



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
CURSO DE FÍSICA BACHARELADO

ARILO PINHEIRO ARAÚJO

**MEDIDAS DE ESPALHAMENTO RAMAN EM CRISTAIS DE L-ALANINA A
BAIXAS TEMPERATURAS**

FORTALEZA

2014

ARILO PINHEIRO ARAÚJO

MEDIDAS DE ESPALHAMENTO RAMAN EM CRISTAIS DE L-ALANINA A BAIXAS
TEMPERATURAS

Monografia apresentada ao Curso de Física do
Departamento de Física da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de bacharel em física.

Orientador: Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca do Curso de Física

-
- A687m Araújo, Arilo Pinheiro
 Medidas de espalhamento Raman em cristais de L-alanina a baixas temperaturas / Arilo
 Pinheiro Araújo. – Fortaleza, 2014.
 47 f. : il. algumas color. enc.; 30 cm.
- Monografia (Graduação em Física) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
 Departamento de Física, Curso de Bacharelado em Física, Fortaleza, 2014.
 Orientação: Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior.
1. Raman, Espectroscopia de. 2. Aminoácidos. 3. Crescimento dos cristais. I. Lima Júnior,
 José Alves de. II. Título.

CDD 535.846

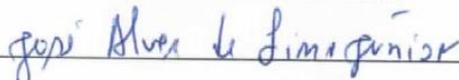
ARILO PINHEIRO ARAÚJO

MEDIDAS DE ESPALHAMENTO RAMAN EM CRISTAIS DE L-ALANINA A BAIXAS
TEMPERATURAS

Monografia apresentada ao Curso de Física do
Departamento de Física da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de bacharel em física.

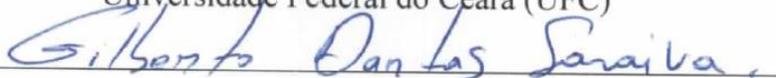
Aprovada em: 05/12/2014

BANCA EXAMINADORA



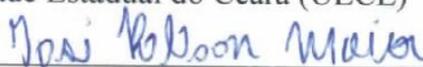
Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dr. Gilberto Dantas Saraiva

Universidade Estadual do Ceará (UECE)



Prof. Dr. José Robson Maia

Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus.

Aos meus pais, Murilo e Eliene, e minha irmã

Anarda.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por ter me concedido a graça de concluir mais essa fase na minha vida.

À toda minha família, em especial meu pai, Manoel Murilo de Araújo e minha mãe, Maria Eliene Pinheiro de Araújo, que sempre com muito esforço, amor, dedicação e carinho me incentivaram muito não só na minha vida acadêmica, mas também na minha vida pessoal, sempre me ensinando e mostrando o caminho da felicidade.

À minha irmã, Anarda Pinheiro Araújo, que sempre foi exemplo de determinação e sempre me incentivou muito aos estudos e nos momentos mais difíceis da minha vida.

Ao Professor Dr. José Alves de Lima Júnior, que sempre me orientou com muita dedicação não só no presente trabalho, mas em toda a vida acadêmica.

Aos Professores Gilberto Dantas Saraiva e José Robson Maia não só por terem aceitado participar dessa banca examinadora, mas por terem contribuído na minha formação acadêmica.

À Beatriz Pinheiro Bezerra por todo apoio, compreensão e cumplicidade.

Ao Ermando Alencar da Silva, grande amigo que me ajudou muito em toda a graduação.

A todos os amigos da faculdade: Nicolas Carvalho, Levi da Costa, Fellipe dos Santos, Daniel Linhares, Victor Nocrato, Victor Alencar, Ícaro Rodrigues, Mardônio de França, Samuel Moares, Santino Loruan, Izaac Montenegro, Stefam e tantos outros que muito me ajudaram na minha formação acadêmica, me dando apoio em momentos difíceis.

Aos meus primos que sempre me ajudaram e apoiaram em tudo na vida mostrando ser verdadeiros irmãos.

Ao grupo de jovens Jesus, da Paróquia Imaculada Conceição, que sempre foram minha família, assim como Jesus disse: “porque aquele que fizer a vontade de meu Pai que está nos céus, esse é meu irmão, irmã e mãe!” (Mt 12, 50)

Ao Centro Nacional de Pesquisas (CNPq) e à Universidade Federal do Ceará (UFC) pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

“Entre Deus e ciência natural não encontramos qualquer contradição. Eles não se excluem como hoje alguns crêem e temem; eles completam-se e implicam-se mutuamente.”

(Max Planck)

RESUMO

A alanina ($C_3H_7NO_2$) é um dos aminoácidos protéicos não essenciais. No presente trabalho foram crescidos cristais de L-alanina, pelo método da evaporação lenta do solvente, que tiveram suas estruturas confirmadas através de medidas de difração de Raios-X e que foram investigados através de medidas de Espectroscopia Raman. As medidas iniciais de Espectroscopia Raman foram realizadas à temperatura ambiente e a partir destas foi feita uma classificação dos modos normais de vibração com base em outros trabalhos da própria L-alanina e também da DL-alanina. Em seguida foram realizadas medidas a baixas temperaturas (chegando, de forma decrescente, até a 15 K) a fim de se estudar a estabilidade cristalina das amostras. A uniformidade em todos os Espectros Raman indica que as moléculas de L-alanina não sofrem transição de fase a baixas temperaturas, conclusão esta que também é confirmada com outros trabalhos já realizados sobre o tal aminoácido.

Palavras-chave: L-alanina. Aminoácido. Espectroscopia Raman. Crescimento de Cristais.

ABSTRACT

Alanine ($C_3H_7NO_2$) is a non-essential protein amino acid. In this study were grown L-alanine crystals by the slow evaporation method of the solvent, which were investigated by Raman spectroscopy measures and they had their structures confirmed by measures of X-ray diffraction. Initial Raman Spectroscopy measurements were performed at room temperature and from these ones we obtained a classification of normal modes of vibration which was based on other work about L-alanine itself and DL-alanine as well. Then, the low-temperature measurements were taken (in a decreasing way until 15 K) in order to study the stability of crystalline samples. The uniformity of all Raman spectra of the L-alanine molecules doesn't evidence structural phase transition at low temperatures, a conclusion which is also confirmed in other works already done about this amino acid.

Keywords: L-Alanine. Amino acid. Raman Spectroscopy. Crystal Grown.

| | |
|---|----|
| Figura 2.1 - Absorção, emissão espontânea e emissão estimulada | 15 |
| Figura 2.2 - Espalhamento | 16 |
| Figura 2.3 - Representação esquemática do Espalhamento Raman Stokes | 17 |
| Figura 2.4 - Representação esquemática do Espalhamento Raman Anti-Stokes | 17 |
| Figura 2.5 - Representação esquemática do Espalhamento Rayleigh | 18 |
| Figura 2.6 - Variação de energia entre dois níveis conhecidos | 22 |
| Figura 2.7 - Estiramento simétrico em (a) e Estiramento assimétrico em (b) | 22 |
| Figura 2.8 - Torção (variação em torno do átomo central) | 23 |
| Figura 2.9 - Dobramento angular tipo wagging | 23 |
| Figura 2.10 - Rocking | 23 |
| Figura 3.1 - Representação estrutural de um aminoácido na forma neutra | 24 |
| Figura 3.2 - Representação estrutural de um aminoácido na forma zwitteriônica | 26 |
| Figura 4.1 - Cristais de L-alanina crescidos pelo método da evaporação lenta | 28 |
| Figura 4.2 - Medidas de Difração de Raios-X | 29 |
| Figura 4.3 - Espectrômetro utilizado nas medidas Raman | 30 |
| Figura 4.4 - Sistema de vácuo modelo E2M8 em (a) e criostato modelo DE202S em (b) | 31 |
| Figura 5.1 - Conformação da molécula isolada de L-alanina em (a), na estrutura cristalina projetada ao longo do eixo c em (b) e na estrutura cristalina projetada ao longo do eixo a em (c) | 33 |
| Figura 5.2 - Espectros Raman à temperatura ambiente da L-alanina | 36 |
| Figura 6.1 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 0 cm^{-1} a 300 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 38 |
| Figura 6.2 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 325 cm^{-1} a 700 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 40 |
| Figura 6.3 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 700 cm^{-1} a 900 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 41 |

| | |
|---|----|
| Figura 6.4 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 900 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 42 |
| Figura 6.5 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 1200 cm^{-1} a 1750 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 43 |
| Figura 6.6 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 2750 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b) | 44 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 3.1 - Aminoácidos com suas respectivas abreviações e seus respectivos radicais | 25 |
| Tabela 5.1 - Ângulos entre ligações da L-alanina | 34 |
| Tabela 5.2 - Comprimento das ligações bioquímicas da L-alanina | 34 |
| Tabela 5.3 - Caracteres do grupo D_2 | 35 |
| Tabela 5.4 - Identificação dos modos normais de vibração da L-alanina à temperatura ambiente | 37 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | FUNDAMENTOS TEÓRICOS DA ESPECTROSCOPIA RAMAN | 15 |
| 2.1 | Aspectos teóricos do Espectro Raman | 18 |
| 2.2 | Espectroscopia vibracional | 20 |
| 2.2.1 | <i>Classificação das vibrações</i> | 22 |
| 3 | AMINOÁCIDOS | 24 |
| 3.1 | Alanina | 27 |
| 3.1.1 | <i>Revisão bibliográfica sobre L-Alanina</i> | 27 |
| 4 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 28 |
| 4.1 | As amostras de L-alanina | 28 |
| 4.1.1 | <i>Medidas de difração de raios-X</i> | 28 |
| 4.2 | Medidas de Espectroscopia Raman | 29 |
| 4.2.1 | <i>Descrição experimental dos equipamentos utilizados nas medidas de Espectroscopia Raman à temperatura ambiente</i> | 29 |
| 4.2.2 | <i>Descrição experimental dos equipamentos utilizados nas medidas de espectroscopia Raman a baixas temperaturas</i> | 30 |
| 5 | A L-ALANINA À TEMPERATURA AMBIENTE | 32 |
| 5.1 | Estrutura da L-alanina | 32 |
| 5.2 | Teoria de grupos para o cristal de L-alanina | 34 |
| 5.3 | Classificação dos modos Raman à temperatura ambiente | 35 |
| 6 | A L-ALANINA A BAIXAS TEMPERATURAS | 38 |
| 7 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 45 |
| 7.1 | Conclusões | 45 |
| 7.2 | Perspectivas | 45 |
| | REFERÊNCIAS | 46 |

1 INTRODUÇÃO

Aminoácidos são moléculas orgânicas que contém um grupo amina (NH_3), um grupo carboxila (COOH), um hidrogênio (H), um carbono central (C) e uma cadeia lateral que é específica para cada aminoácido que chamamos de radical (R) do aminoácido. Essas moléculas são constituídas basicamente pelos seguintes elementos: carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e nitrogênio (N) e em alguns casos o enxofre (S). Os aminoácidos podem tanto se comportar como ácido ou como base, liberando H ou OH , respectivamente, em uma reação. No caso de uma cadeia de aminoácidos, ou seja, aminoácidos ligando-se uns aos outros para formar uma proteína, por exemplo, o grupo amina de um libera um hidrogênio que se liga ao grupo carboxílico do outro que libera um hidróxido.

O caso acima citado de aminoácidos ligando-se uns aos outros só pode ser formado através da forma zwitteriônica, também conhecida como íon dipolar ou bipolar.

Os aminoácidos podem ser classificados com um prefixo L ou D de acordo com o giro do seu plano de polarização. Se o plano é girado para a esquerda ele é classificado como levógero (L) e se o plano é girado para a direita ele é classificado como destrógero (D). Essa classificação fornece uma informação bem interessante, pois os aminoácidos protéicos (aminoácidos que formam as proteínas) são formados apenas pelos aminoácidos levógeros.

O comportamento físico de cristais orgânicos vem despertando bastante interesse nos últimos anos, devido principalmente à possibilidade de aplicação destes materiais em diversos ramos da tecnologia. Entre estes cristais destacam-se aqueles dos aminoácidos, que além de serem materiais com potencial em aplicações tecnológicas, como em ótica não linear, e ainda na farmacologia.

A Espectroscopia Raman estuda os efeitos resultantes da interação de radiações eletromagnéticas com a matéria mostrando evidências do comportamento microscópico das moléculas em questão. Essas observações ajudam a comunidade científica a classificar e ordenar não só os aminoácidos, mas também outros tipos de substâncias que de alguma forma contribuem não só para a vida humana, mas também a tecnologia.

O principal objetivo desta pesquisa é realizar um estudo detalhado sobre as propriedades vibracionais de cristais de L-alanina, através de espectroscopia Raman e de difração de raios X, à pressão constante, com uma variação de temperatura de 297 K (temperatura ambiente) a 15 K, de forma decrescente.

O presente trabalho, além de iniciar com essa introdução, está dividido em mais seis capítulos. Logo no segundo capítulo são abordados alguns fundamentos teóricos sobre efeito

Raman e espectroscopia vibracional. No capítulo 3 é estudado de forma mais detalhada os aminoácidos e também suas propriedades de ligações e interações da L-alanina. Logo em seguida, no capítulo 4, o procedimento experimental é descrito. De forma mais qualitativa e quantitativa tratamos das características estruturais e vibracionais da L-alanina à temperatura ambiente e para o estudo obtido por medidas Raman em baixas temperaturas são comentados no capítulo 6. No final, no capítulo 7, fazemos uma conclusão mais clara sobre esse estudo e propomos perspectivas para a continuação desse trabalho.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS DA ESPECTROSCOPIA RAMAN

Existem várias técnicas para se obter informações sobre as estruturas moleculares (ângulos e comprimentos das ligações, por exemplo) e níveis de energia, porém os únicos estudados aqui são a Espectroscopia Raman e a difração de Raios-X.

A principal técnica aqui utilizada será a Espectroscopia Raman. A difração de Raios-X é utilizada aqui somente para a confirmação estrutural da molécula. A Espectroscopia Raman foi estudada pelo físico indiano Chandrasekhara V. Raman (1888 – 1970) em 1917, enquanto trabalhava na Universidade de Calcutá com a difração da luz. Ele descobriu que quando uma luz intensa passava através de um meio transparente, uma pequena fração de luz era espalhada em todas as direções, com frequências ligeiramente diferentes daquela do feixe incidente. A importância da descoberta de Raman foi reconhecida pela comunidade científica e o Raman recebeu o prêmio Nobel de Física em 1929 [01].

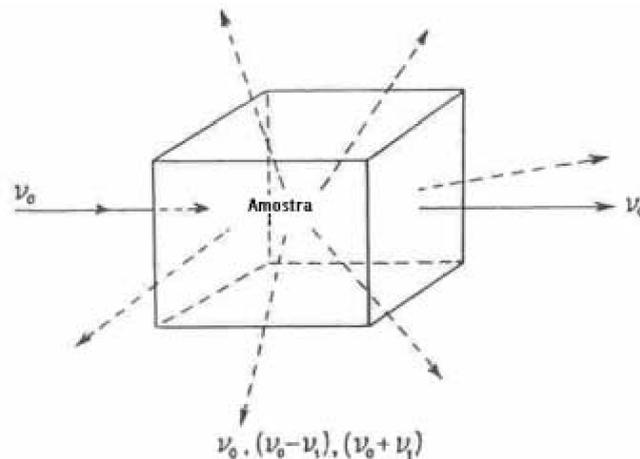
A interação da radiação eletromagnética com a matéria com o foco na determinação dos níveis de energia de átomos e moléculas é estudado por esse tipo de espectroscopia [02]. Porém essa interação é apenas uma das quatro interações conhecidas, que são: Absorção, emissão estimulada, emissão espontânea e o espalhamento.

A absorção é caracterizada pelo consumo de um fóton, a emissão estimulada, que é o princípio fundamental do laser, é caracterizada pela emissão de um fóton quando o sistema é perturbado por um fóton, a emissão espontânea é um misterioso caso em que um fóton é emitido espontaneamente e o espalhamento ocorre quando o sistema sofre a colisão de um fóton, mas este não é absorvido e sim espalhado, podendo este espalhamento ser elástico, onde a mudança de frequência da radiação é nula, fenômeno denominado espalhamento elástico ou Rayleigh, ou inelástico (caso da Espectroscopia Raman), onde há uma diferença na frequência da radiação espalhada que se dá devido há diferença entre os dois estados vibracionais [03]. A Figura 2.1 e a Figura 2.2 exemplificam melhor esses fenômenos.

Figura 2.1 - Absorção, emissão espontânea e emissão estimulada [04]



Figura 2.2 – Espalhamento [05]



O Efeito Raman baseia-se no fenômeno descrito na Figura 2.2, onde ocorre um espalhamento inelástico. A descrição desse fenômeno pode ser feita da seguinte forma: quando um feixe de luz monocromático atravessa uma substância transparente, parte de sua radiação será dispersa, sendo que a maior parte da radiação dispersada apresenta a mesma frequência da radiação incidente, mas uma pequena parte apresenta uma frequência superior ou inferior relativa ao feixe incidente, dependendo de caso para caso. Isso acontece devido a colisões inelásticas entre os fótons e as moléculas constituintes do material em estudo, provocando uma alteração nos níveis de energia vibracionais e rotacionais das moléculas. Um aumento ou uma diminuição da frequência se traduz como uma perda ou ganho de energia molecular respectivamente.

Antes de estudarmos a fundo o Espalhamento Raman, entenderemos alguns tipos de espalhamento como é o caso do Espalhamento Raman Stokes, Espalhamento Raman Anti-Stokes e o Espalhamento de Rayleigh.

No caso do Espalhamento Raman Stokes, a molécula em seu estado fundamental sofre uma colisão com um fóton cuja energia é $h\nu_0$, passando assim para um estado intermediário, que pode ser ou não um estado estacionário da molécula, logo após decai para um estado vibracionalmente excitado, com energia E_0 , assim o fóton espalhado terá uma energia $h\nu_0 - E_0$ que é menor que a energia do fóton incidente.

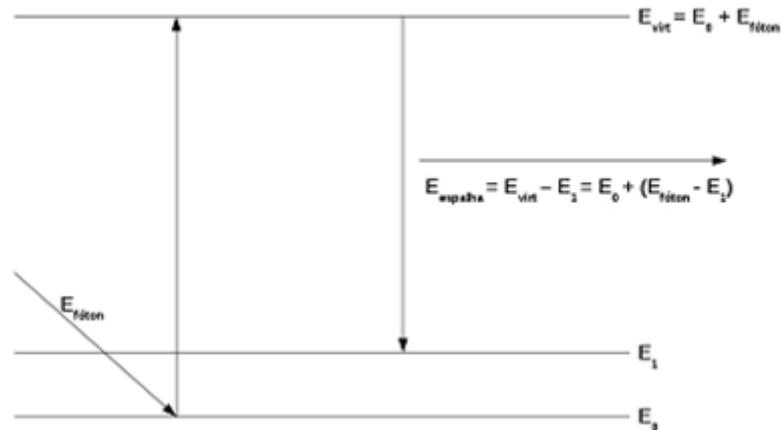
A Figura 2.3 representa esquematicamente esse resumo sobre o Espalhamento Raman Stokes. O $E_{\text{fóton}}$ representa o fóton incidente que deixa o átomo no estado virtual com

$$E_{\text{virtual}} = E_0 + E_{\text{fóton}} \quad (2.1)$$

que logo decai produzindo o espalhamento com energia

$$\begin{aligned} E_{\text{espalhamento}} &= E_{\text{virtual}} - E_1 \\ E_{\text{espalhamento}} &= E_0 + E_{\text{fóton}} - E_1 \end{aligned} \quad (2.2)$$

Figura 2.3 - Representação esquemática do Espalhamento Raman Stokes [05]



No Espalhamento Anti-Stokes o fóton interage com uma molécula que já se encontra em um estado excitado, após a colisão esta decai para o estado fundamental. Assim a diferença é cedida ao fóton, que será espalhado com energia $h\nu_0 + E_0$ onde.

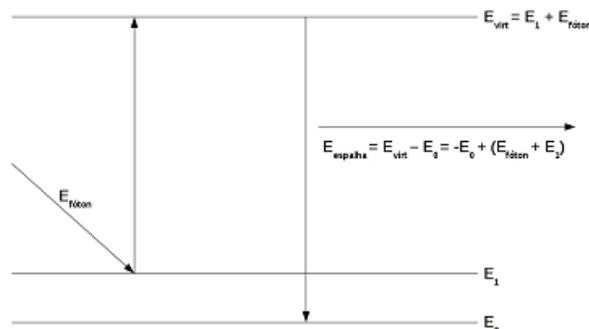
A Figura 2.4 mostra um esquema do Espalhamento Raman Anti-Stokes. O fóton incidente deixa o átomo com a energia:

$$E_{\text{virtual}} = E_1 + E_{\text{fóton}} \quad (2.3)$$

E o espalhamento:

$$\begin{aligned} E_{\text{espalhamento}} &= E_{\text{virtual}} - E_0 \\ E_{\text{espalhamento}} &= E_{\text{fóton}} + E_1 - E_0 \end{aligned} \quad (2.4)$$

Figura 2.4 - Representação esquemática do Espalhamento Raman Anti-Stokes [05]



E por fim o Espalhamento Rayleigh o fóton colide com a molécula, onde este é espalhado sem modificação alguma em sua frequência e a molécula após a interação volta a seu nível de energia inicial, antes da colisão.

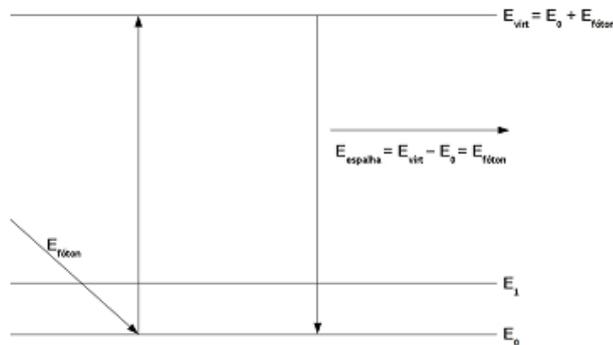
A Figura 2.5 mostra um esquema do Espalhamento Rayleigh. O fóton incidente deixa o átomo com a energia:

$$E_{\text{virtual}} = E_0 + E_{\text{fóton}} \quad (2.5)$$

E o espalhamento:

$$\begin{aligned} E_{\text{espalhamento}} &= E_{\text{virtual}} - E_0 \\ E_{\text{espalhamento}} &= E_{\text{fóton}} \end{aligned} \quad (2.6)$$

Figura 2.5 - Representação esquemática do Espalhamento Rayleigh [05]



E por fim é interessante destacar que o espalhamento Raman ocorre juntamente com o espalhamento Rayleigh. Entretanto, apenas 10^{-3} de toda luz espalhada pertence aos espalhamentos Raman Stokes e Anti-Stokes, todo o resto é destinado ao espalhamento Rayleigh, devido a essas proporções o efeito Raman só foi percebido muito depois da descoberta do espalhamento Rayleigh [05].

2.1 Aspectos teóricos do Espectro Raman

Como já foi visto, o Espalhamento Raman ocorre devido a colisões inelásticas com as moléculas. E esse efeito está ligado ao momento de dipolo induzido na molécula pelo campo elétrico da radiação.

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} \quad (2.7)$$

Onde α é polarizabilidade da molécula e \vec{E} é o vetor campo elétrico da radiação incidente. Outro fato a se saber também é que o vetor momento de dipolo induzido, \vec{P} , oscila com uma sobre posição de frequências.

Expandindo o α em uma Série de Taylor em uma coordenada q , temos:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q + \dots \quad (2.8)$$

E supondo que a coordenada q e o vetor campo elétrico \vec{E} possam ser descritos da seguinte forma, temos:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_V t) \text{ e } \vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.9)$$

Onde ν_V e ν_0 são a frequência vibracional e da radiação incidente, respectivamente. Então o momento de dipolo induzido se tornará:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_V t) \quad (2.10)$$

Para pequenas variações da coordenada q os termos de ordem mais alta da Equação (2.10) podem ser desprezadas. Então assim, teremos:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q_0 \vec{E}_0 \{\cos[2\pi(\nu_0 + \nu_V)t] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_V)t]\} \quad (2.11)$$

Uma análise mais descritiva nos diz que o primeiro termo da Equação (2.11) corresponde ao Espalhamento Rayleigh e o segundo termo contém o Espalhamento Raman Stokes (com frequência $\nu_0 - \nu_V$) e o Espalhamento Raman Anti-Stokes (com frequência $\nu_0 + \nu_V$).

Introduzindo à polarizabilidade a seguinte expressão, teremos:

$$\alpha_{mn} = \int \Psi_m \alpha \Psi_n d\tau \quad (2.12)$$

A correlação entre as componentes do momento de dipolo e as componentes do campo elétrico serão dadas pelas seguintes equações:

$$\begin{aligned} P_x &= \alpha_{xx}E_x + \alpha_{xy}E_y + \alpha_{xz}E_z \\ P_y &= \alpha_{yx}E_x + \alpha_{yy}E_y + \alpha_{yz}E_z \\ P_z &= \alpha_{zx}E_x + \alpha_{zy}E_y + \alpha_{zz}E_z \end{aligned} \quad (2.13)$$

Como no efeito Raman as componentes α_{ij} formam tensores simétricos, temos que $\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$. E para cada transição entre os estados vibracionais m e n pelo menos uma das seis componentes deve ser diferente de zero:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \int \Psi_m \alpha_{ij} \Psi_n d\tau \quad (2.14)$$

Substituindo agora a Equação (2.8) na Equação (2.14), temos:

$$\alpha_{mn} = \alpha_0 \int \Psi_m \Psi_n d\tau + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 \int \Psi_m q \Psi_n d\tau \quad (2.15)$$

No efeito Raman os estados vibracionais, m e n, são diferentes, então a primeira integral da Equação (2.15) será igual a zero, devido à ortogonalidade entre as funções de onda

E para que exista atividade Raman no segundo termo da Equação (2.15), ele deve ser diferente de zero, ou seja, é necessário que, além de Ψ_m e Ψ_n tenham paridades tal que o produto $\Psi_m \Psi_n$ seja uma função ímpar, haja polarizabilidade com uma pequena vibração em torno da posição de equilíbrio, assim $\left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 \neq \text{zero}$. Caso contrário, como q é uma função ímpar, o produto $\Psi_m q \Psi_n$ será uma função ímpar e a integral $\int \Psi_m q \Psi_n d\tau$ será igual a zero e não haverá atividade no Raman [02].

2.2 Espectroscopia vibracional

O que mais importa na espectroscopia Raman é justamente a medida da variação vibracional da molécula em questão, quando submetida a uma interação de uma onda eletromagnética. As vibrações moleculares são devidas aos movimentos dos átomos ao longo do tempo, que originam alongamentos das ligações moleculares e deformações angulares.

Podem-se decompor estes movimentos em modos normais de vibração associados a níveis de energia.

A energia total de uma molécula será a soma da energia eletrônica, da vibracional e da rotacional, sendo a última apenas no caso de moléculas em forma gasosa, isso não considerando a energia devida aos movimentos translacionais. Dessa forma tem-se:

$$E_{\text{total}} = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} \quad (2.16)$$

Para este caso a energia de uma molécula se deve aos diferentes movimentos em seu interior, sabe-se que a energia (ΔE) é função do comprimento de onda (λ) através da equação:

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.17)$$

Onde h é a conhecida constante de Planck e c é a velocidade da radiação eletromagnética no mesmo meio em que o comprimento de onda foi medido. Podemos relacionar as grandezas c e λ através da frequência de radiação ν , através da equação:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (2.18)$$

Substituindo a Equação (2.18) na Equação (2.17), temos:

$$\Delta E = h\nu \quad (2.19)$$

A variação entre dois níveis de energia molecular é numericamente igual à frequência de radiação, desta forma pode-se escrever:

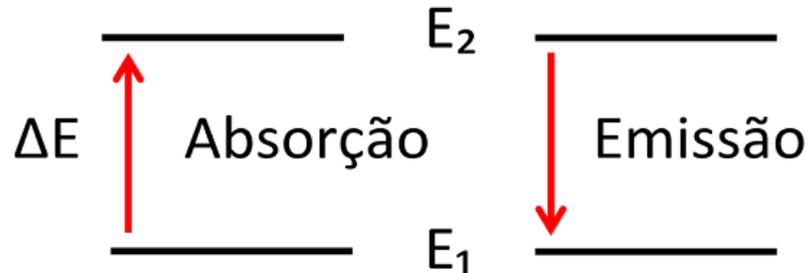
$$\frac{\Delta E}{h} = \nu \quad (2.20)$$

Ou ainda,

$$\Delta E = E^{(1)} - E^{(2)} = h\nu \quad (2.21)$$

Ou seja, a molécula absorve ΔE quando é excitada de uma energia E_1 para uma E_2 e emite quando volta de E_2 para E_1 . Como o representado no esquema abaixo:

Figura 2.6 - Variação de energia entre dois níveis conhecidos [05]



2.2.1 Classificação das vibrações

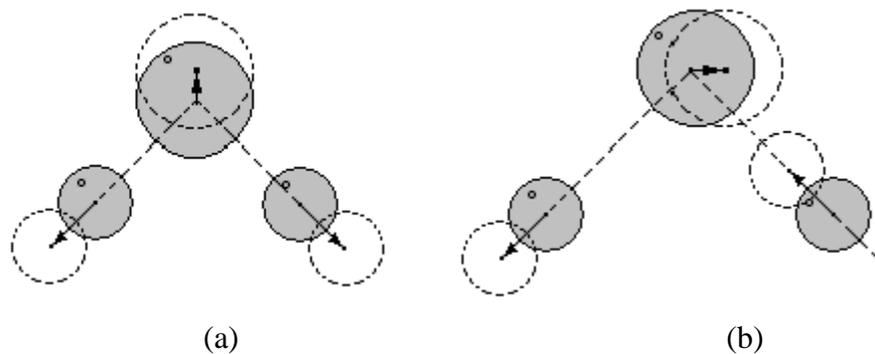
As vibrações moleculares podem ser classificadas em três grandes partes:

1. Vibração de estiramento: variações das distâncias internucleares que podem ser tanto simétricas como assimétricas;
2. Vibrações de deformação no plano: variações nos ângulos das ligações que também podem ser simétricas ou assimétricas;
3. Vibrações de deformação angular fora do plano molecular: variação nos ângulos das ligações ou das distâncias internucleares.

São ilustrados a seguir algumas das vibrações:

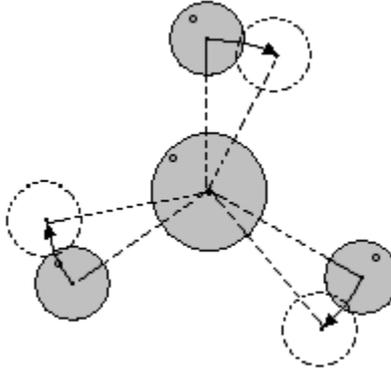
- Estiramento simétrico ou assimétrico (ν_s ou ν_{ass})

Figura 2.7 - Estiramento simétrico em (a) e Estiramento assimétrico em (b) [07]



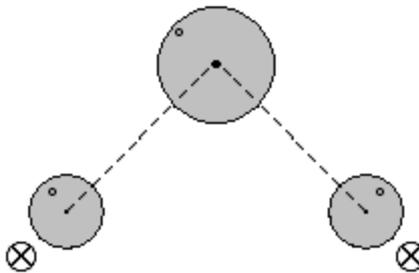
- Torção (τ)

Figura 2.8 - Torção (variação em torno do átomo central) [07]



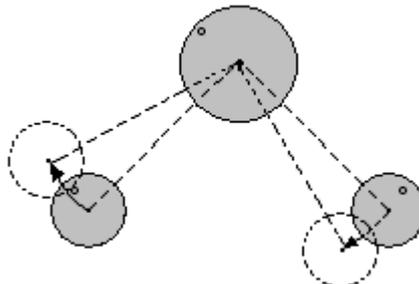
- Wagging (ω)

Figura 2.9 - Dobramento angular tipo wagging [07]



- Rocking (r)

Figura 2.10 - Rocking [07]



3 AMINOÁCIDOS

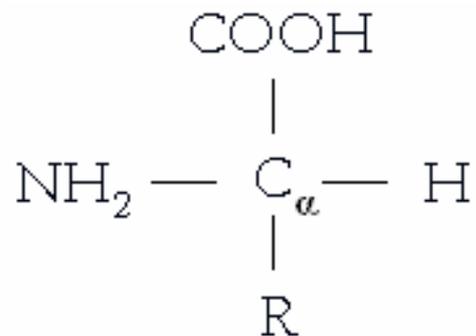
Aminoácidos são unidades básicas, monômeros, que constituem as proteínas. Geralmente são necessários mais de duzentos aminoácidos em cadeia para formar uma proteína e só a forma como os aminoácidos se ligam já é um determinante para cada tipo de proteína.

A sequência de cada aminoácido em uma molécula de proteína é chamada de estrutura primária, a estrutura secundária é caracterizada pelas interações por pontes de hidrogênio entre aminoácidos da cadeia polipeptídica fazendo o filamento protéico se enrolar em uma forma helicoidal, o dobramento da estrutural helicoidal sobre si mesma, devido a diversos tipos de interações (pontes de hidrogênio, de enxofre etc.) entre os radicais dos aminoácidos formam a estrutura terciária e por fim a estrutura quaternária são proteínas formadas por mais de uma cadeia polipeptídica, pois resulta da associação das cadeias [08].

Todos os aminoácidos possuem uma estrutura padrão: um carbono central (carbono alfa - C_α) que possui ligações com um grupo amina (NH_2), um grupo carboxila ($COOH$), um hidrogênio (H) e um radical (R) que caracteriza cada um dos tipos de aminoácidos existentes.

A Figura 3.1 nos mostra a fórmula estrutural plana de um aminoácido na forma neutra.

Figura 3.1 – Representação estrutural de um aminoácido na forma neutra [09]



Existem vários tipos de aminoácidos, mas apenas vinte são necessários diretamente para a vida humana. Desses vinte apenas nove não são sintetizados pelo corpo humano e que recebem o nome de *aminoácidos essenciais*, e são eles: Leucina (Leu), Isoleucina (Iso), Valina (Val), Fenilalanina (Phe), Triptofano (Try), Treonina (Thr), Metionina (Met) e a Lisina (Lys). Agora os outros onze aminoácidos restantes que o corpo humano produz são conhecidos como *aminoácidos não-essenciais*, e são eles: Alanina (Ala), Arginina (Arg), Asparagina (Asn), Ácido Áspartico (Asp), Cisteína (Cys), Ácido Glutâmico (Glu), Glutamina (Gln), Glicina (Gly), Prolina (Pro), Serina (Ser) e a Tirosina (Tyr).

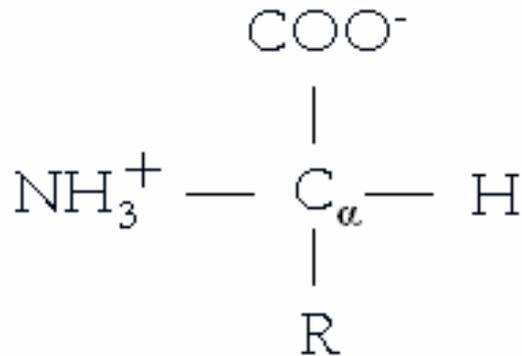
A Tabela 3.1 ilustra bem a diferença de cada aminoácido (o radical **R**) e suas fórmulas moleculares.

Tabela 3.1 – Aminoácidos com suas respectivas abreviações e seus respectivos radicais [12]

| Aminoácido | Abreviação | Radical específico |
|-------------------|-------------------|--|
| Alanina | ALA | CH ₃ |
| Arginina | ARG | NH ₂ C(NH ₂)(CH ₂) ₃ |
| Asparagina | ASN | NH ₃ (CO)(CH ₂) |
| Ácido aspártico | ASP | COOH(CH ₂) |
| Cisteína | CYS | SH(CH ₂) |
| Glutamina | CLN | NH ₂ CO(CH ₂) ₂ |
| Ácido glutâmico | GLU | COOH(CH ₂) ₂ |
| Glicina | CLY | H |
| Histidina | HIS | (C ₃ N ₂ H ₄)CH ₂ |
| Isoleucina | ILEU | (CH ₃) ₂ CH ₂ CH |
| Leucina | LEU | (CH ₃) ₂ CH(CH ₂) |
| Lisina | LYS | NH ₂ (CH ₂) ₄ |
| Metionina | MET | CH ₃ S(CH ₂) |
| Fenilalanina | PHE | (C ₆ H ₅)CH ₂ |
| Prolina | PRO | 3CH ₂ |
| Serina | SER | OH(CH ₂) |
| Treonina | THR | (CH ₃)(OH)CH |
| Triptofano | TRY | (C ₆ H ₄)HNC ₂ HCH ₂ |
| Tirosina | TYR | (OHC ₆ H ₄)CH ₂ |
| Valina | VAL | (CH ₃) ₂ CH |

Quando os aminoácidos estão em solução ou formam uma estrutura cristalina o aminoácido modifica sua fórmula estrutural e acaba ficando em uma forma conhecida como forma zwitteriônica (íon dipolar). Nessa nova forma o grupo carboxílico perde o átomo de hidrogênio que se liga ao grupo amina.

Figura 3.2 – Representação estrutural de um aminoácido na forma zwitteriônica [09]



Os aminoácidos ainda podem ser classificados de acordo com a natureza do radical **R**. Os hidrofóbicos são poucos solúveis em água (Alanina, Leucina, etc.), os hidrofílicos são solúveis em água (Glicina, Asparagina, etc.), os que têm radicais carregados positivos (ácidos), Lisina, Arginina e Histidina e os que têm radicais negativos (básicos), Ácido aspártico e Ácido glutâmico.

Podemos identificar os aminoácidos pelas letras L e D na forma de um prefixo. Quando um aminoácido gira o seu plano de polarização da luz espalhada à esquerda prefixamos a letra L e quando gira o plano de polarização à direita prefixamos a letra D. Observações importantes mostram que apenas a glicina não é opticamente ativa e que apenas os aminoácidos do grupo L é que formam proteínas. Um aspecto interessante dessa divisão é que exclusivamente os aminoácidos com prefixo L são os responsáveis pelos aminoácidos formadores das proteínas.

Com o advento da Espectroscopia Raman, da Difração de Raios X e outras técnicas os aminoácidos começaram a ser estudados na forma de cristais possibilitando o reconhecimento de suas propriedades vibracionais.

A análise dos Espectros Raman se mostra muito eficiente mesmo em aminoácidos que apresentam um número muito grande de modos vibracionais ativos, tornando assim, um pouco complicada a análise desses espectros. De fato, uma vez que eles são formados predominantemente por ligações de hidrogênio, a técnica não só fornece informações a respeito do comprimento das ligações como também informa alterações oriundas de deuteração ou dopagem, devido a sua alta sensibilidade [12]. Além da caracterização dos modos Raman à temperatura ambiente, a técnica de espectroscopia Raman pode ser implementada com a finalidade de se estudar a estabilidade das amostras como função dos parâmetros temperatura, que é o caso do presente trabalho e pressão.

3.1 Alanina

A L-alanina é um dos mais simples aminoácidos quirais, possuindo vários estudos já realizados por diversas técnicas experimentais e computacionais. A L-alanina é um aminoácido glicogênico (converte-se em glicose no fígado), importante fornecedor de energia para os músculos, auxilia a produção de anticorpos pelo sistema imune e é encontrado em abundância no sangue além de possuir um pequeno papel terapêutico nos seres humanos e também apresenta efeitos de redução no colesterol dos ratos [16,17,18].

3.1.1 Revisão bibliográfica sobre L-Alanina

No caso do estudo da Espectroscopia Raman a altas pressões também não são observadas nenhuma transição de fase [27,38] embora a 2,2 GPa os dois parâmetros de célula (a e b) tornar-se acidentalmente iguais uns aos outros, mas a simetria espacial do grupo permanece ortorrômbica e não foram detectados [37], pelo menos, até 12,3 GPa nenhuma transição de fase [22].

Medidas de difração de raios-X neste mesmo cristal foram realizadas e foi observada a amorfização da amostra em torno de 15 GPa [11], sendo a primeira observada em aminoácidos. A forma racêmica da alanina foi estudada até 18 GPa mas não observou-se a amorfização da amostra [10]

Para a L-alanina deuterada já foi observado, além de algumas inversões de intensidade em algumas frequências, a separação de duas bandas de baixa energia no espectro da L-alanina-d7 em aproximadamente 250 K. Tal separação estaria associada a uma transição de fase estrutural do cristal ou, em outra hipótese, a um rearranjo das moléculas na célula unitária, o que confirmaria, nesta segunda hipótese, resultados anteriormente publicados sobre a L-alanina normal [12].

Para a DL-alanina já foi realizada medidas de Espalhamento Raman em baixas temperaturas e foi observado que as bandas tornaram-se mais estreitas. Também não foi observada nenhuma transição de fase pelo menos até 15 K. Entretanto, uma mudança na inclinação de algumas curvas da frequência pela temperatura no intervalo de 210 cm^{-1} a 220 cm^{-1} sugere fortemente que algum tipo de acomodação esteja ocorrendo com as moléculas de alanina na célula unitária. Interessante notar que esse comportamento também já foi observado na L-alanina em aproximadamente 220 K [19].

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 As amostras de L-alanina

Os cristais de L-alanina, usados neste trabalho, foram obtidos através do método da evaporação lenta do solvente, onde este método consiste em misturar o reagente do aminoácido, aos poucos, com água destilada retida em um béquer. A solução foi solubilizada em aproximadamente quarenta minutos com a ajuda de um agitador magnético. Depois de o soluto ser completamente dissolvido, a solução foi depositada em outro béquer e coberta com uma película plástica toda furada para que a água pudesse evaporar. A solução ficou refrigerada em uma temperatura de aproximadamente 25 °C. Todo esse processo demorou cerca de 30 dias. A Figura 4.1 mostra os cristais de L-alanina já crescidos.

Figura 4.1 - Cristais de L-alanina crescidos pelo método da evaporação lenta



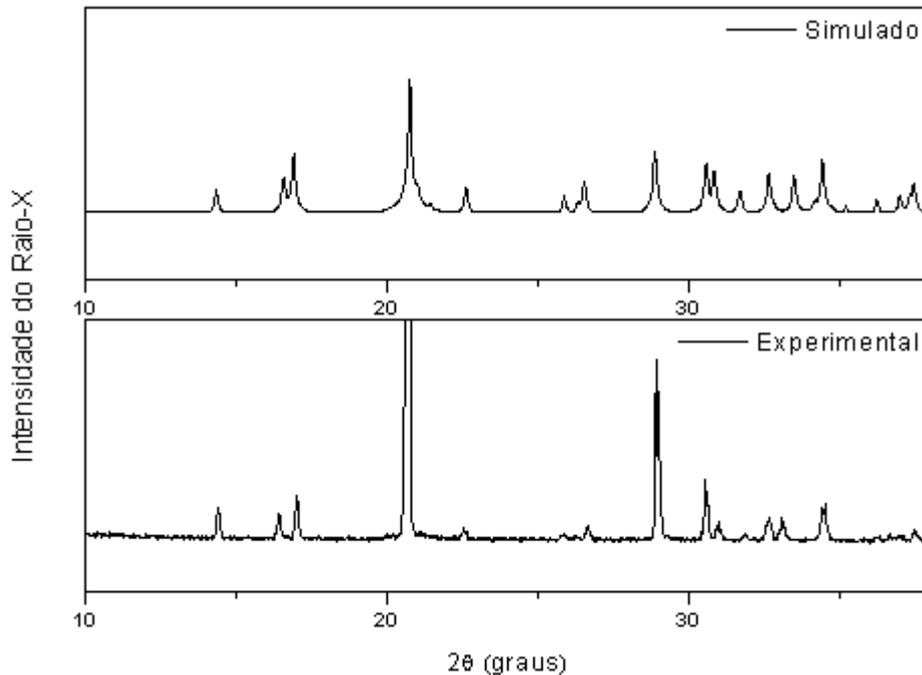
4.1.1. Medidas de difração de raios-X

O cristal foi caracterizado pela técnica de difração de raios-X com o uso do difratômetro do Laboratório de Raios-X do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará.

Este equipamento consiste em um tubo de raios-X (Co) operado a 40 kV e 40 mA. A difração de alta resolução é obtida com um monocromador híbrido de feixe de incidência, que consiste em um espelho e monocromador Ge produzindo um feixe paralelo e altamente monocromático, respectivamente. Os dados foram coletados com Pixcel, segunda geração de tecnologia panalytical para detecção de estado sólido. Podemos ver, na Figura 4.2, a concordância do difratograma experimental com o simulado a partir do arquivo CIF do material.

Para analisarmos a Figura 4.2 foi estudado a caracterização de aminoácidos com difração de Raios-X com mais detalhes em trabalhos já publicados na literatura, como é o caso da referência [21].

Figura 4.2 – Medidas de Difração de Raios-X

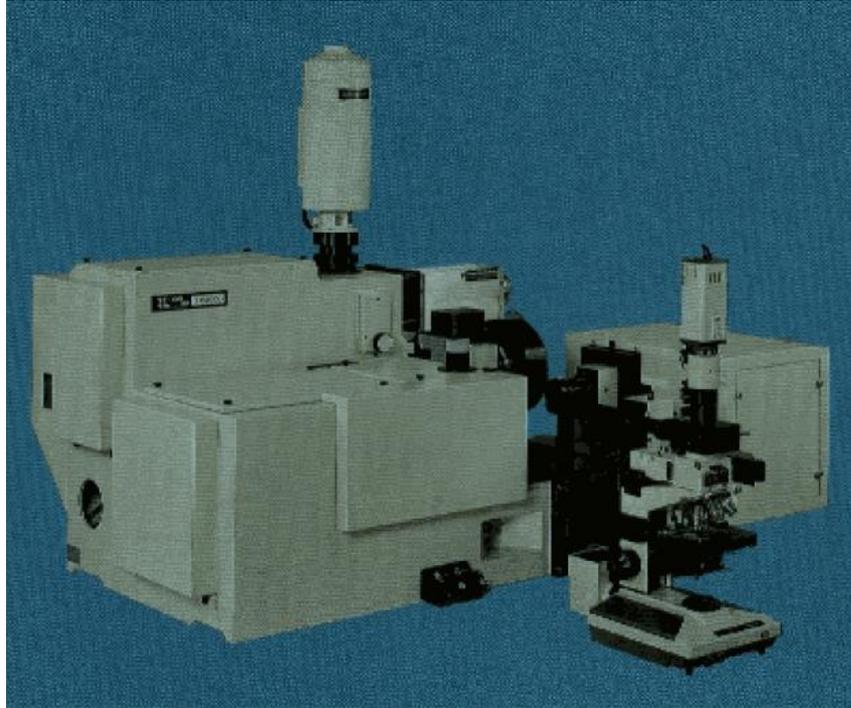


4.2 Medidas de Espectroscopia Raman

4.2.1 Descrição experimental dos equipamentos utilizados nas medidas de Espectroscopia Raman à temperatura ambiente

Para obtermos os Espectros Raman utilizamos um sistema de Micro-Raman usando a geometria de retro-espalhamento. Nas medidas à temperatura ambiente utilizamos um laser de argônio da marca Coherent modelo 70C operando na linha 514,5 nm. Foi utilizado ainda um espectrômetro triplo da Jobin Yvon modelo T64000 trabalhando no modo triplocromador, um detector CCD (coupled charge device) resfriado a nitrogênio líquido, uma câmara de vídeo acoplada a um monitor e um microscópio da marca Olympus com lentes de foco variável. As fendas foram ajustadas de modo a obtermos uma resolução de aproximadamente 2 cm^{-1} . A Figura 4.3 ilustra o espectrômetro utilizado nas medidas de Micro-Raman à temperatura ambiente.

Figura 4.3 - Espectrômetro utilizado nas medidas Raman



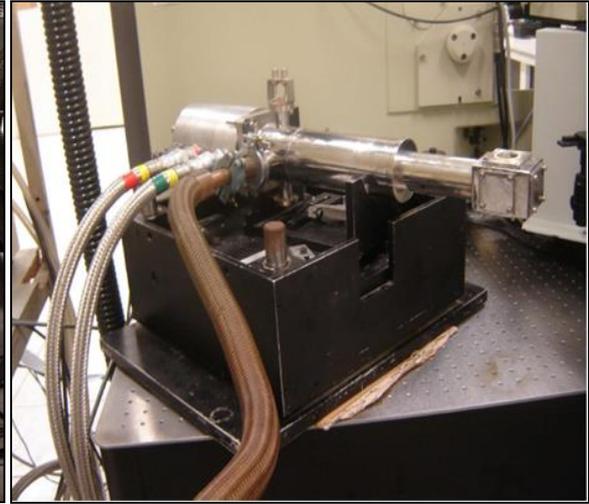
4.2.2 Descrição experimental dos equipamentos utilizados nas medidas de espectroscopia Raman a baixas temperaturas

A Figura 4.4 mostra que para as medidas a baixas temperaturas, além dos equipamentos descritos anteriormente, utilizamos ainda um aparato conhecido como dedo frio, que consiste de uma câmara de vácuo onde é colocada a amostra. O vácuo foi realizado usando uma bomba, que consistia de um motor de propulsão que ao ser acionado retirava o ar contido no dedo frio. A refrigeração da câmara era feita por um sistema de ciclo fechado, um sistema de vácuo modelo E2M8 [Figura 4.4(b)], que bombeia este gás para a ponta do dedo frio permitindo que se atingissem temperaturas de até 15 K. O controle da temperatura foi feito por um criostato modelo DE202S [Figura 4.4(a)].

Figura 4.4 - Sistema de vácuo modelo E2M8 em (a) e criostato modelo DE202S em (b)



(a)



(b)

5 A L-ALANINA À TEMPERATURA AMBIENTE

5.1 Estrutura da L-alanina

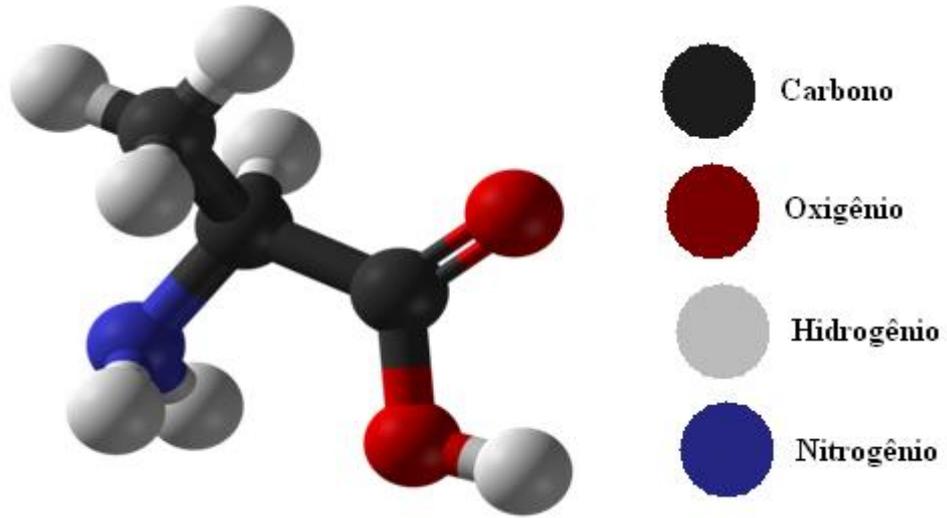
À temperatura ambiente, no estado sólido, a L-alanina encontra-se em uma estrutura ortorrômbica, com grupo espacial $P2_12_12_1(D_2^4)$ [14,24] enquanto a DL-alanina possui grupo espacial $Pna2_1(C_{2v}^9)$ [24]. Os parâmetros da célula unitária são $a = 6,023 \text{ \AA}$, $b = 12,343 \text{ \AA}$, $c = 5,784 \text{ \AA}$, com quatro moléculas por célula unitária [14,24] muito parecidos com os parâmetros da DL-alanina que são $a = 12,04 \text{ \AA}$, $b = 6,04 \text{ \AA}$, $c = 5,81 \text{ \AA}$ [20].

O aminoácido em questão [$CH_3C(NH_3^+)HCO_2^-$] possui todos os três prótons disponíveis do grupo NH^{+3} formando ligações de hidrogênio -N-H- -O com três diferentes moléculas de vizinhos próximos. As ligações entre as moléculas se dão, normalmente, através dos hidrogênios do grupo amina (NH_3), onde um hidrogênio se liga a um oxigênio do tipo 1(O^1) de uma molécula ao nitrogênio da molécula vizinha e os outros dois hidrogênios do tipo 2(O^2) ao nitrogênio. Uma dessas ligações de hidrogênio é responsável pela formação de uma cadeia ao longo do eixo c, enquanto que as outras ligam estas cadeias para formar a rede tridimensional.

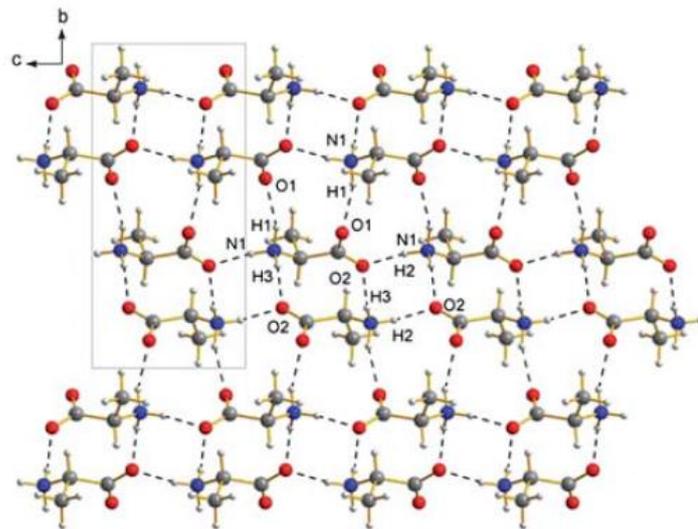
Para facilitar a identificação de cada átomo usaremos as seguintes denominações: $H^{\beta 1}$, $H^{\beta 2}$, $H^{\beta 3}$ representam os átomos de hidrogênio ligados ao carbono beta (C^β), H^α representa o hidrogênio ligado ao carbono alfa (C^α), H^1 , H^2 , H^3 representam os hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio N e os átomos de oxigênio O^1 e O^2 são ligados ao carbono C [12].

A Figura 5.1 mostra a molécula de L-alanina em (a) e a estrutura cristalina em (b).

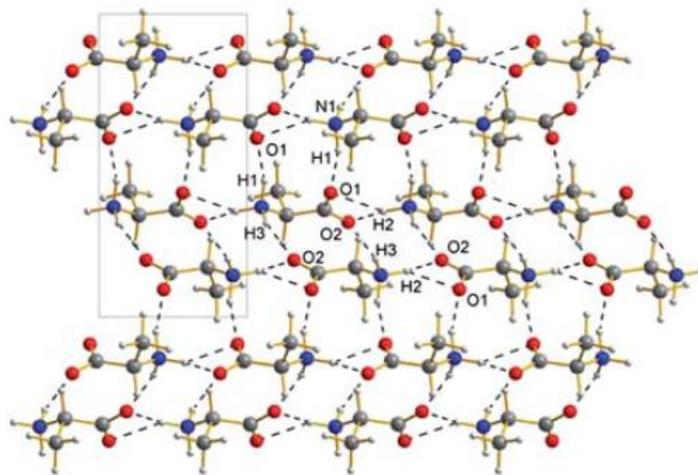
Figura 5.1 - Conformação da molécula isolada de L-alanina em (a), na estrutura cristalina projetada ao longo do eixo c em (b) e na estrutura cristalina projetada ao longo do eixo a em (c) [22]



(a)



(b)



(c)

Por fim, as Tabela 5.1 e Tabela 5.2 mostram de forma bem ilustrativa os valores das ligações assim como os comprimentos das ligações bioquímicas da L-alanina.

Tabela 5.1 – Ângulos entre ligações da L-alanina [12].

| Ligações | Ângulo (graus) | Ligações | Ângulo (graus) |
|---|----------------|--|----------------|
| C - C ^α - C ^β | 106,94(13) | C ^β - C ^α - H ^α | 110,33(18) |
| C - C ^α - N | 108,15(19) | H ¹ - N - H ² | 110,37(18) |
| C - C ^α - N | 108,20(18) | H ¹ - N - H ³ | 110,40(15) |
| C ^α - C ^β - H ^{β1} | 108,25(27) | H ² - N - H ³ | 110,57(18) |
| C ^α - C ^β - H ^{β2} | 108,36(28) | H ^{β2} - C ^β - H ^β | 110,65(22) |
| C ^α - C ^β - H ^{β3} | 108,55(13) | H ^{β1} - C ^β - H ^{β2} | 111,07(8) |
| C ^α - C - O ¹ | 108,90(26) | H ^{β2} - C ^β - H ^{β2} | 111,33(15) |
| C ^α - C - O ² | 109,05(14) | N - C ^α - C ^β | 115,97(9) |
| C ^α - N - H ¹ | 109,40(13) | N - C ^α - H ^α | 118,39(9) |
| C ^α - N - H ² | 109,74(13) | O ¹ - C - O ² | 125,65(10) |
| C ^α - N - H ³ | 110,05(7) | | |

Tabela 5.2 – Comprimento das ligações bioquímicas da L-alanina [12].

| Ligações | Comprimento (Å) | Ligações | Comprimento (Å) |
|----------------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| C - O ¹ | 1,242(2) | C - C ² | 1,258(1) |
| C ^α - C | 1,531(1) | C ^α - C ^β | 1,524(1) |
| C ^α - H ^α | 1,093(2) | C ^α - N | 1,487(1) |
| C ^β - H ^{β1} | 1,081(3) | C ^β - H ^{β2} | 1,082(3) |
| C ^β - H ^{β3} | 1,081(3) | N - H ¹ | 1,029(2) |
| N - H ² | 1,047(2) | N - H ³ | 1,031(3) |

5.2 Teoria de grupos para o cristal de L-alanina

A célula unitária da L-alanina possui quatro moléculas com 13 átomos cada e pertence ao grupo espacial D_2^4 . Da tabela 6A da referência [23] encontra-se que todos os sítios tem simetria C_1 ocupados com quatro átomos. Da tabela 6B da mesma referência tem-se que os

quatro átomos de cada sítio C_1 contribuem com 12 modos de vibração entre as representações irreduzíveis do grupo D_2^4 da seguinte forma: $3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3$. Como os 52 átomos da célula unitária ocupam 13 sítios $C_1(4)$ a representação total, Γ , dos modos de vibração da L-alanina decomposta em termos das representações irreduzíveis do grupo D_2^4 é:

$$\Gamma = 13(3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3) = 39A + 39B_1 + 39B_2 + 39B_3 \quad (5.1)$$

Tabela 5.3 - Caracteres do grupo D_2 [23]

| D_2 | E | C_2^z | C_2^y | C_2^x | Infravermelho | Raman |
|-------|----------|---------|---------|---------|----------------------|-----------------|
| A | 1 | 1 | 1 | 1 | | x^2, y^2, z^2 |
| B_1 | 1 | 1 | -1 | -1 | T_z, R_z | xy |
| B_2 | 1 | -1 | 1 | -1 | T_y, R_y | xz |
| B_3 | 1 | -1 | -1 | -1 | T_x, R_x | yz |

Da Tabela 5.3 tem-se que a representação dos modos acústicos (translação da célula unitária nas direções x, y e z) é:

$$\Gamma_{acústico} = B_1 + B_2 + B_3 \quad (5.2)$$

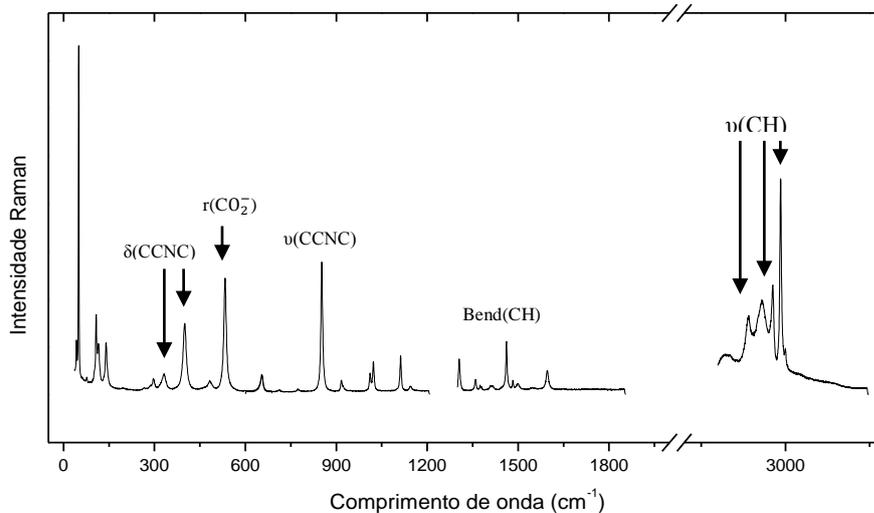
Subtraindo-se os modos acústicos (Equação 5.2) da representação total (Equação 5.1) obtêm-se a representação dos modos ópticos:

$$\Gamma_{óptico} = 39A + 38B_1 + 38B_2 + 38B_3 \quad (5.3)$$

5.3 Classificação dos modos Raman à temperatura ambiente

O ponto crucial na caracterização de cristais por meio de Espectroscopia Raman é a classificação das bandas observadas, ou seja, associar a vibração a que pertence determinada banda. Para a classificação dos modos da L-alanina foi tomado como base trabalhos prévios da L-alanina [24-26,28-30]. A Figura 5.2 mostra as medidas realizadas de Espectroscopia Raman da L-alanina na região espectral de 30 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} .

Figura 5.2 – Espectros Raman à temperatura ambiente da L-alanina



A classificação dos modos foi feita tentativamente por comparação com resultados de outros trabalhos na L-alanina [34,35].

Para analisarmos todas as regiões da Figura 5.2, a mesma sendo dividida em sete regiões (Figura 6.1 até a Figura 6.7), foi estudado a caracterização de aminoácidos com a Espectroscopia Raman com mais detalhes em trabalhos já publicados na literatura, como é o caso da referência [31] e também foi feito um estudo em livros da área como é o caso das referências [32,33].

A região espectral entre 40 cm^{-1} e 140 cm^{-1} possui uma quantidade razoável de bandas muito intensas que são originadas pelas vibrações da rede conhecidos também como modos externos. Em 296 cm^{-1} classificamos um modo com torção do CH_3 [$\tau(\text{CH}_3)$]. Entre 331 cm^{-1} e 654 cm^{-1} encontram-se algumas vibrações associadas ao esqueleto da estrutura como a seguinte deformação no CCNC [$\delta(\text{CCNC})$ em 331 cm^{-1} e 339 cm^{-1}], a torção no NH_3^+ [$\tau(\text{NH}_3^+)$ em 481 cm^{-1}], o rocking no CO_2^- [$r(\text{CO}_2^-)$ em 532 cm^{-1}] ou wagging no CO_2^- [$\omega(\text{CO}_2^-)$ em 653 cm^{-1} e 654 cm^{-1}]. Entre 852 cm^{-1} e 1022 cm^{-1} destacamos os estiramentos simétricos e assimétricos do CCNC [$\nu(\text{CCNC})$ em 852 cm^{-1} , $\nu_{\text{ass}}(\text{CCNC})$ em 917 cm^{-1} e $\nu_{\text{s}}(\text{CCNC})$ em 1011 cm^{-1} e 1022 cm^{-1}]. Em 1112 cm^{-1} percebemos um rocking do NH_3^+ [$r(\text{NH}_3^+)$]. Entre 1305 cm^{-1} e 1596 cm^{-1} podemos observar bendings do CH [Bend(CH) em 1305 cm^{-1} e 1482 cm^{-1}], deformações do CH_3 [$\delta(\text{CH}_3)$ em 1359 cm^{-1} , 1354 cm^{-1} , 1379 cm^{-1} e 1461 cm^{-1}] e o estiramento simétrico do CO_2^- [$\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$ em 1408 cm^{-1} e 1416 cm^{-1}]. E finalmente na região de 2888 cm^{-1} até 2999 cm^{-1} observamos uma repetição do estiramento do CH [$\nu(\text{CH})$]. A Tabela 5.4 apresenta os valores encontrados das frequências dos modos e a classificação dos mesmos [34,35].

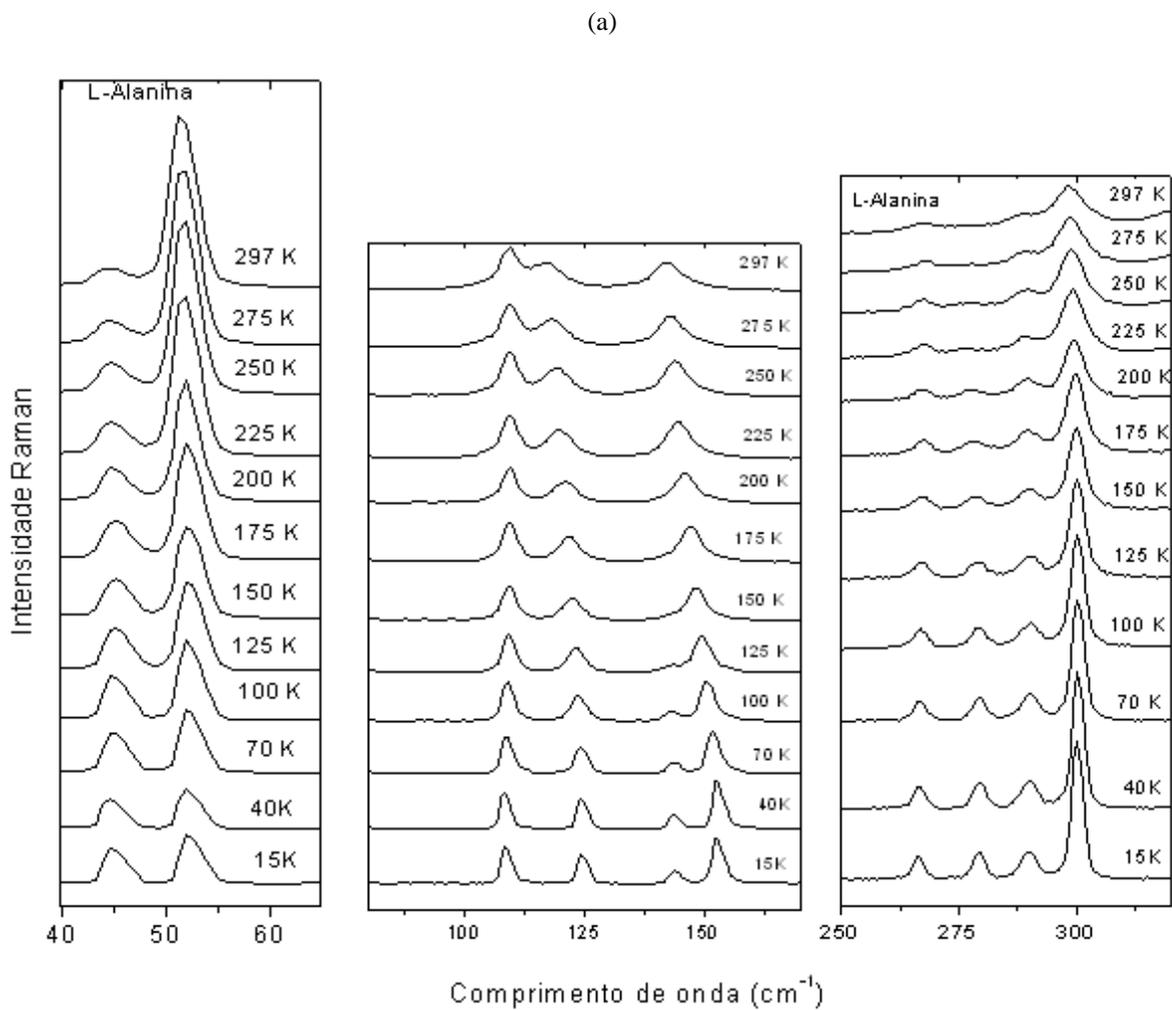
Tabela 5.4 - Identificação dos modos normais de vibração da L-alanina à temperatura ambiente

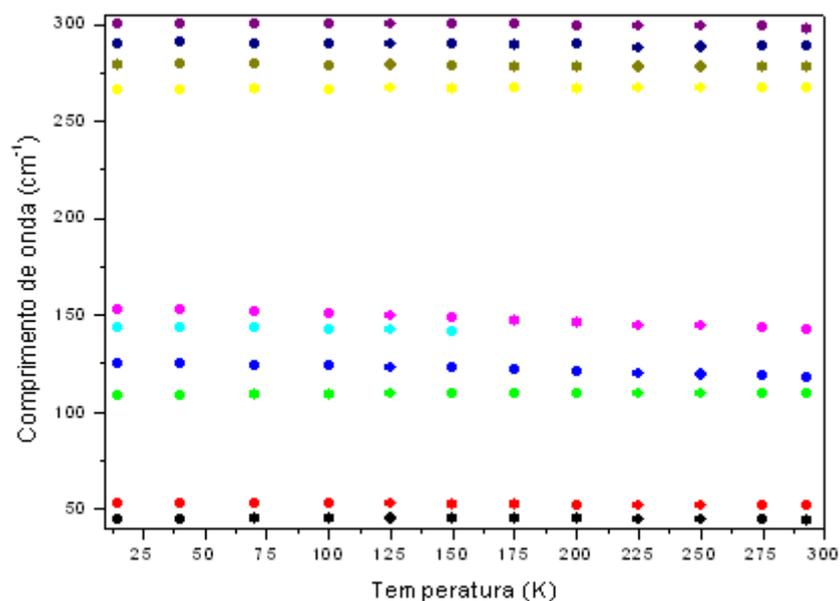
| Número de onda (cm^{-1}) | Classificação | Número de onda (cm^{-1}) | Classificação |
|--|---------------------------------|--|-----------------------------------|
| 41 | Rede | 1022 | $\nu_s(\text{CCNC})$ |
| 49 | Rede | 1305 | Bend(CH) |
| 99 | Rede | 1359 | $\delta_s(\text{CH}_3)$ |
| 107 | Rede | 1374 | $\delta(\text{CH}_3)$ |
| 115 | Rede | 1379 | $\delta(\text{CH}_3)$ |
| 140 | Rede | 1408 | $\nu_s(\text{CO}_2^-)$ |
| 296 | $\tau(\text{CH}_3)$ | 1416 | $\nu_s(\text{CO}_2^-)$ |
| 331 | $\delta(\text{CCNC})$ | 1461 | $\delta(\text{CH}_3)$ |
| 399 | $\delta(\text{CCNC})$ | 1482 | Bend(CH) |
| 481 | $\tau(\text{NH}_3^+)$ | 1596 | $\nu_{\text{ass}}(\text{CO}_2^-)$ |
| 532 | $r(\text{CO}_2^-)$ | 2888 | $\nu(\text{CH})$ |
| 653 | $\omega(\text{CO}_2^-)$ | 2930 | $\nu(\text{CH})$ |
| 654 | $\omega(\text{CO}_2^-)$ | 2962 | $\nu(\text{CH})$ |
| 852 | $\nu(\text{CCNC})$ | 2986 | $\nu(\text{CH})$ |
| 917 | $\nu_{\text{ass}}(\text{CCNC})$ | 2999 | $\nu(\text{CH})$ |
| 1011 | $\nu_s(\text{CCNC})$ | | |

6 A L-ALANINA A BAIXAS TEMPERATURAS

Foram realizadas medidas de Espectroscopia Raman em cristais de L-alanina desde 297 K até 15 K (Decrescentemente). Na Figura 6.1 são mostrados os Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 30 cm^{-1} a 300 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b).

Figura 6.1 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 30 cm^{-1} a 300 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b)





Com a diminuição da temperatura alguns dos modos deslocam-se ligeiramente para valores de maior número de onda. Verificamos também que os modos ficam mais acentuados e enquanto uns ficam mais intensos outros ficam menos intensos. É importante destacar que na temperatura ambiente o modo centrado em torno de 142 cm^{-1} se divide em dois com o abaixamento da temperatura, porém essa ocorrência não confirma nenhuma transição de fase. É importante destacar que o desaparecimento de um modo da rede é um indício de que o material esteja sofrendo uma transição de fase, mas este evento não foi observado nem em medidas anteriores de Infravermelho [15] realizadas até 23 K. Medidas de difração de raios X indicaram uma anisotropia na compressão com deformação das ligações de hidrogênio intermoleculares, mas a temperatura mais baixa atingida nestas medidas foi 23K.

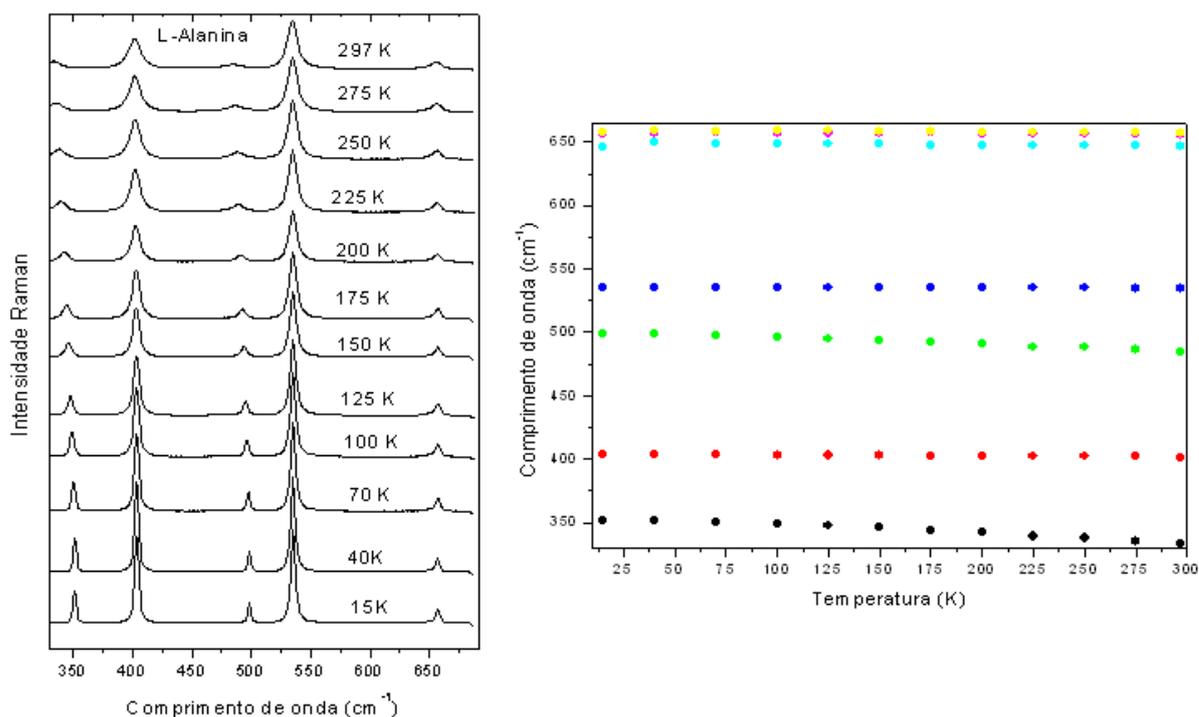
A Figura 6.2 mostra a evolução dos Espectros Raman da L-alanina em função da temperatura para a região espectral entre 325 cm^{-1} e 700 cm^{-1} em (a) e o gráfico das frequências em função da temperatura em (b).

Figura 6.2 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 325 cm^{-1} a 700 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em

(b)

(a)

(b)



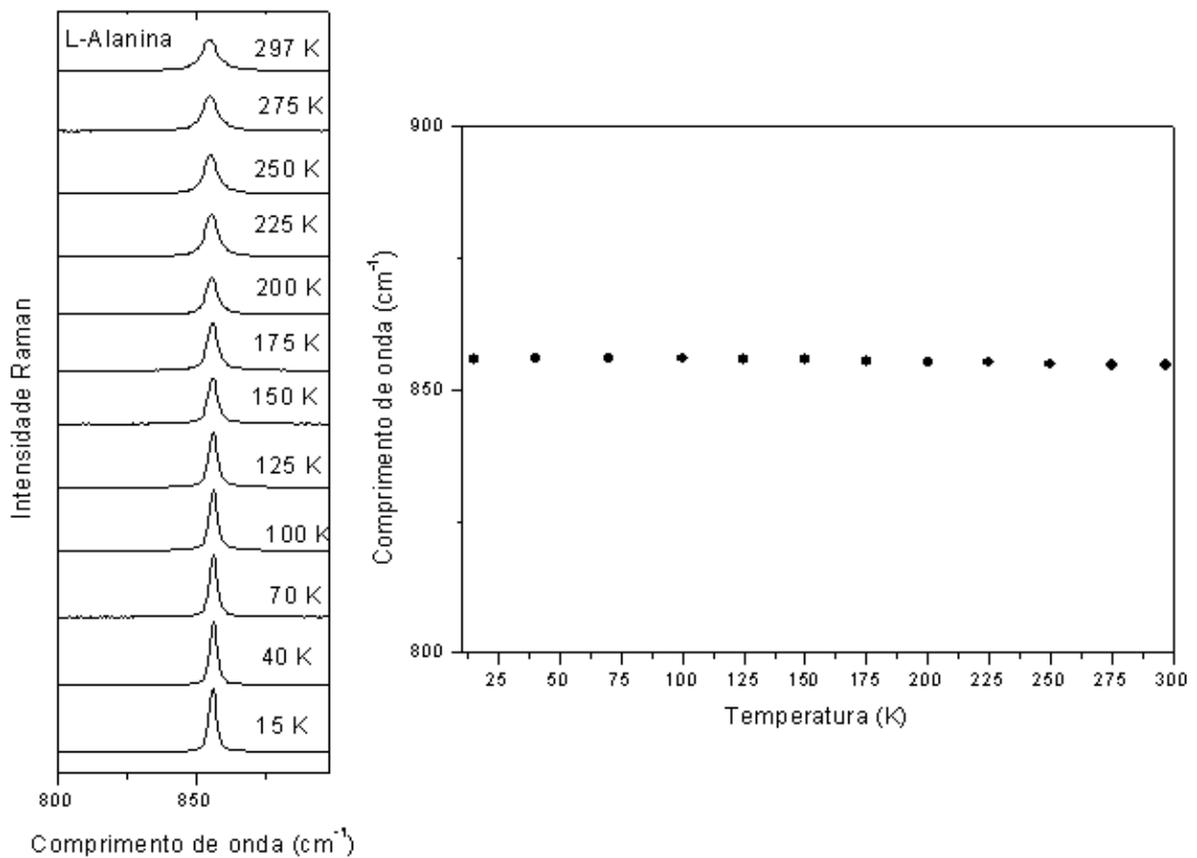
Em temperatura ambiente percebemos cinco modos: um em 296 cm^{-1} , associado à torção do NH_3 , [$\tau(\text{CH}_3)$], outro em 399 cm^{-1} , que foi classificado como uma deformação [$\delta(\text{CCNC})$], outro em 296 cm^{-1} , associado à torção do NH_3 , [$\tau(\text{CH}_3)$], um modo em 532 cm^{-1} relacionado com o rocking do CO_2^- [$r(\text{CO}_2^-)$] e outro em 665 cm^{-1} . Com o abaixamento da temperatura as bandas vão ficando mais estreitas e intensas. Destacamos um comportamento bem linear dessa região mostrando que também não há nenhuma transição de fase. A Figura 6.3 mostra a evolução dos Espectros Raman da L-alanina em função da temperatura para a região entre 700 cm^{-1} e 900 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em (b).

Figura 6.3 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 700 cm^{-1} a 900 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em

(b)

(a)

(b)

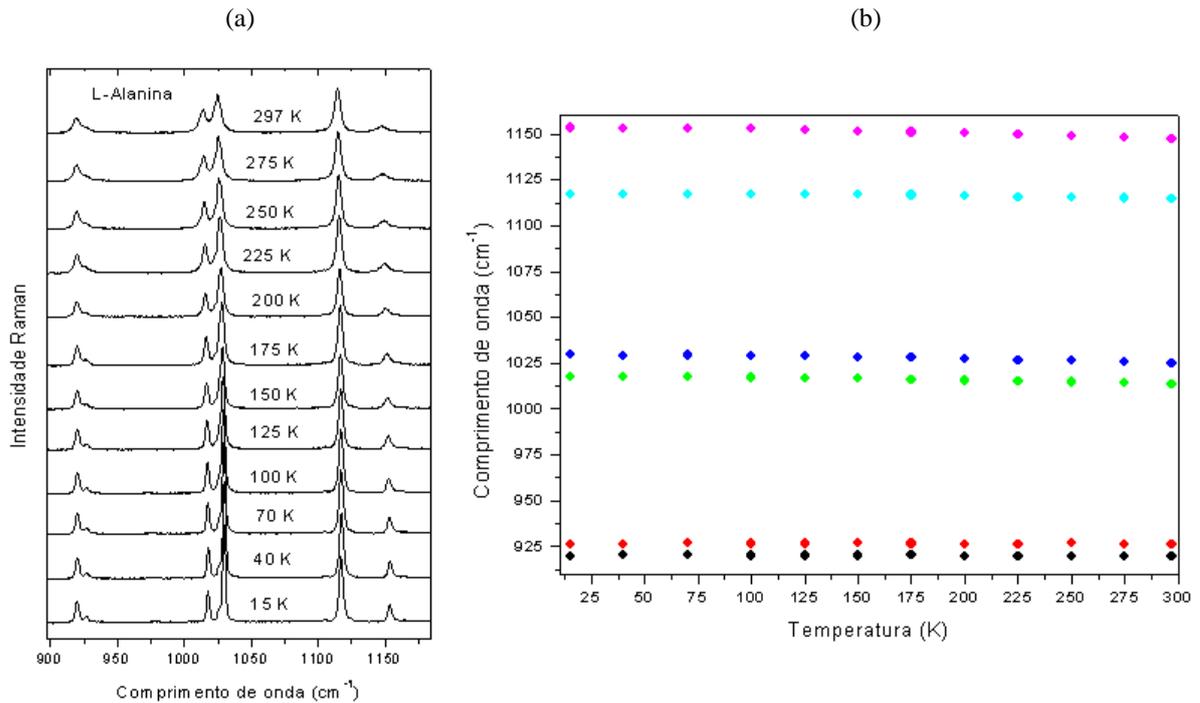


Nesta região em questão também não foram observadas mudanças significativas. E apenas percebemos um modo que é um de grande intensidade que é o estiramento do CCNC [$\nu(\text{CCNC})$]. De um modo geral os modos ficam mais intensos e mais estreitos.

A Figura 6.4 mostra a evolução dos Espectros Raman de L-alanina para a região entre 900 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} e o gráfico da frequência em função da temperatura.

Figura 6.4 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 900 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em

(b)



Nessa região vemos três pares de modos que aumentam a intensidade e se estreitam mais com o baixar da temperatura. Nos modos 1011 cm⁻¹ e 1022 cm⁻¹ percebemos um estiramento simétrico do CCNC [$\nu_s(\text{CCNC})$].

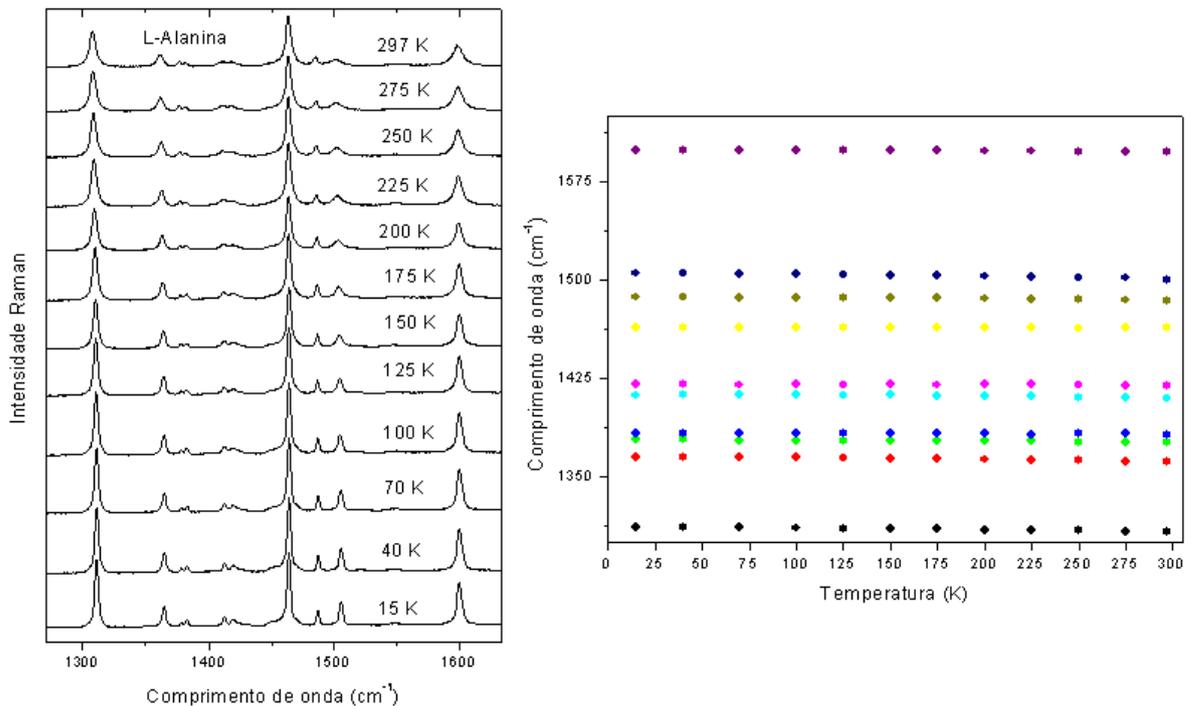
Na próxima figura, Figura 6.5, nós vemos uma nova divisão de região. A seguinte análise mostra que há muitos modos nessa região que vai de 1200 cm⁻¹ a 1750 cm⁻¹.

Figura 6.5 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 1200 cm⁻¹ a 1750 cm⁻¹ em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em

(b)

(a)

(b)



Outra região de nenhuma mudança significativa, porém cheia de modos que se acentuam aumentam a intensidade com o decréscimo da temperatura. Percebemos cerca de dez modos que se comportam de forma muito linear de acordo com a Figura 6.5(b). Três modos se mostram bem aparente e que se comportam exatamente como relatado, os quais são: um bending do CH por volta de 1305 cm^{-1} uma deformação do CH_3 em 1461 cm^{-1} e um estiramento assimétrico do CO_2^- em 1596 cm^{-1} .

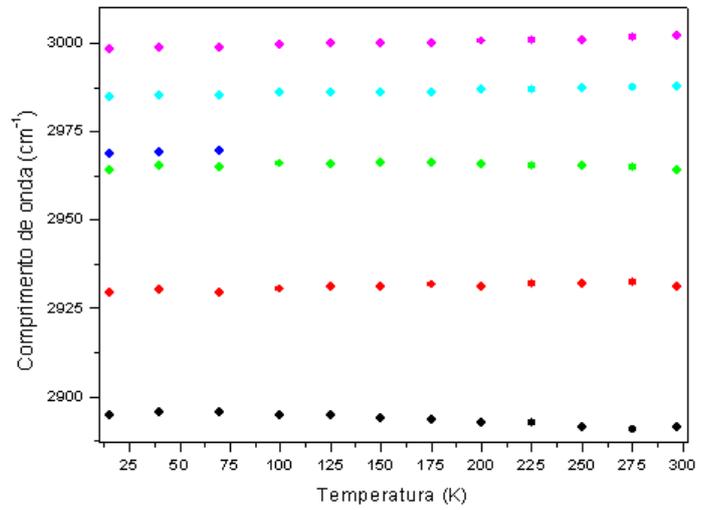
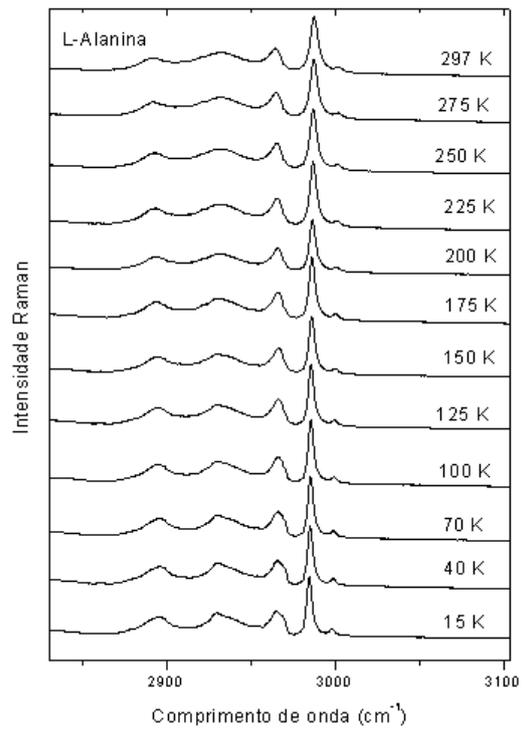
Por fim, na última região espectral estudada aqui neste trabalho, não foi observada nenhuma grande mudança também, apenas o estreitamento de alguns modos como o caso do estiramento do CH em torno de 2965 cm^{-1} . Outro fato interessante é que toda essa região é conhecida como região de estiramento do CH, pois todos os modos são relacionados a esse tipo de estiramento.

Figura 6.6 - Espectros Raman do aminoácido em questão em função da temperatura na região inicial dos modos de 2750 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} em (a) e o gráfico da frequência em função da temperatura para essa mesma região em

(b)

(a)

(b)



7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1 Conclusões

Foram obtidos cristais de L-alanina pelo método da evaporação lenta do solvente e realizadas medidas de espectroscopia Raman à temperatura ambiente. Foi feita uma classificação dos modos normais de vibração baseando-se em outros trabalhos já publicados na literatura.

Medidas de espectroscopia Raman foram realizadas a baixas temperaturas no intervalo de 297 K até 15K (de forma decrescente). A ausência de modificações nos espectros dos modos da rede não indica nenhuma possível transição de fase estrutural. Os modos apresentaram uma dependência linear com o parâmetro temperatura.

7.2 Perspectivas

Como perspectivas deste trabalho, propomos realizar medidas de espectroscopia Raman e de difração de raios-X em L-alanina a altas temperaturas.

Revisitar outros aminoácidos já estudados.

REFERÊNCIAS

- [01] DONOSO, J. P. **Datas e personagens na história da espectroscopia**. Disponível em: <http://www.ifsc.usp.br/~donoso/espectroscopia/Historia.pdf> > Acesso em: 19 de Nov. 2014.
- [02] SALAS, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 1 ed. São Paulo. Editora UNESP: 1996.
- [03] GRIFFITHS, D. J. **MECÂNICA QUÂNTICA**. Tradução Lara Freitas. 2 ed. São Paulo: 2011.
- [04] Laser. Disponível em: <http://reinventaromundo.com.sapo.pt/Laser/Laser.htm>>. Acesso em: 19 de Nov. 2014.
- [05] RÊGO, F. S. C. **Medidas de Espalhamento Raman em Cristais de α -Glicina a baixas temperaturas**. Monografia. 2013, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- [06] PEREIRA, J. E. M. **Análise Térmica e Espectroscopia Raman à Temperatura Ambiente de Cristais L-histidina**. Monografia. 2012, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- [07] FERNANDES, C. R. **Espalhamento Raman dependente da temperatura em cristais de ácido DL-Aspártico**. Dissertação de Mestrado. 2010, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- [08] AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. **BIOLOGIA DAS CÉLULAS**. Vol 1. 1 ed. São Paulo. Editora Moderna: 1994.
- [09] JÚNIOR, J. A. L. **Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-Metionina e DL-Alanina e de Nanotubos de Carbono**. Tese de Doutorado. 2008, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- [10] BELO, E. A.; et. al. **high pressure Raman spectra of racemate dl-alanine crystals**. Vibrational Spectroscopy. 2010. 54: p. 107-111.
- [11] FUNNELL, N. P.; MARSHALL, W. G.; PARSONS, S. **Alanine at 13,6 GPa and its pressure-induced amorphisation at 15 GPa**. Crystengcomm, 2011. 13(19): p. 5841-5848.
- [12] SOUZA, J. M. **Espalhamento Raman em cristal de taurina parcialmente deuterado e de policristais de L-alanina parcial e totalmente deuterados em função da temperatura**. Tese de Doutorado. 2005, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- [13] SIMPSON, H. J.; MARSH, R. E. **The Crystal Structure of L-Alanine** Acta cryst., 20:550, 1966.
- [14] TUMANOV, N. A. et. al. **X-ray diffraction and Raman study of DL-alanine at high pressure: revision of phase transitions**. ActaCryst. 2012. 68: p. 412 – 423.

- [15] MARSH, R. E.; DESTRO, R.; BIANCHI, R. **A Low-Temperature (23 K) Study of L Alanine**. Journal of Physical Chemistry, 1988. 92: p. 966-973.
- [16] **L-Alanina: Ação Terapêutica** Disponível em:
<<http://www.farmacam.com.br/monografias/lalanina%20farmacam.pdf>>. Acesso em: 19 de Nov. 2014.
- [17] **Alanina**. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Alanina>>. Acesso em: 19 de Nov. 2014.
- [18] CINTRA, A. **Aminoácidos na nutrição equina**. Disponível em:
<<http://pitamarissa.wordpress.com/2009/04/22/aminoacidos-na-nutricao-equina/>>.
Acesso em: 19 de Nov. 2014.
- [19] BARTHES, M.; et al., **Breathers or structural instability in solid L-alanine: A new IR and inelastic neutron scattering vibrational spectroscopic study**. Journal of Physical Chemistry A, 2002. 106(21): p. 5230-5241.
- [20] DONOHUE, J. **The Crystal Structure of DL-Alanine .2. Revision of Parameters by 3-Dimensional Fourier Analysis**. Journal of the American Chemical Society, 1950. 72(2): p. 949-953.
- [21] MATEI, A. et. al. **Far-infrared spectra of amino acids**. Chemical Physics. 2005. 316: p. 61 – 71.
- [22] FUNNELL, N. P. et. al. **Alanine at 13.6 GPa and its pressure-induced amorphisation at 15 GPa**. CrystEngComm. 2011. 13: p. 5841 – 5848.
- [23] ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P.; PORTO, S. P. S. **Normal Mode Determination in Crystals**. Journal of Raman Spectroscopy, 1981. 10: p. 253-290.
- [24] SIMPSON, H. J.; MARSH, R. E. **The Crystal Structure of L-Alanine**. Acta Cryst., 1966. 20:p. 550-555.
- [25] KANEKO, N. et. al. **Temperature-Dependent Infrared Study on L- and DL- α -Alanine**. Bulletin of the chemical society of Japan. 1975. 48: p. 1961 – 1964.
- [26] MIGLIORI, A.; MAXTON, P. M.; CLOGSTON, A. M.; ZIRNGIELB, E.; LOWE, M. **Anomalous temperature dependence in the Raman spectra of l-alanine: Evidence for dynamic localization**. Physical Review B, 1988. 18.
- [27] FUNNELL, N. P. et. al. **The effect of pressure on the crystal structure of L-alanine**. CrystEngComm. 2010. 12: p. 2573 – 2583.
- [28] KOLESOV, B. A.; BOLDYREVA, E. V. **Raman-Spectroscopic Study of L-Alanine Single Crystals in the Temperature Range of 3-300 K**.

- [29] LEHMANN, M. S.; KOETZLE, T. F.; HAMILTON, W. C. **Precision Neutron Diffraction Structure Determination of Protein and Nucleic Acid Components. I. The Crystal and Molecular Structure of the Amino Acid L-Alanine.** 1971.
- [30] MACHIDA, K.; KAGAYAMA, A.; SAITO, Y.; UNO, T. **Polarized Raman Spectra and intermolecular potential of L-alanine crystal.** *Spectrochimica*, 1978. 34: p. 909 – 914.
- [31] JENKINS, A. L. et. al. **Characterization of amino acids using Raman spectroscopy.** *Spectrochimica*. 2004. 61: p. 1585 – 1594.
- [32] KITTEL, C. **Introdução à Física do Estado Sólido.** Tradução Ronaldo Sérgio de Biasi. 8 ed. Rio de Janeiro. LTC: 2013
- [33] ASHCROFT, N. W.; MERMIN, N. D. **FÍSICA DO ESTADO SÓLIDO.** Tradução Maria Lucia Godinho de Oliveira. São Paulo. Cengage Learning: 2011.
- [34] WANG, C. H.; STORMS, R. D. **Temperature-Dependent Raman Study and Molecular Motion in L-Alanine Single Crystal.** *The Journal of Chemical Physics*, 1971. 7.
- [35] MOORE, W. H.; KRIMM, S. **Vibrational Analysis of Peptides, Polypeptides, and Proteins. II β -Poly(L-alanine) and β -Poly(L-alanyl-glycine).** *Biopolymers*, 1976. 15.
- [36] JÚNIOR, J. A. L. et. al. **Raman scattering of L-valine crystals.** *Journal of Raman Spectroscopy*. 2005. 36: p. 1076 – 1081.
- [37] TUMANOV, N. A. et. al. **Pressure-induced phase transitions in L-alanine, revisited.** *ActaCryst*. 2010. 66: p. 458 – 471.
- [38] TEIXEIRA, A. M. R. et. al. **High-pressure Raman study of l-alanine crystal.** *Solid State Communications*. 2000. 116: p. 405 – 409.