



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

FREDERICO JEFFERSON PASSOS VILANOVA

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DO CRISTAL DE
D-TREONINA**

TERESINA - PI

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

FREDERICO JEFFERSON PASSOS VILANOVA

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DO CRISTAL DE
D-TREONINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da UFPI como requisito necessário para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Gardênia de Sousa Pinheiro

TERESINA - PI

2019

Dedicatória

Dedico esse trabalho a todos meus familiares e amigos, em especial, aos meus avós que muito se dedicaram a minha formação e a minha companheira pelo todo carinho e apoio.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelo suporte total em todos os momentos;

À minha avó, Lucia Rosa, e ao meu avô, Antônio Milton, que se encontram com Deus neste momento, pela dedicação e ajuda para minha criação e formação. Pois, hoje sou um homem de bem pelos ensinamentos que vocês me deram com muito amor e atenção;

À minha mãe que mesmo longe sempre me aconselhou e me ajudou nos momentos mais difíceis;

À minha companheira Tamires pelo amor, suporte e atenção nas dificuldades e nos bons momentos de alegria que tivemos;

À minha grande orientadora professora Gardênia de Sousa Pinheiro pela ajuda, dedicação, compreensão e esforços a minha formação;

Ao professor Pimentel pelos ensinamentos e despertar para formação de pensamento mais crítico.

Ao professor Valdemiro pela paciência e dedicação na melhoria dos meus trabalhos e na minha formação;

Aos professores Dr. Alejandro Pedro Ayala (Departamento de Física - UFC) e Dr. Francisco Ferreira de Sousa (Instituto de Física - UFPA) pela disponibilização dos equipamentos utilizados na realização desse trabalho;

Aos meus colegas da universidade Gislayllson, José Ferreira, José Avelar, Wjefferson, Laécio, Guilherme, Rosilene, Thaís, Nefe, Maria Lúcia, Lucas Oliveira, Ramon, Orlando e Rodrigo pela ajuda em diversas situações.

Resumo

As propriedades estruturais e vibracionais do cristal de D-treonina foram investigadas, utilizando difração de raios-X de monocristal, cálculos DFPT e espectroscopia Raman. A estrutura do cristal de D-treonina foi determinada, pertencendo ao grupo espacial $P2_12_12_1$ (D_2^4). Com relação às propriedades vibracionais do cristal estudado, os números de onda calculados reproduziram com boa concordância os resultados experimentais, o que permitiu realizar a atribuição dos modos normais de vibração do cristal. Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de D-treonina na região espectral entre 30 e 3400 cm^{-1} desde a temperatura ambiente até a temperatura de 8 K. Com a redução da temperatura, nenhuma mudança nos espectros foi verificada, além de variações na intensidade e estreitamento das bandas. Os modos vibracionais apresentaram comportamento do 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 D-treonina, e tal estabilidade foi explicada em termos das ligações de hidrogênio presentes no cristal.

Palavras-chaves: D-treonina, espectroscopia Raman, DFPT.

Abstract

The structural and vibrational properties of the D-threonine crystal were investigated using single-crystal X-ray diffraction, DFPT calculations and Raman spectroscopy. The structure of the D-threonine crystal was determined, belonging to the space group $P2_12_12_1$ (D_2^4). Concerning to the vibrational properties of the studied crystal, the calculated wavenumbers reproduced the experimental results with good agreement, which allowed to realize the assignment of the vibrational modes of crystal. Raman spectroscopy experiments were performed on the D-threonine crystal in the spectral region between 30 and 3400 cm^{-1} from room temperature to 8 K. With decreasing temperature, no change in spectra was verified, in addition to variations in intensity and narrowing of bands. The vibrational modes presented wavenumber behavior adjusted according to a linear equation whose independent parameter was temperature. The evolution of the Raman spectra with temperature shows no evidence of a structural transition undergone by the D-threonine crystal, and such stability has been explained in terms of the hydrogen bonds present in the crystal.

Keywords: D-threonine, Raman spectroscopy, DFPT.

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura geral do α -aminoácido.....	3
Figura 2: Formas L e D da alanina.	4
Figura 3: Difração de raios-X em um cristal.	10
Figura 4: Modos de aplicação do método de Laue.	12
Figura 5: Diferença de dois caminhos para raios espalhados.	12
Figura 6: Diagrama de Representação Espalhamento Raman e Rayleigh.....	14
Figura 7: Cristais de D-treonina.	17
Figura 8: Difratorômetro de raios-X D8 Venture, da Bruker Optics.....	18
Figura 9: Monocristal utilizado no experimento de difração de raios-X.....	19
Figura 10: Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman.....	21
Figura 11: Estrutura da molécula de D-treonina.	23
Figura 12: (a) Cella unitária do cristal de D-treonina com as respectivas identificações atômicas; (b) Cella unitária vista ao longo do eixo-b, mostrando as ligações de hidrogênio não-lineares (com relação ao plano ac).	23
Figura 13: Padrão de difração da D-treonina.....	25
Figura 14: Padrão de difração da L-treonina.	25
Figura 15: Espectros Raman calculado e experimental do cristal de D-treonina na região espectral 30 - 550 cm^{-1}	28
Figura 16: Espectros Raman calculado e experimental do cristal de D-treonina na região espectral 550 - 1150 cm^{-1}	30
Figura 17: Espectros experimental e calculado do cristal de D-treonina na região espectral 1150 - 1800 cm^{-1}	32
Figura 18: Espectros experimental e calculado do cristal de D-treonina na região espectral 2600 - 3400 cm^{-1}	33
Figura 19: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 30-240 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.	36
Figura 20: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 30-240 cm^{-1}	37
Figura 21: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 240-600 cm^{-1} para diversos valores de temperatura.	38

Figura 22: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 240-600 cm^{-1}	40
Figura 23: Espectros Raman do cristal de D-treonina para diversos valores de temperatura na região espectral 600-1150 cm^{-1}	41
Figura 24: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 600-1150 cm^{-1}	42
Figura 25: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 1150-1800 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.	43
Figura 26: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 1150-1700 cm^{-1}	45
Figura 27: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 2600-3400 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.	46
Figura 28: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 2600-3400 cm^{-1}	47

Lista de Tabelas

Tabela 1: Aminoácidos proteicos.	4
Tabela 2: Dados cristalográficos da D-treonina.	22
Tabela 3: Parâmetros das ligações intramoleculares da molécula de D-treonina.....	24
Tabela 4: Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal de D-treonina.	24
Tabela 5: Números de ondas experimentais e calculados pelo método DFPT dos modos Raman do cristal de D-treonina e suas respectivas classificações.....	27
Tabela 6: Coeficientes do ajuste linear para os modos Raman do cristal de D-treonina pertencente a região espectral 30-3400 cm ⁻¹ para valores de temperatura entre 8 e 300 K.	48

Sumário

Capítulo 1 – Introdução	1
Capítulo 2 – Aminoácidos	3
2.1 – Aminoácidos.....	3
2.2 – Treonina: Uma revisão bibliográfica.....	6
Capítulo 3 – Fundamentação Teórica.....	9
3.1 – Difração de Raios-x.....	9
3.2 – Teoria do funcional da densidade (DFPT)	12
3.3 – Espectroscopia vibracional.....	13
Capítulo 4 – Metodologia.....	17
4.1 – O cristal de D-treonina	17
4.2 – Experimentos de Difração de Raios-X.....	17
4.3 – Cálculos Computacionais	19
4.4 – Experimentos de Espectroscopia Raman	20
Capítulo 5 – Propriedades Estruturais e Vibracionais do Cristal de D-treonina a Temperatura Ambiente	22
5.1 – Propriedades Estruturais do Cristal de D-Treonina	22
5.2 – Propriedades Vibracionais no cristal de D-treonina a temperatura ambiente	26
5.3 – Considerações Finais	34
Capítulo 6 – Propriedades Vibracionais do Cristal de D-treonina em Função da Temperatura	35
6.1 – Região espectral de 30 e 240 cm^{-1}	35
6.2 – Região espectral de 240 a 600 cm^{-1}	38
6.3 – Região espectral de 600 a 1150 cm^{-1}	40
6.4 – Região espectral de 1150 a 1800 cm^{-1}	43
6.5 – Região espectral de 2600 a 3400 cm^{-1}	45

6.6 – Discussão.....	50
6.7 – Considerações finais.....	50
Capítulo 7 – Conclusões e Perspectivas	52
7.1 – Conclusões.....	52
7.2 – Perspectivas	52
Referências Bibliográficas.....	53

Capítulo 1 – Introdução

Aminoácidos são basicamente ‘blocos de construção’ formadores de proteínas. Em todas as espécies, as proteínas são cadeias constituídas de vinte aminoácidos (ditos proteicos). Assim como as enzimas, as proteínas participam de uma larga variedade de reações químicas, e são vitais no ciclo produtivo de energia básica, transferência de energia e atividade muscular [1].

As propriedades ópticas, vibracionais e estruturais de cristais de aminoácidos têm sido observadas com mais relevância atualmente [2]. Pois o conhecimento de suas propriedades é bastante importante para as indústrias em diversas áreas, como na indústria farmacêutica na síntese de medicamentos, na indústria cosmética, na agricultura como antiestressantes e compostos que auxiliam no crescimento do vegetal (triptofano, por exemplo) [3,4]. A arginina possibilita o crescimento da cana-de-açúcar e a metionina auxilia na maturação dos frutos e senescência vegetal [3,4]. Os aminoácidos também são utilizados em alimentos, em bebidas e como flavorizantes [1,5].

Na natureza encontramos aminoácidos nos seres vivos, incluindo plantas e animais. A maioria das plantas atualmente produz os aminoácidos necessários para sua sobrevivência. No entanto, os seres humanos e os animais não conseguem produzir todos os aminoácidos de que necessitam e devem ingeri-los para manutenção de algumas funções de seus organismos [5].

Aminoácidos podem ser metabolizados para produzir energia, agem como neurotransmissores e participam como material para biossíntese de neurotransmissor, hormônios, entre outros componentes bioquímicos [6]. Eles são divididos em duas classes proteicos e não proteico [7].

A treonina, objeto de estudo desse trabalho, é um aminoácido essencial em humanos, adquirido através da alimentação e importante para muitas proteínas, como colágeno e elastina. Além disso, a treonina ajuda no funcionamento do intestino e no alívio de ansiedade e depressão. A falta desse nutriente causa disfunções neurológicas. Este aminoácido também é usado em tratamentos como distúrbios genéticos e esclerose múltipla. Nos alimentos pode-se encontrar este aminoácido em produtos que possui carne, queijo *cottage* e germe de trigo [8].

No capítulo 2 será mostrado as características de um aminoácido de uma forma mais geral, abordando características estruturais. Além disso, são apresentados os estudos já realizados no cristal de D-treonina. No capítulo 3 é apresentada a fundamentação teórica sobre

os métodos e técnicas experimentais utilizadas nesse trabalho, que consiste na Teoria Perturbacional do Funcional da Densidade (DFPT), difração de raios-X de monocristal e espectroscopia Raman. No capítulo 4 serão apresentados a metodologia e procedimentos experimentais utilizados no desenvolvimento desse trabalho. Em seguida, no capítulo 5 será apresentado os resultados das propriedades estruturais e vibracionais do cristal de D-treonina a temperatura ambiente, de acordo com os resultados experimentais e computacionais obtidos. No capítulo 6, serão mostrados os resultados das propriedades vibracionais do cristal de D-treonina a baixas temperaturas. Além disso, são apresentadas as conclusões e as perspectivas futuras deste trabalho.

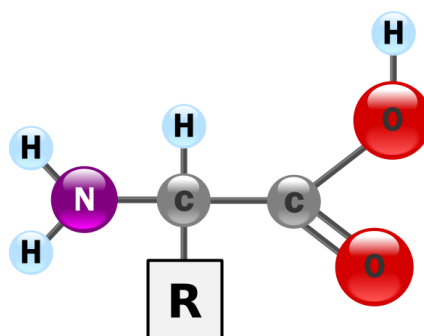
Capítulo 2 – Aminoácidos

Neste capítulo serão discutidas informações sobre aminoácidos e trabalhos relacionados com a espectroscopia Raman, alguns em função da temperatura e outros em função da pressão, dos cristais de metionina, leucina, cisteína e da treonina. Vale ressaltar que foram realizadas comparações dos isômeros de parte destes cristais. No caso da treonina, foco principal desta pesquisa, apresentou-se resultados dos espectros Raman, observados em outros trabalhos, para a forma D e L deste cristal em função da temperatura e da pressão hidrostática.

2.1 – Aminoácidos

Os aminoácidos possuem em sua estrutura dois grupos funcionais: $-\text{COOH}$ e $-\text{NH}_2$. Os mais importantes para os seres vivos são os α -aminoácidos, que possuem tais grupos ligados ao mesmo átomo de carbono, chamado de carbono alfa (C_α). Com exceção da glicina, todos os outros aminoácidos são quirais, que são opticamente ativos [9]. A estrutura geral de um aminoácido alfa é $\text{R-CHNH}_2\text{-COOH}$, como representado na Figura 1. O radical R caracteriza os diferentes tipos de aminoácidos como $\text{R}=\text{H}$ para glicina, $\text{R}=\text{CH}_3$ para alanina, $\text{R}=\text{CH}_2\text{-OH}$ para serina etc. [10]. A Tabela 1 lista os vinte aminoácidos proteicos [9].

Figura 1: Estrutura geral do α -aminoácido.



Fonte: Retirada da Ref. [15].

Os aminoácidos que estão presentes nas proteínas possuem, em sua maioria, carbonos alfas. Este carbono está ligado a quatro grupos químicos que são amino, ácido carboxílico, hidrogênio e radical. Além disso, os aminoácidos podem ser encontrados nas formas isoméricas L, D e DL. A Figura 2 mostra a diferença dos isômeros L e D no caso da alanina. Em certas condições de temperatura e pressão, cada isômero pode apresentar um comportamento diferente. Um bom exemplo são os cristais de L-alanina e D-alanina, que apresentam estrutura

ortorrômbica pertencendo ao grupo espacial D_2^4 ($P2_12_12_1$) [11,12], enquanto que a DL-alanina cristaliza-se em uma estrutura ortorrômbica com grupo espacial C_{2v}^9 ($Pna 2_1$) [11].

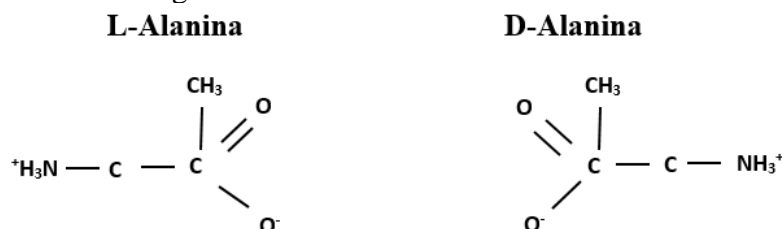
O cristal de L-alanina foi estudado por espectroscopia Raman em condições de altas pressões, onde o mesmo apresenta uma transição de fase estrutural em torno de 2,3 GPa [11].

Tabela 1: Aminoácidos proteicos.

Aminoácidos	Símbolo	Radical (R)	Classe do Radical
Glicina	Gly	H-	Hidrocarboneto
Alanina	Ala	CH ₃ -	Hidrocarboneto
Valina	Val	(CH ₃) ₂ CH-	Hidrocarboneto
Isoleucina	Ile	(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₂ -	Hidrocarboneto
Leucina	Leu	(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₂ -	Hidrocarboneto
Serina	Ser	OHCH ₂ -	Álcool
Treonina	Thr	OHCH(CH ₃)-	Álcool
Cisteína	Cys	HSCH ₂ -	Enxofre
Metionina	Met	H ₃ CSCH ₂ CH ₂ -	Enxofre
Asparagina	Asn	H ₂ NCOCH ₂ -	Amida
Glutamina	Gln	H ₂ NCOCH ₂ CH ₂ -	Amida
Arginina	Arg	HN=C(NH ₂)NH(CH ₂) ₃ -	Básico
Lisina	Lys	H ₂ N(CH ₂) ₄ -	Básico
Histidina	His	HN=CHNH-	Básico
Fenilalanina	Phe	C ₆ H ₅ CH ₂ -	Aromático
Tirosina	Tyr	HOC ₆ H ₅ CH ₂ -	Aromático
Triptofano	Trp	C ₆ H ₄ HNHC=CH ₂ -	Aromático
Prolina	Pro	H ₂ CCH ₂ CH ₂ -	Amina Secundária
Ácido Aspártico	Asp	HOOCCH ₂ -	Ácido
Ácido Glutâmico	Glu	HOOCCH ₂ CH ₂ -	Ácido

Fonte: Retirada da Ref. [1].

Figura 2: Formas L e D da alanina.



Fonte: Retirada da Ref. [6].

O isômero do mesmo aminoácido foi estudado por Belo [12], que observou a ocorrência de transições de fase entre 1,5 e 1,8 GPa e entre 3,6 e 4,4 GPa. Na forma racêmica (DL), Belo

sugere uma mudança conformacional em 1,1 GPa associada ao grupo CH₃ das moléculas de alanina [13].

As formas D e L do cristal de treonina são isoestruturais e apresentam padrões de difração de raios-x idênticos [14]. Os diferentes isômeros do cristal de treonina (formas L e D) também apresentam comportamentos diferentes em condições de altas pressões. A D-treonina experimenta duas transições estruturais: a primeira no intervalo de 1,9 a 2,4 GPa e a segunda entre 5,1 e 6,0 GPa [15]. Além disso, uma mudança conformacional na região 3,5 a 4,3 GPa é observada. Já o cristal de L-treonina [15] apresenta três transições de fase no regime de altas pressões: no intervalo de 1,1 a 1,6 GPa, entre 8,2 e 9,2 GPa e, finalmente, entre 14,0 e 15,5 GPa. No entanto, no intervalo de pressão estudado, ocorrem diversas mudanças conformacionais [2].

Outro aminoácido que possui interessantes propriedades é a metionina. Os cristais das formas D e L cristalizam-se na estrutura monoclinica e pertencem ao grupo espacial $P2_1 (C_2^2)$ [16,17]. A L-metionina, quando estudado por espectroscopia Raman em baixas temperaturas (de 17 a 300 K) [17], não apresenta mudança conformacional ou estrutural. Em contrapartida, em altas pressões hidrostáticas, o cristal sofre uma transição estrutural de fase em torno de 2,1 GPa com histerese de aproximadamente 0,8 GPa. O cristal de D-metionina [18] experimenta duas transições em altas pressões (de 0 a 7 GPa): em torno de 2 GPa e 2,5 GPa, no qual esta última transição apresenta uma histerese de 1,06 GPa

A leucina em suas formas L e DL também possui interessantes propriedades. A L-leucina [19] cristaliza-se em uma estrutura monoclinica pertencendo ao grupo espacial $P2_1 (C_2^2)$. Em um estudo realizado usando espectroscopia Raman em função da temperatura (de 290 a 413 K) [19], a L-leucina apresentou indícios de uma transição de fase em 353 K. A altas pressões, o mesmo cristal apresenta duas transições de fases no intervalo de 0 a 4 GPa. A primeira na região de 0 a 0,46 GPa, e está relacionada com modificações nas unidades CH e CH₃. Enquanto que a segunda ocorre entre 0,80 e 1,46 GPa, e é caracterizada pelo aparecimento de modos vibracionais na região de baixos números de onda [20]. O cristal de DL-leucina [21], pertencente ao grupo espacial triclínico $P\bar{1} (C_i^1)$ e com duas fórmulas por célula unitária, foi estudado por espectroscopia Raman submetido a altas pressões (de 0 a 4,9 GPa). Acredita-se que o cristal sofre uma transição de fase estrutural reversível entre 2,4 e 3,2 GPa, relacionada com o aparecimento de bandas e descontinuidades nos gráficos de número de onda *versus* pressão hidrostática. Além disso, a partir de 3,2 GPa foi observado o aumento do número de bandas relacionadas com os modos internos.

Segundo Silva Junior [22], o cristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado, que cristaliza-se em uma estrutura ortorrômbica com grupo espacial $D_2^4 (P2_12_12_1)$, quando submetido a baixas temperaturas não apresenta nenhuma transição de fase estrutural. No entanto este cristal apresentou algumas descontinuidades relacionadas com as unidades OH, NH_3^+ e CH_2 entre regiões -60 e -20°C que foram associadas a mudanças conformacionais na molécula de L-cisteína.

Um exemplo interessante de comportamento diferentes em altas pressões é o cristal de cisteína. A L-cisteína pode cristalizar-se em duas estruturas (monoclínica ou ortorrômbica). Curiosamente, dependendo do polimorfo investigado, o efeito da pressão pode ser muito diferente. A forma monoclínica, por exemplo, apresenta duas transições de fase estruturais até 6,5 GPa (em 2,9 e 3,9 GPa), apresentando mudanças contínuas na conformação molecular [23]. A fase ortorrômbica do cristal de L-cisteína apresenta uma transição de fase entre 2,0 e 2,5 GPa, acompanhada de distorção das ligações de hidrogênio e alteração substancial da conformação das moléculas de cisteína [23]. Assim, comparando esses dois cristais, temos que as diversas ligações de hidrogênio juntamente com as interações entre os grupos sulfidríla produzem diferentes comportamentos cristalinos a altas pressões. Já a forma racêmica da cisteína (DL-cisteína) também foi estudada em altas pressões até 6,5 GPa [24]. Neste último caso foram observadas quatro transições de fase estruturais, com mudança de orientação/ordenação de grupos sulfidríla (-SH) [25].

Existem vários estudos sobre o cristal de treonina nas suas formas D e L. Neste trabalho apenas será analisado a forma D. No entanto, para base de comparação, serão mostrados também alguns estudos feitos na forma L.

2.2 – Treonina: Uma revisão bibliográfica

A treonina é um aminoácido essencial para os seres humanos e abundante no sangue humano especialmente nos recém-nascidos. Além disso, esse aminoácido estimula o crescimento da glândula timo, ajudando na defesa celular. A deficiência desta substância afeta na função neurológica, como visto em experimentos com animais [8].

Existem outros trabalhos que determinam a quantidade necessária digestiva da treonina para o desenvolvimento de certos animais. Por exemplo, em um estudo realizado por Pozza *et al.* [26], onde foi determinada a quantidade necessária de treonina para leitões de 15 aos 30 Kg. Outro trabalho bem similar ao anterior, realizado por Umigi *et al.* [27], determinou níveis digestíveis para codornas.

A estrutura da L-treonina (fórmula molecular $C_4H_9NO_3$) foi determinada através de difração de raios-X em 1950 por Shoemaker *et al.* [28]. O cristal de L-treonina apresenta estrutura ortorrômbica, pertencendo ao grupo espacial D_2^4 ($P2_12_12_1$) e com 4 moléculas por célula unitária. A célula unitária determinada nesse estudo possui dimensões $a = 13,628$, $b = 7,682$ e $c = 5,110$ Å [28].

As propriedades ópticas do cristal de L-treonina também foram estudadas por Rodrigues *et al.* [29], onde foram investigadas não linearidades ópticas de segunda e terceira ordem deste cristal. Esse estudo teve como objetivo principal analisar alguns materiais com alta não-linearidade óptica para aplicações em geração de harmônicos, amplitude, modulação de fase e outros dispositivos relacionados. Nesse trabalho também foi obtido o espectro de absorção deste aminoácido (entre 250 e 1500 nm). Os autores concluíram que a eficiência de conversão do segundo harmônico da L-treonina é similar aos cristais de KDP, muito utilizados em dispositivos. Além disso, foi observado que o índice de refração não-linear, para o cristal é $10^{-20} m^2/W$ e possui uma forte dependência com a polarização do feixe do laser.

Um trabalho realizado por Calhoun *et al.* [30] estudou a purificação da L-treonina desaminase biossintética a partir de um mutante geneticamente inativo da bactéria *Escherichia coli* K-12. Essa purificação permitiu que se obtivesse miligramas da substância estudada com o objetivo de obter-se algumas propriedades físicas de certos parâmetros. A determinação do peso molecular, por exemplo, que apresentou um valor de 204,000 g/mol e também a taxa de sedimentação da L-treonina demaminase que foi analisada em gradientes de sacarose em intervalos de pH entre 6,5 e 10,0.

Rizzi *et al.* [31] estudaram a estrutura e as propriedades magnéticas do aminoácido L-treonina complexado com o íon Co(II), denominado de $Co(L-Thr)_2$. A estrutura desse complexo foi resolvida por difração de raios-X e suas propriedades eletrônicas e interações magnéticas foram analisadas por espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR). O cristal de $Co(L-Thr)_2$ cristaliza-se em uma estrutura ortorrômbica, pertencendo ao grupo espacial $C222_1$ com quatro unidades por célula unitária. A magnetização molar (M) do cristal foi medida em função da temperatura (no intervalo de 2,0 a 90 K) *versus* o campo magnético H . Neste experimento foi encontrado o valor da saturação de magnetização $M_{sat}/(N\mu_B) = 2,19$, que consiste em uma aproximação de altos campos magnéticos para baixas temperaturas. Além disso, observou-se também que M cresce para grandes intensidades de campo magnético. Tomando os resultados de EPR e analisando o espectro da amostra, observa-se que os picos

ampliam em altas temperaturas e desaparecem em temperaturas próximas de 50 K. Com isso, acredita-se que seja um indício de transição entre os estados de *spin doublet*.

O cristal de L-treonina foi estudado anteriormente em condições extremas de altas temperaturas e altas pressões [15,32]. No intervalo de 298 a 384 K, o cristal de L-treonina mostrou-se estável e o perfil do espectro foi mantido no intervalo estudado [32]. Quando submetido a altas pressões (da pressão ambiente até 27,0 GPa) [15], o cristal de L-treonina apresentou diversas modificações que foram associadas a transições de fase e mudanças conformacionais. Entre 1,1 e 1,6 GPa, modificações na região dos modos da rede foram observadas e associadas a uma transição de fase estrutural. Entre 4,8 e 6,0 GPa, observou-se outra transição de fase relacionada com o aparecimento e o desaparecimento de modos em todas as regiões do espectro. Entre 8,2 e 9,2 GPa e entre 14,0 e 15,5 GPa foi observado o aparecimento e desaparecimento de alguns modos, além de descontinuidades na evolução do número de onda de algumas bandas. Essas modificações foram atribuídas a transições de fase estrutural. Finalmente, entre 20,0 e 22,4 GPa, o aparecimento de alguns modos vibracionais e descontinuidades no número de onda de alguns modos foram associados a uma mudança conformacional [15].

O cristal de D-treonina foi estudado anteriormente em condições de altas pressões (até 8,5 GPa) [15,33] através de espectroscopia Raman, onde observou-se que o cristal apresentava duas transições de fase estruturais: entre 1,9 e 2,4 GPa e entre 5,1 e 6,0 GPa. Além disso, descontinuidades nos gráficos de número de onda versus pressão e mudanças na intensidade de alguns modos internos sugerem uma mudança conformacional entre 3,5 e 4,3 GPa [33].

Capítulo 3 – Fundamentação Teórica

3.1 – Difração de Raios-X

Em 1895, o físico alemão Roentgen descobriu os raios-X, no qual foi nomeado assim pela sua natureza desconhecida. O raio-X é uma radiação eletromagnética da mesma natureza da luz, com comprimento de onda na faixa de 0,5 - 2,5 Å, enquanto a luz visível possui comprimento de onda da ordem de 6000 Å [34]. Observou-se também que os raios-X têm maior poder de penetração do que a luz e pode passar através de vários objetos como, por exemplo, o corpo humano [34].

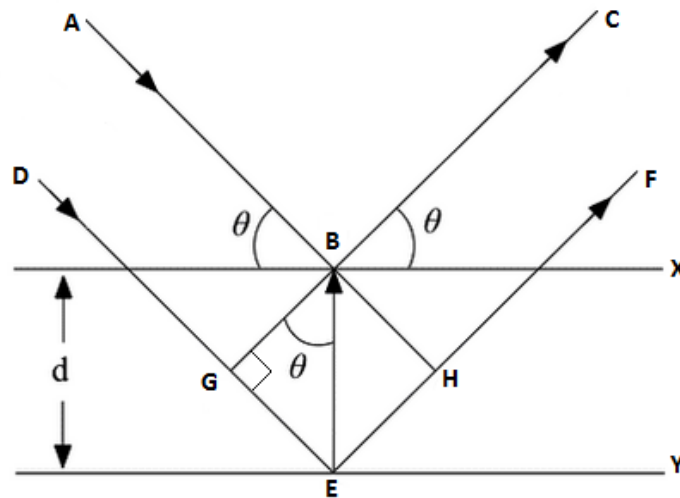
Em 1912, o fenômeno de difração de raios-X em cristais foi descoberto e com isso o mesmo passou a ser utilizado para estudos de diversas estruturas da matéria. Antes da descoberta da difração, físicos e engenheiros estudavam objetos sobre uma fonte de raios-X com um filme fotográfico, que se chamava de radiografia. No entanto, a radiografia não possuía tantas informações, pois a ordem de grandeza era na faixa de 10^{-1} cm, enquanto que na difração eram revelados detalhes estruturais na ordem de 10^{-8} cm [34].

3.1.1 – Lei de Bragg

Difração de raios-X de monocristal é uma técnica analítica não destrutiva, baseada na interferência de raios-X, que fornece informações detalhadas sobre a estrutura de substâncias cristalinas. Essa técnica permite analisar desde a célula unitária, até posições atômicas e detalhes de sítio de simetria. Vale ressaltar que os resultados obtidos na difração de raios-X devem ser refinados para obter-se a estrutura cristalina [35].

Os dados obtidos de uma amostra contêm milhares de reflexões e esta interação da amostra com o raios-X produz interferências construtivas que satisfazem as condições da lei de Bragg. Os arranjos espaciais estão relacionados com o padrão de difração, e estes possuem uma transformada de Fourier recíproca para uma rede cristalina e uma célula unitária no espaço real [35]. A Figura 3 ilustra o espalhamento das ondas de raios-X em uma estrutura cristalina.

Figura 3: Difração de raios-X em um cristal.



Fonte: Retirada da Ref. [37].

Para materiais cristalinos, intensos picos de radiação espalhada são observados e conhecidos como picos de Bragg. A condição para a formação desses picos é que os raios-X devem ser refletidos por íons em qualquer plano da rede cristalina e que as reflexões dos planos sucessivos interfiram construtivamente. A diferença de caminho dos raios para um certo ângulo de incidência leva a seguinte condição de Bragg [36]:

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta, \quad (1)$$

onde n é a ordem da reflexão, que pode assumir valores inteiros positivos e não-nulos. Os valores de λ e d correspondem ao comprimento de onda da radiação espalhada e a distância entre os planos da rede, respectivamente. Vale ressaltar que para cada conjunto desses valores existem vários ângulos de incidência θ_i [34].

A lei de Bragg pode ser aplicada de duas maneiras para analisar uma estrutura. A primeira é utilizando os raios-X (comprimento de onda conhecido λ) e medindo θ para obter-se o espaço d entre os planos do cristal. De outro modo, pode-se usar um cristal de espaçamento conhecido, em seguida realizar a medição de θ e, finalmente, determinar o comprimento de onda λ da radiação utilizada [36].

A curva da intensidade da radiação espalhada em função de 2θ vai depender do tipo de estrutura que está sendo estudada. Para estruturas cristalinas, a intensidade é zero em muitos ângulos, exceto onde ocorre o máximo de ondas difratadas. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, observa-se o mesmo padrão de difração da estrutura de D-treonina obtida neste

trabalho. Em estruturas amorfas ou líquidas como no caso da sílica (SiO₂), que possuem uma falta de periodicidade e de ordenação, o pico característico de difração é muito diferente do que o de um cristal [37,38].

3.1.2 – Método de Laue

O método de Laue consiste em incidir sobre o cristal um feixe de radiação branca cujo ângulo de Bragg fixo para um conjunto de planos no cristal. Com isso, cada conjunto difrata em um particular comprimento de onda, para valores d e θ . Isto é, cada feixe difratado possui um diferente comprimento de onda [34].

O método de Laue pode ser aplicado de duas formas. A Figura 4 mostra o esquema, o primeiro (Figura 4(a)) consiste no posicionamento de um filme à frente do cristal, onde o feixe é lançado e os raios difratados são gravados nos filmes. O segundo (Figura 4(b)) consiste no posicionamento do filme entre a fonte de raios-X e o cristal, onde a onda incidente passa através de um buraco no filme e os raios difratados na direção do filme são coletados [34].

A condição de Laue difere da Lei de Bragg, pois não requer nenhuma consideração de planos particulares ou espaçamento e reflexões. A Figura 5 mostra a diferença de caminho para o espalhamento de dois raios separados por uma distância d (linha vermelha) [36]. A diferença de caminho pode ser calculada da seguinte maneira:

$$d \cos \theta + d \cos \theta' = \vec{d} \cdot (\hat{n} - \hat{n}'). \quad (2)$$

A condição de interferência construtiva é dada por:

$$\vec{d} \cdot (\hat{n} - \hat{n}') = m\lambda, \quad (3)$$

ou

$$\vec{d} \cdot (\hat{k} - \hat{k}') = 2\pi m. \quad (4)$$

Considera-se neste caso um conjunto de feixes espalhados nos sítios da rede de Bravais. Além disso, a condição da interferência construtiva também é dada por:

$$e^{i(k-k')} = 1. \quad (5)$$

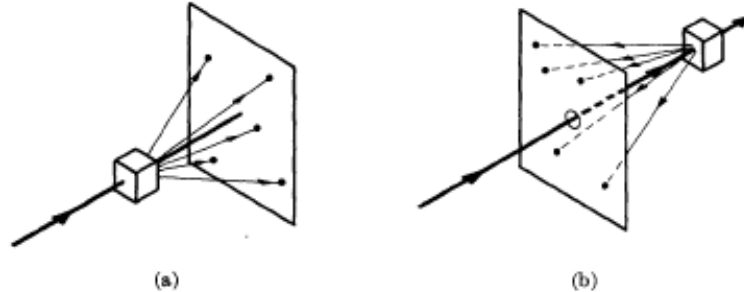
O conjunto de raios espalhados das células primitivas é a soma de raios individuais que irá, portanto, ter uma amplitude conhecida como fator de espalhamento [34] dado por:

$$S_K = \sum_{j=1}^n e^{i(\vec{k}-\vec{k}') \cdot \vec{d}_j} = \sum_{j=1}^n e^{i\vec{k} \cdot \vec{d}_j}. \quad (6)$$

A intensidade do pico é proporcional ao quadrado do valor da amplitude do fator de espalhamento:

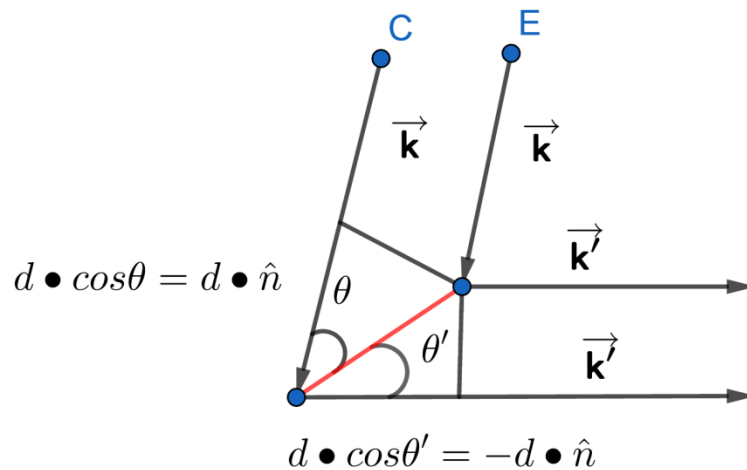
$$I_k \propto |S_k|^2. \quad (7)$$

Figura 4: Modos de aplicação do método de Laue.



Fonte: Retirada da Ref. [34].

Figura 5: Diferença de dois caminhos para raios espalhados.



Fonte: Figura elaborada pelo autor baseada na Ref. [33].

3.2 – Teoria Perturbacional do funcional da densidade (DFPT)

Na mecânica quântica um estado de um sistema pode ser representado por uma função de onda e esta função está relacionada com a equação de Schrodinger. Em 1964 surgiram os primeiros trabalhos que solucionavam problemas de muitos corpos. Esta solução, proposta por Hohenberg e Kohn, baseia-se na densidade eletrônica do estado fundamental e também na função de onda do sistema [39].

Inicialmente surgiu a teoria do funcional da densidade (DFT), realizados Hohenberg e Kohn, e também por Kohn e Sham é baseada em dois teoremas. O primeiro teorema fala que a partir da densidade eletrônica do estado fundamental é possível determinar o potencial externo de um sistema composto de muitos elétrons. O segundo teorema afirma que um funcional

universal para energia, em relação a densidade, pode ser determinado. Esta densidade eletrônica minimiza a energia e o valor mínimo E_0 corresponde a energia do estado fundamental [39,40].

A teoria do funcional da densidade contribui para a solução de problemas teóricos quânticos de muitas partículas utilizando a equação de Schroedinger, como problemas de estrutura eletrônica de moléculas e da matéria condensada [41]. Além disso, é uma ferramenta utilizada na validação de resultados alcançados experimentalmente. Os cálculos das propriedades moleculares feitos utilizando DFT mostram uma relação entre teoria e experimento considerando alguns pontos importantes das propriedades geométricas, eletrônicas e espectroscópicas dos sistemas estudados [42].

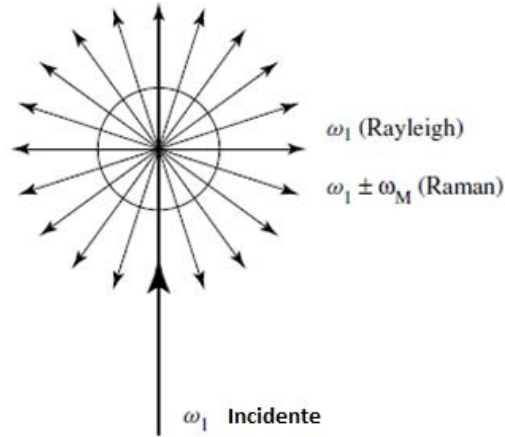
O DFT pode ser utilizado para determinar frequências e intensidades do espectro Raman. De acordo com o trabalho de Lazzeri *et al.* [43], observa-se que é possível determinar intensidades Raman. O cálculo é feito através da derivada de segunda ordem da matriz de densidade eletrônica, em relação a um campo elétrico uniforme, usando pseudopotenciais e condições periódicas.

A técnica utilizada neste trabalho, DFPT, difere do método DFT apenas por conta de perturbações externas usando um potencial perturbacional ao DFT. Com isso, pode-se simular espectros vibracionais de diferentes cristais ligados por hidrogênio em boa concordância com os resultados experimentais [44,45].

3.3 – Espectroscopia vibracional

Quando uma radiação monocromática incide em sistemas como sólidos, gases, líquidos e outros objetos, observa-se que na maioria dos casos, estes materiais espalham a radiação incidente. No entanto, a frequência espalhada pode não ser igual a frequência incidente [46]. Em 1928, os cientistas indianos Raman e Krishnan descobriram o efeito de espalhamento inelástico da luz, depois denominado de Raman, e que culminou no prêmio Nobel em 1930 [1]. A Figura 6 mostra o esquema para os dois tipos de espalhamento [46]. Nos casos em que a frequência espalhada é igual à frequência incidente (ω_1), chama-se de espalhamento Rayleigh. Em contrapartida, se essas frequências forem diferentes ($\omega_1 \pm \omega_M$) chama-se de espalhamento Raman.

Figura 6: Diagrama de Representação Espalhamento Raman e Rayleigh.



Fonte: Retirada da Ref. [46].

O espalhamento Raman consiste na variação do momento de dipolo induzido por meio de um campo elétrico da radiação incidente. A equação (8) fornece o momento de dipolo induzido em função da polarizabilidade do material e do campo elétrico incidente. O momento de dipolo induzido é dado por:

$$\vec{P} = \alpha \cdot \vec{E}. \quad (8)$$

Vale ressaltar que a polarizabilidade é variável, e que a frequência da radiação incidente difere da frequência espalhada [47]. O momento de dipolo oscila por sobreposição de frequências. Com isso, pode-se escrever a polarizabilidade em uma série de Taylor da seguinte forma [47]:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)q + \dots, \quad (9)$$

onde os termos de ordem mais alta foram desprezados devido à pequena variação da coordenada espacial q . Contudo, as coordenadas q e o campo elétrico \mathbf{E} oscilam de forma harmônica e podem ser escritos como [47]:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_v t), \quad (10)$$

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t). \quad (11)$$

Desta forma, o momento de dipolo induzido pode ser obtido a partir das equações (9), (10) e (11):

$$\begin{aligned}
\mathbf{P} &= \alpha_o \mathbf{E}_o \cos(2\pi\nu_o t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right) q_o \cos(2\pi\nu_\nu t) \mathbf{E}_o \cos(2\pi\nu_o t) + \dots \\
\mathbf{P} &= \alpha_o \mathbf{E}_o \cos(2\pi\nu_o t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right) q_o \mathbf{E}_o \cos(2\pi\nu_\nu t) \cos(2\pi\nu_o t) + \dots \\
\mathbf{P} &= \alpha_o \mathbf{E}_o \cos(2\pi\nu_o t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right) q_o \mathbf{E}_o \cos[2\pi(\nu_o - \nu_\nu)t] \\
&\quad + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right) q_o \mathbf{E}_o \cos[2\pi(\nu_\nu + \nu_o)t]
\end{aligned} \tag{12}$$

onde ν_ν e ν_o são as frequências da radiação espalhada e incidente, respectivamente.

A partir da equação (12) observa-se que o primeiro termo está relacionado com o espalhamento Rayleigh (espalhamento elástico), enquanto que o segundo termo está relacionado com o espalhamento Raman. Logo, observa-se que, para que o efeito Raman seja observado, é necessário que ocorra uma variação da polarizabilidade em relação a uma coordenada normal de vibração q ($\frac{d\alpha}{dq} \neq 0$). Além disso, segundo a equação (12), o espalhamento Raman é dividido em Stokes ou anti-Stokes, onde o segundo termo da equação está associado com o espalhamento Raman Stokes que possui a frequência da radiação espalhada menor do que a incidente ($\nu_o - \nu_\nu$), enquanto que o terceiro termo da equação a radiação tem frequência espalhada maior do que a incidente ($\nu_o + \nu_\nu$) e está associada com o espalhamento Raman anti-Stokes [47].

Na abordagem quântica, a onda incidente é representada por um fóton que excita a molécula, que é excitada para outros níveis de energia. Em seguida, a molécula decai a um nível vibracional de excitação e emite um fóton espalhado. A diferença entre a energia do fóton incidente e espalhado está relacionada com a energia vibracional. O momento de transição induzido pode ser representado pela equação (13) [47]:

$$\mathbf{P}_{mn} = \mathbf{E} \cdot (\alpha_{ij})_{mn}. \tag{13}$$

As componentes do dipolo induzido e do campo elétrico podem ser escritas da seguinte maneira:

$$\begin{aligned}
P_x &= \alpha_{xx}E_x + \alpha_{xy}E_y + \alpha_{xz}E_z, \\
P_y &= \alpha_{yx}E_x + \alpha_{yy}E_y + \alpha_{yz}E_z, \\
P_z &= \alpha_{zx}E_x + \alpha_{zy}E_y + \alpha_{zz}E_z.
\end{aligned} \tag{14}$$

No espalhamento Raman as componentes da polarizabilidade formam um tensor simétrico chamado de tensor Raman [47], onde:

$$\alpha'_{ij} = \frac{d\alpha_{ij}}{dq} = \alpha'_{ji}. \quad (15)$$

Para que haja atividade Raman, os estados m e n devem ser os componentes de $(\alpha_{ij})_{mn}$ onde pelo menos uma delas, dentre o total de 6, como observado na equação (16), deve ser diferente de zero [47].

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \int \psi_m \alpha_{ij} \psi_n d\tau \quad (16)$$

A intensidade do pico é calculada a partir da equação (17), onde existe uma dependência do quadrado do tensor de polarizabilidade e da frequência elevada a quarta potência:

$$I_{min} = \left(\frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 v^4 \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{mn}|^2. \quad (17)$$

Capítulo 4 – Metodologia

Neste capítulo é apresentada a metodologia utilizada na realização dos cálculos computacionais, bem como é descrito o aparato experimental utilizado neste trabalho. Inicialmente, descreveremos a amostra e o procedimento experimental utilizado na determinação da sua estrutura. Em seguida, são apresentados os equipamentos e seus acessórios utilizados na obtenção dos espectros Raman a temperatura ambiente e a baixas temperaturas.

4.1 – O cristal de D-treonina

A amostra de D-treonina utilizada neste trabalho foi adquirida comercialmente da empresa Sigma-Aldrich Co. (EUA) com pureza $\geq 98\%$, e utilizada sem qualquer purificação adicional. A amostra se apresentava na forma de policristais incolores e prismáticos. No entanto, ao observamos os policristais com o auxílio de um microscópio óptico polarizado, verificou-se que os mesmos (apesar de pequenos) apresentavam características de monocristais como mostra a Figura 7. A morfologia dos cristais observados nessa figura estão em concordância com aqueles observados por Holanda [2].

Figura 7: Cristais de D-treonina.



4.2 – Experimentos de Difração de Raios-X

Com o objetivo de verificar a estrutura cristalina da amostra utilizada foi realizado um experimento de difração de raios-X de policristais a temperatura ambiente. Os experimentos descritos nessa seção foram realizados no Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Física da UFC com a colaboração do professor Alejandro Pedro Ayala.

No experimento de difração de raios-X de policristais foi utilizado um difratômetro de Raios-X (modelo D8 Advance, da Bruker Optics) utilizando radiação monocromática de Cu K α ($\lambda = 1,54059 \text{ \AA}$). Nesse experimento foi utilizada a configuração $\theta - \theta$, com 2θ variando no intervalo de 5 a 50° e passo $0,05^\circ$.

O experimento de difração de raios-X de monocristal na D-treonina foi realizado utilizando um difratômetro D8 Venture equipado com o detector PHOTON II, como o que está mostrado na Figura 8. A radiação monocromática de Cu K α ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) foi utilizada e durante o experimento o cristal foi mantido a temperatura de 273,15 K. Um cristal adequado de dimensões $0,512 \text{ mm} \times 0,197 \text{ mm} \times 0,13 \text{ mm}$ foi escolhido e montado numa fibra de *kapton* (MiTeGen MicroMount). O cristal escolhido é exibido na Figura 9.

Após a centralização da amostra no goniômetro, foi realizada a determinação da cela unitária por meio de um pré-experimento com a estratégia predefinida. Os parâmetros da cela unitária foram determinados, e durante a determinação da cela unitária foi verificado a monocristalinidade da amostra.

Figura 8: Difratômetro de raios-X D8 Venture, da Bruker Optics.



Fonte: Catálogo da Bruker Optics.

Figura 9: Monocristal utilizado no experimento de difração de raios-X.



Com os parâmetros da cela unitária definidos, uma estratégia de coleta de dados foi definida com alta redundância. Durante essa coleta de dados, 27240 reflexões foram medidas enquanto o 2θ variou de 13° a $161,212^\circ$, sendo destas 1172 reflexões independentes (não relacionadas por simetria). As reflexões medidas tinham índices de Muller que variavam da seguinte forma: $-5 \leq h \leq 6$, $-9 \leq k \leq 9$, $-17 \leq l \leq 17$.

Os dados coletados foram analisados usando o OLEX2 [48], e os picos de difração observados foram indexados e integrados usando o software SAINT v8.37a. Finalmente, a estrutura foi resolvida usando o software SHELXT 2015 [49] e o refinamento dos dados usando o SHELXL 2008 [50], ambos inclusos no OLEX2.

4.3 – Cálculos Computacionais

Os cálculos computacionais contidos neste trabalho foram realizados em colaboração com o Dr. José Gadelha da Silva Filho, do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará.

Usando os dados de difração de raios-X de monocristal para a D-treonina obtidos neste trabalho, as propriedades vibracionais do cristal de D-treonina foram calculadas. Para os cálculos foi utilizada a teoria de perturbação funcional da densidade (DFPT) [44,51,52], implementada no software Quantum-ESPRESSO [53]. Levando em conta as condições de contorno periódicas, este método é capaz de simular espectros vibracionais de diferentes cristais ligados por hidrogênio em boa concordância com dados experimentais [54]. Os números de onda dos modos vibracionais foram calculadas usando o método de resposta linear DFPT no

ponto Γ [43,55]. As atividades Raman foram computadas baseadas na teoria de Placzek do efeito Raman [56]. A intensidade teórica do espectro Raman foi calculada de acordo com a equação (18) [57,58].

$$I_i^R = \frac{f(\nu_0 - \nu_i)^4 S_i}{\nu_i B_i}, \quad (18)$$

onde S_i é a atividade Raman do i -ésimo modo vibracional, f é um fator de normalização adequado para todas as intensidades (10^{-13}) e B_i representa a contribuição da distribuição de Boltzmann para a intensidade da vibração e é dada por;

$$B_i = 1 - e^{-\frac{h\nu_i c}{kT}}, \quad (19)$$

em que h , k , c e T são as constantes de Planck e Boltzmann, velocidade da luz e temperatura em Kelvin, respectivamente. Os espectros simulados foram plotados usando uma função Lorentziana com uma largura a meia-altura máxima de 10 cm^{-1} .

4.4 – Experimentos de Espectroscopia Raman

Os experimentos descritos nessa seção foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões do Instituto de Física da Universidade Federal do Pará com a colaboração do professor Francisco Ferreira de Sousa.

Os espectros Raman do cristal de D-treonina foram obtidos utilizando um sistema de micro-Raman operando em uma geometria de retroespalhamento. O sistema utilizado consistia de uma fonte de radiação monocromática (*laser*), um espectrômetro e um sistema de detecção da radiação espalhada.

A luz espalhada pela amostra foi coletada através do espectrômetro triplo T64000 da Jobin Yvon Horiba equipado com sistema de detecção do tipo CCD (*charge coupled device*) resfriado a nitrogênio líquido. A Figura 10 apresenta o espectrômetro usado para a obtenção dos espectros Raman do cristal de D-treonina. Como fonte de excitação da amostra foi utilizado um laser de argônio (Ar) operando na linha de 514,5 nm e com uma potência de saída de 200 mW. A fenda do espectrômetro foi ajustada para uma resolução espectral de 2 cm^{-1} . O feixe foi focalizado na amostra com o auxílio de um microscópio da marca Olympus BX40 equipado com uma lente de distância focal de 20 mm e abertura numérica 0,35.

Para os experimentos a baixas temperaturas, foi utilizado um criostato modelo DE202S da Air Products and Chemicals Inc. e um controlador de temperatura com precisão de $\pm 0,1 \text{ K}$, no qual estava acoplado um sistema de alto vácuo. A refrigeração do criostato foi feita

utilizando um sistema de ciclo fechado de hélio, que bombeia o gás hélio até a extremidade do criostato onde a amostra é colocada. Nos experimentos realizados à baixas temperaturas, os espectros foram coletados usando 4 acumulações de 60 segundos e um intervalo de tempo de 20 minutos para que o cristal atingisse o equilíbrio térmico em cada temperatura. As regiões espectrais medidas foram $40 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ e $2600 - 3400 \text{ cm}^{-1}$.

Figura 10: Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman.



Fonte: Imagem extraída do catálogo da HORIBA.

Os espectros Raman obtidos através dos experimentos foram analisados utilizando os softwares Peak Fit da SPSS Inc. e Origin da Original Lab Corporation. Os espectros foram ajustados por decomposição dos picos. Em seguida, foram extraídos os dados como posição, intensidade e largura a meia altura das bandas Raman para análise dos dados.

Capítulo 5 – Propriedades Estruturais e Vibracionais do Cristal de D-treonina a Temperatura Ambiente

Neste capítulo são apresentadas as propriedades estruturais e vibracionais do cristal de D-treonina a temperatura ambiente, bem como os resultados obtidos a partir dos cálculos computacionais.

5.1 – Propriedades Estruturais do Cristal de D-Treonina

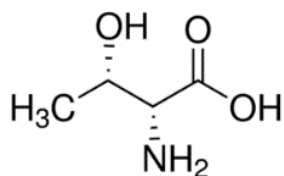
Com o objetivo de obter a estrutura cristalográfica da D-treonina, inicialmente realizou-se uma pesquisa nos bancos de dados cristalográficos CSDS (*Cambridge Structural Database System*) e COD (*Crystallography Open Database*). No entanto, somente as estruturas da L-treonina e da DL-treonina estavam disponíveis. Em seguida, um experimento de difração de raios-X de policristais foi realizado na amostra de D-treonina, e o difratograma obtido apresentava o mesmo padrão de difração da L-treonina determinado por Shoemaker *et al.* [59].

A D-treonina ($C_4H_9NO_3$) cristaliza-se em uma estrutura ortorrômbica ao longo do grupo espacial $P2_12_12_1(D_2^4)$ com quatro moléculas por célula unitária, e os principais dados cristalográficos são exibidos na Tabela 2. A Figura 11 apresenta a estrutura da molécula de D-treonina.

Tabela 2: Dados cristalográficos da D-treonina.

Fórmula Molecular	$C_4H_9NO_3$
Massa Molar	119,1197 g/mol
Estrutura	Ortorrômbica
Grupo espacial	$P2_12_12_1$
Parâmetros de rede	$a = 5,1540 \text{ \AA}$ $b = 7,7503 \text{ \AA}$ $c = 13,6205 \text{ \AA}$
Volume da Célula Unitária	$543,691 \text{ \AA}^3$
Número de partículas por célula unitária	4

Figura 11: Estrutura da molécula de D-treonina.



Utilizando o programa Platon [60] foram determinadas as distâncias intramoleculares e os ângulos de ligação do cristal de D-treonina, e os resultados estão listados na Tabela 3 com a respectiva identificação dos átomos apresentada na Figura 12(a). Usando o mesmo programa, os parâmetros das ligações de hidrogênio do cristal de D-treonina também foram obtidos e encontram-se listados na Tabela 4. A Figura 12(b) exibe a cela unitária e as principais ligações de hidrogênio presentes no cristal de D-treonina.

Figura 12: (a) Cella unitária do cristal de D-treonina com as respectivas identificações atômicas; (b) Cella unitária vista ao longo do eixo-b, mostrando as ligações de hidrogênio não-lineares (com relação ao plano ac).

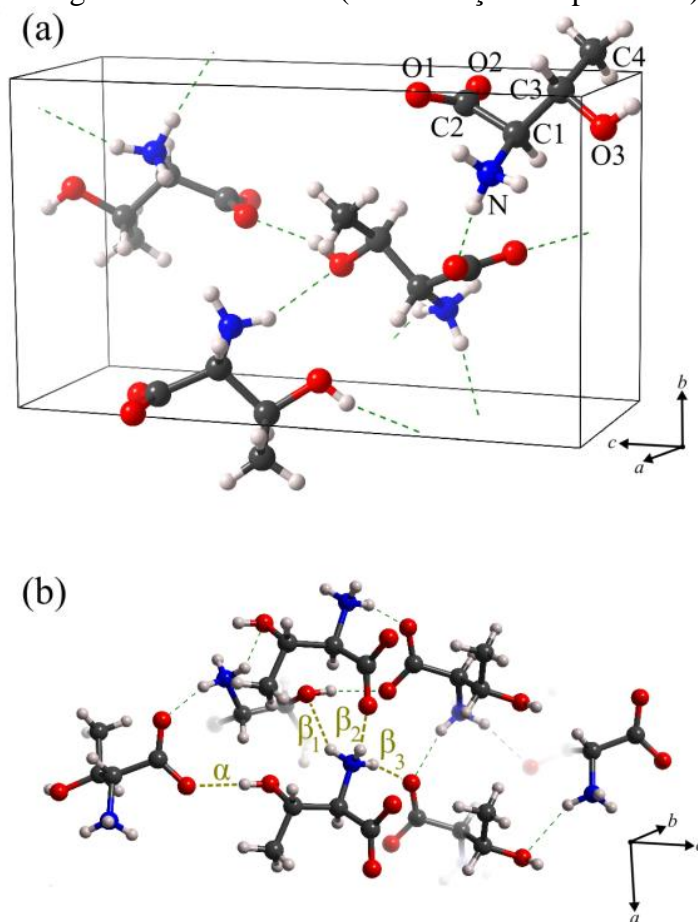


Tabela 3: Parâmetros das ligações intramoleculares da molécula de D-treonina.

Ligação	Distâncias intramoleculares (Å)	Ligação	Ângulo (Å)
O2-C2	1,243	O1-C2-O2	127,2
O3-C3	1,425	O1-C2-C1	116,5
O1-C2	1,246	O1-C2-C1	116,3
N-C1	1,491	N-C1-C2	110,0
C1-C2	1,538	N-C1-C3	108,8
C1-C3	1,528	C3-C1-C2	112,9
C3-C4	1,513	O3-C3-C1	104,4
		O3-C3-C4	110,8
		C1-C3-C4	113,5

Tabela 4: Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal de D-treonina.

Ligação D-H...A	Tipo de ligação	Distância (Å)			Ângulo (°)
		D...H	H...A	D...A	D-H...A
N-H...O2	Intermolecular	0,89	2,04	2,9087(16)	163
O2-H...O1	Intermolecular	0,82	1,87	2,6516(16)	160
N-H...O3	Intermolecular	0,89	2,31	3,1141(18)	150
N-H...O2	Intermolecular	0,89	1,94	2,8010(17)	163
C3-H...O1	Intermolecular	0,98	2,35	3,275(2)	158
N-H...O1	Intramolecular	0,89	2,32	2,6753(17)	104
N-H...O3	Intramolecular	0,89	2,24	2,6906(17)	111

De acordo com os dados da Tabela 4, observa-se a existência de um total de 7 ligações de hidrogênio, sendo duas delas intramoleculares. É possível destacar também a existência de uma ligação de hidrogênio do tipo C-H...O não destacada na estrutura de seus isômeros L-treonina e L-allotreonina [59,61]. No entanto, ao analisarmos a estrutura da L-treonina determinada por Shoemaker *et al.* [59], verificamos a existência de uma ligação de hidrogênio com parâmetros similares. Destacamos ainda que o cristal de DL-treonina [14] apresenta os mesmos parâmetros de ligações de hidrogênio.

A partir dos resultados da cela unitária, obtida pelos experimentos de raios-x, obteve-se o padrão de difração, calculado pelo programa MERCURY, representado na Figura 13. Na Figura 14, observa-se o espectro de raios-X do isômero L-, coletados na data-base aberta de cristalografia e calculado pelo programa MERCURY. Comparando os dois gráficos, verifica-se que os dois cristais possuem a mesma estrutura cristalina.

Figura 13: Padrão de difração da D-treonina.

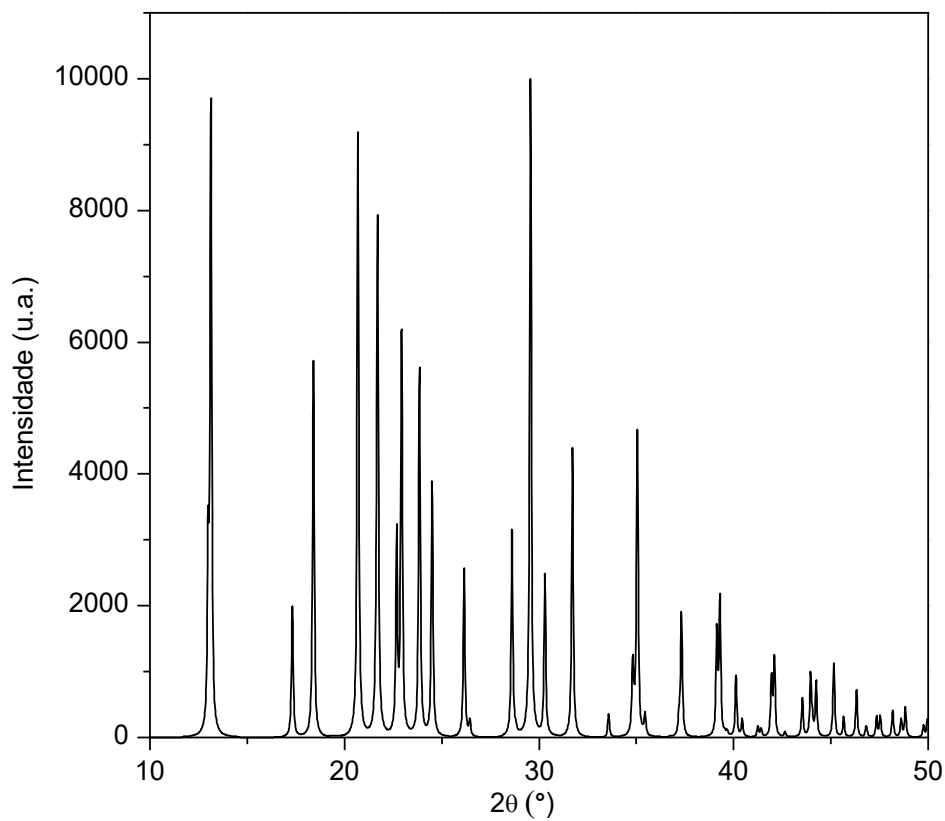
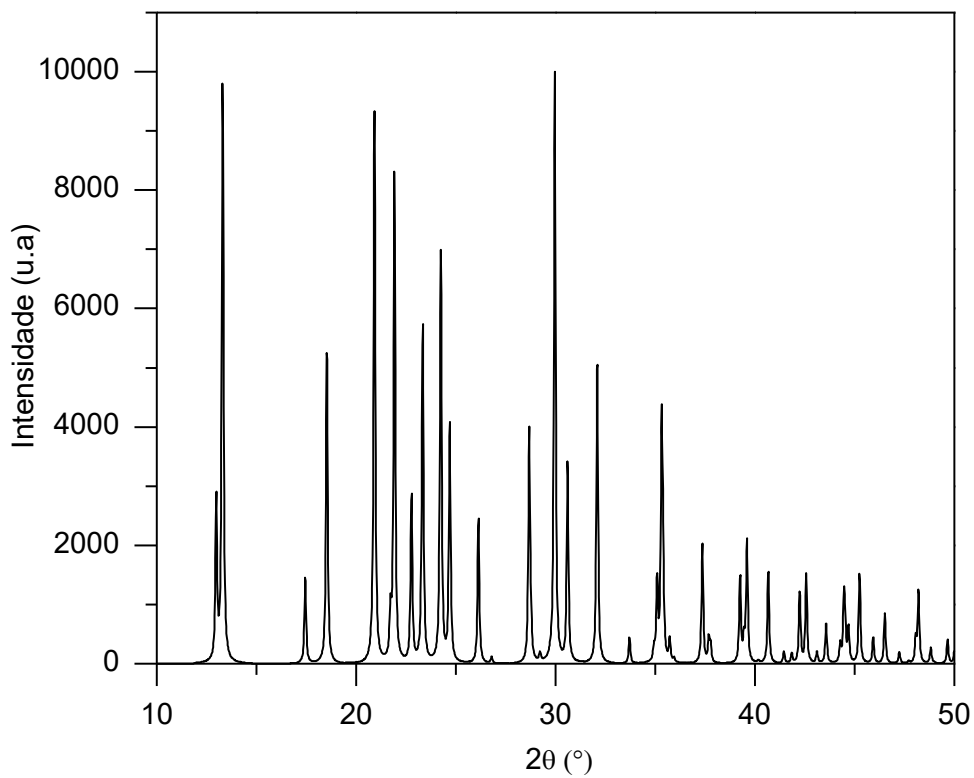


Figura 14: Padrão de difração da L-treonina.



5.2 – Propriedades Vibracionais no cristal de D-treonina a temperatura ambiente

5.2.1 – Teoria de Grupos

O cristal de D-treonina possui a fórmula molecular de $C_4H_9NO_3$ e pertence ao grupo espacial D_2^4 ($P2_12_12_1$). Usando o método de determinação dos modos normais de vibração de um cristal proposto por Rousseau *et al.* [62], os possíveis sítios de simetria para os átomos deste cristal são:

$$D_2^4 = \infty[aC_1(4)]. \quad (20)$$

Com isso, observa-se que os átomos só podem ocupar sítios de simetria C_1 com quatro átomos ocupando cada sítio. A partir da tabela 6B [62] cada sítio do grupo pontual contribui com as seguintes representações irreduzíveis:

$$\Gamma_{\text{sítio}} = 3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3. \quad (21)$$

Logo, a representação total dos modos normais de vibração do cristal de D-treonina em termos das representações irreduzíveis do grupo pontual D_2 na forma irreduzível é dada por:

$$\Gamma = 51(A + B_1 + B_2 + B_3). \quad (22)$$

Portanto, são previstos 204 modos de vibração divididos em modos acústicos e ópticos da seguinte forma:

$$\Gamma_{\text{acústicos}} = B_1 + B_2 + B_3, \quad (23)$$

$$\Gamma_{\text{ópticos}} = 51A + 50(B_1 + B_2 + B_3). \quad (24)$$

De acordo com a tabela 6E da referência [62], todos os modos são ativos no Raman. Em contrapartida, apenas os modos com simetria B_1 , B_2 e B_3 são ativos no infravermelho.

$$\Gamma_{\text{infravermelho}} = 51(B_1 + B_2 + B_3), \quad (25)$$

$$\Gamma_{\text{Raman}} = 51A + 50(B_1 + B_2 + B_3). \quad (26)$$

5.2.2 – Classificação dos modos normais de vibração do cristal de D-treonina

Com o objetivo de caracterizar o cristal de D-treonina, o espectro Raman foi analisado e os modos vibracionais observados foram classificados. A atribuição das bandas (listadas na Tabela 5) foi realizada com base nos modos vibracionais calculados usando DFPT e em estudos anteriores de cristais similares, dando ênfase às atribuições dadas por Holanda [15] quando estudou os cristais de L- e D-treonina. A fim de facilitar a discussão dos resultados, o espectro foi dividido em quatro regiões.

Tabela 5: Números de ondas experimentais e calculados pelo método DFPT dos modos Raman do cristal de D-treonina e suas respectivas classificações.

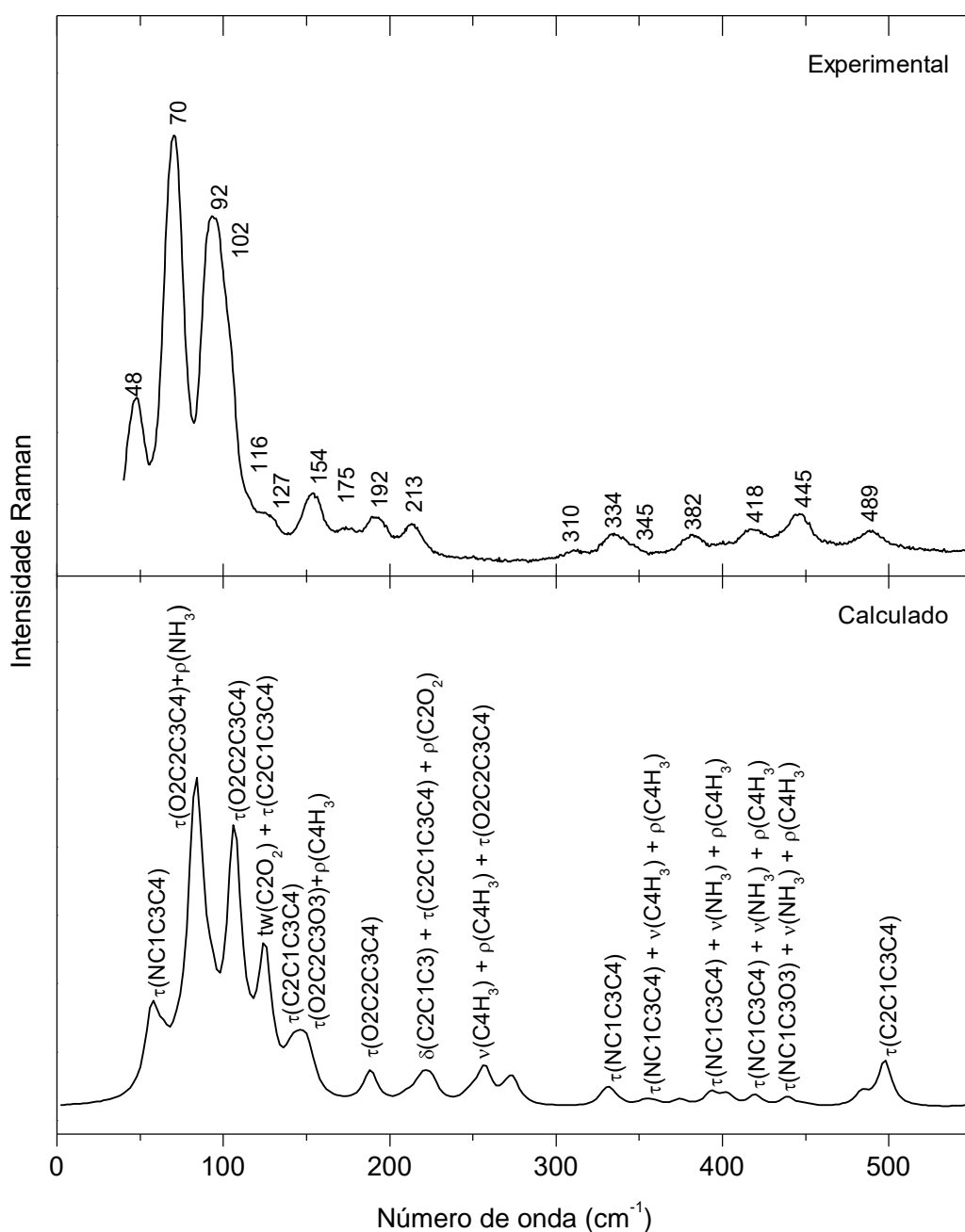
$\omega_{\text{experimental}}$ (cm^{-1})	$\omega_{\text{calculado}}$ (cm^{-1})	Atribuições
48	55	$\tau(\text{NC1C3C4})$
70	85	$\tau(\text{O2C2C3C4}) + \rho(\text{NH}_3)$
92	106	$\tau(\text{O1C2C3C4})$
102	123	$\text{tw}(\text{C2O}_2) + \tau(\text{C2C1C3C4})$
116	140	$\tau(\text{C2C1C3C4})$
127	144	$\tau(\text{O2C2C3O}_3) + \rho(\text{C4H}_3)$
154	187	$\tau(\text{O2C2C3C4})$
175	208	$\delta(\text{C2C1C3}) + \tau(\text{C2C1C3C4}) + \rho(\text{C2O}_2)$
192	224	$\delta(\text{C2C1C3}) + \tau(\text{C2C1C3C4}) + \rho(\text{C2O}_2)$
213	255	$\nu(\text{C4H}_3) + \rho(\text{C4H}_3) + \tau(\text{O2C2C3C4})$
251	-	-
310	328	$\tau(\text{NC1C3C4})$
334	331	$\tau(\text{NC1C3C4})$
345	352	$\tau(\text{NC1C3C4}) + \nu(\text{C4H}_3) + \rho(\text{C4H}_3)$
382	392	$\tau(\text{NC1C3C4}) + \nu(\text{NH}_3) + \nu(\text{C4H}_3)$
418	418	$\tau(\text{NC1C3C4}) + \nu(\text{NH}_3) + \nu(\text{C4H}_3)$
445	437	$\tau(\text{NC1C3O}_3) + \nu(\text{NH}_3) + \nu(\text{C4H}_3)$
489	496	$\tau(\text{C2C1C3C4})$
562	597	$\rho(\text{NH}_3) + \tau(\text{O2C2C3O}_3)$
704	697	$\phi(\text{O1O2C1C2})$
743	751	$\phi(\text{O1O2C1C2}) + \rho(\text{NH}_3) + \rho(\text{C4H}_3)$
871	866	$\phi(\text{O1O2C1C2}) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
905	909	$\tau(\text{C2C1C3C4}) + \text{tw}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
931	927	$\tau(\text{C2C1C3C4}) + \text{tw}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
1031	1027	$\phi(\text{C1O3C4C3}) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
1047	1034	$\phi(\text{C1O3C4C3}) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
1100	1123	$\delta(\text{C1C3C4}) + \rho(\text{NH}_3) + \rho(\text{C4H}_3)$
1116	1140	$\delta(\text{C2C1C3}) + \rho(\text{NH}_3)$
1193	1192	$\tau(\text{HC1C3H}) + \delta(\text{O3H})$
1251	1249	$\delta(\text{C2C1C3}) + \text{wag}(\text{NH}_3)$
1308	1281	$\delta(\text{O3H})$
1340	1320	$\delta(\text{C1H}) + \rho(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C4H}_3)$
1379	1373	$\delta(\text{OH}) + \delta(\text{C3H}) + \text{sc}(\text{C4H}_3)$
1416	1421	$\nu(\text{C2C1}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{C1H}) + \text{sc}(\text{C4H}_3)$
1453	1440	$\tau(\text{HC1C3H}) + \text{tw}(\text{C4H}_3) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \delta(\text{OH})$
1478	1470	$\text{tw}(\text{C4H}_3) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \delta(\text{OH})$
1548	1557	$\text{sc}(\text{NH}_3)$
1598	1589	$\text{sc}(\text{NH}_3) + \nu_{\text{as}}(\text{C2O}_2)$
1624	1605	$\text{sc}(\text{NH}_3) + \nu_{\text{as}}(\text{C2O}_2)$
1642	1627	$\text{sc}(\text{NH}_3) + \nu_{\text{as}}(\text{C2O}_2) + \delta(\text{O3H})$
2649	2734	$\nu(\text{O3H})$
2748	2783	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_3)$
2874	2858	$\nu(\text{C3H})$
2923	2929	$\nu_{\text{s}}(\text{C4H}_3)$
2939	2930	$\nu_{\text{s}}(\text{C4H}_3)$
2976	3015	$\nu_{\text{as}}(\text{C4H}_3)$
2995	3041	$\nu_{\text{as}}(\text{C4H}_3)$
3018	3062	$\nu(\text{NH})$
3098	-	-

Nomenclatura: τ = torção; δ = deformação; sc = deformação tipo *scissoring*; tw = vibração tipo *twisting*; ϕ = vibração fora do plano; wag = vibração tipo *wagging*; ρ = vibração tipo *rocking*; ν = estiramento; ν_{s} = estiramento simétrico; ν_{as} = estiramento antissimétrico.

5.2.2.1 – Região espectral entre 30 e 550 cm^{-1}

A Figura 15 apresenta os espectros Raman calculado e obtido experimentalmente do cristal de D-treonina para a região espectral entre 30 e 550 cm^{-1} . Bandas com número de onda até 200 cm^{-1} normalmente estão associadas com as vibrações externas do cristal (modos da rede) ou ainda com vibrações de baixa energia, que são essenciais para entender a estabilidade do material estudado. Em um estudo realizado em cristais de treonina, Holanda [2] classificou

Figura 15: Espectros Raman calculado e experimental do cristal de D-treonina na região espectral 30 - 550 cm^{-1} .



como modos da rede todas as bandas observadas com número de onda menor que 160 cm^{-1} . No entanto, foi possível classificar tais bandas de acordo com cálculos DFPT realizados no cristal de D-treonina. De acordo com a Tabela 5, podemos perceber que as bandas com número de onda até 200 cm^{-1} estão associadas com torções de parte da molécula, que são vibrações de baixas energias.

De acordo com estudos realizados em cristais de L- e D-treonina [2], as bandas localizadas em 175 e 192 cm^{-1} estão relacionadas com a torção da unidade CO_2^- , $\tau(\text{CO}_2^-)$. Segundo os cálculos realizados neste trabalho, estas bandas estão associadas a vibração do tipo *rocking* desta unidade juntamente com uma torção da cadeia principal de carbonos da molécula, $\tau(\text{C2C1C3C4})$, resultando de forma simplificada em uma torção da unidade CO_2^- , o que corrobora com os resultados obtidos anteriormente [2].

As bandas localizadas entre 200 e 450 cm^{-1} estão associadas às vibrações do esqueleto da molécula. Por exemplo, a banda em 213 cm^{-1} foi classificada como torção do esqueleto, $\tau(\text{esq.})$, o que concorda com a classificação dada para uma banda em 211 cm^{-1} observada no cristal de L- α -glutamina [10,11]. Entre 300 e 450 cm^{-1} encontram-se as bandas relacionadas com deformações do esqueleto da molécula de D-treonina, $\delta(\text{esq.})$, em concordância com os resultados obtidos para a L- e D-treonina [2].

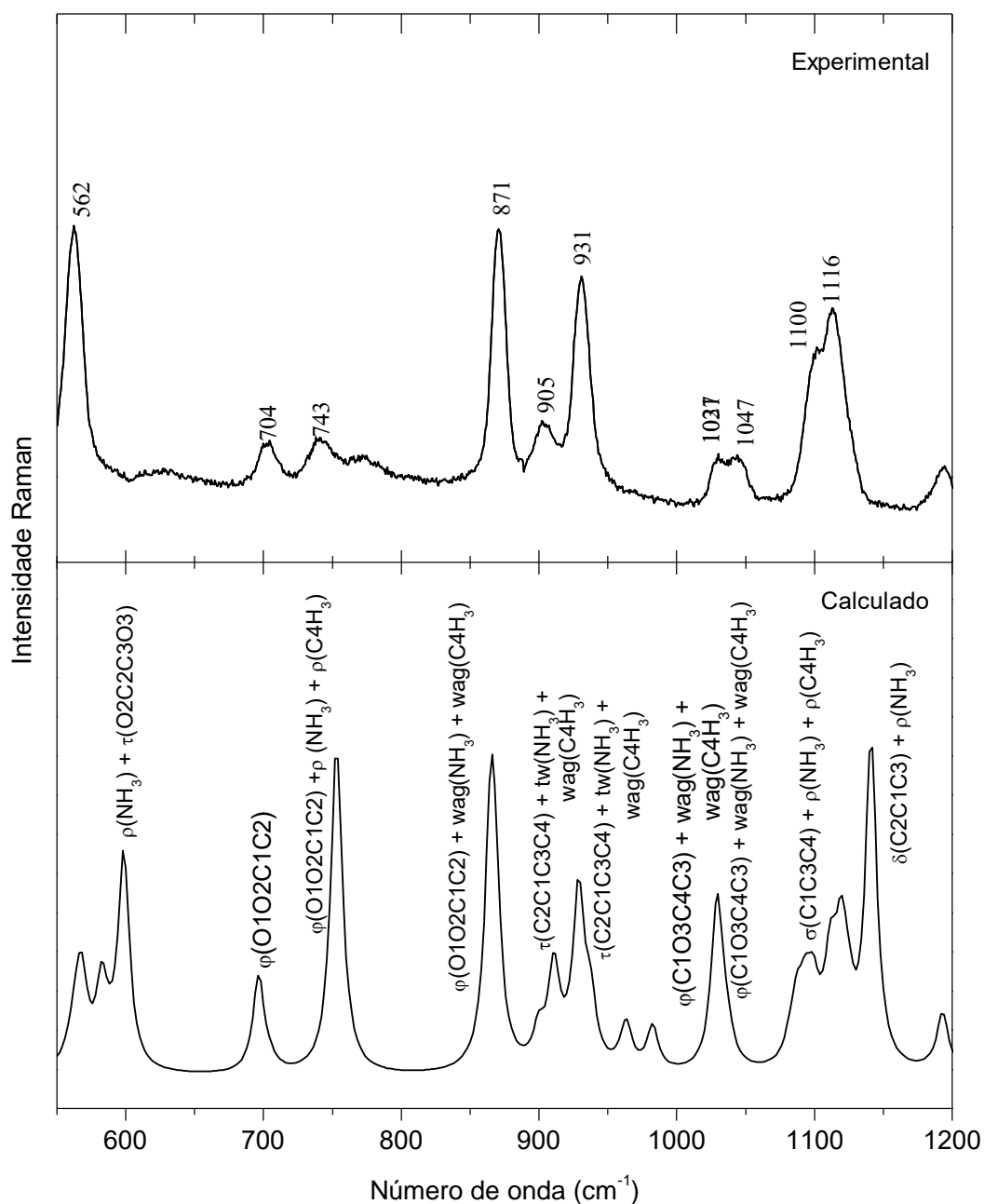
Estiramentos C4H_3 e NH_3 , $\nu(\text{NH}_3)$ e $\nu(\text{C4H}_3)$, possuem contribuições nas bandas observadas entre 340 e 450 cm^{-1} . A banda localizada em 489 cm^{-1} foi classificada como uma *torção* do grupo C2C1C3C4 , $\tau(\text{C2C1C3C4})$.

5.2.2.2 – Região espectral entre 550 a 1150 cm^{-1}

A Figura 16 apresenta os espectros Raman calculado e obtido experimentalmente do cristal de D-treonina para a região espectral entre 550 e 1150 cm^{-1} . De acordo com a Tabela 5, nesta região espectral são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula e das unidades NH_3^+ e CH_3 .

A banda posicionada em 562 cm^{-1} está associada principalmente a uma vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3 , $\rho(\text{NH}_3)$. Contribuições de deformações CCOO fora do plano, $\phi(\text{O1O2C1C2})$, são observadas nas bandas localizadas entre 700 e 880 cm^{-1} .

Figura 16: Espectros Raman calculado e experimental do cristal de D-treonina na região espectral 550 - 1150 cm^{-1} .



Vibrações do tipo *wagging* do C4H_3 , $\text{wag}(\text{C4H}_3)$, são observadas com números de onda entre 850 e 1050 cm^{-1} , enquanto o *rocking* do mesmo grupo é observado em 740 e 1100 cm^{-1} .

Diversos tipos de vibração da unidade NH_3 possuem contribuições nas bandas localizadas entre 740 e 1120 cm^{-1} , dentre elas *rocking*, *wagging* e *twisting*. No cristal de L-treonina [2], o modo vibracional associado à vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3^+ foi

observado em 1103, 1113 e 1122 cm^{-1} . Esta mesma vibração foi verificada na L-metionina [17] em 1122 cm^{-1} e na L-valina [65] em 1193 cm^{-1} .

5.2.2.3 – Região espectral entre 1150 e 1800 cm^{-1}

A Figura 17 mostra os espectros calculado e experimental obtidos para a região espectral de 1150 a 1800 cm^{-1} . Essa região espectral corresponde às vibrações características de deformações em toda molécula, além dos estiramentos do grupo CO_2^- .

Deformações OH, $\delta(\text{O3H})$, pertencentes a molécula de água, contribuem para as bandas localizadas em 1193, 1308 e 1642 cm^{-1} , enquanto as deformações OH dos átomos da molécula de D-treonina contribuem para as bandas observadas entre 1379 e 1478 cm^{-1} .

Vibrações do tipo *wagging* e *twisting* da unidade C4H_3 contribuem para as bandas localizadas entre 1340 e 1478 cm^{-1} , enquanto vibrações do mesmo tipo do grupo NH_3 são observadas entre 1453 e 1642 cm^{-1} , além de 1251 cm^{-1} . Vibrações do tipo *scissoring* do grupo CH_3 , *sc*(CH_3), foram observadas em 1363 cm^{-1} na L-metionina [17] e em 1415 cm^{-1} na DL-Leucina [21].

Estiramentos CH contribuem para as bandas observadas em 1340, 1379 e 1416 cm^{-1} . Dhamelincourt *et al.* [64] observaram a vibração de estiramento C-H, $\nu(\text{CH})$, na região de 1331 cm^{-1} . Esse mesmo modo é previsto na L-glutamina [64] entre 1331 e 1336 cm^{-1} e na L-leucina [66] em 1346 cm^{-1} .

As bandas entre 1590 e 1650 cm^{-1} possuem contribuições do estiramento antissimétrico do C2O_2 , $\nu(\text{C2O}_2)$. Vibrações de estiramento do CO_2^- foram previstas na L-isoleucina [67] nas regiões de 1584 e 1621 cm^{-1} , e na L-leucina [66] em 1560, 1585 e 1626 cm^{-1} . Além destes cristais, na L-treonina [15] o estiramento antissimétrico do CO_2^- foi observado em 1642 cm^{-1} .

5.2.2.4 – Região espectral entre 2600 a 3400 cm^{-1}

A Figura 18 apresenta os espectros calculado e experimental obtidos a região de 2600 a 3400 cm^{-1} . De acordo com a Tabela 5, essa região espectral contém bandas correspondentes a vibrações características de estiramentos das unidades OH, CH, CH_3 , NH e NH_3 . As bandas contidas nessa região espectral podem apresentar um complexo comportamento, pois essas unidades participam ativamente das ligações de hidrogênio no cristal.

Figura 17: Espectros experimental e calculado do cristal de D-treonina na região espectral 1150 - 1800 cm^{-1} .

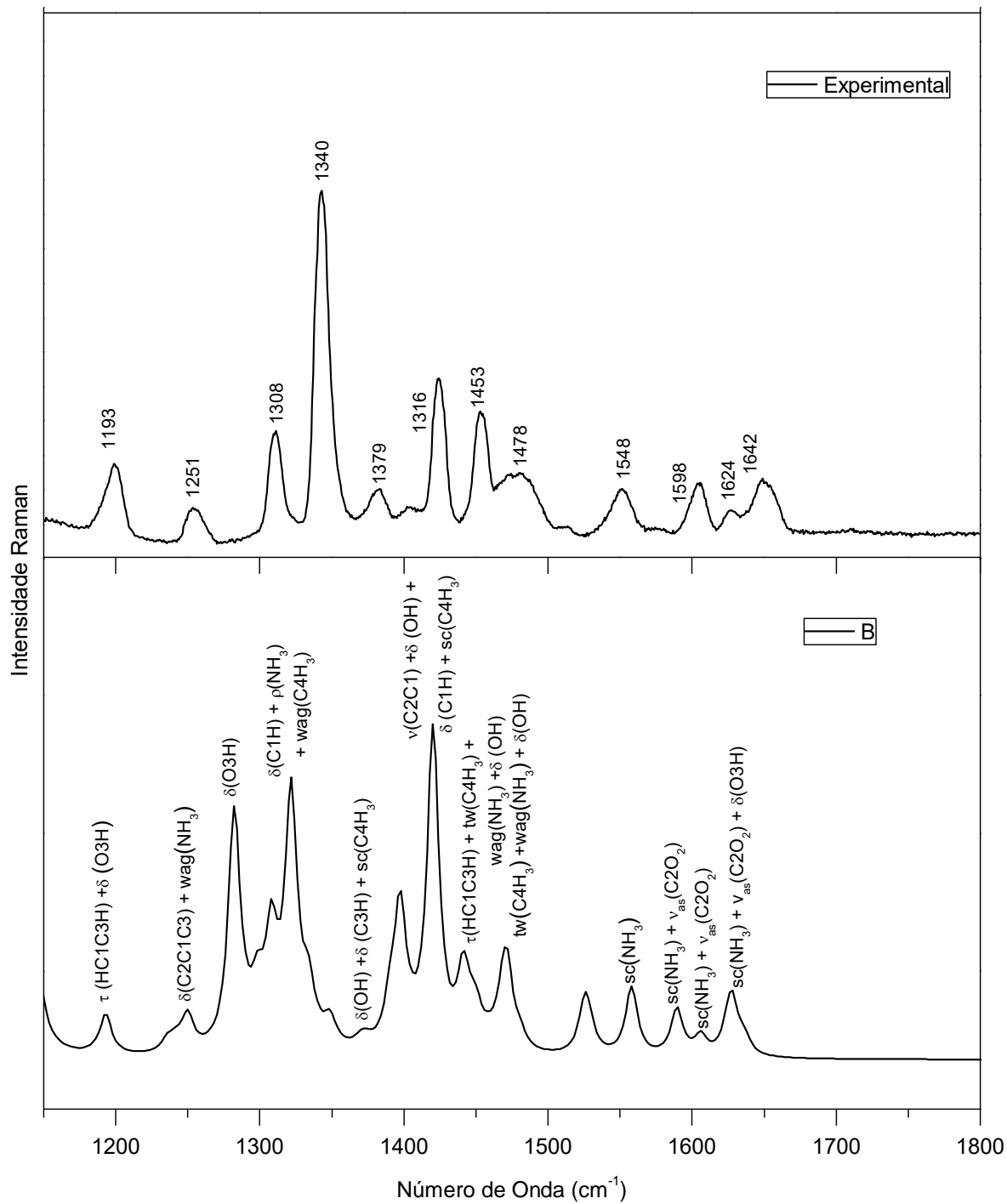
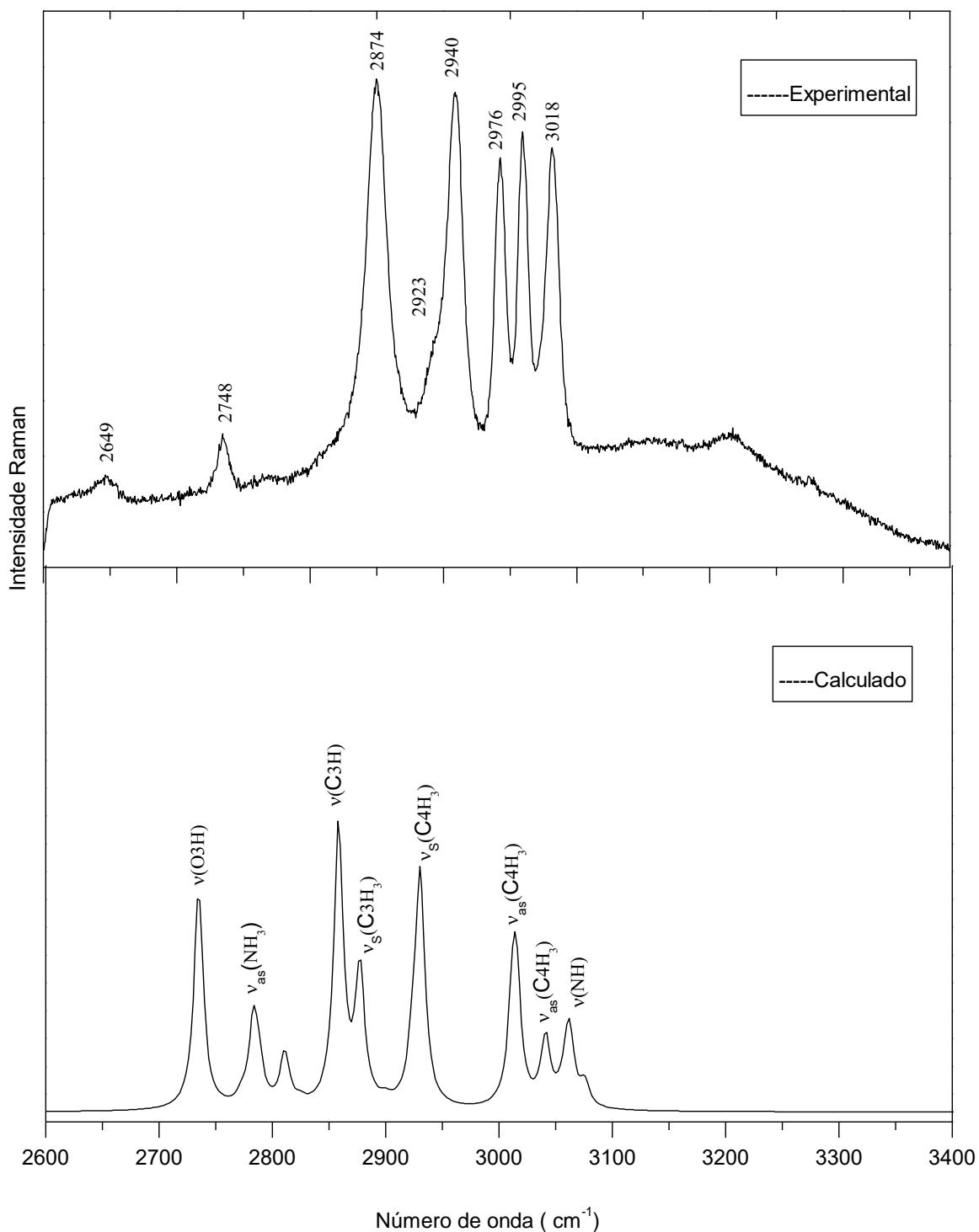


Figura 18: Espectros experimental e calculado do cristal de D-treonina na região espectral 2600 - 3400 cm^{-1} .



Como pode ser verificado na Tabela 5, a banda localizada em 2649 cm^{-1} está associada ao estiramento OH, $\nu(\text{OH})$, enquanto o estiramento C3H é observado em 2874 cm^{-1} . Essa última vibração foi observada no cristal de L-treonina em 2875 cm^{-1} [2]. A banda observada na

região de 3018 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento NH, $\nu(NH)$. A mesma classificação foi feita na DL-leucina [21] em 3003 cm^{-1} e na L-prolina [21] em 3260 cm^{-1} .

A banda localizada em 2748 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento antissimétrico do grupo NH_3^+ , $\nu_{as}(NH_3^+)$. Essa mesma vibração foi observada na L-cisteína [68] em 2693 cm^{-1} .

As bandas localizadas entre 2920 e 2945 cm^{-1} estão associadas com o estiramento simétrico do grupo CH_3 , $\nu_s(CH_3)$. Vibrações do tipo estiramento antissimétrico da unidade CH_3 , $\nu_{as}(CH_3)$, foram observadas em bandas localizadas em 2976 e 2995 cm^{-1} . A mesma vibração foi observada na L-treonina em 2994 cm^{-1} [2] e na L-metionina [17] em 2971 cm^{-1} .

5.3 – Considerações Finais

As propriedades estruturais e vibracionais do cristal de D-treonina foram investigadas, utilizando difração de raios-X de monocristal, cálculos DFPT e espectroscopia Raman. A estrutura do cristal de D-treonina foi determinada. Com relação às propriedades vibracionais do cristal estudado, os números de onda calculados reproduziram com boa concordância os resultados experimentais, o que permitiu realizar a atribuição dos modos normais de vibração do cristal.

Capítulo 6 – Propriedades Vibracionais do Cristal de D-treonina em Função da Temperatura

Diversos estudos realizados com cristais de treonina já foram relatados utilizando diversas técnicas experimentais com a verificação de resultados interessantes [15,28,30,32,69–72]. Por exemplo, em experimentos de espectroscopia Raman a altas pressões, a D-treonina apresentou duas transições de fase estruturais até 8,5 GPa.

Nesta seção serão apresentados os resultados de espectroscopia Raman no cristal de D-treonina em função da temperatura no intervalo de 8 a 300 K, com o intuito de verificar a estabilidade do cristal. A região espectral coletada foi 30-1800 cm^{-1} e 2600-3400 cm^{-1} . Para uma melhor análise dos resultados, o espectro Raman foi dividido em regiões.

6.1 – Região espectral de 30 e 240 cm^{-1}

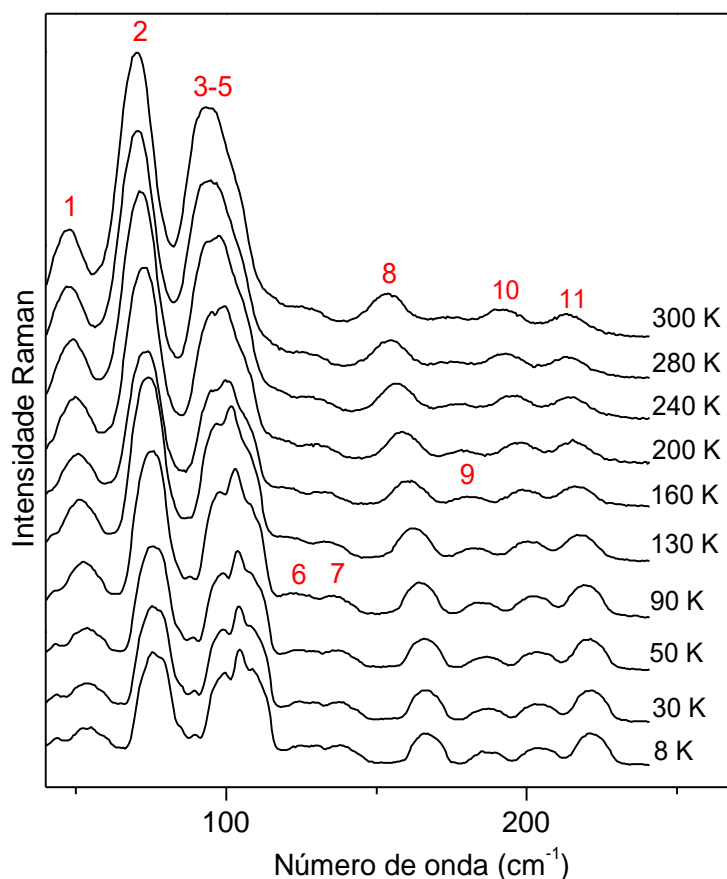
A Figura 19 apresenta o espectro Raman na região espectral de 30 a 250 cm^{-1} para diversos valores de temperatura entre 300 e 8 K. Esta região espectral contém bandas relacionadas com vibrações ao longo das ligações de hidrogênio do cristal (modos da rede ou modos externos), fundamental para a verificação da estabilidade do cristal estudado. De fato, mudanças nessa região espectral pode caracterizar a ocorrência de uma transição de fase experimentada pelo cristal.

As primeiras bandas desta região (numeradas como 1 e 2), onde a primeira está associada à torção $\tau(\text{NC1C3C4})$ e a segunda à combinação $\tau(\text{O2C2C3C4}) + \rho(\text{NH}_3)$, têm suas intensidades diminuídas com a diminuição da temperatura.

A banda larga centrada em 100 cm^{-1} é composta de três bandas (numeradas como 3, 4 e 5). À medida que a temperatura diminui, elas tornam-se mais estreitas e distinguíveis. No espectro tomado a 8 K, já é possível notar a existência das três bandas.

Com a diminuição da temperatura, é possível notar a existência de duas bandas de baixa intensidade (numeradas como 6 e 7) no espectro a 90 K. Acredita-se que estas bandas já existam no espectro tomado a 300 K, mas possuam baixa intensidade. O mesmo acontece com uma banda localizada em torno de 170 cm^{-1} , que somente pode ser visualizada em temperaturas menores do que 200 K.

Figura 19: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 30-240 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.



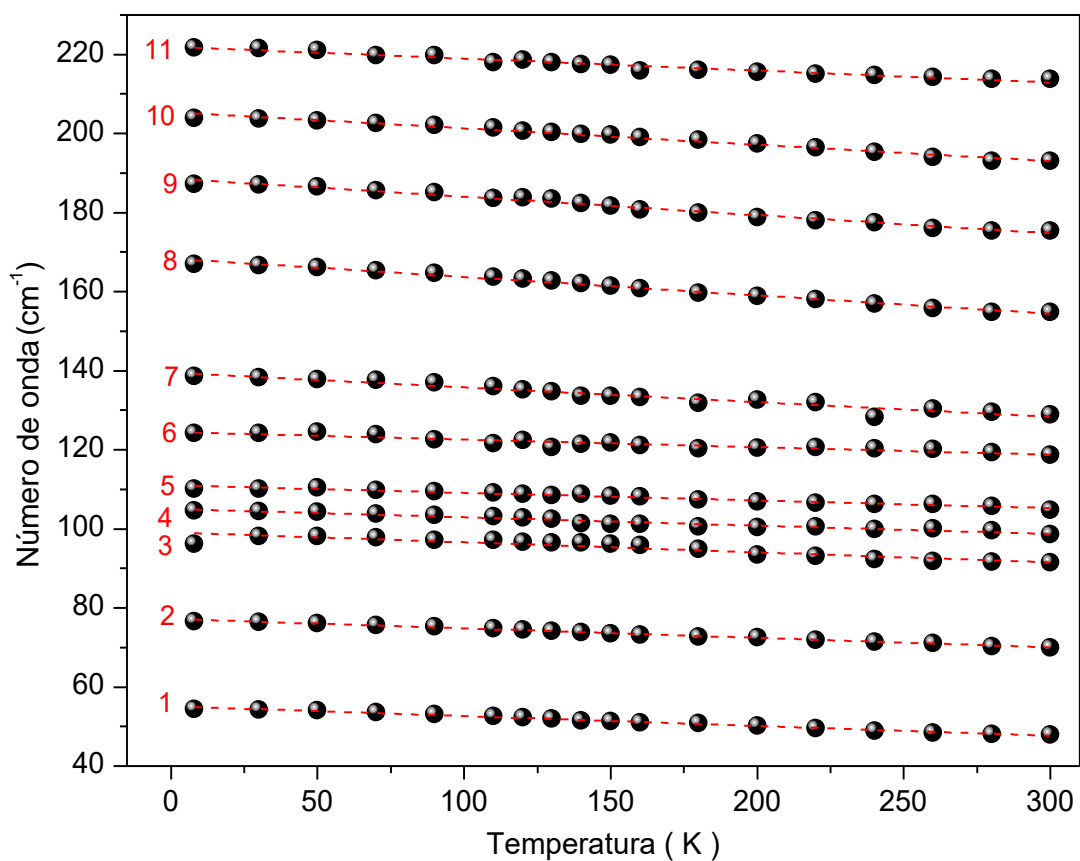
As bandas numeradas como 8, 10 e 11 apresentam baixa intensidade mesmo no espectro tomado a 8 K. No entanto, elas tornam-se mais estreitas e mais intensas com a diminuição da temperatura.

Nenhuma mudança nos espectros foi verificada para esta região espectral, além de variações na intensidade e estreitamento das bandas mediante a redução da temperatura. Como esta região está relacionada com as vibrações ao longo das ligações de hidrogênio do cristal (modos 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 [73] e com a L-isoleucina [74], quando submetidos às condições de baixas temperaturas. O espectro Raman destes cristais, em particular para a região de vibração dos modos da rede, não apresenta qualquer evidência de transições de fase sofridas pelos cristais.

A Figura 20 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados na região espectral 30-

240 cm^{-1} . Percebe-se que as bandas evoluem linearmente com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos para estas bandas são apresentados na Tabela 6. Dos coeficientes obtidos do ajuste, é possível afirmar que todas as bandas, deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

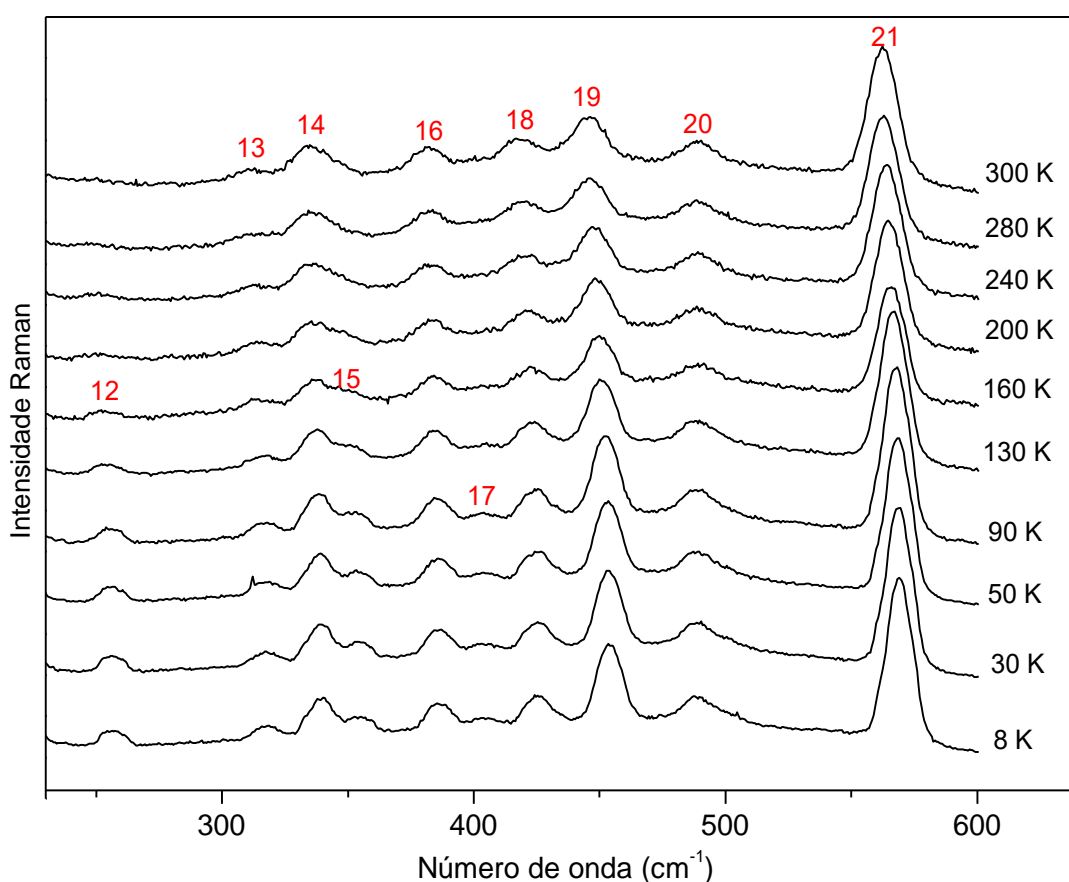
Figura 20: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 30-240 cm^{-1} .



6.2 – Região espectral de 240 a 600 cm^{-1}

A Figura 21 apresenta o espectro Raman do cristal de D-treonina na região espectral entre 240 e 600 cm^{-1} para diversos valores de temperatura entre 8 e 300 K. De acordo com os resultados dos cálculos DFPT, nesta região espectral são observados principalmente a torções do esqueleto da molécula e vibrações de estiramento das unidades NH_3 e CH_3 .

Figura 21: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 240-600 cm^{-1} para diversos valores de temperatura.



Da evolução dos espectros exibidos na Figura 21, temos que a maioria das bandas apresenta baixa intensidade tal que algumas bandas (numeradas como 12, 15 e 17) só podem ser visualizadas quando a temperatura é diminuída. É digno de nota que a banda 15 foi prevista pelos cálculos DFPT.

As bandas numeradas como 13 e 14, e associadas à torção NC1C3C4 , estreitam à medida que a temperatura diminui. No entanto, seus números de onda e intensidades apresentam fraca dependência com a temperatura.

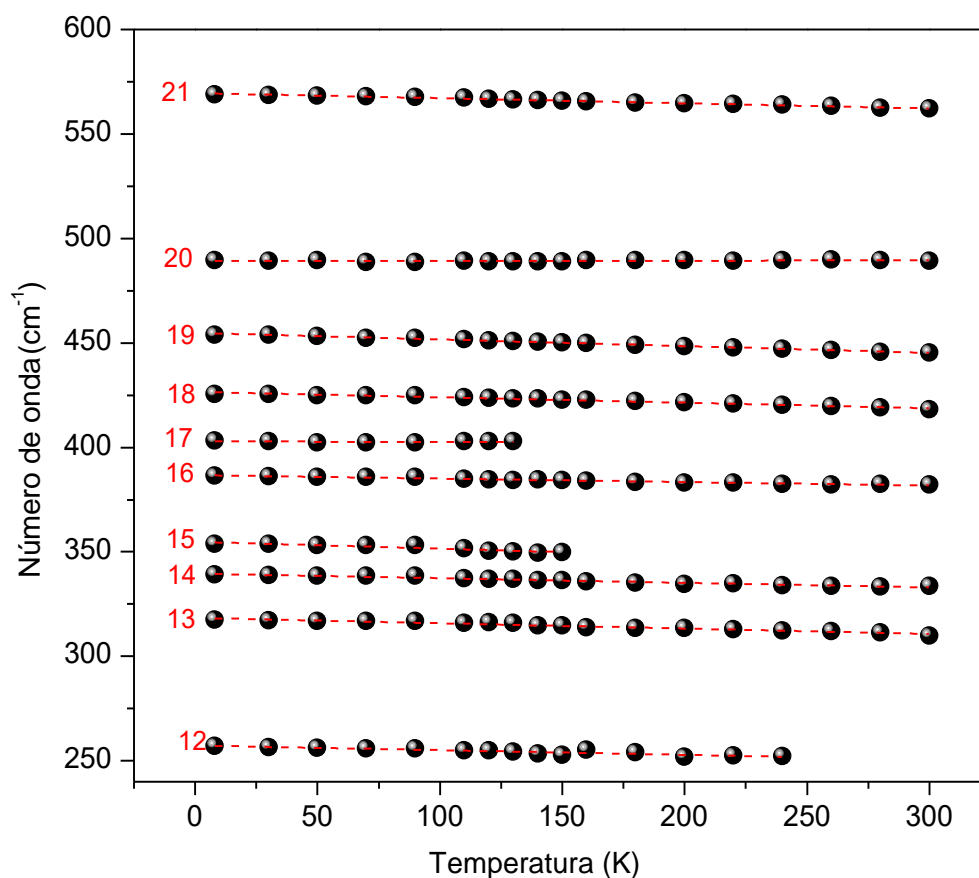
As bandas associadas à combinação $\tau(\text{NC1C3C4}) + \nu(\text{NH}_3) + \nu(\text{C4H}_3)$ estão numeradas como 16, 18 e 19. As duas primeiras apresentam baixa intensidade mesmo a 8 K, enquanto a última apresenta forte dependência da sua intensidade com a temperatura.

A banda numerada como 20, e associada a torção C2C1C3C4, é larga e apresenta baixa intensidade a 300 K. Ela apresenta intensidade e largura fracamente dependente da temperatura, e continua com baixa intensidade mesmo a 8 K. A última banda desta região, numerada como 21 e associada à combinação $\rho(\text{NH}_3) + \tau(\text{O2C2C3O3})$, desloca-se para maiores números de onda com a diminuição da temperatura. Além disso, ela torna-se mais estreita e mais intensa quando a temperatura diminui.

Nesta região é importante destacar, encontra-se uma banda associada à vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3 , $\rho(\text{NH}_3)$, e numerada como 21 na Figura 21. O comportamento desta banda, associada a umas das unidades da molécula que participam diretamente das ligações de hidrogênio, está correlacionado com o comportamento dinâmico das ligações de hidrogênio no cristal [75]. No entanto, nenhuma anomalia é observada no comportamento desta banda.

A Figura 22 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados na região espectral 240-600 cm^{-1} . Percebe-se que as bandas evoluem linearmente com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos para estas bandas são apresentados na Tabela 6. Dos coeficientes obtidos do ajuste, é possível afirmar que os números de onda de todas as bandas, com exceção da banda 20, deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

Figura 22: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 240-600 cm^{-1} .

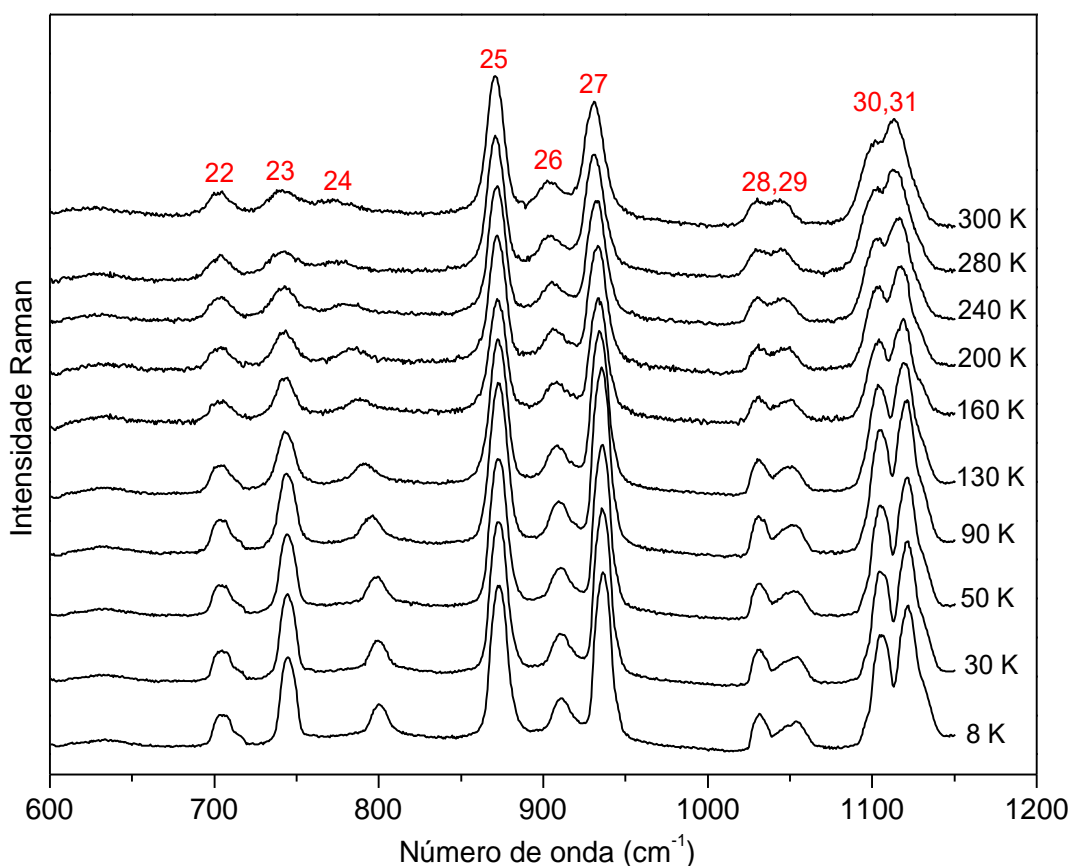


6.3 – Região espectral de 600 a 1150 cm^{-1}

A Figura 23 apresenta o espectro Raman do cristal de D-treonina na região espectral entre 600 e 1150 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura entre 8 e 300 K. De acordo com os resultados dos cálculos DFPT, nesta região espectral são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula e das unidades NH_3 e CH_3 .

Da evolução dos espectros da Figura 23, podemos perceber que as bandas ficam mais distintas à medida que a temperatura diminui. As bandas numeradas de 22 a 24 apresentam baixa intensidade a 300 K, e tornam-se mais intensas e estreitas com a diminuição da temperatura. A banda 23 está associada à combinação $\phi(\text{O1O2C1C2}) + \rho(\text{NH}_3) + \rho(\text{C4H}_3)$, por exemplo, apresenta intensidade três vezes maior a 8 K.

Figura 23: Espectros Raman do cristal de D-treonina para diversos valores de temperatura na região espectral 600-1150 cm^{-1} .



As bandas designadas como 25, 26, e 27 encontram-se distintas a temperatura ambiente (300 K). Quando a temperatura é reduzida, elas tornam-se mais estreitas e intensas. Estas bandas estão associadas principalmente às vibrações de deformação das unidades NH_3 e C_4H_3 . Duas bandas (28 e 29) encontram-se sobrepostas a 300 K, elas estão associadas à combinação $\phi(\text{C}_1\text{O}_3\text{C}_4\text{C}_3) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \text{wag}(\text{C}_4\text{H}_3)$. No entanto, com a diminuição da temperatura, elas encontram-se claramente separadas.

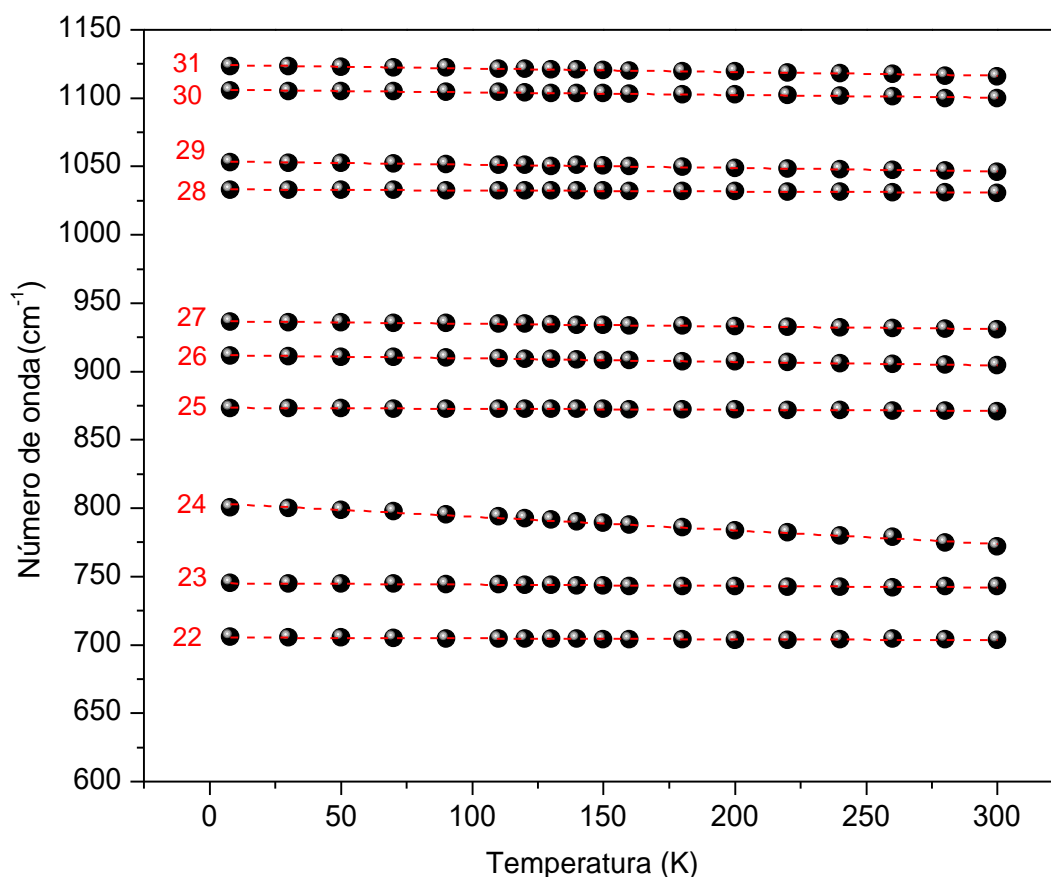
Entre 1100 e 1150 cm^{-1} pode-se notar a existência de duas intensas bandas, onde a primeira está associada à combinação $\delta(\text{C}_1\text{C}_3\text{C}_4) + \rho(\text{NH}_3) + \rho(\text{C}_4\text{H}_3)$ e a segunda à $\delta(\text{C}_2\text{C}_1\text{C}_3) + \rho(\text{NH}_3)$. Estas bandas não variam significativamente suas intensidades com a temperatura, mas apresentam forte dependência das suas larguras a meia altura com este parâmetro termodinâmico.

De uma forma geral, o perfil dos espectros apresentados na Figura 23 é mantido, sendo observado apenas mudanças gradativas nos parâmetros das bandas (número de onda, intensidade e largura a meia altura). Assim, pode-se dizer que esta região não apresenta

qualquer mudança que possa ser associada a uma transição de fase ou mudança conformacional sofrida pelo cristal.

A Figura 24 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados na região espectral 600-1150 cm^{-1} . Desta figura, nota-se que as bandas pertencentes a esta região evoluem linearmente com a temperatura e os coeficientes do ajuste linear obtidos para estas bandas são apresentados na Tabela 6. Dos coeficientes obtidos do ajuste, é possível afirmar que os números de onda de todas as bandas deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

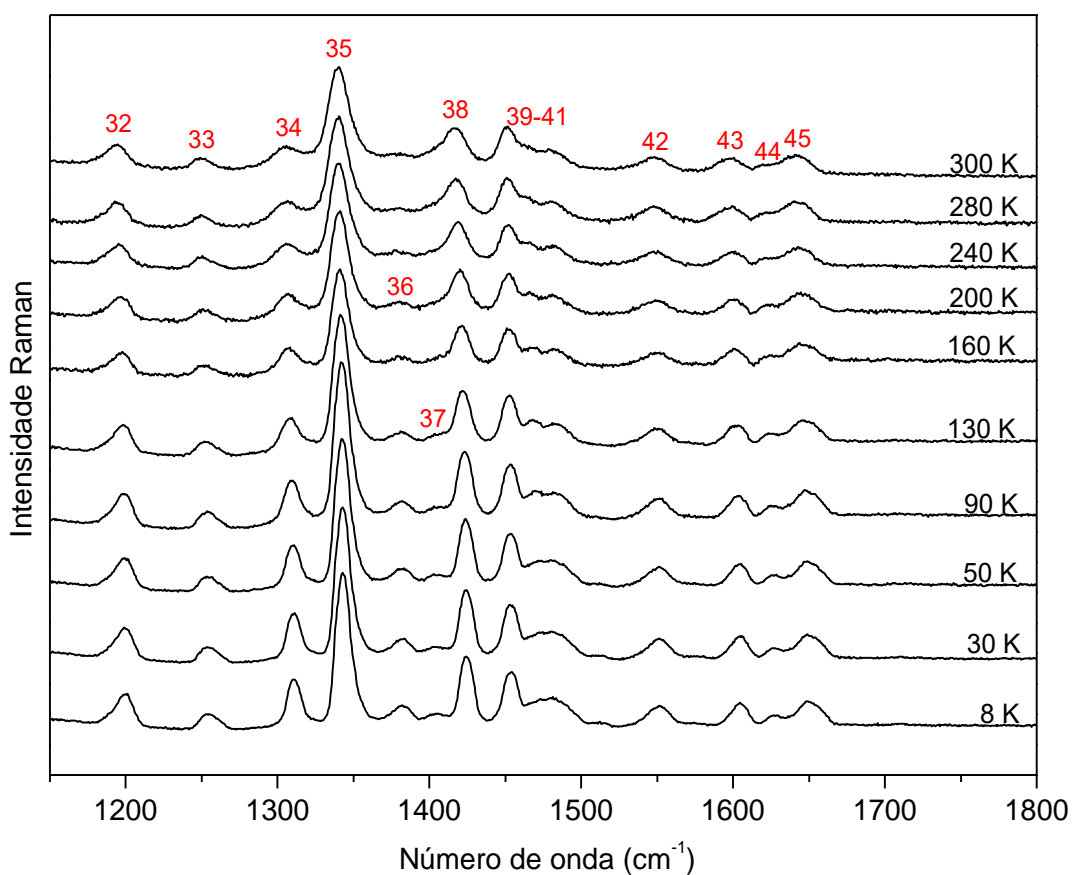
Figura 24: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 600-1150 cm^{-1} .



6.4 – Região espectral de 1150 a 1800 cm^{-1}

A Figura 25 apresenta os espectros Raman do cristal de D-treonina para diferentes valores de temperatura na região espectral entre 1150 e 1800 cm^{-1} . Nesta região são observadas as bandas associadas às vibrações de deformações em toda molécula, além dos estiramentos do grupo CO_2^- .

Figura 25: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 1150-1800 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.



De uma forma geral, as bandas exibidas na Figura 25, encontram-se distintas com algumas sobreposições a temperatura ambiente. Com a diminuição da temperatura, as bandas ficam mais estreitas e mais intensas. Nenhuma mudança (como o aparecimento ou desaparecimento de bandas) que possa ser associada a uma transição de fase ou a mudança conformacional das moléculas foi observada. As bandas 36 e 37 não são visualizadas a 300 K devido às suas baixas intensidades. Elas tornam-se mais intensas à medida que a amostra é resfriada, sendo assim possível observá-las.

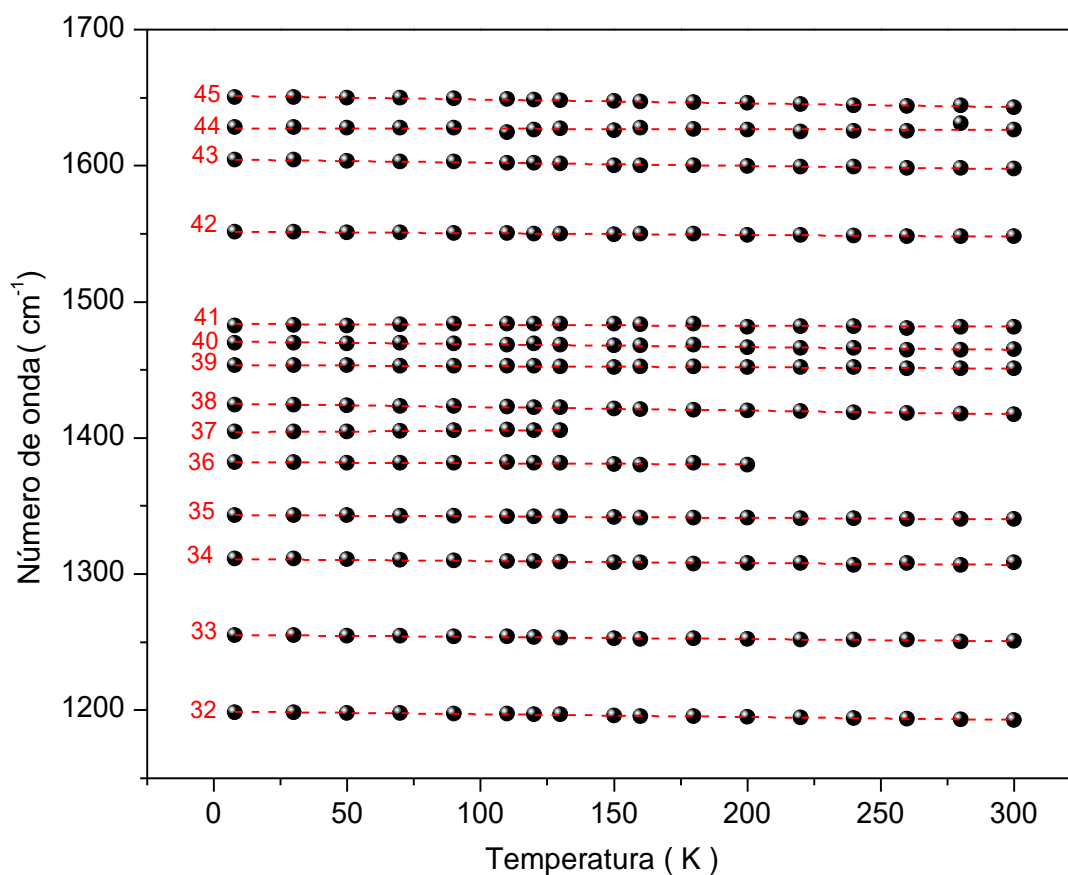
As duas primeiras bandas desta região (numeradas como 32 e 33) apresentam baixa intensidade mesmo a 8 K. Elas apresentam intensidade e largura fracamente dependentes com a temperatura. A primeira está associada a uma torção HC1C3H e a deformação O3H, enquanto a segunda está associada a deformação C2C1C3 e ao *wagging* do NH₃. Diferentemente, as duas bandas localizadas entre 1300 e 1350 cm⁻¹, e numeradas como 34 e 35, apresentam forte dependência da intensidade e largura com a temperatura. De forma clara, elas tornam-se mais intensas e mais estreitas com a diminuição da temperatura.

A banda 38, associada à combinação $\nu(\text{C2C1}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{C1H}) + \text{sc}(\text{C4H}_3)$, torna-se mais intensa e mais estreita com a diminuição da temperatura. A banda larga entre 1440 e 1500 cm⁻¹ à temperatura ambiente foi ajustada com três picos (numerados de 39 a 41). À medida que a temperatura diminui, é possível distinguir as três bandas, justificando o ajuste utilizado. Estas bandas estão associadas principalmente à combinação $\text{tw}(\text{C4H}_3) + \text{wag}(\text{NH}_3) + \delta(\text{OH})$.

As bandas numeradas de 42 a 45 estão associadas principalmente a vibração do tipo *scissoring* do NH₃ e ao estiramento antissimétrico do C2O₂. Elas apresentam baixa intensidade a 300 K, tornando-se mais intensas à medida que a amostra é resfriada.

A Figura 26 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura e o ajuste matemático dos pontos experimentais para os modos Raman observados nesta região. É possível observar que os modos pertencentes a esta região evoluem linearmente com a temperatura. Os coeficientes do ajuste linear obtidos para estes modos são apresentados na Tabela 6. Dos coeficientes obtidos do ajuste, é possível afirmar que, com exceção da banda 37, os números de onda de todas as bandas deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

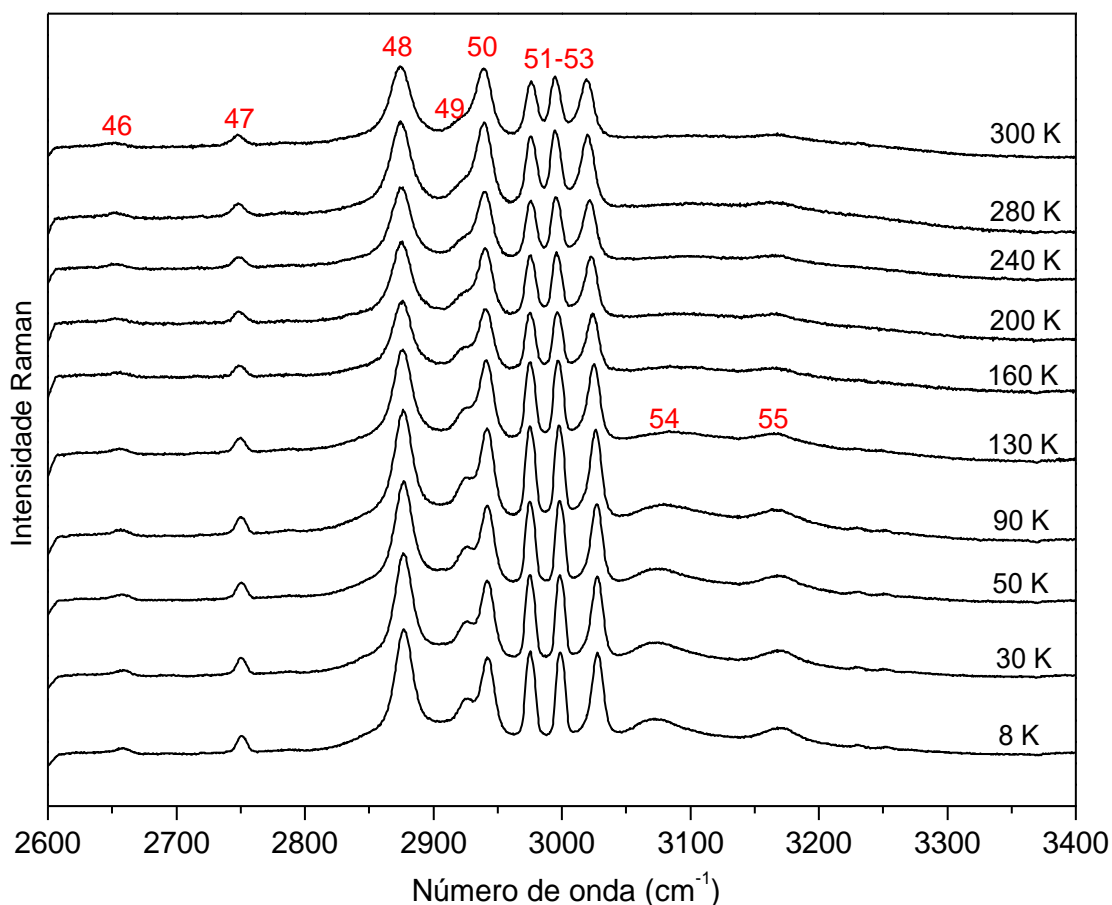
Figura 26: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 1150-1700 cm^{-1} .



6.5 – Região espectral de 2600 a 3400 cm^{-1}

A Figura 27 apresenta o espectro Raman do cristal de D-treonina na região espectral entre 2600 e 3400 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura entre 8 e 300 K. Esta região contém modos vibracionais relacionados com estiramentos das unidades CH, CH₃, OH, NH e NH₃. Além disso, essa região apresenta grande importância, pois contém bandas de unidades envolvidas diretamente nas ligações de hidrogênio.

Figura 27: Espectros Raman do cristal de D-treonina na região espectral 2600-3400 cm^{-1} para diferentes valores de temperatura.



As duas primeiras bandas desta região (numeradas como 46 e 47), associadas ao estiramento O3H e ao estiramento antissimétrico NH_3 , apresentam baixa intensidade a 300 K. No entanto, com a diminuição da temperatura, estas bandas deslocam-se para maiores números de onda e tornam-se mais intensas apresentando forte dependência com este parâmetro termodinâmico.

A banda associada ao estiramento C3H , $\nu(\text{C3H})$, e numerada como 48 na Figura 27 torna-se mais estreita e mais intensa a medida que a temperatura diminui.

Todas as bandas numeradas de 49 a 52 estão associadas aos estiramentos (simétrico ou antissimétrico) da unidade CH_3 . Com a diminuição da temperatura, todas as bandas têm suas intensidades aumentadas e tornam-se mais estreitas e, com exceção da banda 51, todas as bandas deslocam-se para maiores números de onda. A banda 51, no entanto, apresenta número de onda praticamente constante.

A banda 53, associada ao estiramento NH, $\nu(\text{NH})$, tem número de onda fortemente dependente da temperatura, tornando-se mais intensa e mais estreita à medida que a temperatura diminui.

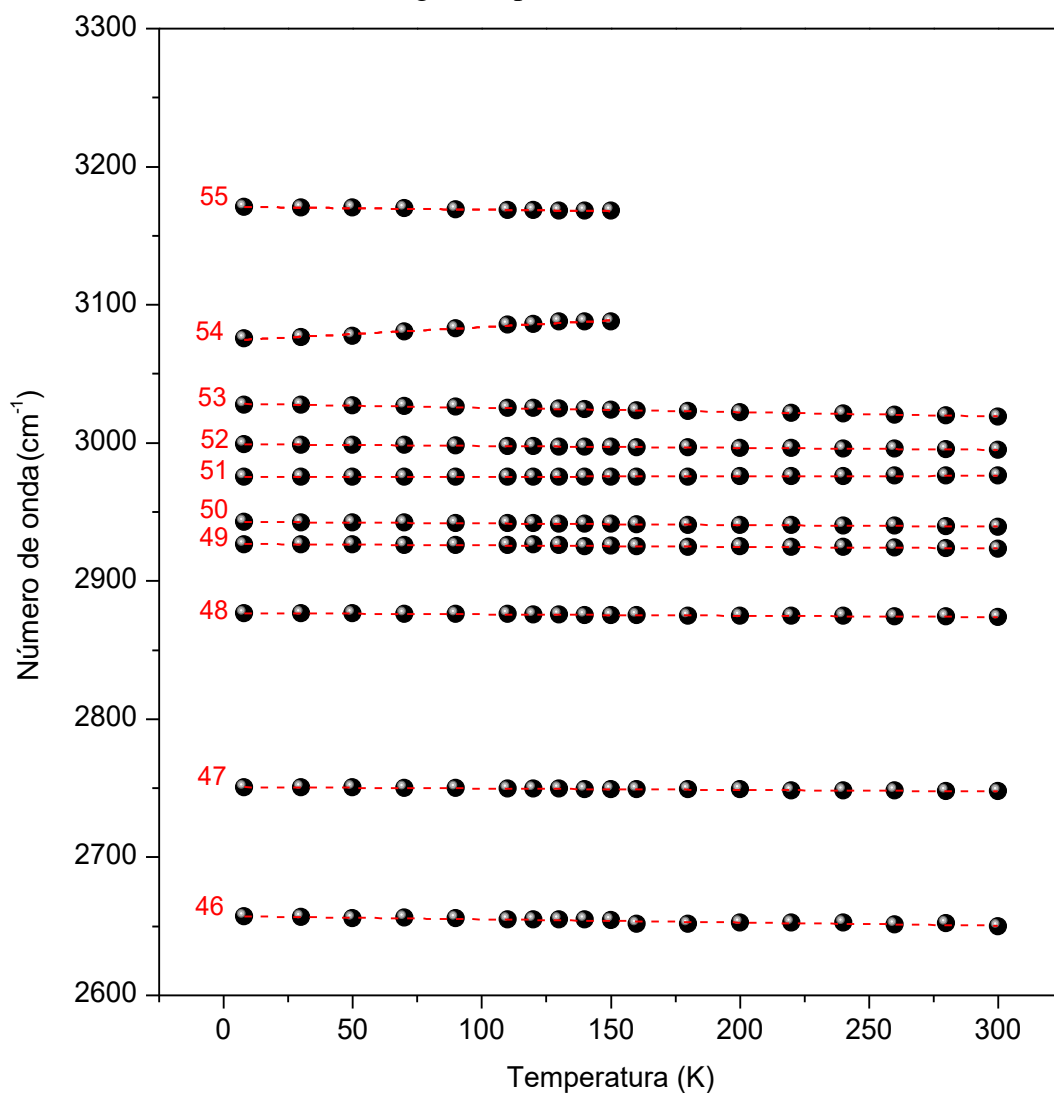
Com a diminuição da temperatura, é possível perceber na

Figura 28 a existência de duas bandas largas (numeradas como 54 e 55) e de baixa intensidade entre 3050 e 3200 cm^{-1} . Estas bandas são observadas de forma clara para valores de temperatura menores do que 160 K. Acredita-se que estas bandas já existissem a 300 K, mas apresentavam baixíssimas intensidades.

A

Figura 28 apresenta a evolução do número de onda dos modos vibracionais em função da temperatura para o intervalo espectral entre 2600 e 3400 cm^{-1} . Os coeficientes obtidos do

Figura 28: Número de onda versus temperatura dos modos Raman do cristal de D-treonina na região espectral 2600-3400 cm^{-1} .



ajuste linear do número de onda em função da temperatura estão listados na Tabela 6. Da análise da

Figura 28, é possível observar que o número de onda de todas as bandas apresentam comportamento linear com a temperatura. Dos coeficientes obtidos para as bandas pertencentes a esta região, é possível afirmar que, com exceção das bandas 51 e 54, os números de onda de todas elas desde a temperatura ambiente (300 K) deslocam-se para maiores números de onda (*blue shift*) com a diminuição da temperatura.

Tabela 6: Coeficientes do ajuste linear para os modos Raman do cristal de D-treonina pertencente a região espectral 30-3400 cm^{-1} para valores de temperatura entre 8 e 300 K.

Identificação do modo	Número de onda a 8 K (cm^{-1})	Coeficientes do Ajuste Linear	
		$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$	
		$\omega_0 (\text{cm}^{-1})$	$\alpha (\text{cm}^{-1}/^\circ\text{C})$
1	55	55,1	$-2,5 \cdot 10^{-2}$
2	77	77,2	$-2,4 \cdot 10^{-2}$
3	98	99,1	$-2,5 \cdot 10^{-2}$
4	105	105,0	$-2,1 \cdot 10^{-2}$
5	111	111,1	$-1,9 \cdot 10^{-2}$
6	125	124,5	$-1,9 \cdot 10^{-2}$
7	139	139,5	$-3,7 \cdot 10^{-2}$
8	168	168,4	$-4,7 \cdot 10^{-2}$
9	188	188,7	$-4,6 \cdot 10^{-2}$
10	205	205,5	$-4,1 \cdot 10^{-2}$
11	221	222,0	$-3,0 \cdot 10^{-2}$
12	257	257,8	$-2,9 \cdot 10^{-2}$
13	318	318,4	$-2,6 \cdot 10^{-2}$
14	339	339,6	$-2,2 \cdot 10^{-2}$
15	355	355,4	$-4,1 \cdot 10^{-2}$
16	386	386,7	$-1,7 \cdot 10^{-2}$
17	402	402,8	$-1,4 \cdot 10^{-3}$
18	426	426,6	$-2,6 \cdot 10^{-2}$
19	454	454,8	$-3,2 \cdot 10^{-2}$
20	489	489,1	$1,2 \cdot 10^{-3}$
21	569	569,6	$-2,5 \cdot 10^{-2}$
22	705	705,4	$-6,5 \cdot 10^{-3}$
23	745	745,1	$-1,0 \cdot 10^{-2}$
24	803	803,8	$-1,0 \cdot 10^{-1}$

25	873	873,5	$-7,7 \cdot 10^{-3}$
26	912	912,1	$-2,5 \cdot 10^{-2}$

Tabela 6 (continuação): Coeficientes do ajuste linear para os modos Raman do cristal de D-treonina pertencente a região espectral 30-3400 cm^{-1} para valores de temperatura entre 8 e 300 K.

Identificação do modo	Número de onda a 8 K (cm^{-1})	Coeficientes do Ajuste Linear	
		$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$	
		$\omega_0 (\text{cm}^{-1})$	$\alpha (\text{cm}^{-1}/^\circ\text{C})$
27	937	936,9	$-1,9 \cdot 10^{-2}$
28	1033	1033,3	$-7,8 \cdot 10^{-3}$
29	1054	1053,7	$-2,4 \cdot 10^{-2}$
30	1106	1106,2	$-1,9 \cdot 10^{-2}$
31	1124	1124,3	$-2,6 \cdot 10^{-2}$
32	1199	1199,1	$-2,1 \cdot 10^{-2}$
33	1255	1255,4	$-1,6 \cdot 10^{-2}$
34	1311	1311,1	$-1,4 \cdot 10^{-2}$
35	1343	1343,5	$-1,1 \cdot 10^{-2}$
36	1382	1382,2	$-9,9 \cdot 10^{-3}$
37	1405	1405,6	$-5,2 \cdot 10^{-3}$
38	1425	1425,3	$-2,5 \cdot 10^{-2}$
39	1453	1453,6	$-8,7 \cdot 10^{-3}$
40	1470	1470,8	$-2,0 \cdot 10^{-2}$
41	1483	1483,8	$6,9 \cdot 10^{-3}$
42	1551	1551,6	$-1,3 \cdot 10^{-2}$
43	1604	1604,6	$-2,4 \cdot 10^{-2}$
44	1627	1627,5	$-3,8 \cdot 10^{-3}$
45	1651	1651,4	$-2,8 \cdot 10^{-2}$
46	2657	2657,3	$-2,3 \cdot 10^{-2}$
47	2750	2750,8	$1,1 \cdot 10^{-2}$
48	2876	2876,9	$-9,9 \cdot 10^{-3}$
49	2926	2926,9	$-1,1 \cdot 10^{-2}$
50	2942	2942,9	$-1,2 \cdot 10^{-2}$
51	2975	2975,2	$3,3 \cdot 10^{-3}$
52	2999	2999,2	$-1,4 \cdot 10^{-2}$
53	3028	3028,6	$-3,1 \cdot 10^{-2}$
54	3073	3073,0	$1,1 \cdot 10^{-1}$
55	3169	3169,3	$-3,6 \cdot 10^{-3}$

6.6 – Discussão

Diversos estudos em cristais mostraram que a variação no número de onda com a temperatura ($\Delta\nu$) pode ser escrita como a soma de das contribuições de dois efeitos: expansão térmica e anarmonicidade [32]. A contribuição relativa à expansão térmica é responsável por efeitos de puro-volume e depende diretamente dos coeficientes de dilatação do cristal; e a contribuição relacionada com a anarmonicidade é responsável por efeitos do tipo pura-temperatura. Os efeitos anarmônicos estão relacionados com acoplamento de fônons e interações fônon-fônon.

A expansão térmica e a anarmonicidade em cristais de aminoácidos são afetados pelas ligações de hidrogênio. Na maioria dos casos, as ligações de hidrogênio expandem com o aumento da temperatura, e as direções de maior da expansão térmica estão relacionadas com as direções das ligações de hidrogênio na estrutura. No cristal de L-treonina (isoestrutural do cristal estudado nesse trabalho), por exemplo, o maior coeficiente de expansão é ao longo do eixo c do cristal e está na mesma direção da ligação de hidrogênio mais longa (2,917 Å) [76].

As vibrações de um cristal, em muitos casos, podem ser aproximadas por vibrações harmônicas. Em alguns cristais, no entanto, os efeitos anarmônicos ficam evidentes com a redução da temperatura. Por exemplo, em cristais como a L- histidina [73], o cloridrato de L-asparagina monohidratada [77] e a DL-alanina [78]. Nestes casos, uma função linear da temperatura não é suficiente para descrever o comportamento dos modos em função deste parâmetro termodinâmico. Como observado nestes cristais, as bandas que apresentam grande anarmonicidade são aquelas relacionadas com as ligações de hidrogênio. No caso do cristal estudado neste trabalho, os modos vibracionais não apresentaram anarmonicidade quando a temperatura foi diminuída.

6.7 – Considerações finais

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de D-treonina na região espectral entre 30 e 3400 cm^{-1} desde a temperatura ambiente até a temperatura de 08 K. Com a redução da temperatura, nenhuma mudança nos espectros foi verificada, além de variações na intensidade e estreitamento das bandas. Os modos vibracionais apresentaram comportamento do 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 D-treonina. Este comportamento é semelhante ao apresentado pela L-alanina [79] e pela L-soleucina [67].

Capítulo 7 – Conclusões e Perspectivas

7.1 – Conclusões

As propriedades estruturais e vibracionais do cristal de D-treonina foram investigadas, utilizando difração de raios-X de monocristal, cálculos DFPT e espectroscopia Raman. A estrutura do cristal de D-treonina foi determinada, apresentando estrutura *ortorrômbica* pertencendo ao grupo espacial $P2_12_12_1(D_2^4)$. Com relação às propriedades vibracionais do cristal a temperatura ambiente, os números de onda calculados reproduziram com boa concordância os resultados experimentais, o que permitiu realizar a atribuição dos modos normais de vibração do cristal.

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de D-treonina na região espectral entre 30 e 3400 cm^{-1} desde a temperatura ambiente até a temperatura de 08 K. Com a redução da temperatura, nenhuma mudança nos espectros foi verificada, além de variações na intensidade e estreitamento das bandas. Os modos vibracionais apresentaram comportamento do 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 D-treonina.

7.2 – Perspectivas

No âmbito da continuidade deste trabalho e utilizando a técnica de espectroscopia Raman, pretende-se analisar a estrutura e o comportamento do espectro da L-treonina, em baixas temperaturas, e comparar com o resultado da D-treonina. Além disso, propõe-se estudar os dois isômeros D e L em função da pressão hidrostática.

Referências Bibliográficas

- [1] ZHU, G.; ZHU, X.; FAN, Q.; WAN, X. “*Raman spectra of amino acids and their aqueous solutions*”, Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc., **78**(3), 1187–1195, 2011.
- [2] HOLANDA, R. O. “*Propriedades vibracionais de L-glutamina sob altas pressões e sob altas temperaturas*”. Universidade Federal do Ceará, 2010.
- [3] BRITO, E., “*Aditivos & Ingredientes na indústria de aminoácidos*”, 2013. [Online]. Available: www.probioticaingredients.com.br. [Accessed: 14-Feb-2019].
- [4] CASTRO, P. R. C.; CARVALHO, M. E. A. “*Aminoácidos e suas aplicações na agricultura*”, 58, 2014.
- [5] OBERLANDER, R. “*What are L-Amino Acids*”, 2014. [Online]. Available: <https://www.growthproducts.com/>. [Accessed: 14-Feb-2019].
- [6] WOLOSKEK, H.; DUMIN, E.; BALAN, L.; FOLTYN, V. N. “*D-Amino acids in the brain: d-serine in neurotransmission and neurodegeneration*”, FEBS J., **275**(14), 3514–3526, 2008.
- [7] KUO, Y. H.; ROZAN, P.; LAMBEIN, F.; FRIAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. “*Effects of different germination conditions on the contents of free protein and non-protein amino acids of commercial legumes*”, Food Chem., **86**(4), 537–545, 2004.
- [8] BOEHM, G.; CERVANTES, H.; GEORGI, G.; ... COLOMBO, J. P. “*Effect of Increasing Dietary Threonine Intakes on Amino Acid Metabolism of the Central Nervous System and Peripheral Tissues in Growing Rats*”, Pediatr. Res., **44**(6), 900–906, 1998.
- [9] JENKINS, A. L.; LARSEN, R. A.; WILLIAMS, T. B. “*Characterization of amino acids using Raman spectroscopy*”, Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc., **61**(7), 1585–1594, 2005.
- [10] FREIRE, P. T. C.; BARBOZA, F. M.; LIMA, J. A.; MELO, F. E. A.; FILHO, J. M. “*Raman Spectroscopy of Amino Acid Crystals*”, Raman Spectrosc. Appl. 2017.
- [11] TEIXEIRA, A. M. R.; FREIRE, P. T. C.; MORENO, A. J. D.; MELO, F. E. A. “*High-pressure Raman study of L-alanine crystal*,” **116**, 405–409, 2000.
- [12] MELO, E. A., “*Espectroscopia vibracional em cristais de D-alanina e DL-alanina sob condições extremas*”, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- [13] BELO, E. A.; JÚNIOR, J. A. L.; FREIRE, P. T. C.; POLIAN, A. “*High-pressure Raman spectra of racemate dl-alanine crystals*”, Vib. Spectrosc., **54**(2), 107–111, 2010.
- [14] CLOSE, D. M.; ANDERSON, R. S.; CLOSET, D. M. “*EPR of γ -irradiated crystals of DL-threonine at room temperature EPR of γ -irradiated crystals of DL-threonine at room temperature*”, Cit. J. Chem. Phys., **60**, 1974.
- [15] HOLANDA, R. O. “*Propriedades vibracionais de L-treonina e D-treonina sob altas*

- pressões*”, Universidade Federal do Ceará, 2014.
- [16] MELO, W. D. C. “*Transições de fase em monocristais de D-metionina*”, Universidade Federal do Ceará, 2012.
- [17] JÚNIOR, J. A. L. “*Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*”, Universidade Federal do Ceará, 187, 2008.
- [18] MELO, W. D. C.; FREIRE, P. T. C.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A.; LIMA, J. A.; PARAGUASSU, W. “*Raman spectroscopy of d-methionine under high pressure*”, Vib. Spectrosc., **72**, 57–61, 2014.
- [19] FILHO, P. F. F. “*Estudo de Espalhamento Raman em Cristais de L-leucina Submetidos a Altas Temperaturas e a Altas Pressões*”, Universidade Federal do Ceará, 2007.
- [20] ABAGARO, B. T. O. “*Propriedades Vibracionais de Cristais de DL-Leucina e L-Prolina Monohidratada Submetidos a Altas Pressões*”, Universidade Federal do Ceará, 2012.
- [21] JÚNIOR, J. F. S. “*Estudo de Transições de Fase em Cristais de Cloridrato de Cisteína Monohidratado Submetidos a Condições de Altas Pressões e Baixas Temperaturas*” Universidade Federal do Piauí, 2017.
- [22] MINKOV, V. S.; GORYAINOV, S. V.; BOLDYREVA, E. V.; GÖRBITZ, C. H. “*Raman study of pressure-induced phase transitions in crystals of orthorhombic and monoclinic polymorphs of L -cysteine: Dynamics of the sidechain*”, J. Raman Spectrosc., **41**(12), 1748–1758, 2010.
- [23] MINKOV, V. S.; KRYLOV, A. S.; BOLDYREVA, E. V.; GORYAINOV, S. V.; BIZYAEV, S. N.; VTYURIN, A. N. “*Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline l- and dl-Cysteine*”, J. Phys. Chem. B, **112**(30), 8851–8854, 2008.
- [24] SILVA, J. F.; SOUZA, G. D. S.; LIMA, C. L.; FREIRE, P. T. C.; PINHEIRO, G. S. “*Vibrational properties of L-cysteine hydrochloride monohydrate crystal under high-pressure*”, Vib. Spectrosc. 2018.
- [25] POZZA, P. C.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; RODRIGUEIRO, R. J. B. “*Exigência de treonina para leitões dos 15 aos 30 kg*”, Rev. Bras. Zootec., **29**(3), 817–822, 2000.
- [26] UMIGI, R. T.; BARRETO, S. L. D. T.; DONZELE, J. L.; REIS, R. D. S.; SOUSA, M. F.; LEITE, C. D. S. “*Níveis de treonina digestível em dietas para codorna japonesa em postura*”, Rev. Bras. Zootec., **36**(6), 1868–1874, 2007.
- [27] SHOEMAKER, D. P.; DONOHUE, J.; SCHOMAKER, V.; COREY, R. B., “*The Crystal Structure of Ls-Threonine*”, J. Am. Chem. Soc., **72**(6), 2328–2349, 1950.
- [28] RODRIGUES, J. J.; MISOGUTI, L.; NUNES, F. D.; MENDONÇA, C. R.; ZILIO, S. C., “*Optical properties of L-threonine crystals*”, Opt. Mater. (Amst.), **22**(3), 235–240, 2003.
- [29] CALHOUN, D. H.; RIMERMAN, R. A.; HATFIELD, G. W., “*Threonine Deaminase from Escherichia coli*”, J. Chem. Phys., **248**(10), 3511–3516, 1973.
- [30] RIZZI, A. C.; BRONDINO, C. D.; CALVO, R.; BAGGIO, R.; GARLAND, M. T.; RAPP, R. E. “*Structure and Magnetic Properties of Layered High-Spin Co(II)(L-*

- threonine*)₂(H₂O)₂”, Inorg. Chem., **42**(14), 4409–4416, 2003.
- [31] CAVAINAC, A. L. O.; LIMA, R. J. C.; FILHO, P. F. F.; MORENO, A. J. D.; FREIRE, P. T. C. “*High-temperature Raman study of L-alanine, L-threonine and taurine crystals related to thermal decomposition*”, Phys. B Condens. Matter, **484**, 22–26, 2016.
- [32] HOLANDA, R. O.; FREIRE, P. T. C.; SILVA, J. A. F.; LIMA, J. A. “*High pressure Raman spectra of d-threonine crystal*”, Vib. Spectrosc., **67**, 1–5, 2013.
- [33] CULLITY, B. D. “*Elements of x-ray diffraction*”, 1956, 1–555, 1° edição.
- [34] CLARK, C. M.; DUTROW, B. L. “*Single-crystal X-ray Diffraction*,” 2012. [Online]. Available: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SXD.html.
- [35] ASCROFT, N. W.; MERMIN, N. D., “*Solid State Physics*”, Universidade de Cornell, 1976.
- [36] GREGORY, N. W. “*Elements of X-Ray Diffraction*”, J. Am. Chem. Soc. **664**, 1957.
- [37] SHRESTHA, S. “*Bragg’s Law*.” [Online]. Available: <https://www.sciencetopia.net/physics/braggs-law>.
- [38] S. MUSIĆI, ; N. FILIPOVIĆ-VINCEKOVIĆI; L. SEKOVANIĆII, “*Precipitation of amorphous SiO₂ particles and their properties*”, Brazilian J. Chem. Eng. **2011**.
- [39] PAZ, M. L. Á., “*Propriedades Eletrônicas de Alótropos de Carbono Unidimensionais e Bidimensionais com Anéis Não-hexagonais*,” 2019.
- [40] KOCH, J.; HOLTHAUSEN, M. C. “*A chemist’s guide to density functional theory*”, 2° Edição. 2015.
- [41] KOHN, W. “*Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals*”, Rev. Mod. Phys., **71**(5), 1253–1266, 1999.
- [42] ORIO, M.; PANTAZIS, D. A.; NEESE, F. “*Density functional theory*”, Photosynth. Res., **102**(2), 443–453, 2009.
- [43] LAZZERI, M.; MAURI, F. “*First principles calculation of vibrational Raman spectra in large systems: signature of small rings in crystalline SiO₂*”, 6–9, 2002.
- [44] BARONI, S.; GIANNOZZI, P.; TESTA, A. “*Green’s-function approach to linear response in solids*” Physical Review Letters, **58**(18), p. 1861–1864, 1987.
- [45] GONZE, X. “*Perturbation expansion of variational principles at arbitrary order*,” Physical Review A, **52**(2), p. 1086–1095, 1995.
- [46] LONG, D. A. “*The Raman effect: a unified treatment of the theory of Raman scattering by molecules. 2002*”, West Sussex, Engl. John Wiley Sons Ltd, **8**, 21–22, 2002.
- [47] SALA, O. “*Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*”, 1–276, 2008.
- [48] DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; PUSCHMANN, H. “*OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program*”, J. Appl. Crystallogr., **42**(2), 339–341, 2009.

- [49] BURLA, M. C.; CALIANDRO, R.; CAMALLI, M.; SPAGNA, R. “*IL MILIONE: A suite of computer programs for crystal structure solution of proteins*”, J. Appl. Crystallogr., **40**(3), 609–613, 2007.
- [50] SHELDRIK, G. M. “*A short history of SHELX*”, Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr., **64**(1), 112–122, 2008.
- [51] GONZE, X. “*Adiabatic density-functional perturbation theory*”, Phys. Rev. A, **52**(2), 1096–1114, 1995.
- [52] BARONI, S.; GIANNOZZI, P.; TESTA, A., “*Green’s-function approach to linear response in solids*”, Phys. Rev. Lett., **58**(18), 1861–1864, 1987.
- [53] BARONI, S.; DE GIRONCOLI, S.; DAL CORSO, A.; GIANNOZZI, P. “*Phonons and related crystal properties from density-functional perturbation theory*”, Rev. Mod. Phys., **73**(2), 515–562, 2001.
- [54] GIANNOZZI, P.; BARONI, S.; BONINI, N.; WENTZCOVITCH, R. M. “*QUANTUM ESPRESSO: A modular and open-source software project for quantum simulations of materials*”, J. Phys. Condens. Matter, **21**(39), 2009.
- [55] LEJAEGHERE, K.; BIHLMAYER, G.; BJÖRKMAN, T.; COTTENIER, S. “*Reproducibility in density functional theory calculations of solids*”, Science, **351**(6280), 2016.
- [56] LAZZERI, M.; CALANDRA, M.; MAURI, F. “*Anharmonic phonon frequency shift in MgB₂*”, Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys., **68**(22), 2–5, 2003.
- [57] PLACZEK, G. “*Handbuch der Radiologie*”, Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig, **6**, 205–374, .
- [58] JOHNSON, B. G.; FISCH, M. J., “*An implementation of analytic second derivatives of the gradient-corrected density functional energy*”, J. Chem. Phys., **100**(10), 7429–7442, 1994.
- [59] KERESZTURY, G.; HOLLY, S.; BESENYEI, G.; VARGA, J.; WANG, A.; DURIG, J. R. “*Vibrational spectra of monothiocarbamates-II. IR and Raman spectra, vibrational assignment, conformational analysis and ab initio calculations of S-methyl-N,N-dimethylthiocarbamate*”, Spectrochim. Acta - Part A Mol. Spectrosc., **49**(13–14), 2019–2026, 1993.
- [60] SWAMINATHAN, P.; SRINIVASAN, R.; CAMPUS, G. “*Studies in molecular structure , symmetry and conformation . IX . Crystal and molecular structure of the mixed crystal of L-threonine and L-allothreonine*”, (394), 101–111, 1975.
- [61] SPEK, A. L. “*Structure validation in chemical crystallography*”, Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr., **65**(2), 148–155, 2009.
- [62] SWAMINATHAN, P.; SRINIVASAN, R. “*Studies in molecular structure, symmetry and conformation. VIII. Crystal and molecular structure of L -allothreonine*”, Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. e Cryst. Chem., **31**(1), 217–221, 1975.
- [63] ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P.; PORTO, S. P. S. “*Normal mode determination in crystals*”, J. Raman Spectrosc., **10**(1), 253–290, 1981.

- [64] CASAL, L.; ALLAN, D. R.; PARSONS, S. “*High Pressure structural study of glutamine and the use of Hirshfeld surfaces and graph-set notation to investigate the hydrogen bonding present in the structure up to 4.9 GPa*”, Acta Crystallogr., **B64**, 466–475, 2008.
- [65] DHAMELINCOURT, P.; RAMIREZ, F. J. “*Polarized Micro-Raman and FT-IR Spectra of L-Glutamine*”, Appl. Spectrosc., **47**(4), 446–451, 1993.
- [66] JÚNIOR, J. A. L.; FREIRE, P. T. C.; LIMA, R. J. C.; MORENO, A. J. D.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A. “*Raman scattering of L-valine crystals*”, J. Raman Spectrosc., **36**(11), 1076–1081, 2005.
- [67] FILHO, P. F. F.; FREIRE, P. T. C.; LIMA, K. C. V.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A.; PIZANI, P. S., “*High temperature Raman spectra of L-leucine crystals*”, Brazilian J. Phys., **38**(1), 131–137, 2008.
- [68] ALMEIDA, F. M.; FREIRE, P. T. C.; LIMA, R. J. C.; REMÉDIOS, C. M. R.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A., “*Raman spectra of L-isoleucine crystals*”, J. Raman Spectrosc., **37**(11), 1296–1301, 2006.
- [69] PAWLUKOJĆ, A.; LECIEJEWICZ, J.; RAMIREZ-CUESTA, A. J.; NOWICKA-SCHEIBE, J. “*L-Cysteine: Neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study*”, Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc., **61**(11–12), 2474–2481, 2005.
- [70] FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; FILHO, J. M.; LIMA, R. J. C.; TEIXEIRA, A. M. R. “*The behavior of NH₃ torsional vibration of l-alanine, l-threonine and taurine crystals under high pressure: A Raman spectroscopic study*”, Vib. Spectrosc., **45**(2), 99–102, 2007.
- [71] SILVA, B. L.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; FILHO, J. M.; PIMENTA, M. A.; DANTAS, M. S. S. “*High-pressure Raman spectra of L-threonine crystal*”, J. Raman Spectrosc., **31**(6), 519–522, 2000.
- [72] LIMA, R. J. C.; JUNIOR, E. C. S.; MORENO, A. J. D.; FILHO, P. F. F.; FREIRE, P. T. C.; YOSHIDA, M. I., “*Thermal study of l-alanine, l-threonine, and taurine crystals related to hydrogen bonding*”, J. Therm. Anal. Calorim., **111**(1), 627–631, 2013.
- [73] SILVA, B. L.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; GUEDES, I.; SILVA, M. A. A.; FILHO, J. M.; MORENO, A. J. D., “*Polarized Raman Spectra and Infrared Analysis of Vibrational Modes in L-Threonine Crystals*”, Brazilian J. Phys., **28**(1), 19–24, 1998.
- [74] SOUSA, G. P.; FREIRE, P. T. C.; FILHO, J. M.; LIMA, C. L. “*Low-Temperature Raman Spectra of l-Histidine Crystals*”, Brazilian J. Phys., **43**(3), 137–144, 2013.
- [75] ALMEIDA, F. M.; FREIRE, P. T. C.; LIMA, R. J. C.; REMÉDIOS, C. M. R.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A., “*Raman spectra of L-isoleucine crystals*”, J. Raman Spectrosc., **37**(11), 1296–1301, 2006.
- [76] WANG, C. H.; STORMS, R. D. “*Temperature-Dependent Raman Study and Molecular Motion in l-Alanine Single Crystal*”, J. Chem. Phys., **55**(7), 3291–3299, 1971.
- [77] ROZENBERG, M.; SHOHAM, G.; REVA, I.; FAUSTO, R. “*Low-temperature Fourier transform infrared spectra and hydrogen bonding in polycrystalline l-alanine*”, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc., **59**(14), 3253–3266, 2003.

- [78] JÚNIOR., J. A. L. “*Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina, DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*”, Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [79] LIMA, J. A.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; BORDALLO, H. N. “*Using Raman spectroscopy to understand the origin of the phase transition observed in the crystalline sulfur based amino acid l-methionine*”, *Vib. Spectrosc.*, **65**, 132–141, 2013.