corcundas” em ambos os lados do pico principal. Estas “corcundas” se afastam com o resfriamento até finalmente desaparecerem. O pico principal na L-alanina é bastante anarmônico, variando em cerca de  $13\text{ cm}^{-1}$  entre  $300$  e  $120\text{ K}$ . Para o caso do  $\alpha$ -Asp-Ala, o modo  $\tau(\text{NH}_3^+)$  possui uma variação de  $-1,0 \cdot 10^{-2}\text{ cm}^{-1}/\text{K}$ , admitindo uma variação linear do seu número de onda. Desta forma, em todo o intervalo de temperatura estudado observa-se que a banda originalmente em  $409\text{ cm}^{-1}$  varia de apenas  $2,8\text{ cm}^{-1}$  no seu número de onda. Já a banda que surge a baixas temperaturas varia aproximadamente de forma linear a uma taxa de  $-2,6 \cdot 10^{-2}\text{ cm}^{-1}/\text{K}$ .

Isto significa que no intervalo entre 100 e 18 K (onde a nova banda está visível) a variação do número de onda é de cerca de  $2\text{ cm}^{-1}$ .

Destaca-se ainda que na L-alanina a maior anarmonicidade acontece entre 220 e 300 K, significando que a anomalia - quebra de uma ou duas ligações de hidrogênio, segundo Wang e Storms [38] - ocorreria efetivamente para mais baixos valores de temperatura, ou seja, em torno de 220 K. No caso do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala, analisado na presente tese, o comportamento da banda associada à  $\tau(\text{NH}_3^+)$  mostra que no confronto entre os dois materiais - a L-alanina e o  $\alpha$ -Asp-Ala - o dipeptídeo possui maior estabilidade em um maior intervalo de temperatura.

O aparecimento de uma terceira banda na região da torção da unidade  $\text{NH}_3^+$  não está relacionado a uma transição de fase propriamente dita. Isto significa que embora o  $\alpha$ -Asp-Ala apresente modificação em bandas que estão relacionadas com as ligações de hidrogênio, similarmente ao que ocorre com a L-alanina [38], o grupo espacial do cristal e a sua estrutura cristalina permanecem a mesma em todo o intervalo de temperatura entre 18 e 293 K.

Em  $525\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, esta banda, apresenta uma assimetria para temperaturas menores que 150 K, o que indica a existência de uma segunda banda (marcada por uma seta na Figura 26). De uma forma geral, salvo algumas exceções, com a diminuição da temperatura as bandas ficam mais intensas e mais estreitas. O que nos leva a concluir que a banda já existia nos outros espectros, mas não era observada devido à sua baixa intensidade.

A banda observada em  $525\text{ cm}^{-1}$  está associada a uma vibração do tipo rocking da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $r(\text{CO}_2^-)$ . Pelas ligações de hidrogênio -N-H...O, percebe-se que modificações nessas ligações podem influenciar o comportamento térmico do número de onda e/ou largura de linha da banda  $r(\text{CO}_2^-)$ . Uma separação dessa banda em duas outras bandas a baixas temperaturas foi observada previamente em uma amostra de L-histidina clorohidrato monohidratada [65]. Neste caso, diferentemente do que foi verificado no  $\alpha$ -Asp-Ala, a separação da banda  $r(\text{CO}_2^-)$  juntamente com outras modificações espectrais, incluindo o surgimento de várias bandas associadas aos modos da rede, foram interpretados como uma transição de fase sofrida pelo cristal de L-histidina clorohidrato monohidratada. Vale a pena acrescentar que um estudo de espectroscopia Raman realizado na DL-alanina mostrou que o modo  $r(\text{CO}_2^-)$  apresenta-se como uma banda larga à temperatura ambiente e quando se resfria a amostra o referido pico aparece bem fino mas como um singleto [61]. No caso da DL-alanina,

apesar de não ocorrer o dobramento do modo  $\nu(\text{CO}_2^-)$ , observou-se um comportamento curioso do seu número de onda durante o resfriamento: uma variação ocorre na forma de degrau. Resfriando-se o cristal observa-se um acréscimo no número de onda até ~ 200 K; a seguir o número de onda da banda permanece constante por volta de 50 K, na sequência varia novamente voltando a crescer. Tal fato foi interpretado como sendo devido ao comportamento da ligação de hidrogênio que se modifica de uma forma não contínua durante o resfriamento da amostra.

O que é importante da discussão do parágrafo anterior é que, no caso do cristal estudado nesta tese, a banda associada ao  $\nu(\text{CO}_2^-)$  não apresenta dobramento de forma simultânea com o dobramento da banda associada à  $\tau(\text{NH}_3^+)$ , o que mostra que, se existe uma anomalia nas ligações de hidrogênio do  $\alpha$ -Asp-Ala, não é possível afirmar de forma contundente que o cristal sofre uma transição de fase sólido-sólido.

A largura de linha das bandas de vibração, que estão localizadas em 570 e 600  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente associadas às deformações das unidades  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$ , possuem forte dependência com a temperatura. Estas bandas estreitam com a diminuição da temperatura.

A banda posicionada em 686  $\text{cm}^{-1}$  (no espectro de 293 K) aumenta sua intensidade com a diminuição da temperatura. Contudo, sua largura de linha sofre pequenas variações com a redução da temperatura.

A banda com número de onda em aproximadamente 745  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente foi ajustada com dois picos. No entanto, a essa temperatura, elas não se encontram separadas. À temperatura de 200 K, é possível observar a existência de um modo de 712  $\text{cm}^{-1}$ . Com a redução da temperatura, o mesmo ganha intensidade, possibilitando a sua visualização.

Os três últimos modos observados na região de 200 a 800  $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem a vibrações da unidade  $\text{CO}_2^-$ , têm um aumento na intensidade e uma diminuição na largura de linha com a diminuição da temperatura.

A Figura 27 apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais com a temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para a região espectral entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$ . Os coeficientes do ajuste estão listados na Tabela 7.

Dos coeficientes do ajuste linear dos pontos experimentais, é possível afirmar que, com exceção de três modos vibracionais localizados em 357, 367 e 525  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, todos os modos vibracionais pertencentes a esta região sofrem

um deslocamento para maior número de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

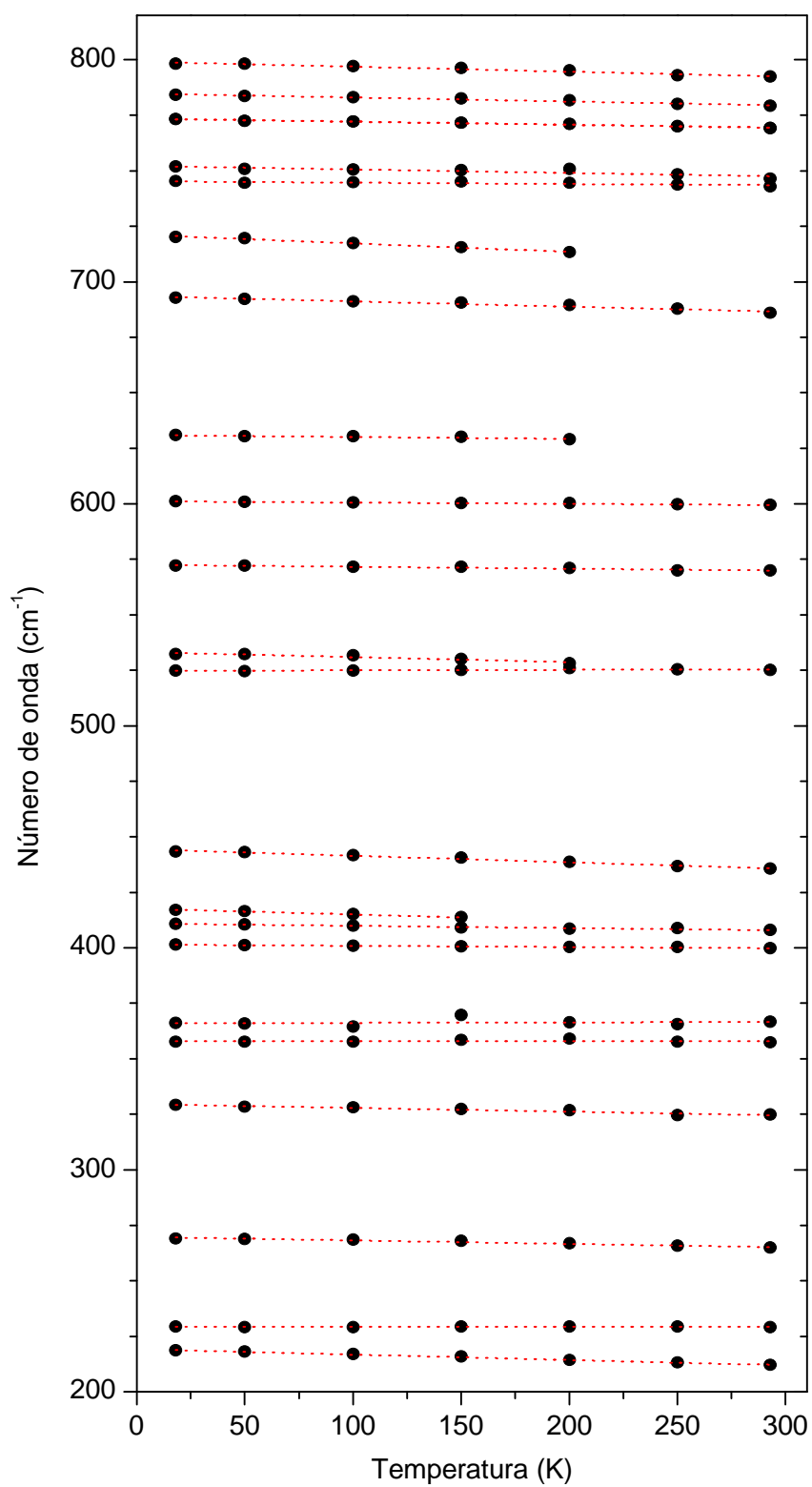


Figura 27 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$ .



### iii. Região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 28 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 800 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Nesta região são observados os modos vibracionais associados às vibrações do tipo *rocking* das unidades  $\text{CH}_2$  e  $\text{NH}_3^+$  e estiramentos CC e CN entre outras.

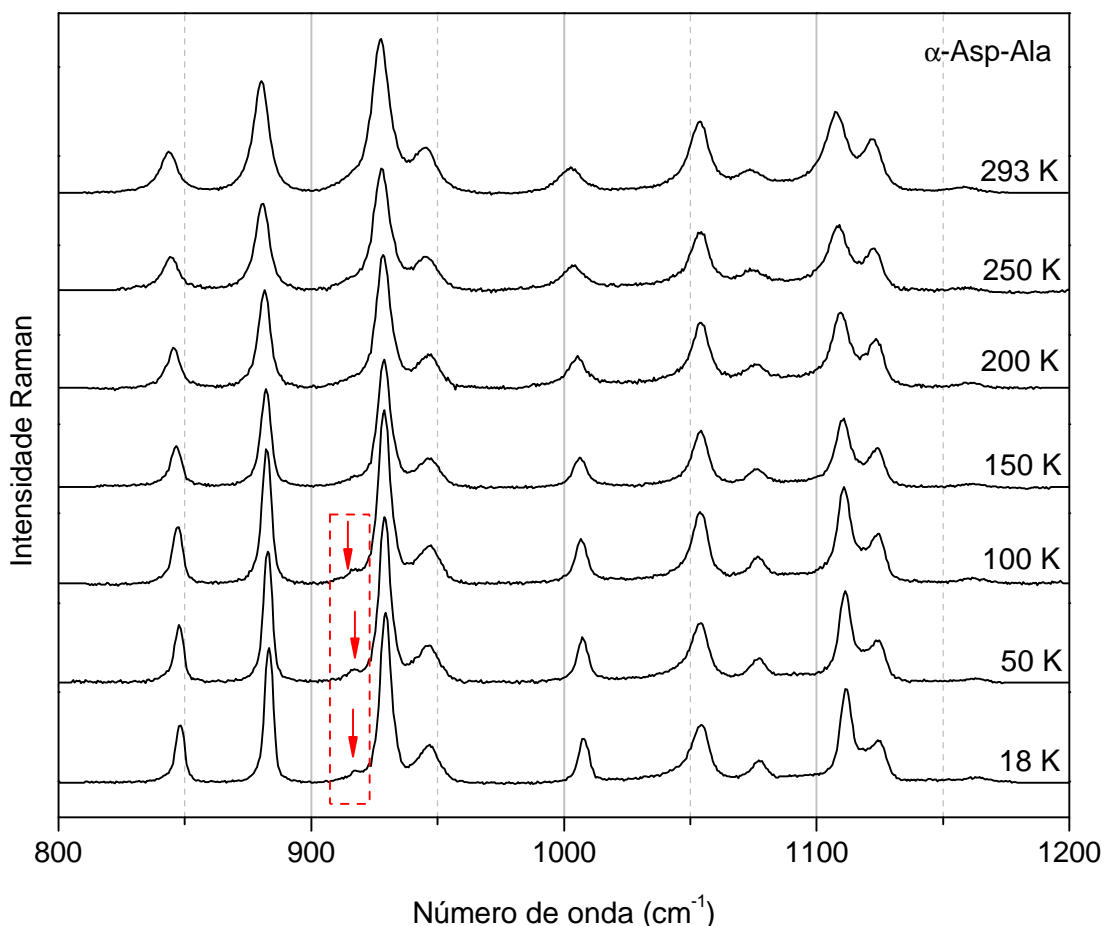


Figura 28 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 800 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

Os modos observados nesta região encontram-se distintos entre si desde a temperatura ambiente. Com a diminuição da temperatura, as bandas ficam mais estreitas e intensas.

A partir do espectro tomado à temperatura de 150 K é possível observar a formação de um “ombro esquerdo” na banda posicionada em 917  $\text{cm}^{-1}$ , devido à sua baixa intensidade, só foi observada para temperaturas menores do que 150 K.

A banda observada em  $928\text{ cm}^{-1}$  (à temperatura ambiente), que corresponde a uma deformação fora do plano do COH,  $\delta_{\text{op}}(\text{COH})$ , tem a sua intensidade aumentada e sua largura de linha diminuída com a redução da temperatura. No entanto, a banda localizada em  $945\text{ cm}^{-1}$  mantém a sua forma com a diminuição da temperatura.

A banda associada à vibração do tipo *rocking* da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $r(\text{NH}_3^+)$ , localizada inicialmente em  $1158\text{ cm}^{-1}$  apresentou baixa intensidade para todos os valores de temperatura.

A Figura 29, apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais com a temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para a região espectral entre  $800$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes do ajuste estão listados na Tabela 7.

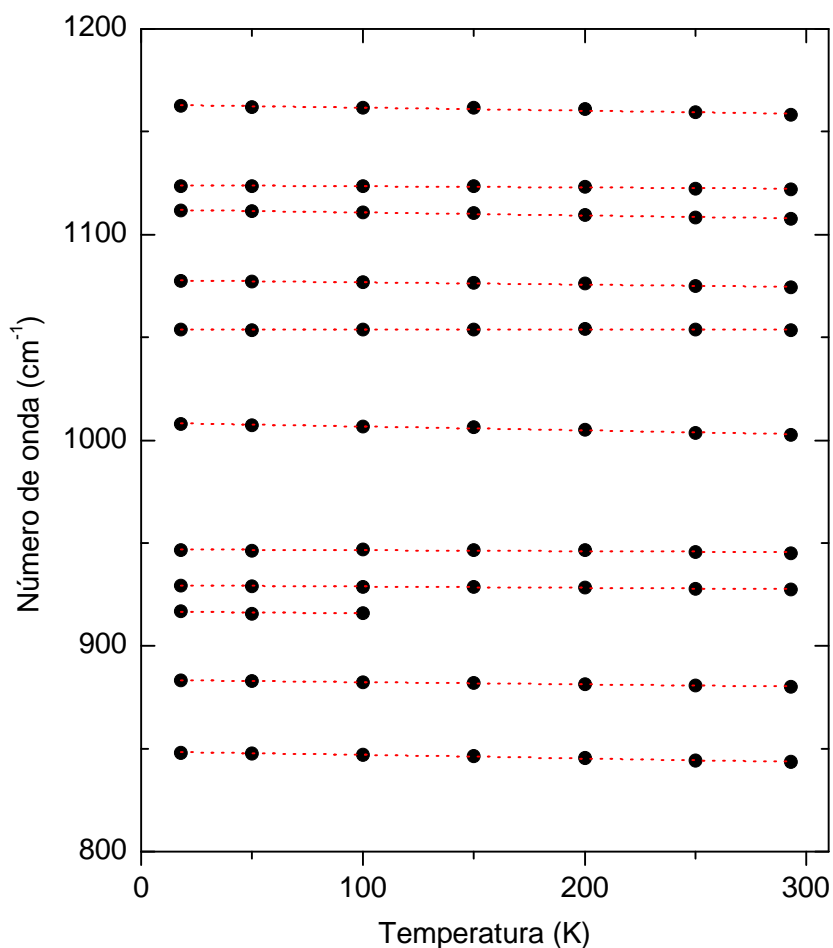


Figura 29 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre  $800$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ .

Dos coeficientes obtidos do ajuste linear dos pontos experimentais para os modos desta região, é possível afirmar que, com exceção do modo localizado em  $1054\text{ cm}^{-1}$  (293 K), todos os modos vibracionais deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a redução da temperatura.

O modo localizado em  $1054\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, que foi classificado como combinação dos estiramentos CC e CN,  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$ , possui um deslocamento para menores números de onda (*red shift*) com a diminuição da temperatura. Do ajuste linear realizado, podemos observar o modo vibracional com número de onda que sofre menos alteração devido o efeito da variação da temperatura. No entanto, outra banda também classificada como  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$ , localizada em  $1003\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, possui maior variação no seu número de onda com a variação da temperatura.

#### **iv. Região espectral entre $1200$ e $1800\text{ cm}^{-1}$**

A Figura 30 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre  $1200$  e  $1800\text{ cm}^{-1}$ . Nesta região são observadas as bandas associadas às vibrações do tipo *bending* das unidades CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, estiramento das unidades C=O e CO<sub>2</sub><sup>-</sup>, entre outras.

As bandas localizadas entre  $1200$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$  encontram-se distintas desde a temperatura ambiente. Com a diminuição da temperatura, as bandas ficam mais estreitas e mais intensas.

A banda observada em  $1405\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente foi ajustada com dois picos. Para valores de temperatura menor que 150 K, é possível observar uma assimetria nesta banda, o que justifica o ajuste. A banda posicionada em  $1423\text{ cm}^{-1}$ , com a evolução da temperatura, não sofre grandes alterações na sua forma.

A banda observada à temperatura ambiente com número de onda  $1447\text{ cm}^{-1}$ , está relacionada a uma deformação assimétrica da unidade CH<sub>3</sub>,  $\delta_a(\text{CH}_3)$ , tem a sua intensidade aumentada com a diminuição da temperatura.

A 293 K, duas bandas largas posicionadas em  $1495$  e  $1592\text{ cm}^{-1}$ . Com a redução da temperatura, é possível observar que a largura de linha das mesmas possui forte dependência com este parâmetro termodinâmico.

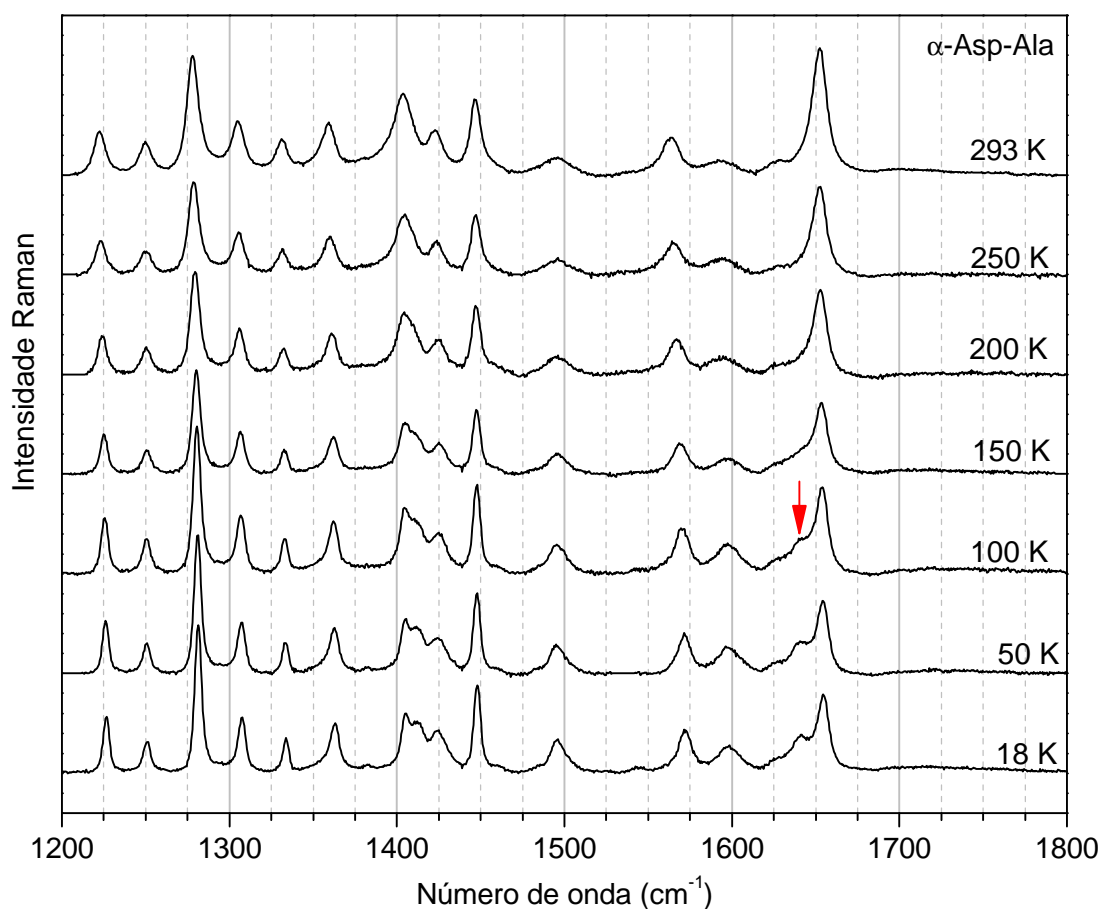


Figura 30 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

Entre 1620 e 1680  $\text{cm}^{-1}$ , à temperatura ambiente, é possível observar de forma clara duas bandas. Com a diminuição da temperatura, a partir de 100 K, são necessários três picos para ajustar as bandas em todos os espectros.

A Figura 31(a-c) apresenta os gráficos do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados nesta região. É possível observar que, com exceção de dois modos, os modos pertencentes a esta região evoluem linearmente com a temperatura. Para estes modos foi feito o ajuste linear dos pontos experimentais. Os coeficientes obtidos para estes modos são apresentados na Tabela 7.

Dos coeficientes obtidos para os modos pertencentes a esta região que possuem dependência linear com a temperatura, é possível afirmar que, com exceção do modo marcado por uma seta na Figura 30, os números de onda de todos eles desde a

temperatura ambiente (293 K) deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura. O modo vibracional marcado por uma seta na Figura 30 evolui com a temperatura de forma diferente dos demais, portanto, ele sofre um deslocamento para menores números de onda (*red shift*) com a redução da temperatura.

Os modos vibracionais pertencentes a esta região que não são mostrados na Figura 31(a), estão dispostos de forma separada nas Figura 31(b-c). Estes últimos modos apresentam um comportamento exponencial e foram ajustados segundo a equação

$$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \left(1 + \frac{2}{e^x - 1}\right) + \beta \left[1 + \frac{3}{e^y - 1} + \frac{3}{(e^y - 1)^2}\right] \quad (6)$$

onde  $x = \frac{\hbar\omega_0}{2k_B T}$  e  $y = \frac{\hbar\omega_0}{3k_B T}$ , que foi deduzida por Balkanski *et al.* [66] ao introduzir termos de terceira e quarta ordens na energia potencial cristalina.

Os coeficientes  $\omega_0$ ,  $\alpha$  e  $\beta$  encontrados a partir do ajuste dos pontos experimentais, utilizando a equação (6), são mostrados na Tabela 8. Dos coeficientes obtidos, podemos notar as bandas mostradas na Figura 31(b-c) possuem coeficiente  $\beta > 0$ , o que indica que os modos possuem um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) com a redução da temperatura.

É importante mencionar que os modos vibracionais que apresentaram comportamento exponencial com a temperatura estão relacionados com as unidades da molécula que participam diretamente das ligações de hidrogênio ( $\text{NH}_3^+$  e  $\text{CO}_2^-$ ). O mesmo comportamento também foi observado na L-histidina [64] e na DL-alanina [34].

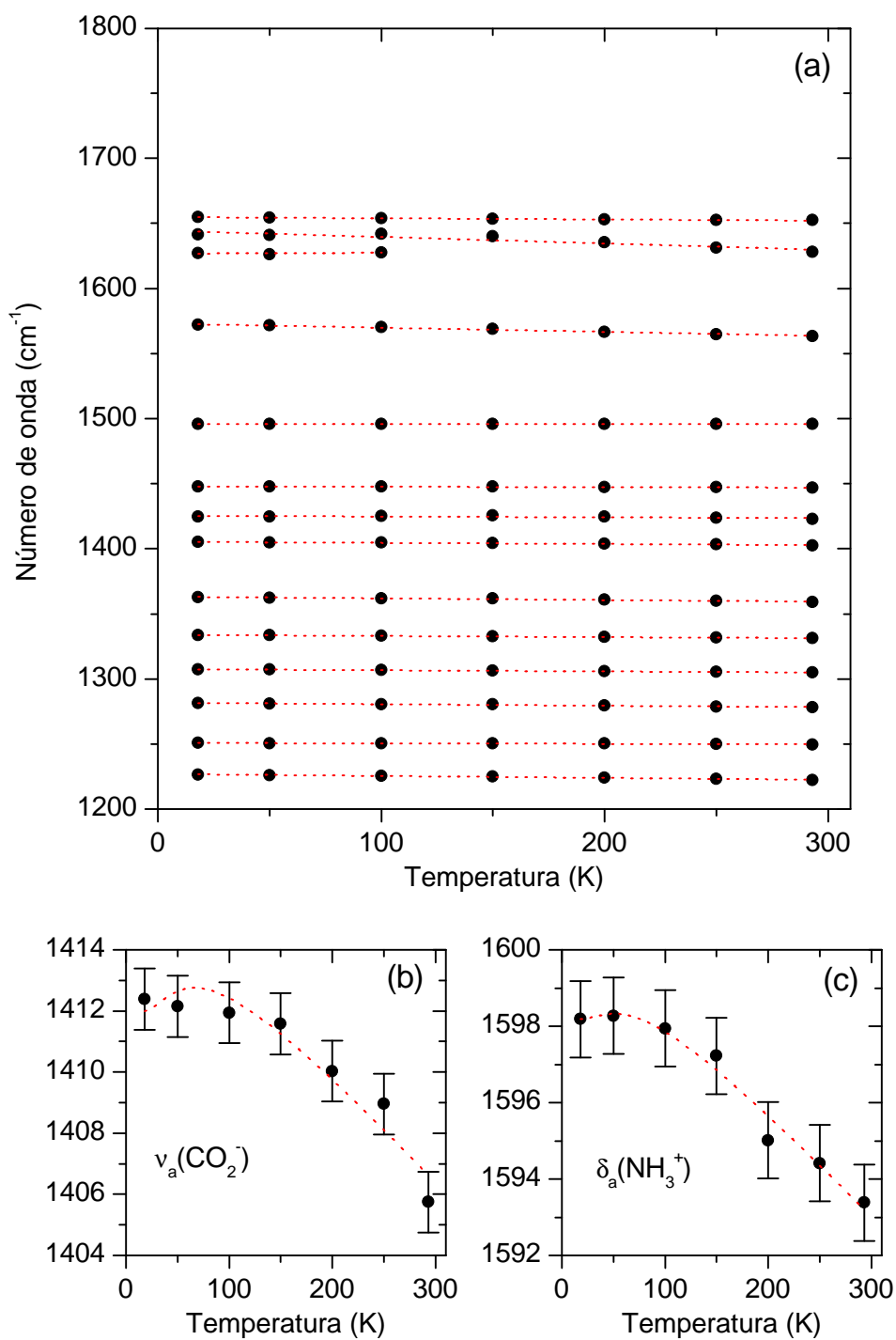


Figura 31 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático para todos os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 800 e  $1200 \text{ cm}^{-1}$ . (a) Modos lineares; (b-c) Modos exponenciais.

## v. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 32 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ . Nesta região são encontradas vibrações do tipo estiramento das unidades CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e NH.

As três primeiras bandas observadas nesta região (localizadas em 2873, 2920 e 2929  $\text{cm}^{-1}$ ) possuem intensidades e larguras de linha fracamente dependentes da temperatura. As duas bandas observadas em 2971 e 2985  $\text{cm}^{-1}$  têm suas intensidades aumentadas e suas larguras de linha diminuídas com a redução da temperatura.

As quatro últimas bandas observadas nesta região (3000, 3020, 3086 e 3278  $\text{cm}^{-1}$ ) não sofreram alterações significativas na sua forma com a variação da temperatura.

A Figura 33 apresenta os gráficos do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados nesta região. Nesta figura é possível observar que um modo apresentou comportamento exponencial com a temperatura. A evolução dos modos que dependem linearmente da temperatura é exibida na Figura 33(a), enquanto que a dos modos que apresentaram dependência exponencial é mostrada na Figura 33(b). Os coeficientes obtidos para os modos Raman são mostrados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

A última banda pertencente a esta região (3278  $\text{cm}^{-1}$ ), que está relacionada ao estiramento da unidade NH, apresenta dependência exponencial com a temperatura.

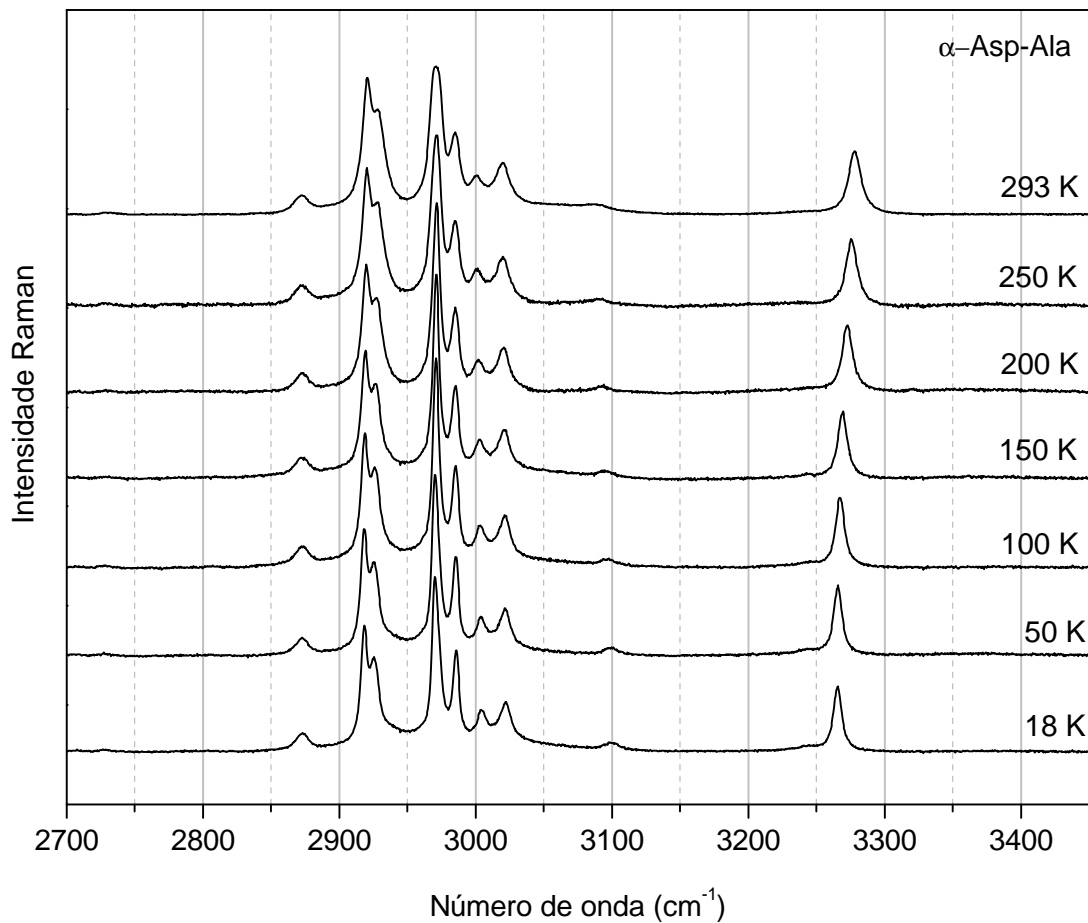


Figura 32 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ .



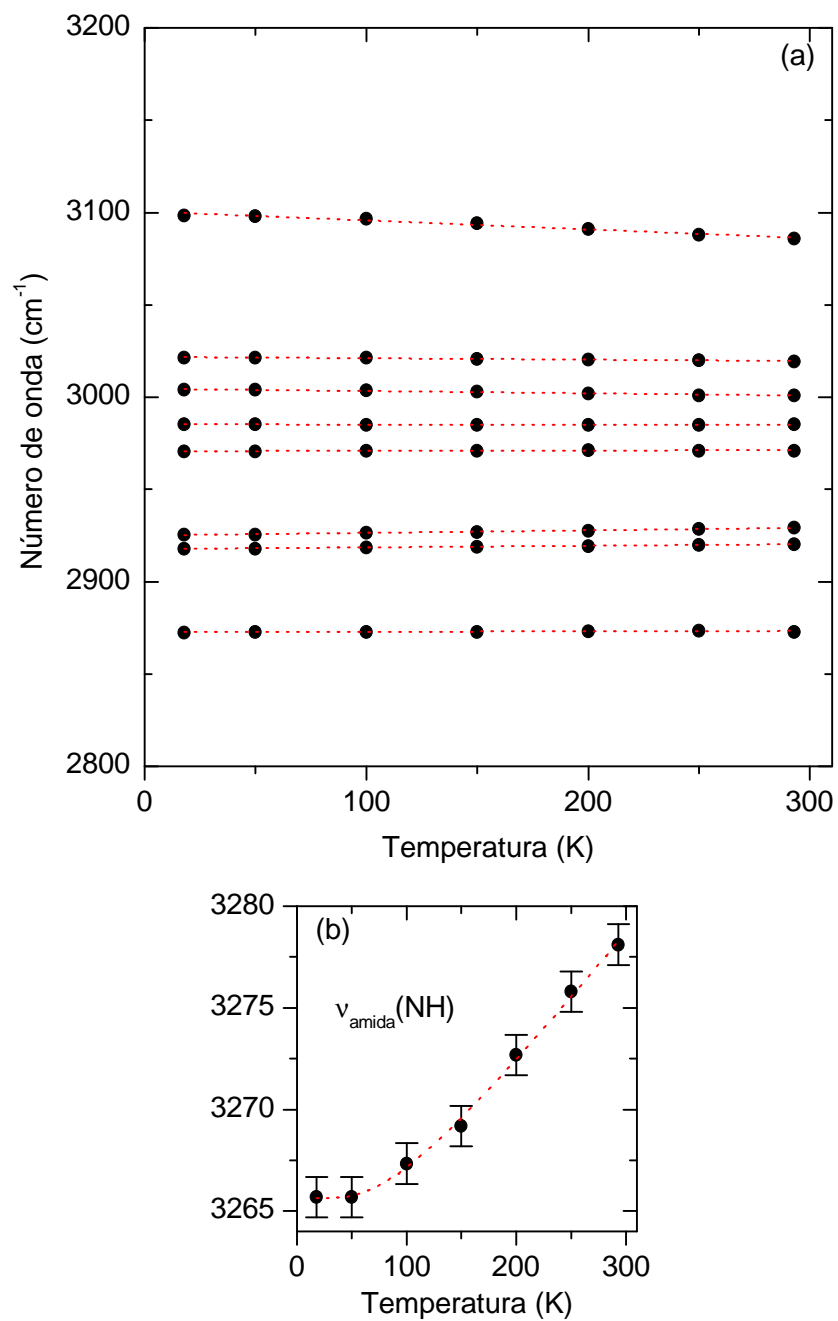


Figura 33 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático para todos os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ . (a) Modos lineares; (b) Modo exponencial.

## vi. Anarmonicidade

As vibrações de um cristal, em muitos casos, podem ser aproximadas por vibrações harmônicas. No entanto, em alguns cristais, os efeitos anarmônicos ficam evidentes com a redução da temperatura. Assim, uma função linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) da temperatura não é suficiente para descrever o comportamento destes modos em função deste parâmetro termodinâmico. Em outros cristais orgânicos, como a L-histidina [64], a L-asparagina clorohidrato monohidratada [49] e a DL-alanina [34], foi observado que as vibrações que apresentam grande anarmonicidade são aquelas relacionadas com as ligações de hidrogênio, o mesmo acontece com bandas desse tipo no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. Neste último cristal, os modos vibracionais que apresentaram comportamento anarmônico foram associados às vibrações do tipo estiramentos das unidades  $\text{CO}_2^-$  e  $\text{NH}_3^+$ , além de a uma deformação do  $\text{NH}_3^+$ .

Como observado na DL-alanina [34], o comportamento exponencial do número de onda desses modos em função da temperatura pode sugerir uma ligeira acomodação das moléculas na célula unitária sem nenhum indício de mudanças estrutural, o que concorda com os resultados obtidos para a região dos modos externos. É importante ressaltar que os modos de torção das unidades  $\text{CO}_2^-$  e  $\text{NH}_3^+$  apresentaram dependência exponencial com a temperatura, diferentemente do observado para os cristais de L-asparagina clorohidrato monohidratada [67] e DL-alanina [34,61].

Os coeficientes dos ajustes dos pontos experimentais para os modos Raman observados na região espectral entre 20 e  $3450 \text{ cm}^{-1}$  estão listados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes à região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 18 e 293 K.

$\omega$ (T = 293 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	Classificação tentativa
40	40,7	$-2,5 \cdot 10^{-3}$	Rede
46	51,4	$-1,7 \cdot 10^{-2}$	Rede
58	65,0	$-2,4 \cdot 10^{-2}$	Rede
71	73,0	$-5,0 \cdot 10^{-3}$	Rede
	78,0	$-2,2 \cdot 10^{-2}$	
88	92,2	$-1,1 \cdot 10^{-2}$	Rede
96	95,5	$-1,4 \cdot 10^{-2}$	Rede
	102,4	$-2,0 \cdot 10^{-2}$	
109	118,3	$-3,0 \cdot 10^{-2}$	Rede
122	126,6	$-1,2 \cdot 10^{-2}$	Rede
128	136,7	$-3,2 \cdot 10^{-2}$	Rede
	149,2	$-2,1 \cdot 10^{-2}$	
147	152,1	$-1,2 \cdot 10^{-2}$	Rede
156	161,0	$-2,2 \cdot 10^{-2}$	Rede
182	186,9	$-1,5 \cdot 10^{-2}$	$\tau(\text{CO}_2^-)$
	219,2	$-2,4 \cdot 10^{-2}$	
227	229,2	$-2,9 \cdot 10^{-5}$	$\delta(\text{esq})$
265	269,7	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	$\delta(\text{CCNC})$
325	329,5	$-1,7 \cdot 10^{-2}$	
357	357,8	$2,4 \cdot 10^{-4}$	
	366,0	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$\delta(\text{esq})$
400	401,5	$-5,6 \cdot 10^{-3}$	$\delta(\text{esq})$
409	410,9	$-1,0 \cdot 10^{-2}$	$\tau(\text{NH}_3^+)$
	417,6	$-2,6 \cdot 10^{-2}$	
435	444,3	$-2,9 \cdot 10^{-2}$	
525	524,7	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$r(\text{CO}_2^-)$
	533,2	$-2,3 \cdot 10^{-2}$	
570	572,5	$-8,6 \cdot 10^{-3}$	$\delta(\text{CO}_2^-)$

Tabela 7 (continuação) – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes à região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 18 e 293 K.

$\omega$ (T = 293 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	Classificação tentativa
600	601,2	$-5,7 \cdot 10^{-3}$	$\delta(\text{CO}_2^-)$
	631,0	$-8,4 \cdot 10^{-3}$	
686	693,6	$-2,4 \cdot 10^{-2}$	
	721,3	$-3,9 \cdot 10^{-2}$	
745	745,4	$-6,3 \cdot 10^{-3}$	
	752,2	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	
770	773,5	$-1,4 \cdot 10^{-2}$	$\delta(\text{CO}_2^-)$
779	784,8	$-1,8 \cdot 10^{-2}$	$\delta(\text{CO}_2^-)$
792	799,1	$-2,2 \cdot 10^{-2}$	
844	848,6	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	
880	883,5	$-1,1 \cdot 10^{-2}$	r( $\text{CH}_2$ )
	916,8	$-9,7 \cdot 10^{-3}$	
928	929,6	$-6,5 \cdot 10^{-3}$	$\delta_{\text{op}}(\text{COH})$
945	946,9	$-4,7 \cdot 10^{-3}$	
1003	1008,6	$-1,9 \cdot 10^{-2}$	v(CC)+ v(CN)
1054	1053,7	$2,9 \cdot 10^{-4}$	v(CC)+ v(CN)
1074	1077,9	$-1,1 \cdot 10^{-2}$	v(CC)+ v(CN)
1108	1112,3	$-1,5 \cdot 10^{-2}$	$\nu_a(\text{CCN})$
1122	1124,1	$-5,7 \cdot 10^{-3}$	
1158	1163,2	$-1,5 \cdot 10^{-2}$	r( $\text{NH}_3^+$ )
1222	1227,0	$-1,5 \cdot 10^{-2}$	tw( $\text{CH}_2$ )
1250	1250,8	$-3,4 \cdot 10^{-3}$	v(C-O)
1278	1281,7	$-1,2 \cdot 10^{-2}$	$\omega(\text{CH}_2)$
1305	1307,5	$-8,7 \cdot 10^{-3}$	
1331	1333,9	$-8,7 \cdot 10^{-3}$	$\delta(\text{CH})$
1359	1363,2	$-1,3 \cdot 10^{-2}$	
1401	1405,4	$-8,8 \cdot 10^{-3}$	
1423	1425,4	$-6,2 \cdot 10^{-3}$	$\delta_{\text{ip}}(\text{COH})$

Tabela 7 (continuação) – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes à região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 18 e 293 K.

$\omega$ (T = 293 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	Classificação tentativa
1447	1448,0	$-3,5 \cdot 10^{-3}$	$\delta_a(\text{CH}_3)$
1495	1496,0	$-8,8 \cdot 10^{-4}$	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$
1564	1573,0	$-3,2 \cdot 10^{-2}$	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
1630	1626,7	$-7,6 \cdot 10^{-3}$	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$
	1644,6	$-5,0 \cdot 10^{-2}$	
1652	1654,9	$-9,2 \cdot 10^{-3}$	$\nu(\text{C}=\text{O})$
2873	2872,6	$2,5 \cdot 10^{-3}$	
2920	2917,7	$8,8 \cdot 10^{-3}$	
2929	2925,0	$1,4 \cdot 10^{-2}$	$\nu_a(\text{CH}_2)$
2971	2970,6	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$\nu_a(\text{CH}_3)$
2985	2985,3	$-3,7 \cdot 10^{-4}$	$\nu_a(\text{CH}_3)$
3000	3004,6	$-1,2 \cdot 10^{-2}$	$\nu_s(\text{NH}_3^+)$
3020	3021,9	$-7,6 \cdot 10^{-2}$	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$
3086	3100,6	$-4,8 \cdot 10^{-2}$	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$

Tabela 8 – Coeficientes do ajuste exponencial (equação 6) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 18 e 293 K.

$\omega$ (T = 293 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\beta$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Classificação tentativa
1404	1420,6	-13,0	4,4	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$
1592	1602,9	-6,3	1,6	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
3278	3259,7	0,5	5,4	$\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$

## 6.2 Espectroscopia de infravermelho

Foram realizados experimentos de espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-IR) do  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 400 e 3500  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 93 e 293 K.

Em seguida, para analisar os dados, foi utilizado um método da Quimiometria chamado Análise das Componentes Principais (PCA, do inglês). A análise PCA foi executada utilizando o programa The Unscrambler 10.2 da Camo Software AS. Esta análise permite o cálculo das componentes principais do conjunto de espectros. A análise fornece os pesos e as componentes principais do conjunto de dados, assim como a porcentagem de variância explicada para cada componente principal.

Para facilitar a análise espectral, o espectro foi dividido em três regiões.

### i. Região espectral entre 400 e 1200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 34 mostra os espectros de infravermelho para a região 400-1200  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 93 e 293 K em um experimento em que a amostra era resfriada. Nesta figura, não é possível perceber diferenças significativas nos espectros além de uma maior definição das bandas com a redução da temperatura.

A porcentagem de variância explicada pelas primeiras componentes principais é mostrada na Figura 35. Desta figura, é possível perceber que 87 % da variância explicada está relacionada apenas com a componente principal.

A Figura 36 exibe os resultados obtidos da análise PCA para a componente principal. Neste gráfico é exibido o peso da componente principal em função da temperatura. Dos pesos obtidos, podemos afirmar que não há evidências de transições de fase no espectro de infravermelho para o intervalo de temperatura estudado nesta região espectral.

O espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala e a componente principal obtidos a partir da análise PCA são mostrados na Figura 37. Da componente principal exibida na Figura 37(b), podemos afirmar que as principais modificações nos espectros devido à variação da temperatura estão localizadas em 416, 718 e 798  $\text{cm}^{-1}$  (na porção positiva) e em 432 e 700  $\text{cm}^{-1}$  (na porção negativa). As modificações localizadas em

416  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas ao aparecimento de uma banda em 414  $\text{cm}^{-1}$ , como já foi observado através de espectroscopia Raman. Já o pico localizado em 432  $\text{cm}^{-1}$  na porção negativa da componente principal, está associado ao estreitamento da banda localizada em 435  $\text{cm}^{-1}$ .

É interessante destacar que em um estudo realizado na L-alanina a baixas temperaturas observou-se que três bandas, localizadas em 350, 500 e 972  $\text{cm}^{-1}$  (que estão relacionadas com as vibrações do  $\text{NH}_3^+$ ) apresentam comportamentos similares. Estas três bandas estreitam bastante, sofrem um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) e se separam em duas componentes a baixas temperaturas [68]. A partir desta última característica, a separação em duas bandas, Rozenberg *et al.* [68] inferiram que na L-alanina cristalina existe uma desordem não desprezível associada com a possibilidade dos prótons ocuparem diferentes posições nas ligações de hidrogênio estabelecidas pelo grupo  $\text{NH}_3^+$ . Comparando este fato com os nossos resultados no  $\alpha$ -Asp-Ala onde não se percebe a separação de bandas na região especificada, podemos imaginar que se tal desordem existe, ela não se manifesta de uma maneira tão clara como na L-alanina.

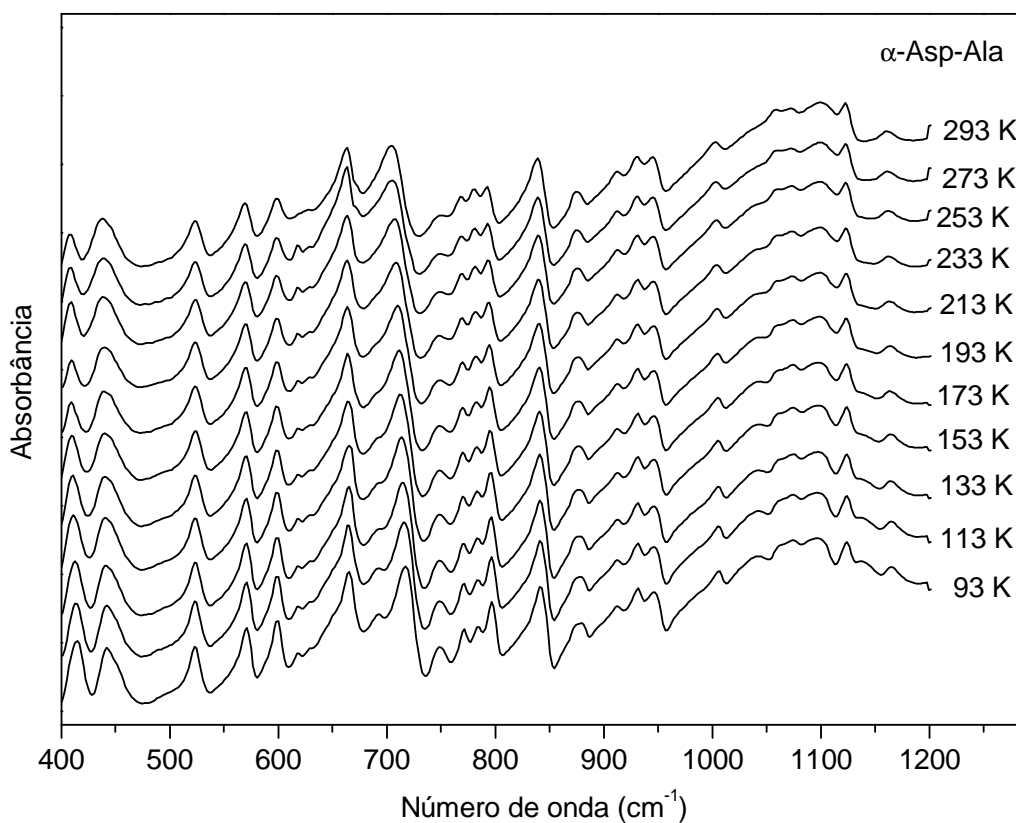


Figura 34 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 400 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

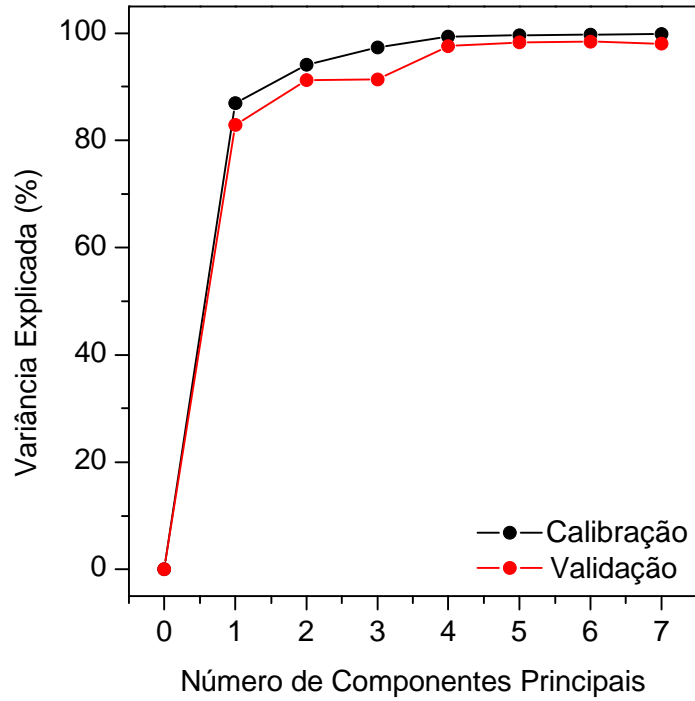


Figura 35 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

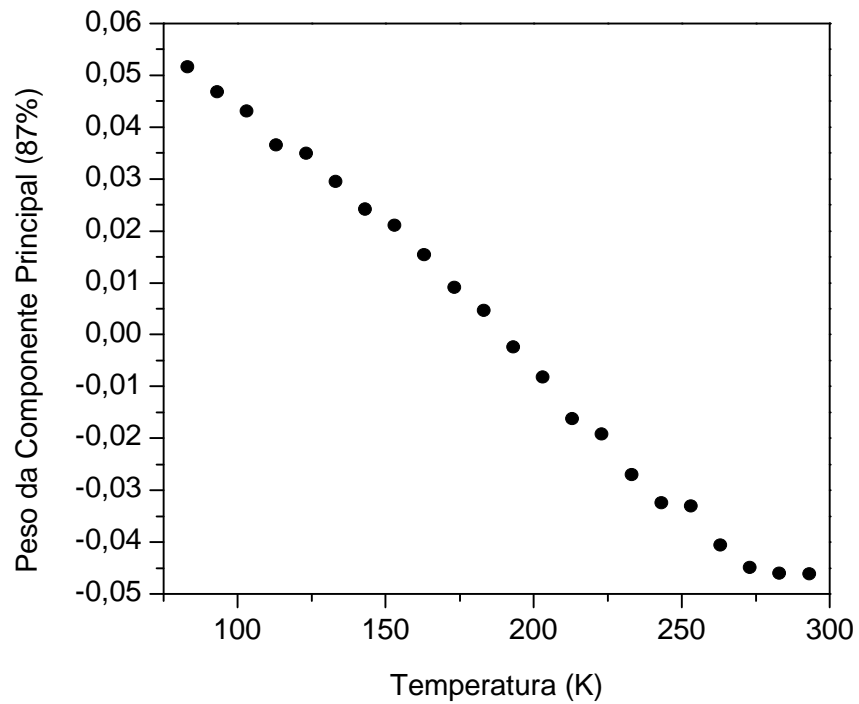


Figura 36 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala.



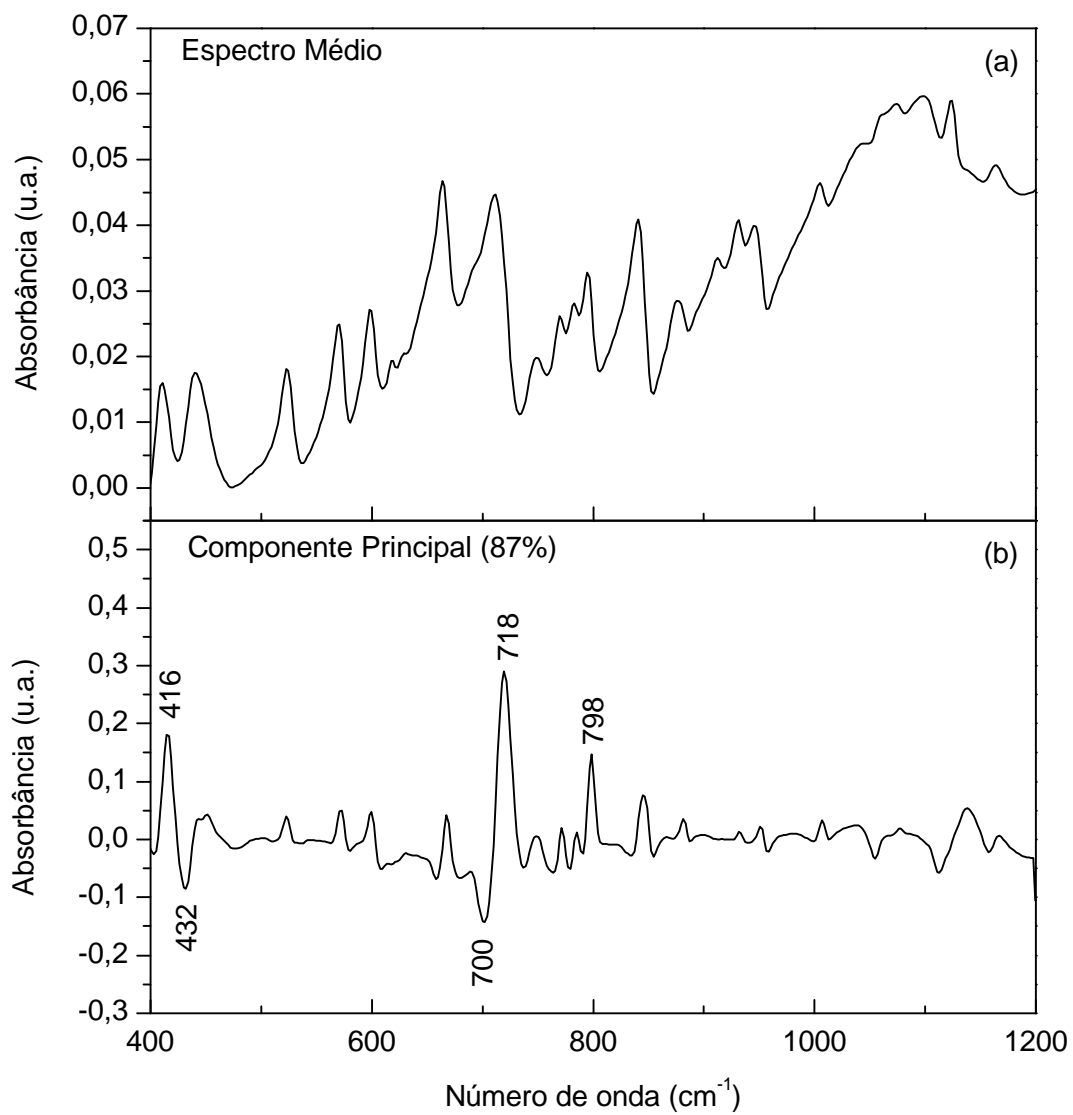


Figura 37 – (a) Espectro de infravermelho médio do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para a região 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal.

## ii. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 38 apresenta os espectros de infravermelho na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura. Nesta figura, com a redução da temperatura, é possível observar uma maior definição das bandas.

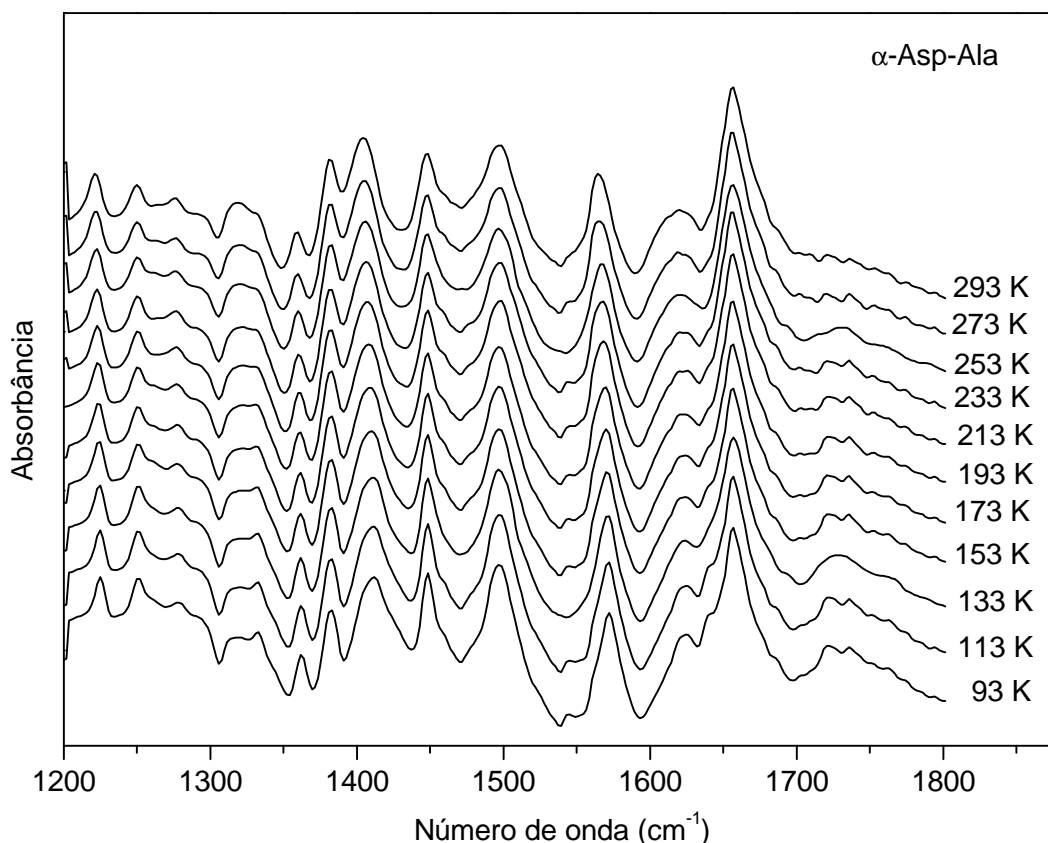


Figura 38 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em função da temperatura na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

Esta região é particularmente rica porque nela aparecem modos associados à grupos que participam diretamente das ligações de hidrogênio ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{CO}_2^-$  entre outras). De fato, estudos realizados na L-alanina mostraram, por exemplo, que uma banda em torno de 1370  $\text{cm}^{-1}$  estaria associada a uma deformação do  $\text{CH}_3$ ,  $\delta(\text{CH}_3)$  [43]. Em um estudo posterior mostrou-se que o mesmo modo na L-alanina poderia estar associado a um acoplamento da deformação do  $\text{NH}_3^+$  com uma vibração do esqueleto da molécula,  $\delta(\text{esq.}) + \delta(\text{NH}_3^+)$  [68]. Identificações semelhantes poderiam ser estendidas às bandas na região de 1300-1400  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho da  $\alpha$ -Asp-Ala.

Também é interessante destacar que uma banda em torno de  $1250\text{ cm}^{-1}$  na L-alanina foi classificada com um *rocking* do  $\text{NH}_3^+$ ,  $\nu(\text{NH}_3^+)$  [12], ou simplesmente como uma vibração da ligação de hidrogênio (*H-bond*), de acordo com Rozenberg *et al.* [68]. Na L-treonina o modo de vibração  $\nu(\text{NH}_3^+)$  foi identificado como uma banda em  $1185\text{ cm}^{-1}$  [13], de tal maneira que podemos identificar o  $\nu(\text{NH}_3^+)$  no  $\alpha$ -Asp-Ala como sendo uma das bandas entre  $1150\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ . Em toda a região espectral  $1200\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$  da Figura 38, não é observado nenhuma separação de bandas, que implica que o  $\alpha$ -Asp-Ala, neste intervalo de temperatura ( $93\text{-}293\text{ K}$ ) não apresenta mudanças muito claras associadas com as ligações de hidrogênio.

A variância explicada (em termos percentuais) para as primeiras componentes principais é exibida na Figura 39. Esta figura indica que 94 % dos espectros são descritos utilizando apenas a componente principal.

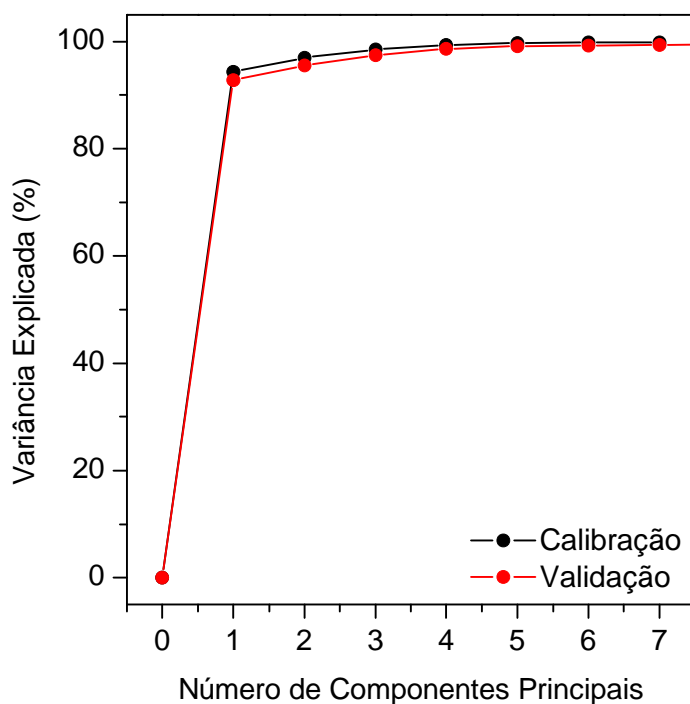


Figura 39 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

Na Figura 40 são mostrados os resultados da análise PCA para a componente principal. Deste resultado é possível perceber que não existe nenhuma descontinuidade para o peso da componente principal para diferentes valores de temperatura, indicando que no espectro de infravermelho não existem modificações claras que indiquem uma segunda fase para o intervalo de temperatura estudado.

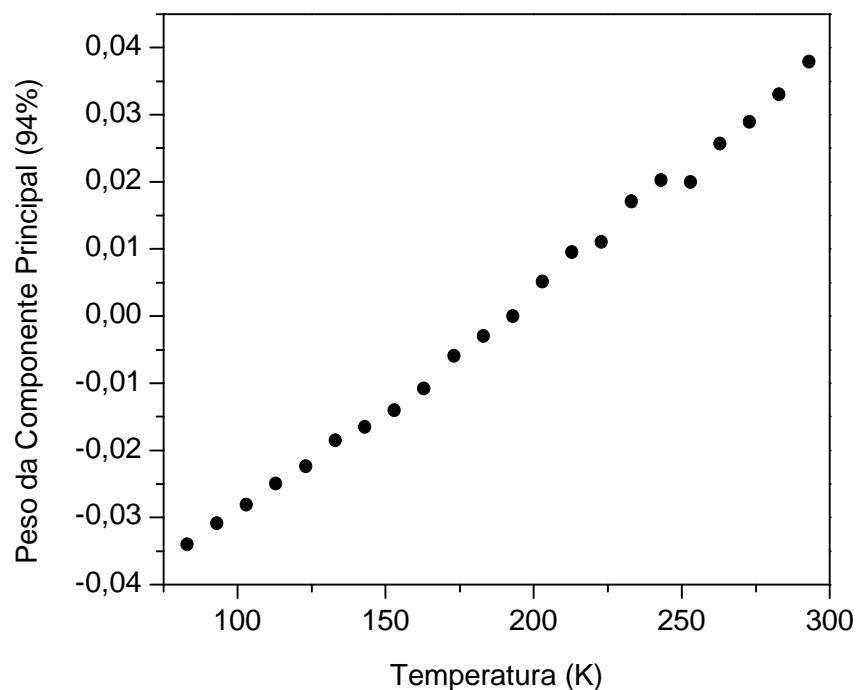


Figura 40 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala.

O espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala e a componente principal obtidos na análise PCA são exibidos na Figura 41. Da Figura 41(b) é possível afirmar que as principais modificações nos espectros devido à mudança da temperatura estão localizadas em 1396 e 1561  $\text{cm}^{-1}$  (na parte positiva do gráfico) e em 1419, 1574 e 1639  $\text{cm}^{-1}$  (na parte negativa). As modificações localizadas em 1639  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas ao aparecimento de uma banda em 1640  $\text{cm}^{-1}$ , como já observado através de espectroscopia Raman.

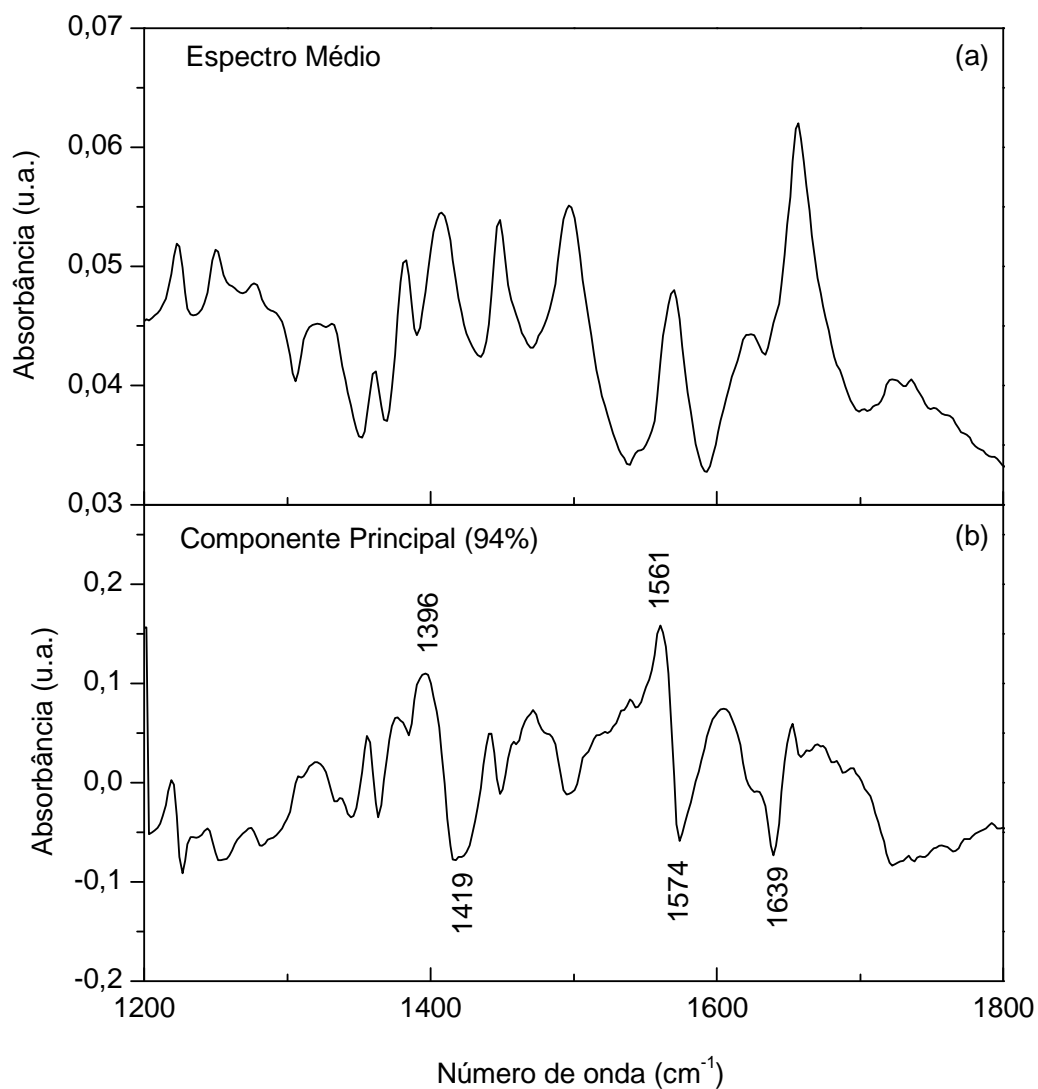


Figura 41 – (a) Espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala para a região 1200-1800  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal.

### iii. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 42 apresenta os espectros de FT-IR do  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura. Esta região é característica de vibrações do tipo estiramento das unidades CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub><sup>+</sup> e NH, como afirmado anteriormente. Nesta figura, não é possível observar mudanças nos espectros com a redução da temperatura.

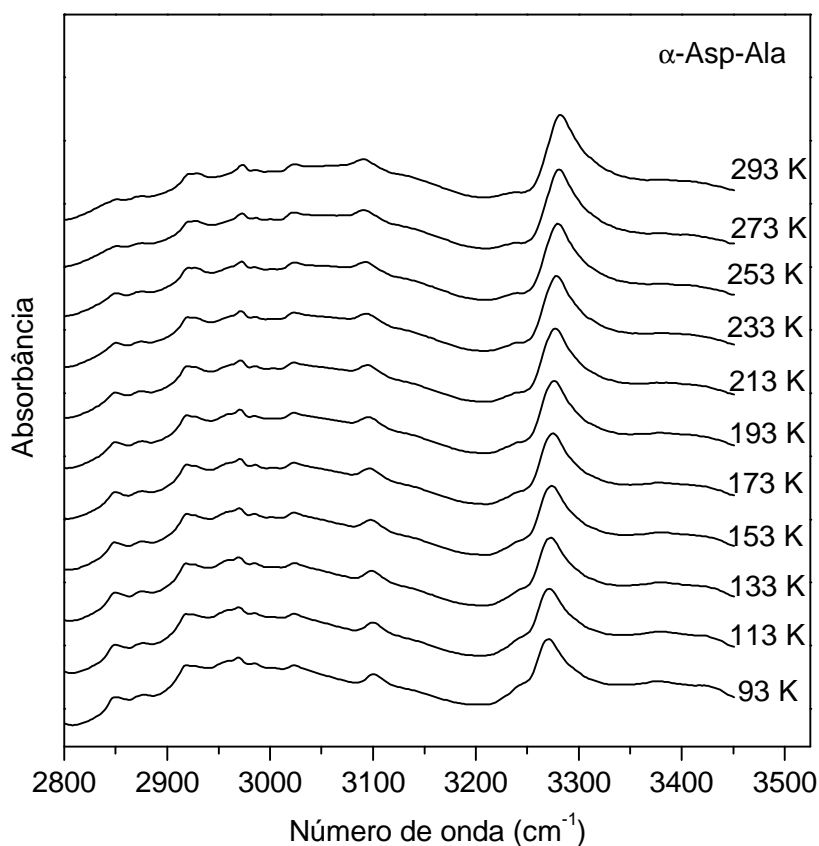


Figura 42 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2800 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ .

Esta região espectral é importante principalmente porque ela envolve vibrações relacionadas às ligações de hidrogênio. Em um estudo realizado com a L-alanina com diferentes graus de deuteração (100 % NH; 90 % NH e 10 % ND; 10 % NH e 90 % ND) determinou-se que os números de onda de vibração do NH<sub>3</sub><sup>+</sup> “livre” seriam 3314, 3249 e 3143  $\text{cm}^{-1}$ . Estes valores não são exatamente aqueles observados em um experimento de absorção de infravermelho utilizando pastilha de KBr, uma vez que o

$\text{NH}_3^+$  interage com o  $\text{Br}^-$ . Assim, sob tal condição experimental, por causa da interação  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{Br}^-$ , os números de onda observados no espectro de infravermelho não podem ser considerados como uma medida exata dos números de onda associados ao  $\text{NH}_3^+$  na L-alanina *zwitteriônica* [68]. De uma forma semelhante, uma vez que os experimentos de infravermelho apresentados no presente trabalho foram realizados utilizando pastilhas de KBr, podemos imaginar que os números de onda dos modos associados aos estiramentos do  $\text{NH}_3^+$  no  $\alpha$ -Asp-Ala *zwitteriônico* sejam ligeiramente diferentes do que foram observados nos espectros da Figura 42.

Da análise PCA, temos que a variância explicada (em termos percentuais) para as primeiras componentes principais é exibida na Figura 43. Deste resultado, temos que 89 % dos espectros são descritos utilizando apenas a componente principal.

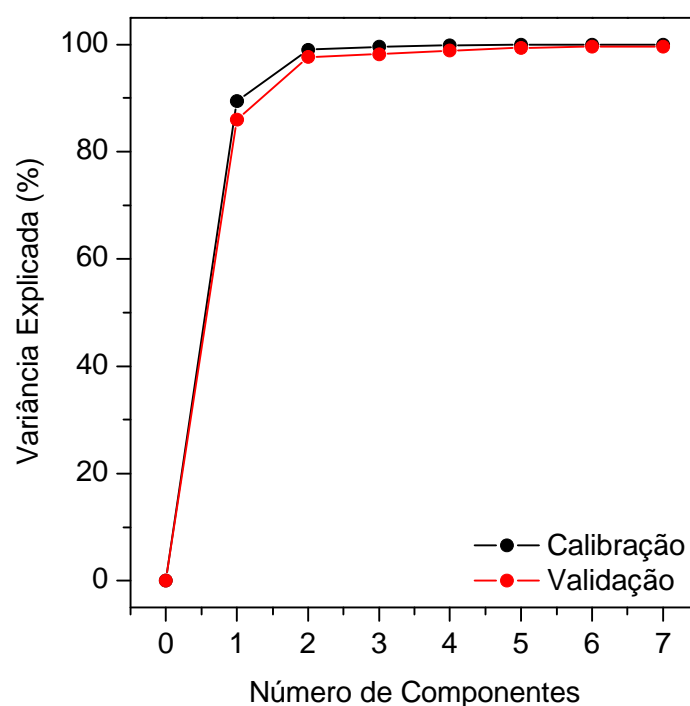


Figura 43 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

O peso da componente principal em função da temperatura é mostrado na Figura 44. Assim como nas regiões anteriores, não há indícios da existência de uma transição de fase para o intervalo de temperatura estudado.

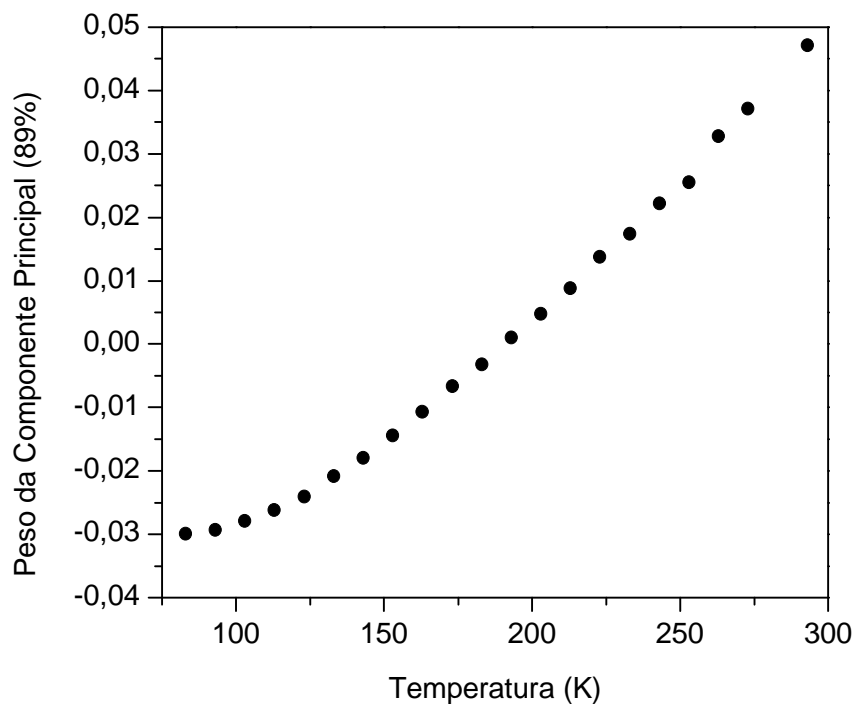


Figura 44 – Peso da componente principal em função da temperatura no espectro de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala.



O espectro médio e a componente principal, obtidos da análise PCA, são mostrados na Figura 45. Da Figura 45(b), é possível concluir que as principais mudanças nos espectros devido à variação da temperatura acontecem em torno de 3088 e 3286  $\text{cm}^{-1}$  (na porção positiva) e em 3262  $\text{cm}^{-1}$  (na porção negativa). As modificações localizadas em torno de 3088  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas à forte dependência do número de onda dessa banda em relação à temperatura, como já observado através de espectroscopia Raman. Os picos localizados em 3262  $\text{cm}^{-1}$  (na porção negativa) e em 3286  $\text{cm}^{-1}$  (na porção positiva) da componente principal estão relacionados com o deslocamento para menores números de onda da banda associada à vibração de estiramento do NH localizada em 3278  $\text{cm}^{-1}$ .

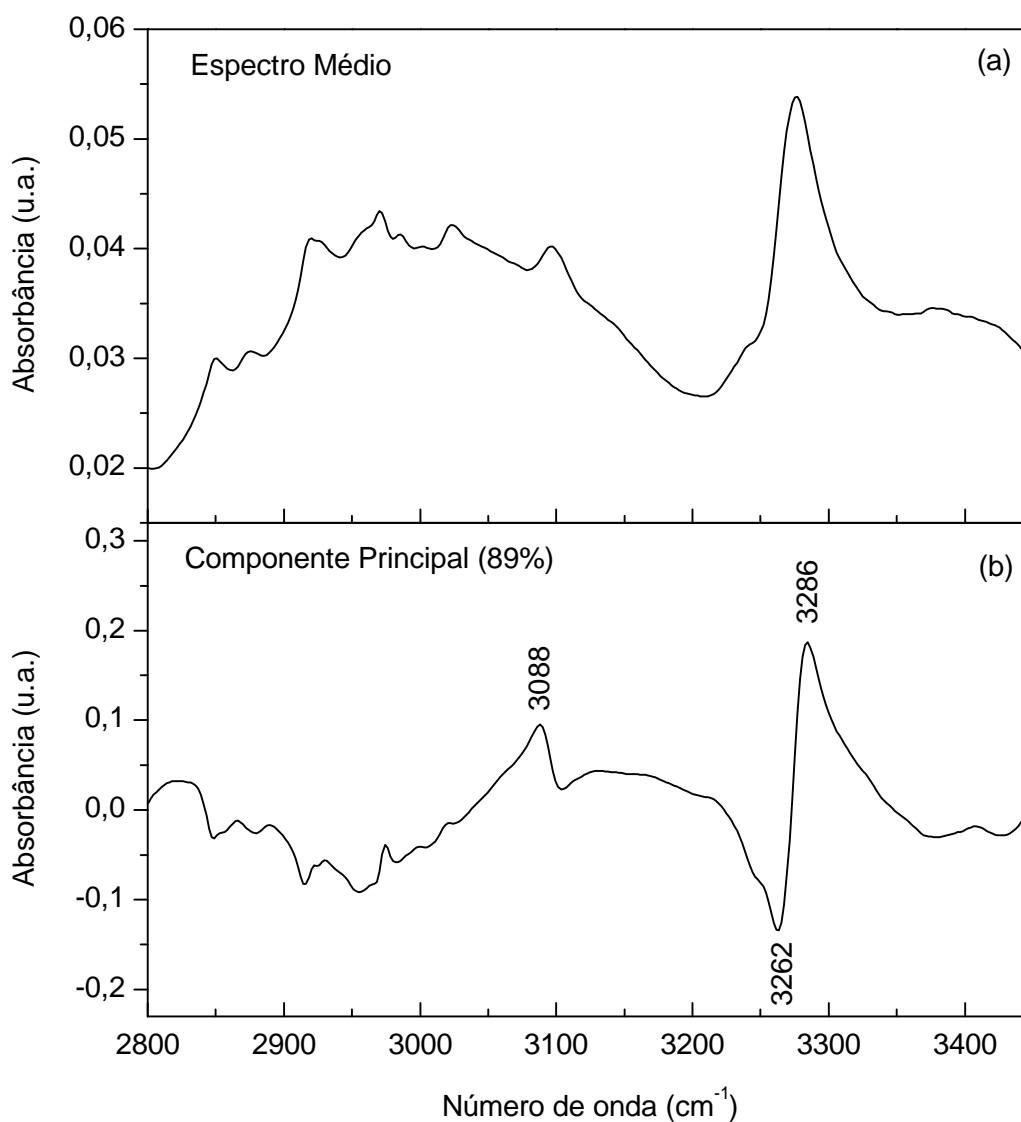


Figura 45 – (a) Espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala para a região 2800-3450  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) Componente principal.

### 6.3 Conclusões

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  desde a temperatura ambiente até a temperatura de 18 K. Com a redução da temperatura, pode-se observar que os modos vibracionais associados às unidades que participavam diretamente das pontes de hidrogênio ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{CO}_2^-$  e NH) apresentaram comportamento exponencial em função da temperatura, e seus parâmetros de anarmonicidade foram determinados. Parte dos modos vibracionais tiveram o comportamento do seu número de onda ajustados segundo uma equação linear cujo parâmetro independente era a temperatura. A evolução dos espectros Raman com a temperatura não apresenta qualquer evidência de uma transição estrutural sofrida pelo cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala. Este comportamento é semelhante ao apresentado pela L-alanina [69] e pela L-isoleucina [37]. O aparecimento de algumas bandas associadas com os modos internos é explicado pelo efeito de redução da temperatura ou por conformações moleculares do  $\alpha$ -Asp-Ala na célula unitária.

Experimentos de espectroscopia de infravermelho foram realizados no intervalo espectral entre 400 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 93 e 293 K. Da análise dos resultados, é possível afirmar que não ocorrem mudanças significativas no espectro para o intervalo de temperatura estudado que indiquem a ocorrência de uma transição de fase. Vale ressaltar que a técnica utilizada nesse experimento não permite a visualização da região dos modos externos, região esta que está relacionada diretamente com a estabilidade estrutural do material.

# Capítulo 7 – Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo $\alpha$ -Asp-Ala a Altas Temperaturas

---

Experimentos de espectroscopia vibracional (Raman e infravermelho) foram realizados para diferentes valores de temperatura entre 298 e 428 K com o objetivo de verificar a estabilidade do dipeptídeo  $\alpha$ -Asp-Ala sob condições extremas de temperatura.

## 7.1 Espectroscopia Raman

Experimentos de espectroscopia Raman no dipeptídeo  $\alpha$ -Asp-Ala foram realizados na região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ . Nesta seção, os resultados obtidos são analisados e discutidos. O comportamento dos modos vibracionais em função da temperatura é discutido e os coeficientes do ajuste matemático do número de onda em função da temperatura são apresentados.

Para facilitar a discussão, os espectros foram divididos em cinco regiões.

### i. Região espectral entre 20 e 200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 46 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$ . Esta região é característica dos modos externos do cristal (modos da rede) e da torção da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\tau(\text{CO}_2^-)$ , como anteriormente relatado.

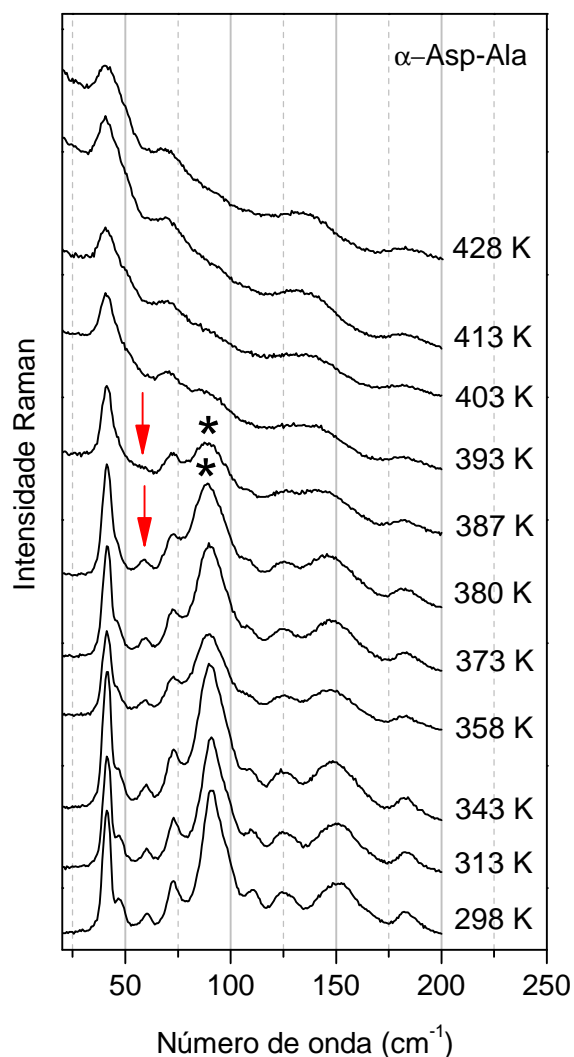


Figura 46 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise dos espectros, além de um alargamento das bandas com o aumento da temperatura, é possível notar que:

(i) Ocorre uma alteração na forma das bandas para valores de temperatura acima de 387 K;

(ii) A banda localizada em  $58 \text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente (marcada pela seta) desaparece para  $T \geq 387 \text{ K}$ ;

(iii) A banda posicionada em aproximadamente  $88 \text{ cm}^{-1}$  (marcada por uma estrela) tem sua intensidade reduzida para  $T \geq 387 \text{ K}$ . É importante ressaltar que esta banda está associada com a libração da unidade  $\text{CH}_3$ , indicando que as mudanças sofridas pelo cristal estão relacionadas com esta unidade.

Diante das inúmeras modificações nesta região, que está diretamente relacionada com a estrutura cristalina, podemos inferir a existência de uma transição de fase em torno de 387 K.

A Figura 47 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos desta região. É importante ressaltar que apenas as bandas mais intensas puderam ser localizadas com precisão em altas temperaturas. Os coeficientes do ajuste linear estão listados na Tabela 9 encontrada no final da seção.

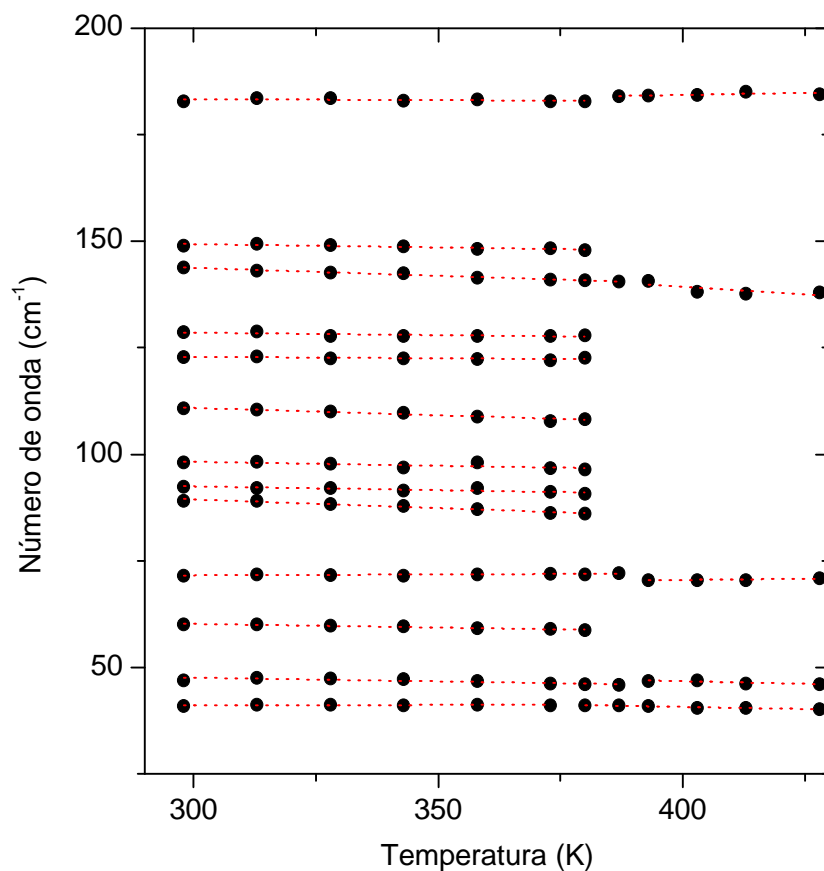


Figura 47 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 20 e 200  $\text{cm}^{-1}$ .

Dos coeficientes obtidos, é possível perceber que:

(i) O primeiro modo observado nessa região (posicionado em 40  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente) possui um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) para valores de temperatura menores do que 373 K, enquanto que para

temperaturas acima deste valor, o modo se desloca para menores números de onda (*red shift*);

(ii) A banda associada à torção da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\tau(\text{CO}_2^-)$ , que está inicialmente posicionada em  $182\text{ cm}^{-1}$ , apresenta uma modificação no comportamento do seu número de onda com a variação da temperatura. Para valores de temperatura menores do que  $380\text{ K}$ , o número de onda decresce com a temperatura. A partir de  $387\text{ K}$ , o número de onda aumenta com a temperatura.

## ii. Região espectral entre $200\text{ e }800\text{ cm}^{-1}$

A Figura 48 apresenta o espectro Raman do cristal de  $\alpha\text{-Asp-Ala}$  na região espectral entre  $200\text{ e }800\text{ cm}^{-1}$  em função da temperatura (para valores entre  $298\text{ e }428\text{ K}$ ). Esta região contém os modos de vibração associados às deformações do esqueleto da molécula e às vibrações de baixa energia.

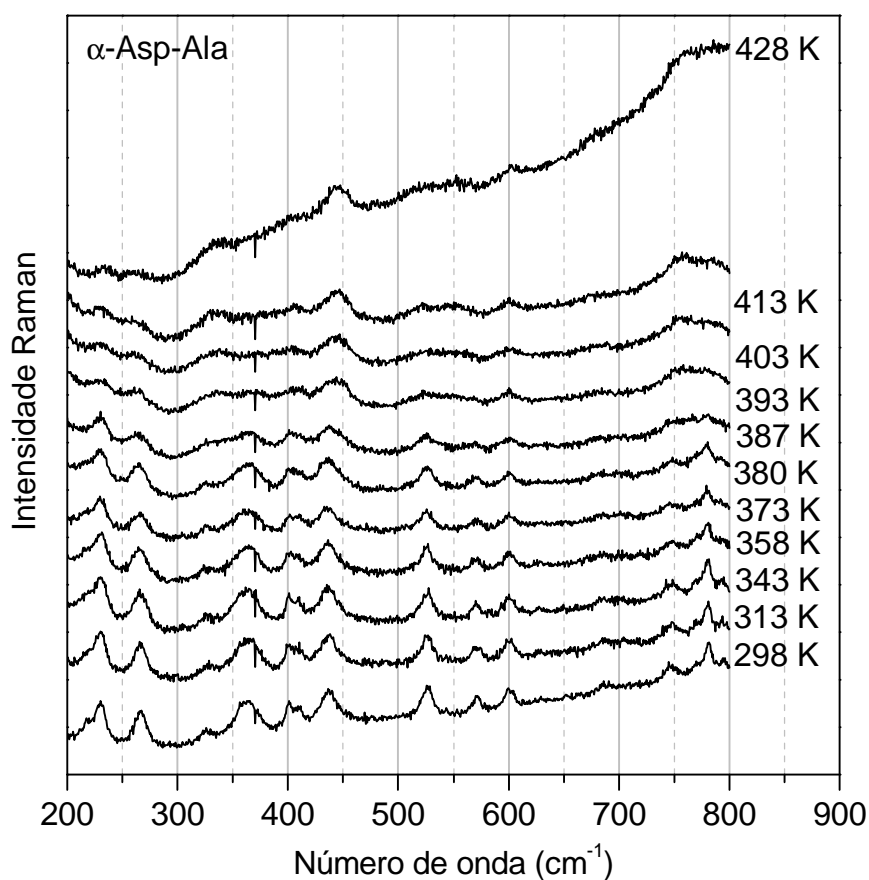


Figura 48 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha\text{-Asp-Ala}$  para diferentes valores de temperatura (entre  $298\text{ e }428\text{ K}$ ) na região espectral entre  $200\text{ e }800\text{ cm}^{-1}$ .

Na Figura 48 é possível perceber que as bandas pertencentes a esta região possuem intensidades relativamente baixas. As principais modificações observadas são:

(i) As bandas pertencentes a esta região sofrem um aumento na largura de linha para temperaturas superiores a 387 K;

(ii) A banda posicionada em  $227\text{ cm}^{-1}$  (a temperatura de 298 K), relativa a uma deformação do esqueleto,  $\delta(\text{esq.})$ , fica pouco intensa com o aumento da temperatura;

(iii) O modo de vibração associado a uma deformação da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$ , localizado inicialmente em  $779\text{ cm}^{-1}$ , tem uma redução na intensidade para temperaturas superiores a 387 K.

A Figura 49 apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais com a temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para a região espectral entre  $200$  e  $800\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes obtidos para as duas fases estão listados na Tabela 9. Devido à baixa intensidade e ao fato de que as bandas pertencentes a esta região apresentam-se alargadas, apenas algumas bandas puderam ser localizadas com precisão para temperaturas acima de 380 K.

Dos coeficientes obtidos para os modos vibracionais pertencentes a esta região, é possível afirmar que:

(i) Com exceção dos modos vibracionais localizados em 223, 227 e  $745\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, os modos pertencentes a esta região sofrem um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) com o aumento da temperatura;

(ii) Da Figura 49, é possível perceber uma descontinuidade ( $\Delta = 5,5\text{ cm}^{-1}$ ) no número de onda da banda localizada inicialmente em  $435\text{ cm}^{-1}$ ;

(iii) A banda localizada inicialmente em  $525\text{ cm}^{-1}$  relativa ao rocking do  $\text{CO}_2^-$ ,  $r(\text{CO}_2^-)$ , se desloca para menores números de onda (*red shift*) para temperaturas até 380 K. Para temperaturas acima deste valor, a banda se desloca em sentido contrário. Além disso, o coeficiente  $\alpha$  para a fase 2 ( $T > 380\text{ K}$ ) indica uma forte dependência do seu número de onda com a temperatura.

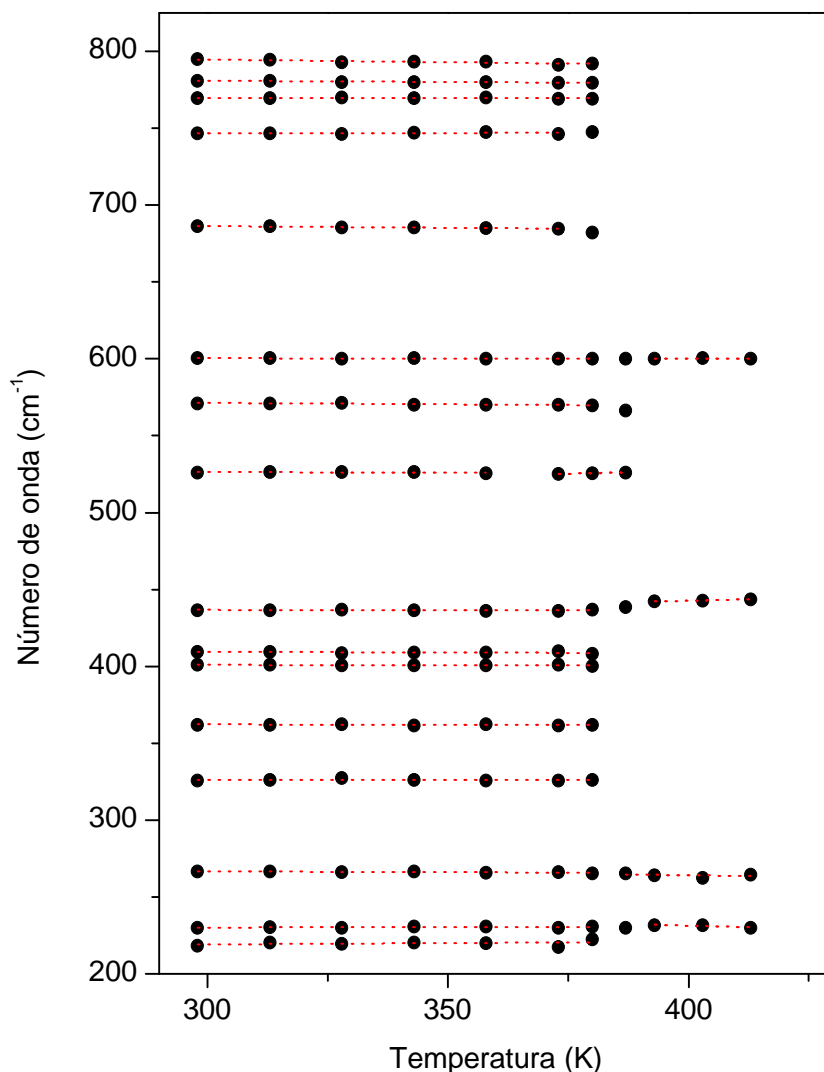


Figura 49 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$ .

Quando se aumenta a temperatura, de uma forma geral, os números de onda dos modos de vibração diminuem. O comportamento observado para os modos vibracionais relacionados com a torção e o *rocking* da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\tau(\text{CO}_2^-)$  e  $\nu(\text{CO}_2^-)$ , têm seus números de onda diminuídos para valores de temperatura entre 298 e 387 K e o aumento dos mesmos para temperaturas superiores a 387 K, claramente se constitui uma anomalia. Essa anomalia pode ser correlacionada com modificações observadas em outras regiões espectrais, em particular na região dos modos da rede (Figura 46). Como relatado anteriormente, em  $T \sim 387$  K ocorrem diferentes modificações no espectro Raman do  $\alpha$ -Asp-Ala que foram associadas a uma transição de fase.



Na referida transição de fase pode-se imaginar que na temperatura crítica ocorra a quebra de uma ligação de hidrogênio. De fato, entre 300 e 387 K o grupo  $\text{NH}_3^+$  estaria preso pelas diferentes ligações formadas pelos hidrogênios e com a quebra de uma ligação de hidrogênio o  $\text{NH}_3^+$  ficaria mais livre, refletindo-se no aumento do número de onda dos modos  $\tau(\text{CO}_2^-)$  e  $\nu(\text{CO}_2^-)$ .

É interessante comparar o comportamento das duas bandas  $\tau(\text{CO}_2^-)$  e  $\nu(\text{CO}_2^-)$  com o de outros cristais de aminoácidos submetidos a altas temperaturas. Por exemplo, o cristal de L-metionina sofre uma transição de fase em torno de 307 K [70], conforme comprova uma série de resultados experimentais. Entretanto, diferentemente do que acontece com o  $\alpha$ -Asp-Ala, os números de onda de ambas as bandas evoluem linearmente com a temperatura no caso da L-metionina, indicando que não há quebra de ligação de hidrogênio. De fato, conforme resultado publicado por Lima Jr. [70] a transição ocorre com a mudança de conformação dos dois diferentes tipos de moléculas metionina na célula unitária.

### iii. Região espectral entre 800 e 1200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 50 apresenta os espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 800 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 298 e 428 K. Nesta região são observados os modos vibracionais associados às deformações angulares da unidade COH, vibrações do tipo *rocking* das unidades  $\text{CH}_2$  e  $\text{NH}_3^+$  e estiramentos CC e CN.

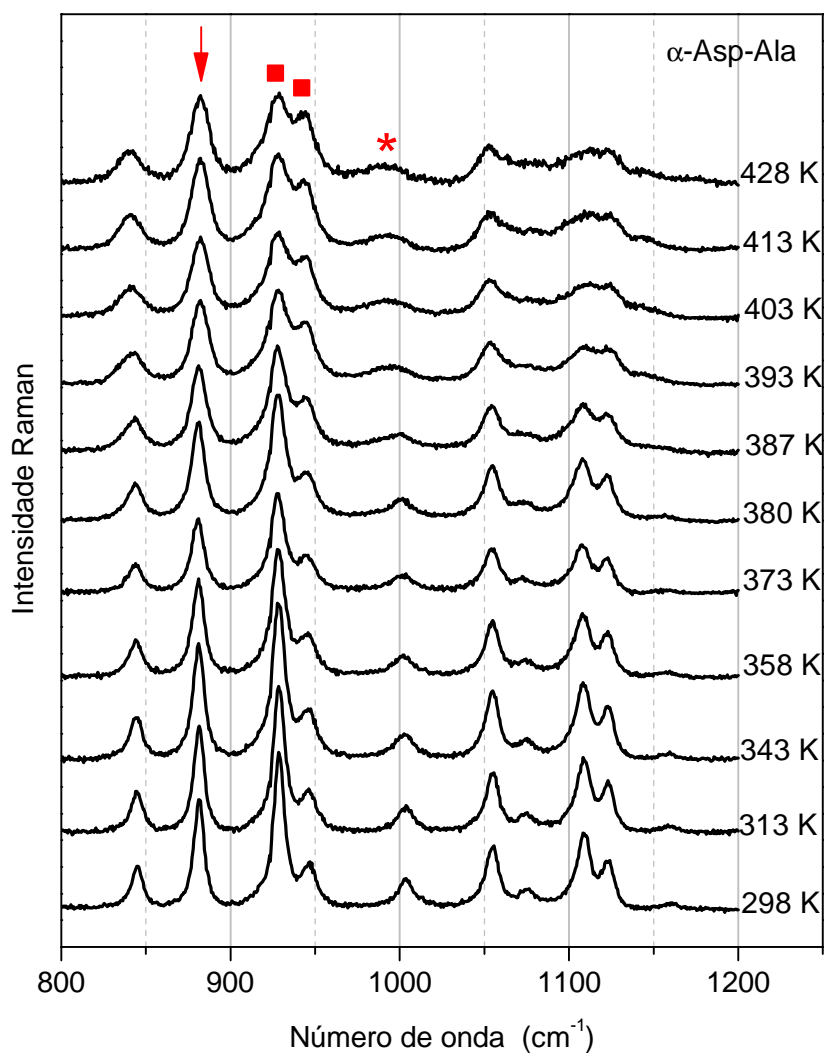


Figura 50 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 800 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

Da Figura 50, é possível observar uma série de modificações:

(i) Todas as bandas pertencentes a esta região sofrem um alargamento para valores de temperatura maiores do que 380 K;

(ii) A banda marcada por uma seta (localizada em  $880\text{ cm}^{-1}$ ), que foi classificada como uma vibração do tipo *rocking* da unidade  $\text{CH}_2$ ,  $r(\text{CH}_2)$ , sofre um aumento da sua largura de linha para temperaturas maiores que  $380\text{ K}$ . É importante ressaltar que esta unidade participa diretamente de uma das ligações de hidrogênio;

(iii) A intensidade relativa entre as duas bandas (marcadas por um quadrado) localizadas inicialmente em  $928$  e  $945\text{ cm}^{-1}$  é alterada a partir de  $387\text{ K}$ ;

(iv) A banda marcada por uma estrela, relativo aos estiramentos  $\text{CC}$  e  $\text{CN}$ ,  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$ , sofre alterações significativas em sua forma para  $T > 387\text{ K}$ .

A Figura 51 apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais com a temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para a região espectral entre  $800$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre  $298$  e  $428\text{ K}$ . Os coeficientes do ajuste para as duas fases estão listados na Tabela 9.

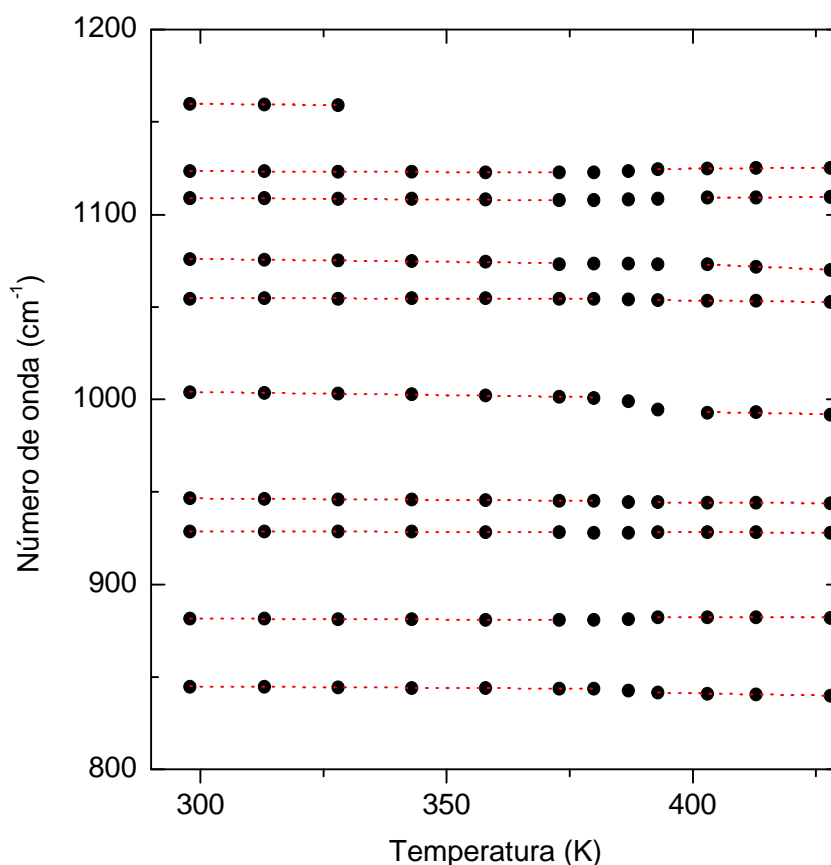


Figura 51 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre  $800$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ .

Dos coeficientes obtidos para os modos vibracionais observados neste intervalo espectral, é possível fazer algumas observações:

(i) Com exceção dos modos vibracionais localizados em 1108 e 1122  $\text{cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, todos os modos pertencentes a esta região sofrem um deslocamento para menores números de onda (*red shift*) com o aumento da temperatura para as duas fases observadas;

(ii) As bandas localizadas inicialmente em 1108 e 1122  $\text{cm}^{-1}$ , onde a primeira está relacionada com um estiramento assimétrico do CCN,  $\nu_a(\text{CCN})$ , se desloca para menores números de onda (*red shift*) para temperaturas até 380 K. Para temperaturas acima deste valor, as bandas se deslocam em sentido contrário;

(iii) Da Figura 51, é possível perceber uma descontinuidade em torno de 380 K ( $\Delta = -8,1 \text{ cm}^{-1}$ ) no número de onda da banda localizada inicialmente em 1003  $\text{cm}^{-1}$ . Esta banda está relacionada com uma vibração que é uma combinação de estiramentos CC e CN,  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$ .

#### **iv. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$**

A Figura 52 apresenta o espectro Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 298 e 428 K. Esta região contém bandas associadas com vibrações do tipo *bending* das unidades CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e NH<sub>3</sub><sup>+</sup> e estiramento das unidades C=O e CO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

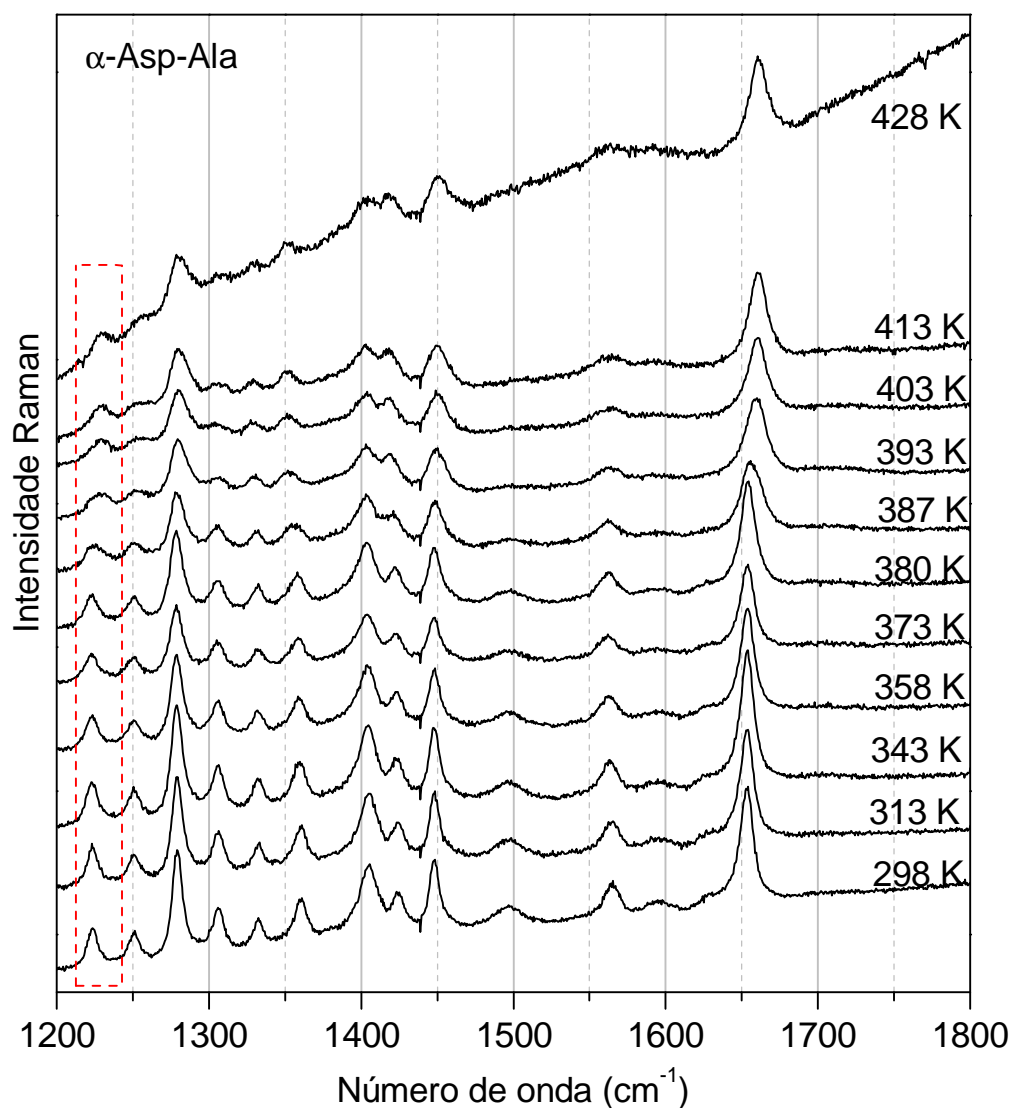


Figura 52 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise dos espectros apresentados na Figura 52, algumas observações podem ser feitas:

(i) Todas as bandas pertencentes a esta região sofrem um alargamento para temperaturas maiores do que 380 K;

(ii) A banda que apresenta a evolução tracejada na figura (localizada em  $1222 \text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente) sofre um alargamento para valores de temperatura maiores do que 380 K. É importante mencionar que esta banda está relacionada com uma vibração do tipo *twisting* do  $\text{CH}_2$ ,  $\text{tw}(\text{CH}_2)$ , e esta banda participa diretamente de uma das pontes de hidrogênio;

(iii) A banda relativa ao estiramento da unidade C-O,  $\nu(\text{C-O})$ , localizada em  $1652\text{ cm}^{-1}$  e que participa diretamente de uma ponte de hidrogênio, sofre um alargamento significativo com o aumento da temperatura.

A Figura 53 apresenta a evolução dos modos vibracionais pertencentes a região espectral entre  $1200$  e  $1800\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes obtidos do ajuste linear para as duas fases estão listados na Tabela 9. Alguns modos vibracionais não puderam ser apresentados nesta figura devido às suas baixas intensidades, não possibilitando uma localização precisa para altas temperaturas.

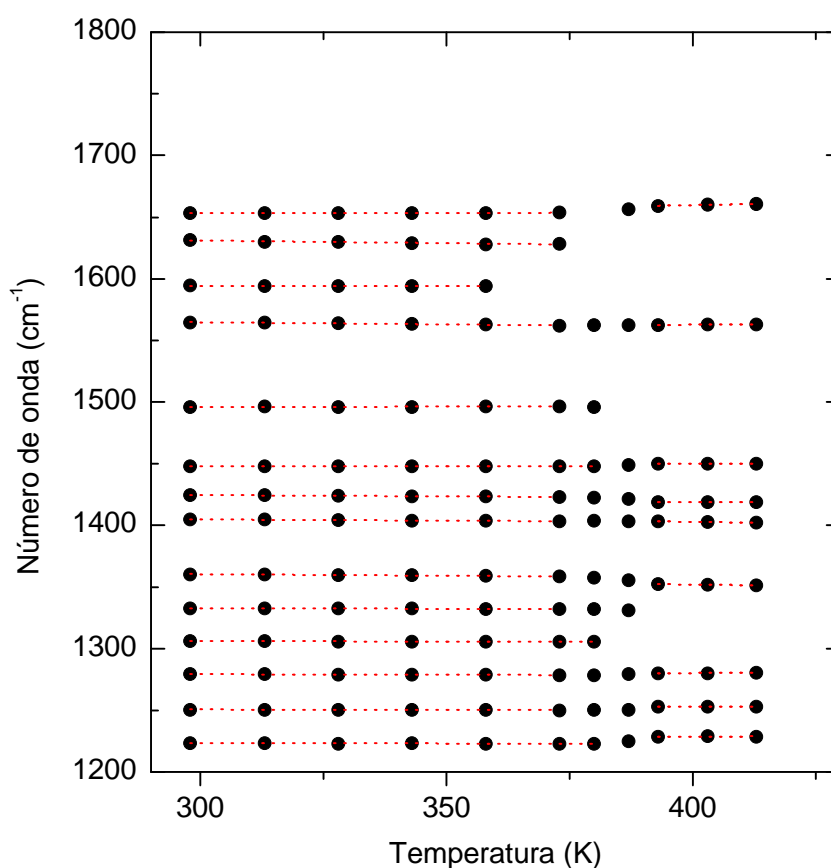


Figura 53 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre  $1200$  e  $1800\text{ cm}^{-1}$ .

Dos coeficientes obtidos para os modos pertencentes a esta região, é possível destacar que:

(i) Para valores de temperatura até  $380\text{ K}$ , com exceção de dois modos vibracionais, todas as bandas sofrem um deslocamento para menores números de onda (*red shift*). Os modos que apresentam comportamento diferenciado estão localizados

inicialmente em 1495 e 1652  $\text{cm}^{-1}$ , que estão relacionados com a deformação simétrica da unidade  $\text{NH}_3^+$  e com o estiramento C-O, respectivamente.

(ii) As bandas localizadas inicialmente em 1222, 1278, 1447 e 1564  $\text{cm}^{-1}$  apresentaram uma mudança de comportamento na sua evolução. Essas bandas apresentam uma evolução para maiores números de onda (*blue shift*) para valores de temperatura maiores do que 393 K.

#### **v. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$**

A Figura 54 apresenta o espectro Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 298 e 428 K. Esta região é caracterizada por vibrações do tipo estiramento das unidades CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{NH}_3^+$  e NH.

Trabalhos realizados em outros cristais de aminoácidos mostraram que esta região, em particular bandas associadas às unidades CH e  $\text{CH}_3$ , são sensíveis a mudanças conformacionais. Um estudo envolvendo cálculos *ab initio* e experimentos de espectroscopia Raman mostrou que a forma das bandas em torno de 3000  $\text{cm}^{-1}$  é diferente se as moléculas assumem diferentes conformações na célula unitária [71]. Assim, a evolução dos espectros Raman com pressão nos cristais de L-metionina [55] e de L-leucina [48] mostrou que ocorrem mudanças conformacionais durante a compressão das amostras, uma vez que o formato das bandas sofreu fortes modificações.

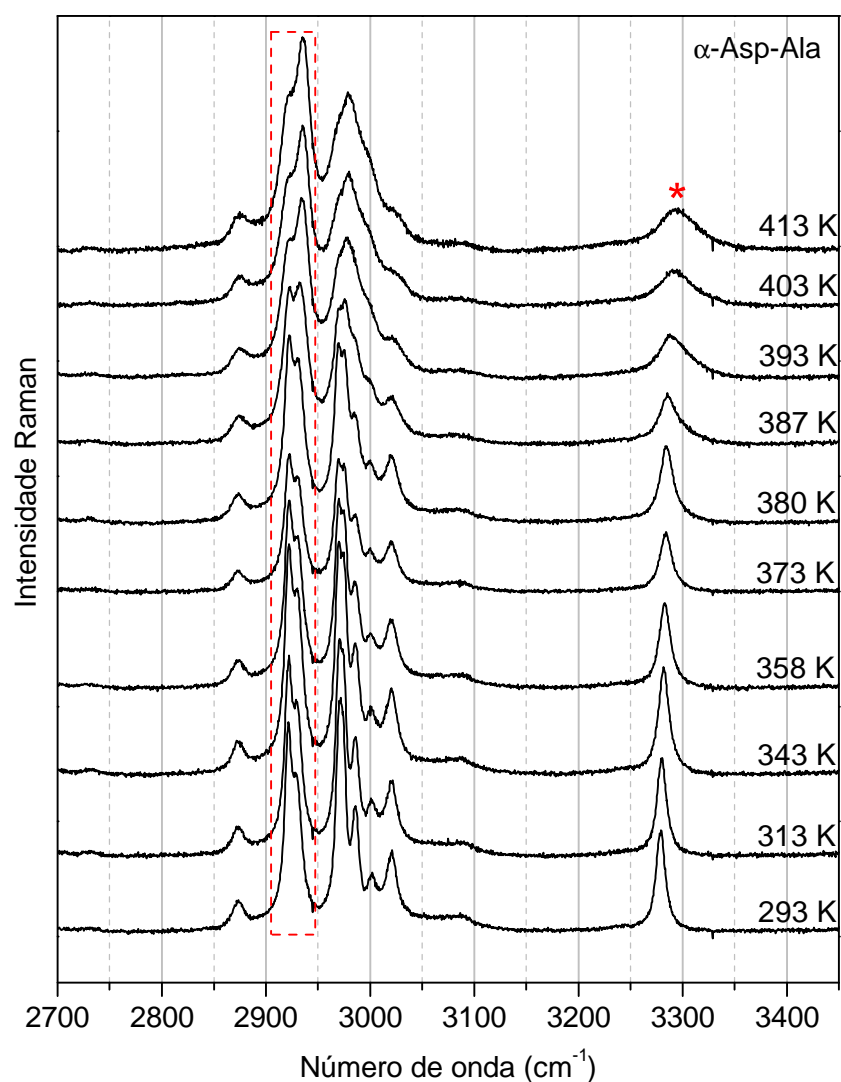


Figura 54 – Espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura (entre 298 e 428 K) na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise da evolução dos espectros com a temperatura, é possível fazer uma série de observações:

(i) As duas bandas com evolução tracejada na Figura 54, localizadas em 2920 e 2929  $\text{cm}^{-1}$ , possuem sua relação de intensidades alteradas para temperaturas acima de 387 K. Além disso, é possível notar que ocorre um alargamento destas bandas para  $T \geq 387$  K;

(ii) As bandas observadas entre 2950 e 3050  $\text{cm}^{-1}$ , apresentam um alargamento significativo para  $T \geq 393$  K;



(iii) Para temperaturas acima de 380 K, observa-se uma assimetria na banda localizada inicialmente em  $3278\text{ cm}^{-1}$ , relativo ao estiramento NH pertencente à amida,  $\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$ . Desta forma, é possível afirmar a existência de uma segunda banda com número de onda próximo à primeira.

As bandas que trocam intensidade sob condições de altas temperaturas estão associadas exatamente à vibrações da unidade  $\text{CH}_2$ . Desta maneira é possível inferir que entre 293 e 413 K, além da transição de fase que envolve modificações nas ligações de hidrogênio conforme discussão anterior, também há uma mudança de conformação das moléculas na célula unitária do  $\alpha$ -Asp-Ala.

A Figura 55 apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais em função da temperatura para o intervalo espectral entre  $2700$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes obtidos do ajuste linear para as duas fases estão listados na Tabela 9. Um modo (localizado inicialmente em  $3086\text{ cm}^{-1}$ ) não pode ser exibido na Figura 55 para todos os valores de temperatura devido à sua baixa intensidade.

Da análise da Figura 55 e dos coeficientes obtidos, é possível observar que duas bandas (posicionadas em  $2985$  e  $3020\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente) apresentam modificações na sua evolução com a temperatura, ou seja, o coeficiente  $\alpha$  nas diferentes fases apresentam sinais distintos, o que indica que o modo vibracional se desloca com a temperatura em sentidos contrários nas diferentes fases.

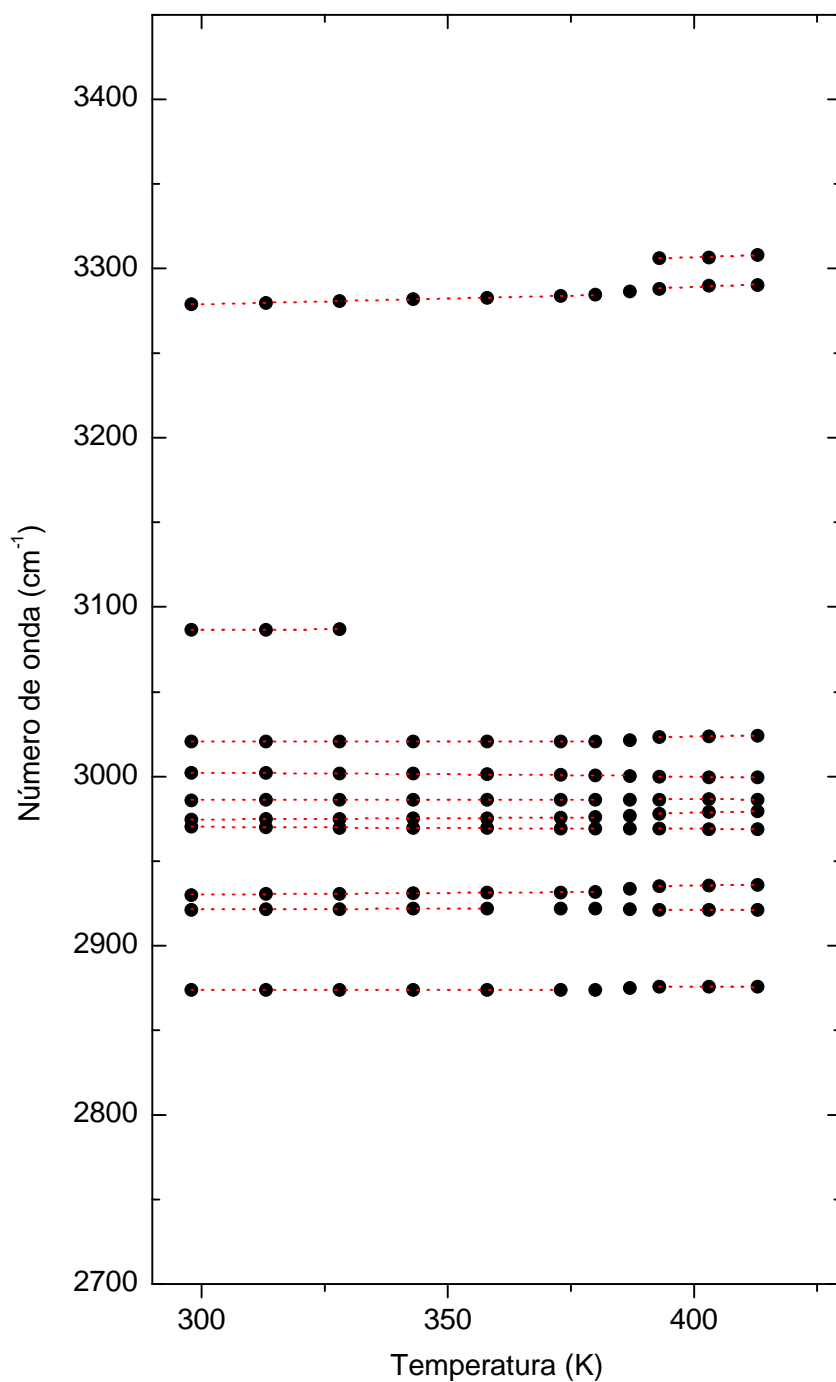


Figura 55 – Gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste linear para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala observados entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ .

Tabela 9 – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 298 e 428 K.

$\omega$ (T = 298 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fase 1		Fase 2		$\Delta$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Classificação tentativa
	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )		
40	40,6	$1,7 \cdot 10^{-3}$	48,8	$-2,0 \cdot 10^{-2}$	0,0	Rede
46	52,7	$-1,7 \cdot 10^{-2}$	56,8	$-2,5 \cdot 10^{-2}$	1,0	Rede
58	65,3	$-1,7 \cdot 10^{-2}$				Rede
71	70,3	$4,4 \cdot 10^{-3}$	65,9	$1,2 \cdot 10^{-2}$	-1,6	Rede
88	101,5	$-4,0 \cdot 10^{-2}$				Rede
	97,8	$-1,8 \cdot 10^{-2}$				
96	103,7	$-1,8 \cdot 10^{-2}$				Rede
109	121,2	$-3,5 \cdot 10^{-2}$				Rede
122	124,9	$-6,9 \cdot 10^{-3}$				Rede
128	132,0	$-1,2 \cdot 10^{-2}$				Rede
147	154,8	$-3,7 \cdot 10^{-2}$	167,4	$-7,0 \cdot 10^{-2}$	2,6	Rede
156	154,0	$-1,5 \cdot 10^{-2}$				Rede
182	184,7	$-4,6 \cdot 10^{-3}$	176,9	$1,9 \cdot 10^{-2}$	1,2	$\tau(\text{CO}_2^-)$
223	214,2	$1,7 \cdot 10^{-2}$				$\delta(\text{esq})$
227	228,5	$5,5 \cdot 10^{-3}$	265,8	$-8,6 \cdot 10^{-1}$	-0,5	$\delta(\text{esq})$
265	269,7	$-1,0 \cdot 10^{-2}$	280,4	$-4,1 \cdot 10^{-2}$	-1,5	$\delta(\text{CCNC})$
325	327,2	$-2,9 \cdot 10^{-3}$				
361	363,9	$-5,5 \cdot 10^{-3}$				$\delta(\text{esq})$
400	402,3	$-4,4 \cdot 10^{-3}$				$\delta(\text{esq})$
409	412,4	$-9,6 \cdot 10^{-3}$				$\tau(\text{NH}_3^+)$
435	437,8	$-3,7 \cdot 10^{-3}$	414,1	$7,2 \cdot 10^{-2}$	5,5	
525	528,7	$-7,6 \cdot 10^{-3}$	495,3	$8,0 \cdot 10^{-2}$	-1,1	$r(\text{CO}_2^-)$
570	577,0	$-1,9 \cdot 10^{-2}$				$\delta(\text{CO}_2^-)$
600	600,6	$-6,4 \cdot 10^{-4}$	601,9	$-4,0 \cdot 10^{-3}$	0,2	$\delta(\text{CO}_2^-)$
686	693,0	$-2,2 \cdot 10^{-2}$				$\omega(\text{CO}_2^-)$
745	745,8	$3,3 \cdot 10^{-3}$				
770	770,5	$-2,8 \cdot 10^{-3}$				$\delta(\text{CO}_2^-)$

Tabela 9 (continuação) – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 298 e 428 K.

$\omega$ (T = 298 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fase 1		Fase 2		$\Delta$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Classificação tentativa
	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )		
779	785,9	$-1,7 \cdot 10^{-2}$				$\delta(\text{CO}_2^-)$
792	805,0	$-3,4 \cdot 10^{-2}$				
844	849,8	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	858,7	$-4,4 \cdot 10^{-2}$	-2,0	
880	884,2	$-9,3 \cdot 10^{-3}$	882,8	$-1,8 \cdot 10^{-3}$	1,4	r(CH <sub>2</sub> )
928	930,7	$-6,8 \cdot 10^{-3}$	931,2	$-7,6 \cdot 10^{-3}$	0,3	$\delta_{\text{op}}(\text{COH})$
945	951,2	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	949,5	$-1,3 \cdot 10^{-2}$	-0,9	
1003	1014,3	$-3,4 \cdot 10^{-2}$	1010,7	$-4,4 \cdot 10^{-2}$	-8,1	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$
1054	1055,2	$-1,9 \cdot 10^{-3}$	1064,1	$-2,7 \cdot 10^{-2}$	-0,9	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$
1074	1085,2	$-3,1 \cdot 10^{-2}$	1119,5	$-1,2 \cdot 10^{-1}$	-0,3	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CN})$
1108	1113,7	$-1,6 \cdot 10^{-2}$	1101,5	$1,9 \cdot 10^{-2}$	1,4	$\nu_a(\text{CCN})$
1122	1125,8	$-8,4 \cdot 10^{-3}$	1115,6	$2,3 \cdot 10^{-2}$	1,8	
1158	1169,0	$-3,1 \cdot 10^{-2}$				r(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
1222	1225,7	$-7,4 \cdot 10^{-3}$	1223,3	$1,4 \cdot 10^{-2}$	5,5	tw(CH <sub>2</sub> )
1250	1252,7	$-6,5 \cdot 10^{-3}$	1256,7	$-9,5 \cdot 10^{-3}$	2,8	$\nu(\text{C-O})$
1278	1282,0	$-8,8 \cdot 10^{-3}$	1273,3	$1,8 \cdot 10^{-2}$	1,5	$\omega(\text{CH}_2)$
1305	1307,7	$-5,8 \cdot 10^{-3}$				
1331	1334,2	$-5,5 \cdot 10^{-3}$				$\delta(\text{CH})$
1359	1367,9	$-2,5 \cdot 10^{-2}$	1371,1	$-4,8 \cdot 10^{-2}$	-6,2	$\delta(\text{CH})$
1404	1410,6	$-1,9 \cdot 10^{-2}$	1422,5	$-4,9 \cdot 10^{-2}$	-0,1	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$
1423	1430,9	$-2,1 \cdot 10^{-2}$	1421,0	$-5,0 \cdot 10^{-3}$	-4,0	$\delta_{\text{ip}}(\text{COH})$
1447	1448,2	$-2,9 \cdot 10^{-4}$	1447,2	$7,1 \cdot 10^{-3}$	0,1	$\delta_a(\text{CH}_3)$
1495	1495,0	$3,2 \cdot 10^{-3}$				$\delta_s(\text{NH}_3^+)$
1564	1575,5	$-3,6 \cdot 10^{-2}$	1558,0	$1,2 \cdot 10^{-2}$	0,7	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
1592	1596,3	$-6,7 \cdot 10^{-3}$				$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
1630	1643,7	$-4,2 \cdot 10^{-2}$				$\nu_a(\text{CO}_2^-)$
1652	1651,2	$6,6 \cdot 10^{-3}$	1630,9	$7,3 \cdot 10^{-2}$	5,7	$\nu(\text{C=O})$
2873	2874,3	$-1,3 \cdot 10^{-3}$	2879,4	$-9,4 \cdot 10^{-3}$		$\nu_s(\text{CH}_3)$

Tabela 9 (continuação) – Coeficientes do ajuste linear ( $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ ) para os modos Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala pertencentes a região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 298 e 428 K.

$\omega$ (T = 298 K) ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fase 1		Fase 2		$\Delta$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Classificação tentativa
	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )		
2920	2918,4	$9,8 \cdot 10^{-3}$	2919,2	$4,4 \cdot 10^{-3}$	-2,7	
2929	2924,2	$2,0 \cdot 10^{-2}$	2919,5	$4,0 \cdot 10^{-2}$	2,2	$\nu_a(\text{CH}_2)$
2971	2974,2	$-1,4 \cdot 10^{-2}$	2980,7	$-2,9 \cdot 10^{-2}$	0,4	$\nu_a(\text{CH}_3)$
	2970,1	$1,5 \cdot 10^{-2}$	2952,5	$6,5 \cdot 10^{-2}$	1,8	
2985	2985,4	$2,3 \cdot 10^{-3}$	2987,0	$-1,3 \cdot 10^{-3}$	0,3	$\nu_a(\text{CH}_3)$
3000	3008,2	$-2,0 \cdot 10^{-2}$	3010,8	$-2,8 \cdot 10^{-2}$	-0,3	$\nu_s(\text{NH}_3^+)$
3020	3020,7	$-2,3 \cdot 10^{-4}$	3004,1	$4,9 \cdot 10^{-2}$	2,5	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$
3086	3081,8	$1,5 \cdot 10^{-2}$				$\nu_a(\text{NH}_3^+)$
3278	3258,3	$6,8 \cdot 10^{-2}$	3243,7	$1,1 \cdot 10^{-1}$	-1,7	$\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$
			3270,6	$9,0 \cdot 10^{-2}$		

## 7.2 Espectroscopia de infravermelho

Foram realizados experimentos de espectroscopia de infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-IR) na região espectral entre 470 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 293 e 413 K.

Em seguida, para a análise dos dados, foi utilizado o método Análise das Componentes Principais (PCA, do inglês). Para facilitar a análise espectral, o espectro foi dividido em três regiões.

### i. Região espectral entre 470 e 1200 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 56 apresenta os espectros de infravermelho para a região espectral entre 470 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 293 e 413 K em um experimento em que a amostra era aquecida.

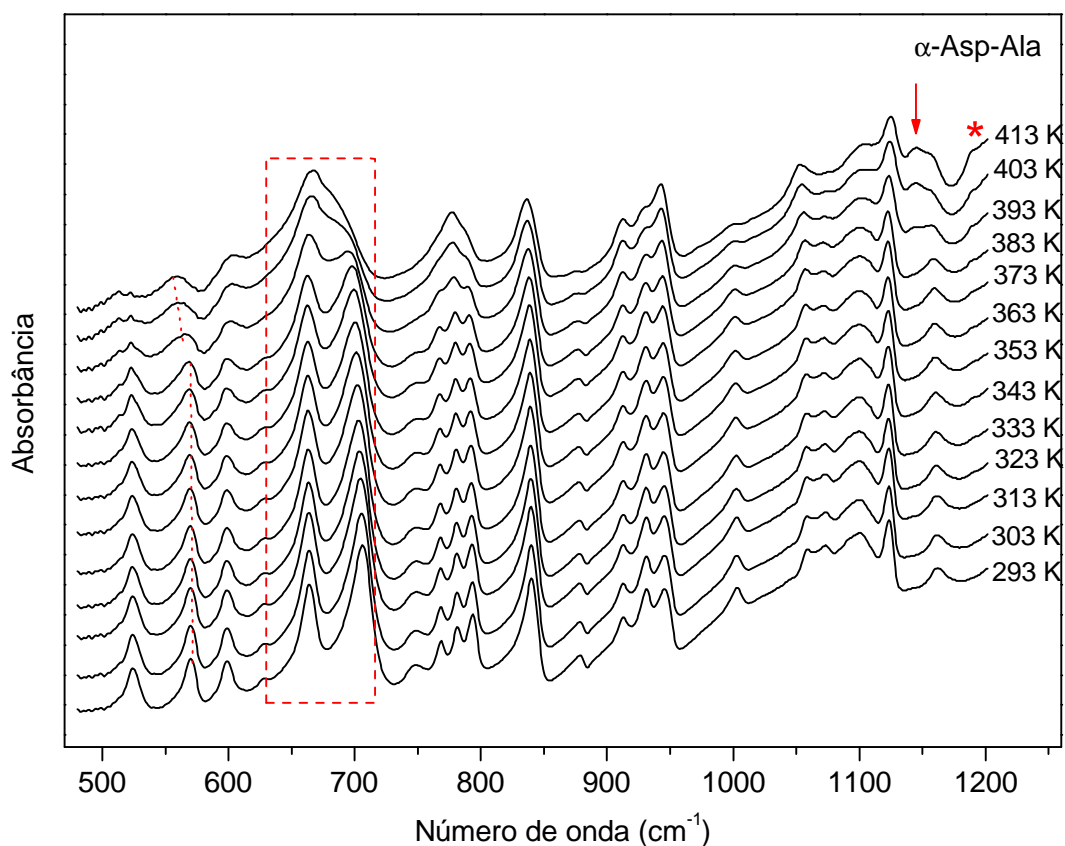


Figura 56 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 470 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise dos espectros, é possível perceber:

(i) O alargamento de algumas bandas para valores de temperatura maiores do que 393 K;

(ii) A banda posicionada em  $569\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, que corresponde a uma deformação da unidade  $\text{CO}_2^-$ , e na Figura 56 tem sua evolução marcada por uma reta tracejada, possui uma alteração na evolução do seu número de onda com a temperatura para  $T > 383\text{ K}$ ;

(iii) As bandas localizadas em  $664$  e  $704\text{ cm}^{-1}$  à temperatura ambiente, que estão com a sua evolução tracejada, apresentam uma inversão de intensidades além do alargamento já citado para  $T > 383\text{ K}$ ;

(iv) O aparecimento de uma banda (marcada por uma seta) em  $1144\text{ cm}^{-1}$  para valores de temperatura acima de 383 K;

(v) O aparecimento de uma banda em  $1194\text{ cm}^{-1}$  (marcada por uma estrela) para  $T > 383\text{ K}$ .

Da análise PCA, temos que a variância explicada pelas primeiras componentes principais é exibida na Figura 57. Desta figura, temos que 92 % da variância explicada está relacionada apenas com a primeira componente principal, enquanto que 7 % corresponde à segunda componente principal.

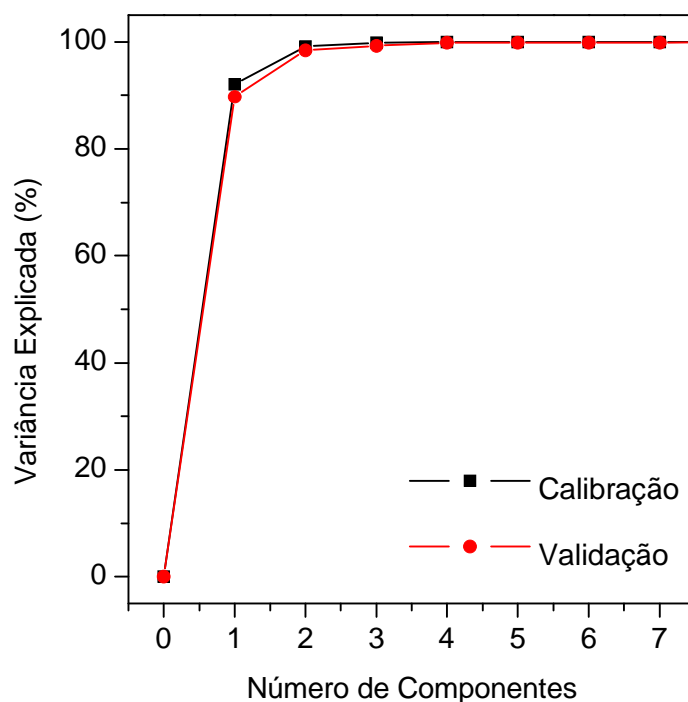


Figura 57 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

A Figura 58 exibe os resultados obtidos da análise PCA para os pesos das duas primeiras componentes principais. Nesta figura é possível perceber uma alteração na evolução dos pesos das duas primeiras componentes. A região em que ocorre essa alteração está marcada por um retângulo tracejado. Esta alteração é um indicício de que o material apresenta uma transição de fase entre 378 e 383 K.

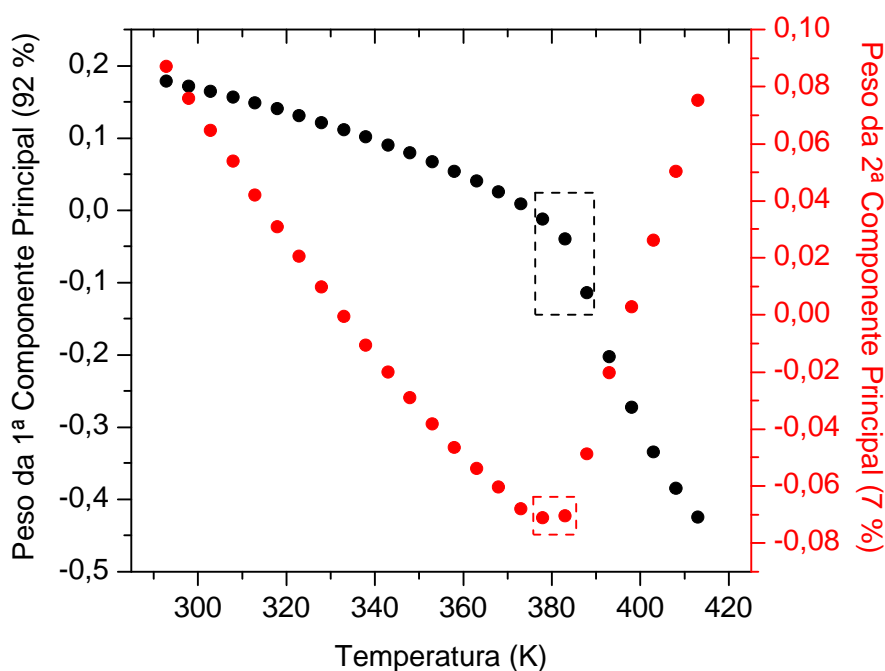


Figura 58 – Peso da duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala.

Apesar de a segunda componente principal corresponder apenas a 7 % da variância explicada do conjunto de dados, a ocorrência da transição de fase citada anteriormente aparece de forma mais evidente. A alteração do comportamento do peso desta componente com a variação da temperatura aparece de forma clara, indicando que a transição de fase ocorre entre 377 e 383 K.

O espectro médio de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala e as componentes principais obtidas da análise PCA são mostrados na Figura 59. Da primeira componente principal exibida na Figura 59(b), é possível afirmar que as principais alterações nos espectros devido à variação da temperatura estão localizadas em torno de 676 e 705  $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem exatamente às duas bandas que têm sua evolução tracejada na Figura 56.



Na Figura 59(c) temos a segunda componente principal obtida da análise PCA. As principais contribuições da segunda componente principal na modificação do espectro com a alteração da temperatura ocorrem em torno de 696 e 710  $\text{cm}^{-1}$ , que também corresponde às alterações das bandas que têm sua evolução tracejada na Figura 56.

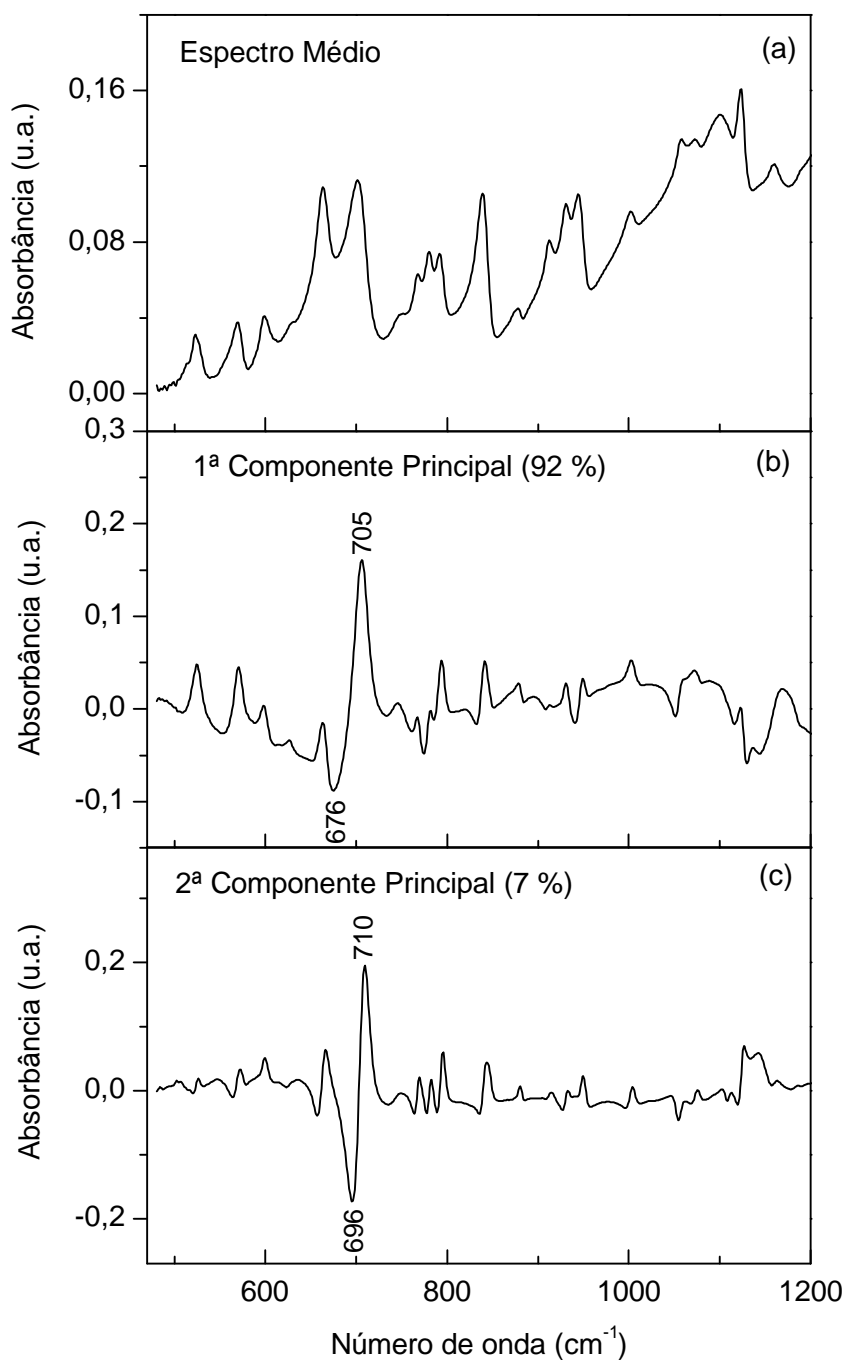


Figura 59 – (a) Espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal.

## ii. Região espectral entre 1200 e 1800 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 60 apresenta os espectros de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala para a região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$  para valores de temperatura entre 293 e 413 K.

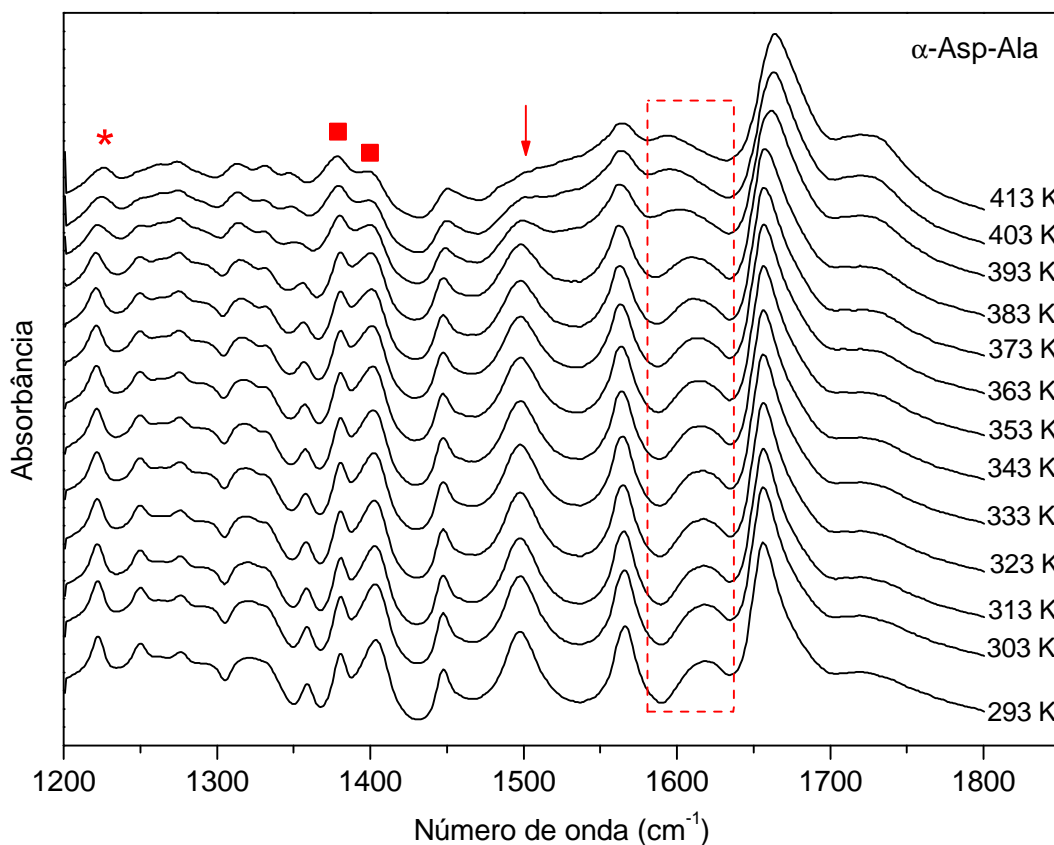


Figura 60 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 1200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise espectral, é possível notar algumas pequenas modificações:

(i) A banda localizada inicialmente em 1221  $\text{cm}^{-1}$  (marcada por uma estrela), que corresponde a vibração do tipo *twisting* da unidade  $\text{CH}_2$ ,  $\text{tw}(\text{CH}_2)$ , sofre um alargamento para  $T > 383$  K;

(ii) As duas bandas marcadas na figura por um quadrado têm suas relações de intensidades alteradas para  $T > 383$  K;

(iii) A banda marcada por uma seta, que está relacionada com a deformação assimétrica da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\delta_a(\text{NH}_3^+)$ , tem sua intensidade reduzida e sua largura de linha aumentada para  $T > 383$  K;

(iv) A banda associada ao estiramento assimétrico da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\nu(\text{CO}_2^-)$ , que tem sua evolução tracejada na figura, apresenta um deslocamento para menores números de onda para  $T > 383 \text{ K}$ .

Da análise PCA, temos que a variância explicada pelas primeiras componentes principais é exibida na Figura 61. Desta figura, temos que 94 % da variância explicada está relacionada apenas com a primeira componente principal, enquanto que 5 % corresponde à segunda componente principal.

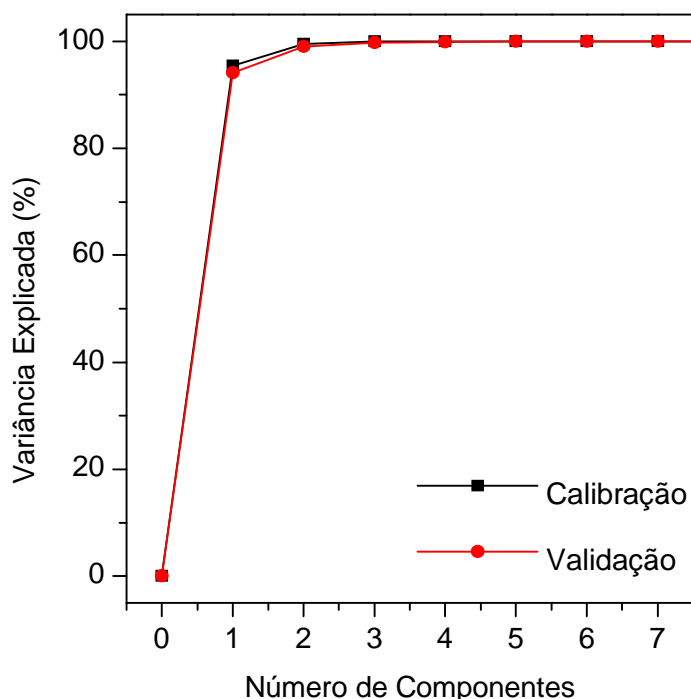


Figura 61 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

A Figura 62 exibe os resultados obtidos da análise PCA para os pesos das duas primeiras componentes principais. Nesta figura é possível perceber uma alteração na evolução do peso em função da temperatura. A região em que ocorre essa alteração está marcada por retângulos tracejados. Esta alteração corrobora com o resultado obtido para o intervalo espectral de  $470$  a  $1200 \text{ cm}^{-1}$ , indicando que o material apresenta uma transição de fase entre  $373$  e  $383 \text{ K}$ .

O espectro de infravermelho médio do  $\alpha\text{-Asp-Ala}$  e as componentes principais obtidas da análise PCA são mostrados na Figura 63. Da primeira componente principal exibida na Figura 63(b), é possível afirmar que as principais alterações nos espectros devido à variação da temperatura estão localizadas em torno de  $1543$ ,  $1590$  e

1690  $\text{cm}^{-1}$  (na porção positiva) e em 1405, 1496 e 1652  $\text{cm}^{-1}$  (na porção negativa). O pico localizado em 1405  $\text{cm}^{-1}$  na primeira componente principal está associado a mudanças na intensidade da banda relativa ao estiramento assimétrico da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\nu_a(\text{CO}_2^-)$ . As modificações localizadas em 1496  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao alargamento da banda (marcada por uma seta) que corresponde a uma deformação simétrica da unidade  $\text{NH}_3^+$ , enquanto que as modificações localizadas em 1652  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à alteração na forma da banda relacionada ao estiramento C-O,  $\nu(\text{C-O})$ .

Na Figura 63(c), temos que as principais contribuições da segunda componente principal nas modificações dos espectros com a alteração da temperatura ocorrem em torno de 1557  $\text{cm}^{-1}$  (na porção positiva) e em 1410 e 1570  $\text{cm}^{-1}$  (na porção negativa). O pico localizado em 1410  $\text{cm}^{-1}$  na segunda componente principal corresponde à alteração nas intensidades das bandas marcadas por um quadrado na Figura 60. É importante ressaltar que estas bandas estão relacionadas com as unidades  $\text{CO}_2^-$  e  $\text{NH}_3^+$ .

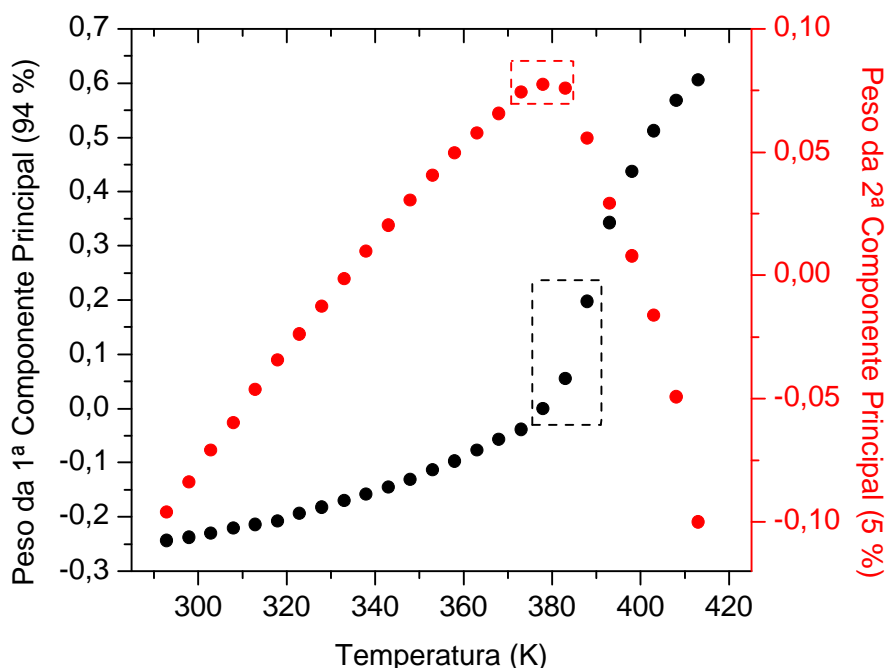


Figura 62 – Peso da duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala.

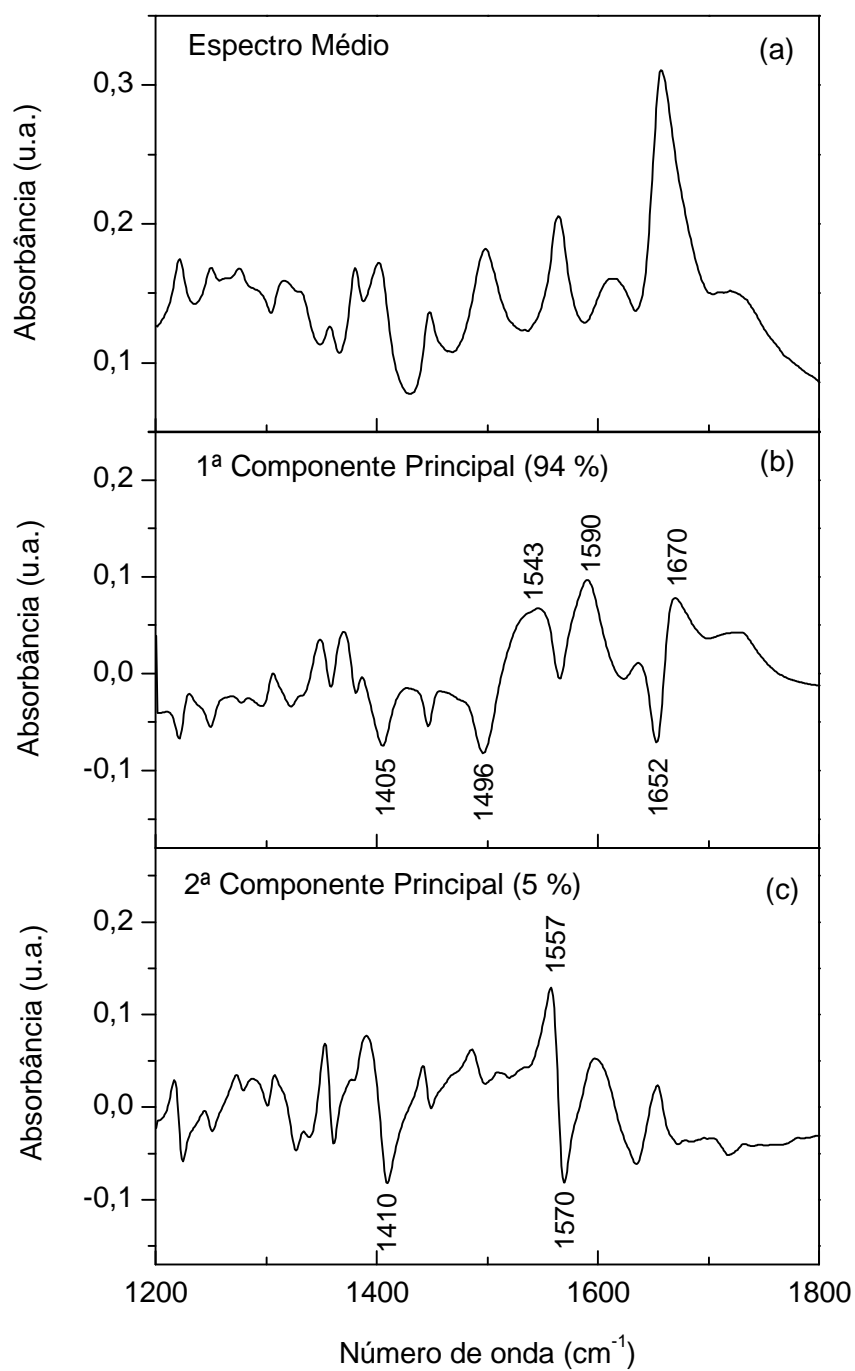


Figura 63 – (a) Espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal.

### iii. Região espectral entre 2700 e 3450 $\text{cm}^{-1}$

A Figura 64 apresenta os espectros de infravermelho para a região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 293 e 413 K.

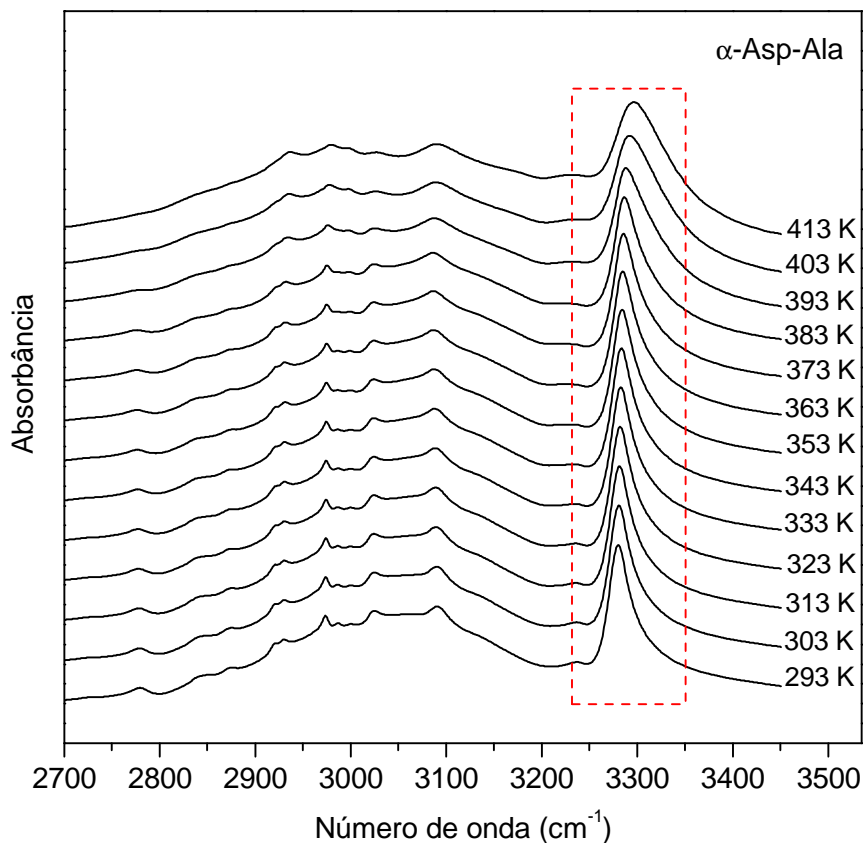


Figura 64 – Espectros de infravermelho do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 2700 e 3450  $\text{cm}^{-1}$ .

Da análise dos espectros contidos na Figura 64, nota-se que as bandas ficam mais largas com o aumento da temperatura. Deste resultado, também é possível perceber que, com o aumento da temperatura, as maiores modificações estão relacionadas com o alargamento da banda localizada em 3278  $\text{cm}^{-1}$ , que está relacionada com o estiramento NH pertencente à amida,  $\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$ .

Da análise PCA, temos que a variância explicada pelas primeiras componentes principais é exibida na Figura 65. Neste caso, temos que 91 % da variância explicada está relacionada apenas com a primeira componente principal, enquanto que 8 % corresponde à segunda componente principal.

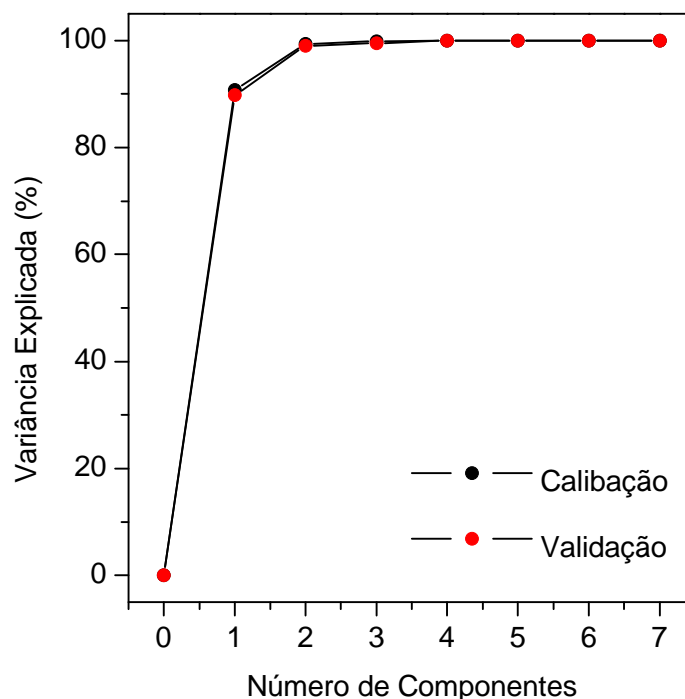


Figura 65 – Variância explicada (percentual) pelas primeiras componentes principais.

A Figura 66 exibe os resultados obtidos da análise PCA para os pesos das duas primeiras componentes principais. Neste resultado é possível perceber uma alteração na evolução do peso em função da temperatura. A região em que ocorre essa alteração está marcada por um retângulo tracejado. Esta alteração está em concordância com o resultado obtido para os intervalos espectrais anteriores ( $470$  a  $1800\text{ cm}^{-1}$ ), confirmando que o material apresenta uma transição de fase entre  $373$  e  $383\text{ K}$ .

O espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala e as componentes principais obtidas da análise PCA são mostrados na Figura 67. Das duas principais componentes obtidas da análise PCA (Figura 67(b-c)), é possível afirmar que as principais alterações nos espectros devido a variação da temperatura estão localizadas em torno de  $3278$  e  $3308\text{ cm}^{-1}$  na primeira componente principal e em  $3273$  e  $3288\text{ cm}^{-1}$ . Temos que as principais contribuições das componentes principais para as modificações nos espectros estão relacionadas com a banda do estiramento do NH,  $\nu_{\text{amida}}(\text{NH})$ , que está localizada em  $3278\text{ cm}^{-1}$ .

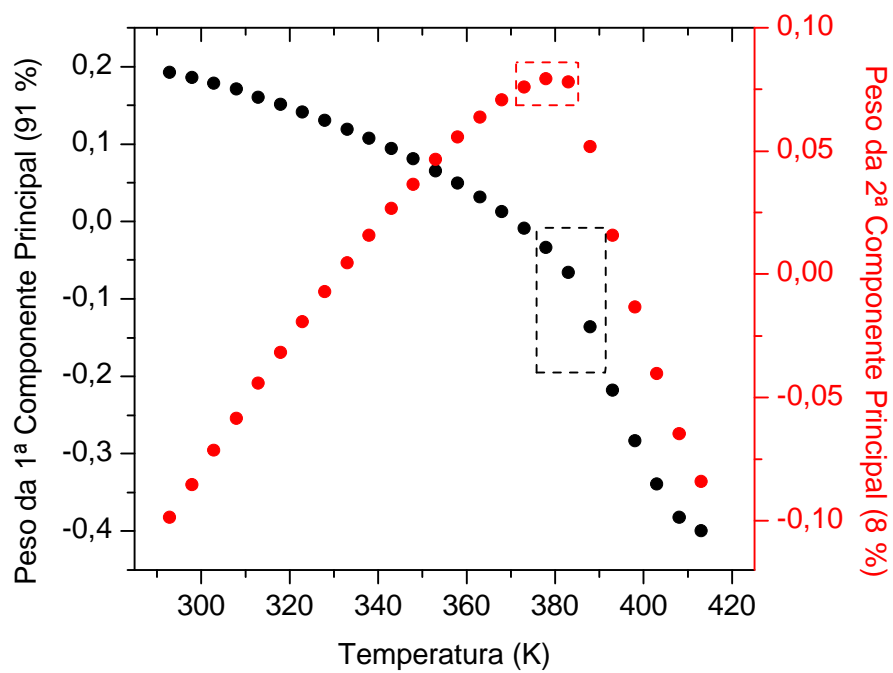


Figura 66 – Peso das duas primeiras componentes principais em função da temperatura no espectro de infravermelho do  $\alpha$ -Asp-Ala.



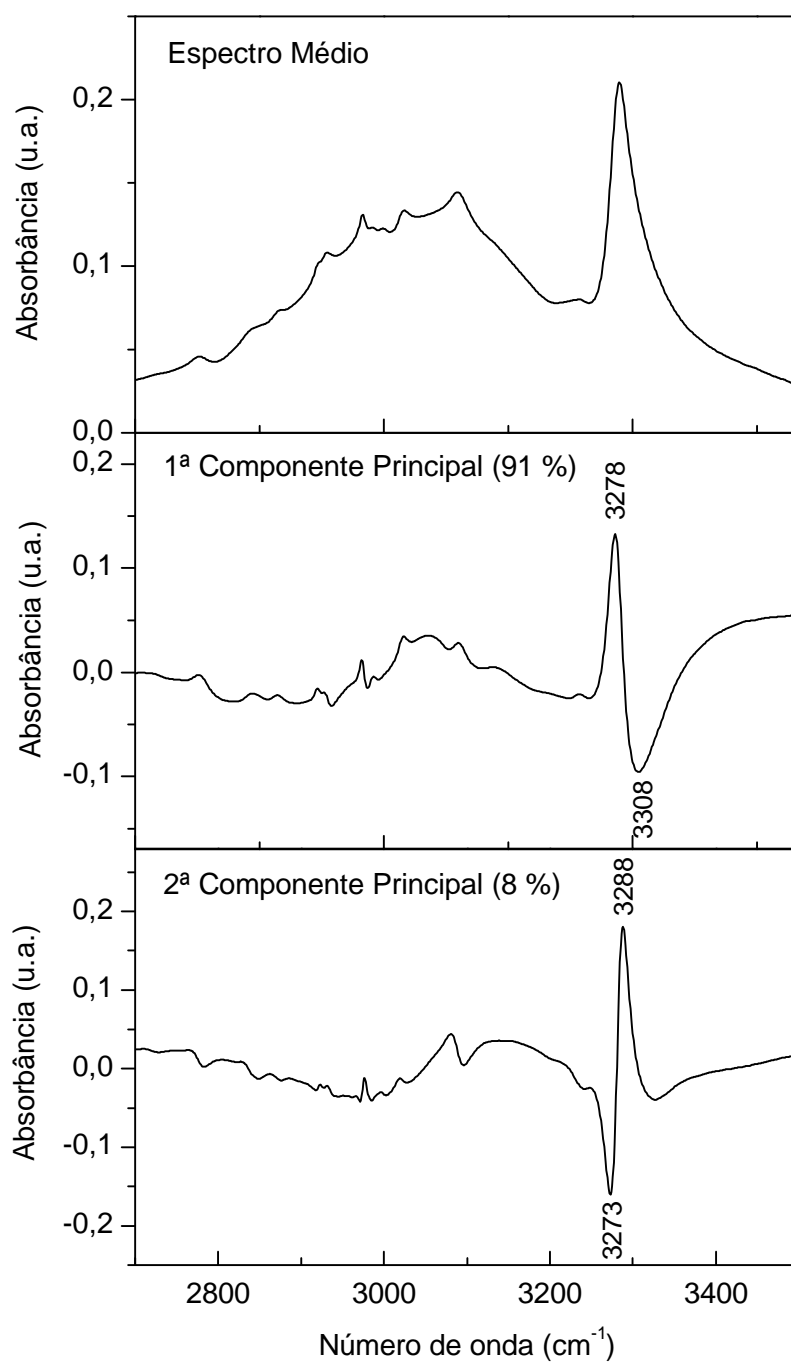


Figura 67 – (a) Espectro de infravermelho médio do  $\alpha$ -Asp-Ala; (b) Primeira componente principal; (c) Segunda componente principal.

### 7.3 Conclusões

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala na região espectral entre 20 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 293 e 413 K. Com o aumento da temperatura, pode-se observar diversas mudanças nos espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em todas as regiões do espectro, incluindo o alargamento das bandas relativas às vibrações externas do cristal e mudanças no comportamento do número de onda das unidades que participam diretamente das pontes de hidrogênio ( $\text{CO}_2^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{NH}$ ). As mudanças observadas fornecem indícios de que o cristal sofra uma transição de fase entre 373 e 387 K.

Experimentos de espectroscopia de infravermelho foram realizados no intervalo espectral entre 470 e 3450  $\text{cm}^{-1}$  para diferentes valores de temperatura entre 293 e 413 K. Da análise dos resultados obtidos, é possível afirmar que o espectro apresenta diversas mudanças para valores de temperatura superiores a 373 K. Utilizando a técnica Análise da Componente Principal (PCA), foi possível observar indícios de que o cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala sofre uma transição de fase entre 373 e 383 K, ou seja, no mesmo intervalo de temperatura indicado pelos dados da espectroscopia Raman. Esta transição envolve modificações nas ligações de hidrogênio, possivelmente a ruptura de pelo menos uma delas, além de mudança na conformação da molécula como um todo. Um tipo similar de transição de fase - envolvendo tanto fortes mudanças nas ligações de hidrogênio quanto modificações conformacionais - já foi verificado na L-asparagina monohidratada: (i) em altas temperaturas (em torno de 363 K) [72] e (ii) em altas pressões (na transição de fase que ocorre em 9,9 GPa) [73].

No que diz respeito às modificações nas ligações de hidrogênio no  $\alpha$ -Asp-Ala lembramos (ver Tabela 9) que existem diferentes tipos como -O-H...O, -N-H...O e -C-H...O. Quando, a partir dos espectros Raman, se sugere que esteja havendo uma ruptura de uma das ligações de hidrogênio a altas temperaturas, imagina-se que esta seja uma ligação do tipo -N-H...O, uma vez que se observa o número de onda do modo associado à torção da unidade  $\text{NH}_3^+$ ,  $\tau(\text{NH}_3^+)$ . Das ligações -N-H...O pode-se imaginar que as primeiras a se romperem são aquelas nas quais o comprimento da ligação de hidrogênio são 2,893 ou 2,885 Å, que são as mais longas entre elas. Mas quando se comparam essas dimensões com C...O das ligações -C-H...O, que valem 3,311 e 3,289 Å, percebe-se que estas últimas são bem maiores. Assim, quando da possível ruptura da ligação de hidrogênio -N-H...O durante a transição de fase, é provável que também

ocorra a ruptura concomitante das ligações -C-H...O. Entretanto, experimentos de difração de raios-X em trabalhos futuros serão necessários para confirmar esta hipótese.

# Capítulo 8 – Conclusões e Perspectivas

---

## 8.1 Conclusões

Nesta Tese foram estudados com detalhes as propriedades vibracionais do dipeptídeo  $\alpha$ -L-aspartil-L-alanina ( $\alpha$ -Asp-Ala) em diferentes temperaturas. No cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala foram realizados experimentos de análise térmica (análise termogravimétrica e calorimetria diferencial de varredura) e de espectroscopia vibracional (Raman e de infravermelho). Os experimentos de análise térmica foram realizados no intervalo de temperatura de 150 a 623 K. Os experimentos de espectroscopia Raman foram realizados na região espectral entre 20 e 3400  $\text{cm}^{-1}$  e no intervalo de temperatura entre 18 e 413 K. Os espectros de infravermelho foram obtidos para diferentes valores de temperatura entre 83 e 413 K na região espectral 400-3450  $\text{cm}^{-1}$ .

Dos espectros vibracionais (Raman e de infravermelho) à temperatura ambiente, uma classificação tentativa dos modos vibracionais (ou de parte deles) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala foi realizada baseando-se em trabalhos de espectroscopia em aminoácidos e/ou peptídeos.

Da análise dos resultados a baixas temperaturas (18 a 293 K) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala, foi possível concluir que:

(i) A calorimetria diferencial de varredura (DSC, do inglês) não apresentou nenhum indício de uma transição de fase sofrida pelo cristal no intervalo de temperatura entre 150 e 300 K;

(ii) Parte dos modos vibracionais das unidades que participam diretamente das ligações de hidrogênio ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{CO}_2^-$  e NH) apresentaram dependência exponencial com a temperatura;

(iii) Não foram observadas mudanças significativas nos espectros vibracionais, de modo que é possível inferir que a estrutura do cristal permanece estável neste intervalo de temperatura;

(iv) O aparecimento de algumas bandas associadas com os modos internos é explicado pelo efeito de redução da temperatura ou por uma possível conformação molecular do  $\alpha$ -Asp-Ala na célula unitária.

Dos resultados obtidos em baixas temperaturas (298 a 623 K) do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala, foi possível concluir que:

(i) Baseado na calorimetria diferencial de varredura (DSC), o cristal sofre uma transição de fase reversível de primeira ordem (tipo ordem-desordem) em 376 K;

(ii) Com o aumento da temperatura, pode-se observar diversas mudanças nos espectros Raman do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala em todas as regiões do espectro, incluindo o alargamento das bandas relativas às vibrações externas do cristal e mudanças no comportamento do número de onda das unidades que participam diretamente das pontes de hidrogênio ( $\text{CO}_2^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{NH}$ );

(iii) No espectro de infravermelho foram observadas mudanças em todas as regiões do espectro. Da análise de componentes principais pode-se confirmar que o cristal sofre uma transição de fase entre 373 e 383 K, confirmando os resultados obtidos utilizando espectroscopia Raman e DSC;

(iv) A transição de fase sofrida pelo cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala (em torno de 373 K) envolve modificações nas ligações de hidrogênio, possivelmente a ruptura de pelo menos uma delas, além de mudança na conformação da molécula como um todo.

## 8.2 Perspectivas

Como perspectivas de trabalhos futuros sugere-se:

(i) Obter o monocristal de  $\alpha$ -Asp-Ala e realizar experimentos de espectroscopia Raman polarizado a fim de se obter mais detalhes sobre as modificações que ocorrem na estrutura cristalina na transição de fase observada;

(ii) Realizar experimentos de espectroscopia de infravermelho na região espectral entre 30 e 400  $\text{cm}^{-1}$  em função da temperatura;

(iii) Realizar experimentos de difração de raios-x em função da temperatura no monocristal de  $\alpha$ -Asp-Ala com o objetivo de obter a estrutura cristalina na fase de altas temperaturas;

(iv) Realizar experimentos de difração de raios-x a baixas temperaturas com o objetivo de confirmar a estabilidade do cristal estudado;

(v) Realizar cálculos computacionais (*ab initio*) para calcular o número de onda dos modos normais de vibração do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala e confirmar a identificação dos modos sugeridos no presente trabalho;

(vi) Estudar a estabilidade do cristal de  $\alpha$ -Asp-Ala submetidos a altas pressões hidrostáticas através de espectroscopia Raman.

# Apêndice A - Análise de Componentes Principais

---

## A.1 Introdução

A Quimiometria é a área da Química que utiliza ferramentas estatísticas e matemáticas a fim de extrair informações sobre o estado (ou fases) do sistema de um conjunto de dados multivariados. Em um conjunto de dados multivariados, é possível analisar mais de uma variável simultaneamente e identificar a correlação entre essas variáveis [74]. Este tipo de análise permite um entendimento mais completo e sistematizado dos resultados analíticos.

A Quimiometria possui diversas subáreas, eis alguns exemplos:

(i) Planejamento de experimentos - Nesta subárea procura-se quais as variáveis que mais afetam um determinado processo;

(ii) Reconhecimento de padrões - A partir de um conjunto de dados (espectrais, por exemplo) sobre uma série de amostras, é possível encontrar agrupamentos de amostras que são similares entre si;

(iii) Calibração multivariada - busca-se estabelecer um modelo que relacione uma série de dados (espectrais, por exemplo) com uma determinada propriedade (temperatura, no caso deste trabalho).

Na literatura é possível encontrar diversos experimentos didáticos em calibração multivariada [75–77], reconhecimento de padrões [78,79] e planejamento de experimentos [80].

A análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA) é um dos métodos mais importantes utilizados na Quimiometria e é a base para diversos métodos de reconhecimento de padrões, classificação e calibração multivariada. Normalmente, a PCA (também chamada de Transformada Discreta de Karhunen-Loève, KLT) é utilizada com o objetivo de visualizar a estrutura dos dados, encontrar similaridades entre amostras, detectar amostras anômalas e reduzir a dimensionalidade

do conjunto de dados [81]. Ela transforma variáveis discretas em coeficientes descorrelacionados. Este método permite a redução da dimensionalidade através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados componentes principais (CP), permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões.

Diversos softwares quimiométricos e ambientes computacionais estão disponíveis no mercado, dentre eles pode-se destacar o Matlab, Minitab, Pirouette, SIMCA-P+ e o Unscrambler, além de ambientes baseados em *software* livre como o Octave e o R [74].

## A.2 Descrição Matemática da PCA

Para descrever matematicamente o método PCA, faremos a seguinte suposição de dados: um conjunto de  $n$  espectros em diferentes temperaturas (com cada espectro contendo um número  $m$  de comprimentos de onda). Essas informações podem ser organizadas em uma matriz de dados  $\mathbf{X}$  de dimensões  $n \times m$ . O método consiste em decompor a matriz  $\mathbf{X}$  de posto  $r$  em um somatório de  $r$  matrizes de posto 1, lembrando que o posto de uma matriz corresponde a sua dimensão.

As novas matrizes de posto 1 podem ser escritas como produtos dos vetores chamados *escores* ( $t_h$ ) e *loadings* ( $p'_h$ ), calculados dois a dois, como na seguinte equação

$$X = t_1 p'_1 + t_2 p'_2 + \dots + t_h p'_h + E = \sum_{i=1}^h t_i p'_i, \quad (8)$$

ou na forma matricial,

$$\begin{aligned} \begin{bmatrix} X \\ n \end{bmatrix}^m &= \begin{bmatrix} t_1 \\ n \end{bmatrix}^1 \begin{bmatrix} p'_1 \\ 1 \end{bmatrix}^m + \begin{bmatrix} t_2 \\ n \end{bmatrix}^1 \begin{bmatrix} p'_2 \\ 1 \end{bmatrix}^m + \\ &+ \dots + \begin{bmatrix} t_r \\ n \end{bmatrix}^1 \begin{bmatrix} p'_r \\ 1 \end{bmatrix}^m + \begin{bmatrix} E \\ n \end{bmatrix}^m. \end{aligned}$$



onde  $\mathbf{E}$  é a matriz de resíduos que contém a fração da informação não descrita pela decomposição. Nesta última forma, temos que a matriz  $\mathbf{X}$  é decomposta em produtos de matrizes escores e *loadings*.

A matriz dos *loadings* determina a relevância das variáveis originais em cada componente principal (CP), onde cada elemento da matriz  $\mathbf{P}$  é matematicamente igual ao cosseno do ângulo entre o eixo de cada variável original e a CP. A matriz de escores representa a disposição das amostras no espaço das CPs, isto é, a projeção dos pontos experimentais nos eixos definidos pelas CPs.

A princípio, espera-se que grande parte da variância explicada por um número pequeno de CPs. A variância explicada (VE) pela componente principal  $d$  (em termos percentuais) pode ser calculada a partir da equação 2:

$$VE(\%) = \frac{1 - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (x_{i,j} - x_{i,d} p_{i,d}^T)^2}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (x_{i,j})^2} \times 100, \quad (9)$$

onde o numerador representa a variância explicada pela CP  $d$  e o denominador a variância total dos dados.

Os passos para calcular as componentes principais são:

(i) Organizar os dados obtidos ( $m$  vetores denominados  $x_i$  com dimensão  $n$ ) na forma matricial;

(ii) Calcular o vetor médio dos dados;

(iii) Subtrair o vetor médio de todos os vetores;

(iv) Calcular a matriz covariância  $\mathbf{C}$  utilizando todas as subtrações. Ela é o resultado da média do produto de cada subtração por ela mesma e terá dimensão  $n \times n$ ;

A matriz covariância será dada por:

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} cov(x_1, x_1) & \cdots & cov(x_m, x_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ cov(x_m, x_1) & \cdots & cov(x_m, x_m) \end{bmatrix},$$

onde os elementos da matriz  $\mathbf{C}$  serão dados por:

$$cov(x_i, x_j) = \frac{\sum_{k=1}^m [(x_{i,k} - \bar{x}_i) \cdot (x_{j,k} - \bar{x}_j)]}{m}.$$

(v) Calcular os autovetores e autovalores da matriz covariância. O autovetor com o maior autovalor associado, corresponde à componente principal do conjunto de

dados usado. Isso significa que essa componente é a mais significativa para a composição dos dados.

(vi) Arranjar os dados na nova matriz onde as linhas são formadas a partir dos autovetores da matriz de covariância arranjados de modo que a primeira linha, o elemento (1,1), seja o autovetor correspondente ao maior autovalor, e assim sucessivamente até que a última linha corresponda ao menor autovalor.

A forma mais comum de representar os resultados obtidos da decomposição em PCA é plotar, entre si um gráfico, os escores e os *loadings* das componentes principais escolhidas, na maioria das vezes criando um gráfico bi ou tridimensional que dispõe as amostras com maior clareza e a exhibe a participação das variáveis naquele padrão observado e identifica os possíveis agrupamentos nos dados.

## Referências Bibliográficas

---

- [1] A. P. Mendham, B. S. Potter, R. A. Palmer, T. J. Dines, J. C. Mitchell, R. Withnall, B. Z. Chowdhry, *Vibrational spectra and crystal structure of the di-amino acid peptide cyclo(L-Met-L-Met): comparison of experimental data and DFT calculations*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 41, p. 148-159, 2009.
- [2] D. A. Horton, G. T. Bourne, M. L. Smythe, *Exploring privileged structures: the combinatorial synthesis of cyclic peptides*, Journal of Computer-Aided Molecular Design, vol. 16, n. 5-6, p.415-431,2002.
- [3] I. L. Rodionov, L. N. Rodionova, L. K. Baidakova, A. M. Romashko, T. A. Balashova, V. T. Ivanov, *Cyclic dipeptides as building blocks for combinatorial libraries. Part 2: Synthesis of bifunctional diketopiperazines*, Tetrahedron, vol. 58, n. 42, p. 8515-8523, 2002.
- [4] S. De Rosa, M. Mitova, G. Tommonaro, *Marine bacteria associated with sponge as source of cyclic peptides*, Biomolecular Engineering, vol. 20, n. 4-6, p. 311-316, 2003.
- [5] G. Degrassi, C. Aguilar, M. Bosco, S. Zahariev, S. Pongor, V. Venturi, *Plant growth-promoting Pseudomonas putida WCS358 produces and secretes four cyclic dipeptides: cross-talk with quorum sensing bacterial sensors*, Current Microbiology, vol. 45, n. 4, p.250-254, 2002.
- [6] D. Herminghuysen, C. Cook, H. Thompson, D. Bostick, F. Lee, L. Stokes, C. Hilton, C. Prasad, *The gut-brain peptide cyclo(His-Pro) is secreted in a pulsatile fashion in fasting humans*, Neuropeptides, vol. 26, n. 4, p. 273-280, 1994.
- [7] T. Gudasheva, S. Boyko, V. K. Akparov, R. Ostrovskaya, S. Skoldinov, G. Rozantsev, T. Voronina, V. Zherdev, S. Seredenin, *Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain*, FEBS Letters, vol. 391, n. 1-2, p.149-152, 1996.

- [8] M. Gautschi, J. P. Schmid, T. L. Peppard, T. P. Ryan, R. M. Tuorto, X. Yang, *Chemical Characterization of Diketopiperazines in Beer*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 45, n. 8, p. 3183-3189, 1997.
- [9] M. Ginz, U. H. Engelhardt, *Identification of Proline-Based Diketopiperazines in Roasted Coffee*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 48, n. 8, p. 3528-3532, 2000.
- [10] M. Graz, A. Hunt, H. Jamie, G. Grant, P. Milne, *Antimicrobial activity of selected cyclic dipeptides*, Die Pharmazie, vol. 54, n. 10, p. 772-775, 1999.
- [11] K. R. Prakash, Y. Tang, A. P. Kozikowski, J. L. Flippen-Anderson, S. M. Knobloch, A. I. Faden, *Synthesis and Biological Activity of Novel Neuroprotective Diketopiperazines*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 10, n. 9, p.3043-3048, 2002.
- [12] R. Tuma, *Raman spectroscopy of proteins: from peptides to large assemblies*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 36, n. 4, p. 307-319, 2005.
- [13] S. Kecel, A. E. Ozel, S. Akyuz, S. Celik, *Conformational analysis and vibrational spectroscopic investigation of L-alanyl-L-glutamine dipeptide*, Spectroscopy, vol. 24, p. 219-232, 2010.
- [14] D. P. Kernick, S. Davies, *Problems in the development of the community hospital concept*, BMJ, vol. 2, n. 6096, p. 1238-1239, 1977.
- [15] S. Palacin, D. N. Chin, E. E. Simanek, J. C. MacDonald, G. M. Whitesides, M. T. McBride, G. T. R. Palmore, *Hydrogen-Bonded Tapes Based on Symmetrically Substituted Diketopiperazines: A Robust Structural Motif for the Engineering of Molecular Solids*, Journal of the American Chemical Society, vol. 119, n. 49, p. 11807-11816, 1997.
- [16] R. L. Bowman, M. Kellerman, W. C. Johnson, *Optical properties of cyclic dimers of amino acids: An experimental and theoretical study*, Biopolymers, vol. 22, n. 4, p. 1045-1070, 1983.

- [17] J. Sletten, J. Grundnes, P. Klæboe, E. Tørneng, T. Woldbæk, T. G. Strand, V. F. Sukhoverkhov, *The Structure of a Second Crystallographic Modification of Cyclo-D-alanyl-L-alanyl*, Acta Chemica Scandinavica, vol. 34a, p. 593-595, 1980.
- [18] E. Sletten, *Conformation of cyclic dipeptides. The crystal and molecular structures of cyclo-D-alanyl-L-alanyl and cyclo-L-alanyl-L-alanyl (3,6-dimethylpiperazine-2,5-dione)*, Journal of the American Chemical Society, vol. 92, n. 1, p. 172-177, 1970.
- [19] Y. Zhu, M. Tang, X. Shi, Y. Zhao, *Quantum chemical study of cyclic dipeptides*, International Journal of Quantum Chemistry, vol. 107, n. 3, p. 745-753, 2007.
- [20] P. Lagant, G. Vergoten, G. Fleury, M.-H. Loucheux-Lefebvre, *Raman spectroscopy and normal vibrations of peptides. Characteristic normal modes of a type-II beta turn*, European Journal of Biochemistry, vol. 139, n. 1, p. 137-148, 1984.
- [21] P. Lagant, M. H. Loucheux-Lefebvre, J. P. Huvenne, G. Vergoten, G. Fleury, P. Legrand, *Raman spectra and normal vibrations of dipeptides. II. Glycyl-L-proline*, Biopolymers, vol. 22, n. 5, p. 1285-1300, 1983.
- [22] J. T. López Navarrete, V. Hernández, F. J. Ramírez, *Vibrational study of aspartic acid and glutamic acid dipeptides*, Journal of Molecular Structure, vol. 348, p. 249-252, 1995.
- [23] G. B. Chernobai, Y. A. Chesalov, E. B. Burgina, T. N. Drebushchak, E. V. Boldyreva, *Temperature effects on the IR spectra of crystalline amino acids, dipeptides, and polyamino acids. I. Glycine*, Journal of Structural Chemistry, vol. 48, n. 2, p. 332-339, 2007.
- [24] M. B. Mary, M. Umadevi, V. Ramakrishnan, *Vibrational spectral analysis of L-lysine L-lysinium dichloride nitrate*, Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 61, n. 13-14, p. 3124-3130, 2005.
- [25] K. Malek, M. Makowski, A. Królikowska, J. Bukowska, *Comparative studies on IR, Raman, and surface enhanced Raman scattering spectroscopy of dipeptides*

- containing  $\Delta$ Ala and  $\Delta$ Phe, *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 116, n. 4, p. 1414-1425, 2012.
- [26] S. Celik, A. E. Ozel, S. Kecel, S. Akyuz, *Structural and IR and Raman spectral analysis of cyclo(His-Phe) dipeptide*, *Vibrational Spectroscopy*, vol. 61, p. 54-65, 2012.
- [27] R. Lim, S. T. Cheung, J. W. Crayton,  *$\alpha$ -L-aspartyl-L-alanine (a neural dipeptide) enhances synaptic transmission*, *Experientia*, vol. 37, n. 2, p. 158-160, 1981.
- [28] C. H. Görbitz, *Crystal and Molecular Structures of the Isomeric Dipeptides alpha-L-Aspartyl-L-alanine and beta-L-Aspartyl-L-alanine*, *Acta Chemica Scandinavica*, vol. 41b, p. 679-685, 1987.
- [29] C. C. P. da Silva, F. T. Martins, S. B. Honorato, N. Boechat, A. P. Ayala, J. Ellena, *Triple Structural Transition below Room Temperature in the Antifilarial Drug Diethylcarbamazine Citrate*, *Crystal Growth & Design*, vol. 10, n. 7, 3094-3101, 2010.
- [30] R. J. C. Lima, P. T. C. Freire, J. M. Sasaki, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, R. L. Moreira, *Temperature-dependent Raman study of taurine single crystal*, *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 32, n. 9, p. 751-759, 2001.
- [31] D. L. Rousseau, R. P. Bauman, S. P. S. Porto, *Normal mode determination in crystals*, *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 10, n. 1, p. 253-290, 1981.
- [32] S. B. Honorato, *Polimorfismo em Fármacos*, Tese de Doutorado (Departamento de Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2009.
- [33] N. A. Tumanov, E. V. Boldyreva, B. A. Kolesov, A. V. Kurnosov, R. Quesada Cabrera, *Pressure-induced phase transitions in L-alanine, revisited*, *Acta Crystallographica Section B, Structural Science*, vol. 66, n. 4, p. 458-471, 2010.
- [34] J. A. Lima Jr., *Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina, DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*, Tese de Doutorado (Departamento de Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2008.

- [35] M. Diem, P. L. Polavarapu, M. Oboodi, L. A. Nafie, *Vibrational circular dichroism in amino acids and peptides. 4. Vibrational analysis, assignments, and solution-phase Raman spectra of deuterated isotopomers of alanine*, Journal of the American Chemical Society, vol. 104, n. 12, p. 3329–3336, 1982.
- [36] A. Matei, N. Drichko, B. Gompf, M. Dressel, *Far-infrared spectra of amino acids*, Chemical Physics, vol. 316, n. 1–3, p. 61–71, 2005.
- [37] F. M. Almeida, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, C. M. R. Remédios, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, *Raman spectra of L-isoleucine crystals*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 37, n. 11, p. 1296–1301, 2006.
- [38] C. H. Wang, R. D. Storms, *Temperature-Dependent Raman Study and Molecular Motion in l-Alanine Single Crystal*, The Journal of Chemical Physics, vol. 55, n. 7, p. 3291–3299, 1971.
- [39] A. M. R. Teixeira, P. T. C. Freire, A. J. D. Moreno, J. M. Sasaki, A. P. Ayala, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, *High-pressure Raman study of L-alanine crystal*, Solid State Communications, vol. 116, n. 7, p. 405–409, 2000.
- [40] K. Machida, A. Kagayama, Y. Saito, T. Uno, *Polarized Raman spectra and intermolecular potential of l-alanine crystal*, Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy, vol. 34, n. 9, p. 909–914, 1978.
- [41] A. J. D. Moreno, P. T. C. Freire, I. Guedes, F. E. A. Melo, J. Mendes-Filho, J. A. Sanjurjo, *Raman Scattering Studies of Monohydrated L-Asparagine*, Brazilian Journal of Physics, vol. 29, n. 2, p. 380–387, 1999.
- [42] J. A. Lima Jr, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, A. J. D. Moreno, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, *Raman scattering of L-valine crystals*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 36, n. 11, p. 1076–1081, 2005.
- [43] H. Susi, D. M. Byler, *Vibrational analysis of l-alanine and deuterated analogs*, Journal of Molecular Structure, vol. 63, n. 1, p. 1–11, 1980.

- [44] Y. A. Chesalov, G. B. Chernobai, E. V. Boldyreva, *Study of the temperature effect on IR spectra of crystalline amino acids, dipeptids, and polyamino acids. III.  $\alpha$ -Glycylglycine*, Journal of Structural Chemistry, vol. 49, n. 6, p. 1012–1021, 2009.
- [45] M. Wolpert, P. Hellwig, *Infrared spectra and molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500  $\text{cm}^{-1}$* , Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 64, n. 4, p. 987–1001, 2006.
- [46] B. J. M. Rajkumar, V. Ramakrishnan, R. K. Rajaram, *Infrared and Raman spectra of DL -aspartic acid nitrate monohydrate*, vol. 54, n. 10, p. 1527–1532, 1998.
- [47] B. L. Silva, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, I. Guedes, M. A. Araújo Silva, J. Mendes Filho, A. J. D. Moreno, *Polarized Raman Spectra and Infrared Analysis of Vibrational Modes in L-Threonine Crystals*, Brazilian Journal of Physics, vol. 28, n. 1, p. 19–24, 1998.
- [48] P. F. Façanha Filho, P. T. C. Freire, K. C. V. Lima, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, P. S. Pizani, *High temperature Raman spectra of L-leucine crystals*, Brazilian Journal of Physics, vol. 38, n. 1, p. 131–137, 2008.
- [49] A. J. D. Moreno, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, M. A. M. Nogueira, J. M. A. Almeida, M. A. R. Miranda, C. M. R. Remédios, J. M. Sasaki, *Low-temperature Raman spectra of monohydrated L-asparagine crystals*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 35, n. 3, p. 236–241, 2004.
- [50] P. Dhamelincourt, F. J. Ramirez, *Polarized Micro-Raman and FT-IR Spectra of L-Glutamine*, Applied Spectroscopy, vol. 47, n. 4, p. 446–451, 1993.
- [51] V. S. Minkov, A. S. Krylov, E. V. Boldyreva, S. V. Goryainov, S. N. Bizyaev, A. N. Vtyurin, *Pressure-induced phase transitions in crystalline L- and DL-cysteine*, The Journal of Physical Chemistry B, vol. 112, n. 30, p. 8851–8854, 2008.
- [52] A. Barth, *The infrared absorption of amino acid side chains*, Progress in biophysics and molecular biology, vol. 74, n. 3–5, p. 141–73, 2000.



- [53] A. Ben Ahmed, H. Feki, Y. Abid, H. Boughzala, A. Mlayah, *Structural, vibrational and theoretical studies of l-histidine bromide*, Journal of Molecular Structure, vol. 888, n. 1–3, p. 180–186, 2008.
- [54] N. Kausar, B. D. Alexander, T. J. Dines, R. Withnall, B. Z. Chowdhry, *Vibrational spectroscopy and DFT calculations of amino acid derivatives: N-acetyl-L-Asp and N-acetyl-L-Glu in the solid state*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 40, n. 6, p. 670–678, 2009.
- [55] J. A. Lima Jr., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani, *High pressure Raman spectra of L-methionine crystal*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 39, n. 10, p. 1356–1363, 2008.
- [56] L. I. Berezhinsky, G. I. Dovbeshko, M. P. Lisitsa, G. S. Litvinov, *Vibrational spectra of crystalline  $\beta$ -alanine*, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 54, n. 2, p. 349–358, 1998.
- [57] P. F. Façanha Filho, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani, D. Z. Rossatto, *Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 40, n. 1, p. 46–51, 2009.
- [58] A. Pawlukojć, J. Leciejewicz, J. Tomkinson, S. F. Parker, *Neutron scattering, infrared, Raman spectroscopy and ab initio study of L-threonine*,” Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy, vol. 57, n. 12, p. 2513–23, 2001.
- [59] A. Sumayya, C. Y. Panicker, H. T. Varghese, B. Harikumar, *Vibrational spectroscopic studies and ab initio calculations of L-glutamic acid 5-amide*, Rasayan Journal of Chemistry, vol. 1, n. 3, p. 548–555, 2008.
- [60] R. Mahalakshmi, S. X. Jesuraja, S. Jerome Das, *Growth and characterization of L-phenylalanine*, Crystal Research and Technology, vol. 41, n. 8, p. 780–783, 2006.
- [61] J. A. Lima Jr., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, G. P. De Sousa, R. J. C. Lima, P. F. Façanha Filho, H. N. Bordallo, *Low-temperature Raman spectra*

- of racemate DL-Alanine crystals*, Journal of Raman Spectroscopy, vol. 41, n. 7, p. 808–813, 2010.
- [62] M. Diem, P. J. Gotkin, J. M. Kupfer, L. A. Nafie, *Vibrational circular dichroism in amino acids and peptides. 2. Simple alanyl peptides*, Journal of the American Chemical Society, vol. 100, n. 18, p. 5644–5650, 1978.
- [63] G. S. Pinheiro, *Espectroscopia Vibracional em Cristais de L-histidina*, Dissertação de Mestrado (Departamento de Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2009.
- [64] C. M. R. Remédios, W. Paraguassu, J. A. Lima Jr., P. T. C. Freire, J. Mendes-Filho, F. E. A. Melo, A. S. de Menezes, A. O. dos Santos, L. P. Cardoso, M. A. R. Miranda, *Effect of Ni(II) doping on the structure of L-histidine hydrochloride monohydrate crystals*, Journal of Physics: Condensed Matter, vol. 20, n. 27, p. 275209, 2008.
- [65] M. Balkanski, R. Wallis, E. Haro, *Anharmonic effects in light scattering due to optical phonons in silicon*, Physical Review B, vol. 28, n. 4, p. 1928-1934, 1983.
- [66] A. J. D. Moreno, *Estudos De Transições De Fase Por Espectroscopia Raman Em Monocristais De L-Asparagina Monohidratada*, Tese de Doutorado (Departamento de Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 1996.
- [67] M. Rozenberg, G. Shoham, I. Reva, R. Fausto, *Low-temperature Fourier transform infrared spectra and hydrogen bonding in polycrystalline l-alanine*, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 59, n. 14, p. 3253-3266, 2003.
- [68] M. S. Lehmann, T. F. Koetzle, W. C. Hamilton, *Precision neutron diffraction structure determination of protein and nucleic acid components. I. Crystal and molecular structure of the amino acid L-alanine*, Journal of the American Chemical Society, vol. 94, n. 8, p. 2657-2660, 1972.
- [69] J. A. Lima, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. M. Filho, J. Fischer, R. W. A. Havenith, R. Broer, H. N. Bordallo, *Using Raman spectroscopy to understand the*

*origin of the phase transition observed in the crystalline sulfur based amino acid l-methionine*, *Vibrational Spectroscopy*, vol.65, p. 132-141, 2013.

- [70] X. Cao, G. Fischer, *Conformational and Infrared Spectral Studies of l - Methionine and Its N-Deuterated Isotopomer as Isolated Zwitterions*, *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 106, n. 1, p. 41-50, 2002.
- [71] I. C. V. Bento, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, A. J. D. Moreno, M. R. Joya, P. S. Pizani, *High temperature phase transition in monohydrated L-asparagine crystal*, *Solid State Communications*, vol. 141, n. 1, p. 29-32, 2007.
- [72] J. A. F. Silva, *Propriedades Vibracionais Da L-Asparagina Monohidratada Sob Pressões De até 30 GPa*, Tese de Doutorado (Departamento de Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2012.
- [73] A. M. de Souza, R. J. Poppi, *Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I*, *Química Nova*, vol. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.
- [74] T. P. Houghton, J. H. Kalivas, *Implementation of Traditional and Real-World Cooperative Learning Techniques in Quantitative Analysis Including Near Infrared Spectroscopy for Analysis of Live Fish*, *Journal of Chemical Education*, vol. 77, n. 10, p. 1314, 2000.
- [75] L. Wang, B. Mizaikoff, C. Kranz, *Quantification of Sugar Mixtures with Near-Infrared Raman Spectroscopy and Multivariate Data Analysis. A Quantitative Analysis Laboratory Experiment*, *Journal of Chemical Education*, vol. 86, n. 11, p. 1322, 2009.
- [76] K. M. G. Lima, M. G. Trevisan, R. J. Poppi, J. C. de Andrade, *Determinação não destrutiva do nitrogênio total em plantas por espectroscopia de reflectância difusa no infravermelho próximo*, *Química Nova*, vol. 31, n. 3, p. 700-703, 2008.
- [77] R. A. Cazar, *An Exercise on Chemometrics for a Quantitative Analysis Course*, *Journal of Chemical Education*, vol. 80, n. 9, p.1026, 2003.

- [78] D. A. Rusak, L. M. Brown, S. D. Martin, *Classification of Vegetable Oils by Principal Component Analysis of FTIR Spectra*, Journal of Chemical Education, vol. 80, n. 5, p. 541, 2003.
- [79] P. J. Oles, *Fractional Factorial Experimental Design as a Teaching Tool for Quantitative Analysis*, Journal of Chemical Education, vol. 75, n. 3, p. 357, 1998.
- [80] W. Wu, D. L. Massart, S. de Jong, *The kernel PCA algorithms for wide data. Part I: Theory and algorithms*, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, vol. 36, n. 2, p. 165-172, 1997.