



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**DEPARTAMENTO DE FÍSICA**

---

Trabalho de Conclusão de Curso

**Estudo sobre a aplicação da Análise de Componentes Principais  
em espectros FT-Raman de aminoácidos**

Acadêmico: Henrique dos Santos

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Francielle Sato

---

Maringá  
Maio de 2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**DEPARTAMENTO DE FÍSICA**

---

Trabalho de Conclusão de Curso

**Estudo sobre a aplicação da Análise de Componentes  
Principais em espectros FT-Raman de aminoácidos**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Departamento de Física da  
Universidade Estadual de Maringá, sob  
orientação da Prof<sup>ª</sup>. Dra. Francielle Sato,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de bacharel em Física.

Acadêmico: Henrique dos Santos

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Francielle Sato

---

Maringá  
Maio de 2021.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a minha família por todo o apoio ao percorrer do curso.

Especialmente agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dra. Francielle Sato pela paciência e por todo o conhecimento passado que contribuiu imensamente para a elaboração deste projeto.

Uma imensa gratidão também a Ma. Raquel da Silva Palácios e a Bela. Mariana Sversut Gibin por toda a experiência que me foi passada durante os dias em laboratório.

Do mesmo modo agradeço aos professores do Departamento de Física pelo conhecimento compartilhado durante o curso, e principalmente os professores Prof<sup>o</sup>. Dr. Breno Ferraz de Oliveira, Prof<sup>o</sup>. Dr. Gustavo Sanguino Dias e o Prof<sup>o</sup>. Dr. Jurandir Hillmann Rohling que aceitaram participar da banca examinadora deste trabalho.

De igual, agradeço a todos os amigos que estiveram comigo durante minha jornada no decorrer do desenvolvimento deste projeto, em especial a Ana Carolina Ferreira e a Gabrielly Maria Camargo de Jesus. E todos que estiveram a minha volta durante minha vida.

E por fim, também agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio e incentivo financeiro a pesquisa científica e ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) pelos equipamentos utilizados nesta pesquisa.

## RESUMO

Neste trabalho estudamos a influência da normalização, como pré-tratamento de dados em espectros FT-Raman dos aminoácidos dos grupos alifático e aromático utilizando a análise de componente principal (PCA). A PCA evidenciou a região do espectro que difere entre os agrupamentos, permitindo identificar o modo vibracional, e consequentemente a atribuição química destas regiões. A caracterização espectral foi realizada previamente à PCA por meio de uma revisão bibliográfica. Inicialmente a análise foi feita nos espectros sem pré-tratamento para estudar os parâmetros estatísticos fornecidos pela PCA. Após estabelecidos os parâmetros iniciais, os espectros foram normalizados com relação a intensidade por diferentes métodos: banda de maior intensidade, média do espectro, norma e de zero a um, também conhecido como mínimo-máximo. Na análise da PCA foram utilizadas as matrizes de covariância e correlação para cada método de normalização mostrando como o pré-tratamento de dados influencia na análise dos espectros da espectroscopia Raman quanto a classificação dos aminoácidos.

Palavras chave: PCA, espectroscopia Raman, Aminoácidos.

## ABSTRACT

In this work we study the influence of normalization, as data pre-treatment in FT-Raman spectra of amino acids from the aliphatic and aromatic groups using the principal component analysis (PCA). The PCA showed the regions of the spectra that differ between the clusters, allowing to identify the vibrational mode, and consequently the chemical assignments of these regions. The spectral characterization was performed previously to the PCA through a bibliographic review. Initially, the analysis was performed on the spectra without pre-treatment to study the statistical parameters provided by the PCA. After establishing the initial parameters, the spectra were normalized with respect to intensity by different methods: high band intensity, average spectrum, norm and from zero to one, also known as minimum-maximum. In the analysis of the PCA, covariance and correlation matrices were used for each normalization method, showing how the pre-treatment of data influences the analysis of the Raman spectroscopy spectra regarding the classification of amino acids.

Keywords: PCA, Raman spectroscopy, Amino acids.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	7
1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	9
1.1 Análise de Componentes Principais .....	9
1.2 Métodos de normalização em espectros no infravermelho.....	13
1.3 Aminoácidos .....	15
1.3.1 Aminoácidos Alifáticos .....	17
1.3.2 Aminoácidos Aromáticos .....	18
1.4 Vibrações moleculares .....	19
1.5 Espectroscopia vibracional .....	21
1.6 Espalhamento Raman .....	21
2 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
2.1 Amostras .....	23
2.2 Técnicas experimentais.....	23
2.3 Análise dos espectros.....	24
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
3.1 Caracterização Espectroscópica dos Aminoácidos.....	25
3.2 Análise de Componentes Principais .....	25
3.2.1 Espectros FT-Raman sem pré-tratamento matemático.....	26
3.2.2 Espectros FT-Raman normalizados .....	32
4 – CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS .....	37
ANEXO .....	38
REFERENCIAS .....	47

## INTRODUÇÃO

A Análise de Componente Principal (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), com o avanço da tecnologia, se tornou uma das mais importantes ferramentas da análise estatística multivariada, e constitui a base na qual se fundamenta a maioria de outros métodos multivariados de análise de dados. São inúmeras as aplicações da PCA como na determinação de amostras contaminadas ou não contaminadas por meio das relações entre as variáveis medidas ou agrupamentos entre amostras. Além disso, métodos de análise como a modelagem independente para analogia de classes (SIMCA) e de calibração, regressão em componentes principais (PCR) e a regressão por mínimos quadrados principais (PLS), foram criados a partir da PCA [1].

A PCA pode ser utilizada para a análise de grandes números de variáveis a fim de buscar a redução das mesmas em um conjunto menor de variáveis estatísticas, chamadas de componentes, com o mínimo de perda de informação nelas contida. Devido à esta característica sua aplicação na espectroscopia, principalmente na vibracional, tem sido ampla, pois os espectros vibracionais são compostos das energias dos modos de vibração das moléculas que constituem a substância de estudo, que podem ser da ordem de milhares de números de onda, a depender da configuração experimental utilizada, sendo cada número de onda uma variável.

Em espectros vibracionais os resultados, por muitas vezes, não se apresentam explícitos e necessitam de tratamento de dados, que do ponto de vista matemático e estatístico, se apresentam complexos. Assim, a aplicação da análise multivariada, como a PCA, que é uma ferramenta muito usada no estudo de espectros vibracionais, também chamada de quimiometria, permite a diferenciação entre os aspectos químicos que não é possível de se visualizar com tratamentos matemáticos ou estatísticos univariados [1].

Dentre as diversas aplicações da espectroscopia vibracional, principalmente da espectroscopia Raman, os aminoácidos são extensamente estudados por esta técnica, visto a importância destas substâncias que estão presentes em nosso cotidiano[2]. Como por exemplo, na parte nutricional, em funções biológicas desenvolvidas pelo corpo humano e até mesmo em dispositivos para sensoriamento devido às propriedades ópticas não lineares [3]. Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com sua cadeia lateral.

Em vista da importância dos aminoácidos e da aplicabilidade da espectroscopia Raman em diferentes áreas do conhecimento, há inúmeros trabalhos científicos que envolvem estes dois temas [4, 5]. Cabe ressaltar que muitos destes trabalhos envolvem a

PCA na análise dos resultados, entretanto, é notado que o pré-tratamento nos espectros influencia de forma significativa nos resultados da PCA, e conseqüentemente na interpretação dos mesmos. Esta foi a principal motivação deste trabalho.

Este trabalho tem por objetivo o estudo da diferença que um pré-tratamento matemático pode acarretar na interpretação da análise de PCA, por meio dos modos vibracionais associados aos espectros dos aminoácidos dos grupos alifáticos e aromáticos por meio da técnica de espectroscopia FT-Raman.

No primeiro capítulo deste trabalho tem-se uma revisão teórica sobre a análise de componentes principais, seguida por breves introduções acerca dos aminoácidos, com enfoque sobre os conceitos dos aminoácidos alifáticos e aromáticos, vibrações moleculares, bem como, uma apresentação da técnica de espectroscopia Raman. No segundo capítulo são abordados os procedimentos experimentais e os métodos da análise dos resultados. No terceiro capítulo, resultados e discussão, é apresentado a caracterização espectroscópicas dos aminoácidos e a análise multivariada por meio da análise de componentes principais (PCA) para a identificação das características que diferem entre diferentes pré-tratamentos espectrais. Por fim, o quarto capítulo apresenta as conclusões sobre os resultados discutidos no capítulo três, bem como, uma perspectiva de continuidade deste trabalho.

## 1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo é apresentada uma sucinta revisão bibliográfica sobre análise de componentes principais e os aminoácidos, com ênfase nos aminoácidos dos grupos alifático e aromático. Logo após, são apresentados os conceitos gerais sobre vibrações moleculares. E por fim, alguns conceitos sobre a espectroscopia Raman.

### 1.1 Análise de Componentes Principais

Com o avanço tecnológico a interface de instrumentos passou a gerar grandes números de variáveis que podem ser medidas e analisadas, produzindo quantidades gigantescas de informação. A análise de picos em espectros se tornou necessária para permitir a compreensão de informações relevantes. Devido ao grande número de variáveis que uma amostra pode gerar, a função do PCA é a redução do número de variáveis, com a mínima perda de informações para que os dados possam ser representados em forma gráfica, e separadamente, analisados a fim de encontrar uma correlação entre os mesmos. Assim, a PCA se tornou uma ferramenta eficaz para a análise de dados e reconhecimento de padrões [6, 7].

Esse grande número de variáveis é substituído por um novo conjunto chamados de componentes principais (PCs), a principal característica desses componentes é a ortogonalidade e é onde é encontrado a principal característica que separa os dados de uma amostra. Neste ponto ocorre a primeira redução dimensional, figura 1.1.

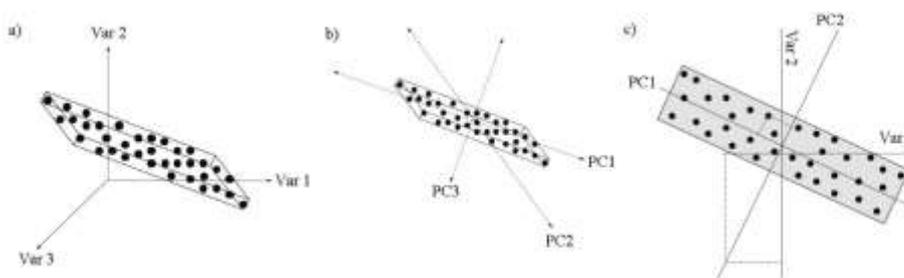


Figura 1.1: Redução do espaço dimensional de um conjunto de dados, a) representação de um conjunto de dados com três variáveis; b) representação dos eixos das componentes principais; c) Representação bidimensional de PC1 e PC2. Adaptado de [6].

A partir da definição da principal característica, chamada de PC1, que separa as variáveis, a relevância da variação dos dados é definida de forma decrescente sendo a

representação da próxima variável que separe os dados ortogonal a anterior e assim em diante, todos ortogonais entre si [6, 8].

A aplicação da PCA consiste em fornecer para um programa computacional uma matriz de dados, a qual pode ser construída usando valores das propriedades de elementos que apresenta variáveis com significados físicos, magnitudes e unidades distintas. A matriz é então fatorada em uma matriz composta pelos pesos de cada componente principal junto a matriz de *scores* e a matriz de resíduos. A primeira componente principal, PC1, corresponde à direção de maior variância no espaço multivariado. É seguido então para a PC2 que corresponde à direção de maior variância do espaço multivariado que não pôde ser descrita pelo PC1, sendo ortogonal a mesma. As componentes seguintes apresentam sempre a direção de maior variância não descrita pelas PC's anteriores e são ortogonais a todas [1].

A análise de componentes principais fornece diferentes tipos de dados que são complementares entre si para a melhor identificação da semelhança entre as amostras. Primeiro é necessário selecionar o tipo de matriz de dados para encontrar a relação entre os dados, há dois tipos de matrizes de dados: covariância que é usada para dados centrados na média e correlação usada para dados autoescalados [1, 9].

Na matriz de covariância ocorre a medida da associação linear entre duas variáveis. A covariância pode ser positiva ou negativa. Quando o valor absoluto da covariância é grande, isso indica que as variáveis são linearmente dependentes, e quanto mais próximo de zero as variáveis se mostram não dependentes. Quando a covariância é positiva indica que os valores de ambas as variáveis estão aumentando ou diminuindo juntos. Quando negativa indica que enquanto uma das variáveis está aumentando a outra está diminuindo [9]. A matriz de correlação é mais usada para encontrar a dependência linear entre as variáveis, podendo ser uma medida de covariância em escala sem unidade e funciona melhor para mostrar dependência entre dados que têm escalas diferentes, como um espectro por exemplo [8].

Para a quimiometria, nome atribuído a PCA no estudo de espectros, inicialmente pode-se avaliar uma tabela mostrando a variância de cada um dos componentes principais, em seguida tem-se um gráfico do espectro das amostras que fornece as regiões onde os espectros mais diferem entre as amostras. Por seguinte é gerado o gráfico de *loading* que apresenta o peso para cada uma das componentes principais. Os pesos correspondem ao quanto um dado difere do outro. Por fim é fornecido um gráfico de *score* para duas ou

três componentes principais, os escores são as projeções dos objetos originais no espaço das componentes principais, que fornece a relação entre as amostras estudadas [1].

Como um exemplo da PCA em um conjunto de dados, apresentamos o trabalho de W. S. Lira *et al* [1], no qual a PCA é aplicada na separação entre os elementos naturais da tabela periódica. Foram utilizados valores tabelados de diferentes propriedades dos elementos para a PCA, sendo elas: primeira energia de ionização (EI), raio atômico (RA), afinidade eletrônica (AE), eletronegatividade de Pauling (EN), densidade (D), calor específico (CE), entropia padrão ( $S^\circ$ ) e condutividade térmica (CT). Utilizando programas como *Unscrambler*, o *Statistica*, o *Minitab* e o *Pirouette* que fornecem as mesmas interpretações que serão mostradas a seguir.

Fornecida a tabela 1.1 com a variância e o cumulativo de cada uma das componentes principais que foram definidas como sendo 8.

Tabela 1.1: Variância e variância cumulativa das componentes principais. Adaptado de [1].

PC	Variância, $\lambda$ (%)	Variância cumulativa (%)
1	33,897	33,897
2	24,237	58,134
3	13,321	71,455
4	9,545	81,000
5	8,542	89,542
6	5,667	95,209
7	3,141	98,350
8	1,650	100,000

Em seguida é fornecido o gráfico de pesos para as duas primeiras componentes principais, figura 1.2, que é o gráfico de *loading*.

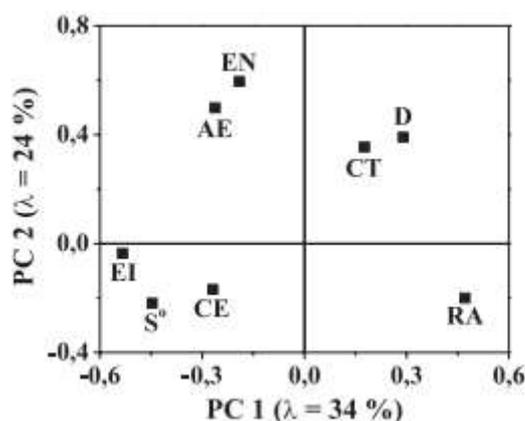


Figura 1.2: Gráfico dos pesos de PC1 e PC2 para oito propriedades: primeira energia de ionização (EI), raio atômico (RA), afinidade eletrônica (AE), eletronegatividade de Pauling (EN), densidade (D), calor específico (CE), entropia ( $S^\circ$ ) e condutividade térmica (CT). Adaptado de [1].

É observado as relações entre as variáveis por meio do gráfico dos pesos, notando-se que quando analisando as variáveis no eixo de PC1, que tem 34% da variância dos dados que o raio atômico (RA) tem sinal contrário ao da eletronegatividade (EN), da afinidade eletrônica (AE) e da primeira energia de ionização (EI). Que condiz com a variação destas propriedades periódicas, já que o RA varia no sentido inverso das outras três propriedades. E então o PC1 é definido como a variável que modela o comportamento periódico dos elementos. É importante ressaltar que os pesos das variáveis podem mudar o sinal a depender do programa utilizado, porém a interpretação dos dados não sofreram alterações, isso pode ser interpretado como uma mudança de referencial.

Em seguida é fornecido o gráfico de *scores* para as duas primeiras componentes principais, figura 1.3a) que se assemelha a um gráfico em 2D de um plano cartesiano, figura 1.1c). Uma amostra em que é identificada três componentes principais (PC1, PC2 e PC3), a representação iria se assemelhar ao sistema cartesiano de coordenadas, figura 1.1b) onde todos os eixos são linearmente independentes [6, 10]. Ainda na figura 1.3b), onde é visto também a ampliação da região onde os elementos classificados como semimetais.

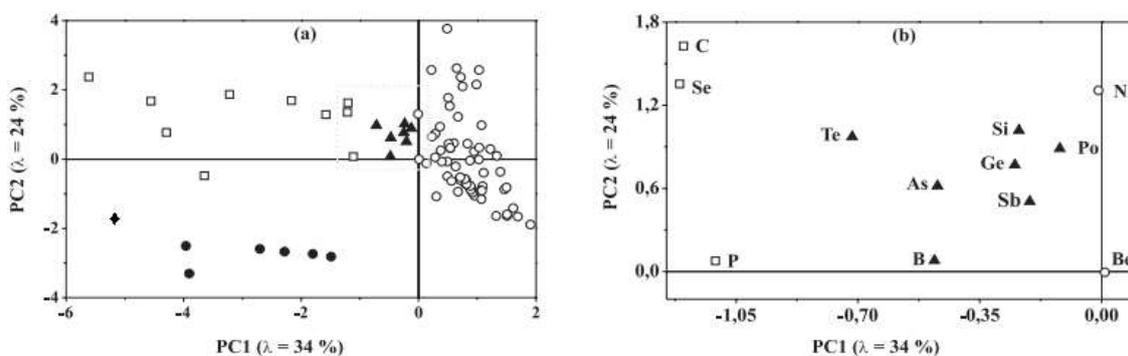


Figura 1.3: (a) Gráfico dos *scores* de PC1 e PC2 para 88 elementos químicos: ○ metais, □ ametais, ▲ semimetais, ● gases nobres e ◆ hidrogênio. (b) Ampliação da região onde se vê os semimetais. Adaptado de [1].

É observado na figura 1.3a) que os elementos de uma mesma classe tendem a se agrupar e ocupam a mesma região no gráfico de *scores*. A PCA não é usada para a classificação de dados e sim para a identificação de padrões entre amostras. Cabe ao experimentador encontrar a classificação que separa as amostras. As variáveis fornecem a classificação até certo nível. Caso fossem integradas mais e/ou diferentes variáveis os dados poderiam apresentar diferentes padrões gerando classificações diferentes da obtida.

Na interpretação dos padrões para a classificação das amostras também é necessário se levar em consideração o percentual da variância dos PC's, na análise Lira

usa o PC1, que é o responsável pela maior variância dos dados, 34%, é onde se pode determinar a principal classificação dos elementos. Porém, em PC2 que contém 24% da variância dos dados, ainda é possível classificar os elementos como gases nobres e o restante dos elementos.

Ainda como exemplo podemos citar alguns trabalhos que aplicam a PCA na análise de espectros na região do infravermelho, tal como, Yong He *et al* [11], que utiliza a espectroscopia no infravermelho próximo para estudo de chás e a PCA para a diferenciação entre variedades, mostrou que apesar de haver muitas variáveis que podem diferenciar o chá verde, essas diferenças podem ser reduzidas para apenas três, sendo as mais relevantes em regiões específicas do espectro, o que passou a facilitar a diferenciação entre os chás. Helene H. Nieuwoudt, *et al* [12] usou a PCA para identificar as principais fontes de variação dos espectros na região do infravermelho médio, de vinhos tintos e brancos, e obteve que as principais fontes de variação foram a redução do teor de açúcar e álcool das amostras, além do estágio de fermentação e o período de maturação dos vinhos. A. Sarmiento, *et al* [13] identifica os diferentes tipos de pigmentos em obras de arte, e a partir da identificação de substâncias (óleos secantes, ceras, proteínas, gomas e resinas), por meio da PCA em bandas de absorção específicas na região do infravermelho médio.

## 1.2 Métodos de normalização em espectros no infravermelho

A normalização de dados é um importante processo usado para padronizar espectros, principalmente na região do infravermelho, que fornece diversas bandas referentes aos modos vibracionais ativos da amostra em estudo, estes espectros podem ser obtidos por diferentes métodos de detecção em técnicas espectroscópicas. Normalizando um espectro é possível que as intensidades dos espectros sejam mais semelhantes, permitindo assim que contribuições experimentais ou efeitos físicos ou químicos não desejáveis sejam minimizados. A depender do tipo de normalização diferentes fatores podem ampliar ou interferir na interpretação de dados [8]. A normalização é um dos métodos utilizados nos espectros na região do infravermelho como pré-tratamento para análises de PCA, pois a intensidade, largura e posição das bandas são parâmetros que contribuem para os resultados obtidos por meio da análise multivariada.

A seguir, apresentamos uma breve descrição dos métodos de normalização que foram aplicados neste trabalho, como pré-tratamento dos espectros:

*Normalização pela norma:* Todas as intensidade das bandas espectrais são divididas pela raiz quadrada da soma das intensidades do espectro ao quadrado, chamada de norma:

$$norma = \sqrt{x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2}$$

$$xn_i = \frac{x_i}{norma}, \quad i = 1, 2, \dots, N$$

sendo  $xn_i$  as intensidades das bandas do espectro.

*Normalização pelo máximo:* A normalização pelo máximo é obtida quando todas as intensidades do espectro são divididas pelo valor da banda de maior intensidade ( $P$ ):

$$xn_i = \frac{x_i}{P}, \quad i = 1, 2, \dots, N$$

sendo  $xn_i$  as intensidades das bandas do espectro.

*Normalização pela média do espectro:* A normalização pela média é obtida somando todas as intensidades do espectro e dividindo pela quantidade total de números de onda, ou comprimentos de onda do espectro:

$$média = \sum_{i=1}^N \frac{x_i}{N}$$

$$xn_i = \frac{x_i}{média}, \quad i = 1, 2, \dots, N$$

sendo  $xn_i$  as intensidades das bandas do espectro.

*Normalização por mínimo e máximo (mín-max):* Na normalização mín-max também conhecida como normalização de zero a um, a variância mínima das intensidade das bandas é zero e a máxima é um, assim, os valores das intensidade de todo o espectro são subtraídos do valor de mínimo, e é feita a razão entre estes valores obtidos com a diferença entre o valor de máximo e mínimo:

$$x_{max} = \max(x_1, x_2, \dots, x_n)$$

$$x_{min} = \min(x_1, x_2, \dots, x_n)$$

$$xn_i = \frac{(x_i - x_{min})}{(x_{min} - x_{max})}, \quad i = 1, 2, \dots, N$$

sendo  $xn_i$  as intensidades das bandas do espectro.

Cabe ressaltar, que a correção por linha de base também é uma importante ferramenta usada para a diminuição dos dados indesejados, tais como, ruídos e é utilizada

como pré-tratamento da PCA. Os métodos de correção por linha de base variam de acordo com a precisão dos resultados, então, um método que pode ser adequado a um tipo de espectro pode não ser compatível com outro. A correção por linha de base pode ser feita por algoritmos que podem usar como base a diferenciação e filtragem, interpolação, manual ou por polinômios automáticos, usando funções assimétricas, bem como combinações desses métodos [14]. Apesar da grande utilidade da correção de linha de base nos espectros, este trabalho abordará somente como pré-tratamento alguns métodos de normalização de intensidade.

### 1.3 Aminoácidos

As moléculas mais abundantes em seres vivos são as proteínas. Proteínas são cadeias de polímeros de aminoácidos com sequência bem definida [15], que são unidos aos seus vizinhos por um tipo específico de ligação covalente. O primeiro aminoácido a ser descoberto foi a asparagina, em 1806, após isso até 1938 todos os 20 aminoácidos principais foram descobertos [10].

Esses aminoácidos principais, chamados  $\alpha$ -aminoácidos, são compostos por um grupo carboxila ( $\text{COO}^-$ ), um grupo amina ( $\text{NH}_3^+$ ) e um hidrogênio (H) ligados a um carbono, chamado de carbono  $\alpha$ , também chamado de carbono quiral, e são diferenciados pela sua cadeia lateral, grupo R, que podem variar em tamanho, estrutura, carga elétrica e solubilidade em água [10]. A figura 1.4 ilustra a estrutura geral de um aminoácido.

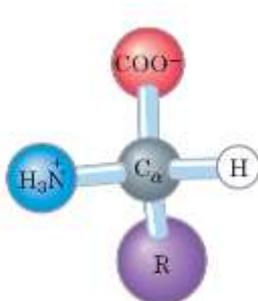


Figura 1.4: Estrutura básica de um aminoácido. Adaptado de [15].

O carbono quiral de cada aminoácido é ligado a quatro grupos químicos distintos, o que quer dizer que o átomo de carbono é opticamente ativo. Com exceção da glicina, pois seu carbono alfa é ligado a dois átomos de hidrogênio[15]. Os grupos ligados ao carbono quiral podem apresentar duas formas de imagem especular que não se sobrepõem uma à outra, chamadas de isômeros L e D. L é a abreviação de levogiro, um isômero

levogiro, que é opticamente ativo, ao ser irradiado por uma onda eletromagnética desvia a luz para a esquerda, e da mesma forma o isômero do tipo D, abreviação de dextrogiro, desvia a luz para a direita. As proteínas são formadas apenas por isômeros do tipo L. Enquanto que os isômeros do tipo D formam antibióticos, e paredes celulares de plantas e bactérias [15, 16].

Há convenções utilizadas para identificar os carbonos na cadeia carbônica de um aminoácido, os carbonos são denominados como  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , e assim por diante a partir do carbono quiral, uma outra convenção para a identificação é numerar os carbonos da cadeia principal do aminoácido, sendo o primeiro carbono, C<sub>1</sub>, o carbono pertencente ao grupo carboxílico, assim, o carbono quiral será o C<sub>2</sub> [10, 15], a figura 1.5 mostra como é a classificação dos carbonos do aminoácido lisina como exemplo.

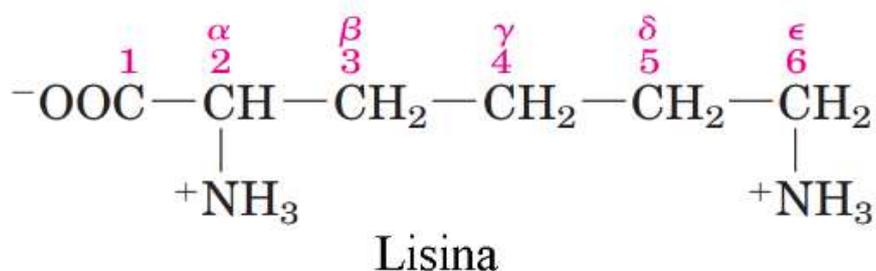


Figura 1.5: Exemplo de classificação de carbono do aminoácido Lisina [15].

Além da classificação de carbonos, os aminoácidos podem ser classificados como essenciais e não essenciais e de acordo com suas propriedades estruturais, funcionais, óticas e químicas. Aminoácidos essenciais, são os aminoácidos que o ser humano não é capaz de sintetizar e devem ser ingeridos por meio de alimentos, os aminoácidos essenciais são: Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano e Valina [17, 18].

Os aminoácidos não essenciais, são os que o sistema biológico do ser humano pode sintetizar, são eles: Alanina, Aspargina, Ácido Aspártico, Cisteína, Ácido Glutâmico, Glutamina, Glicina, Prolina, Serina e Tirosina [17, 18].

Se considerar as propriedades acidobásicas dos aminoácidos os grupos amina e carboxila junto com os grupos R ionizáveis de alguns aminoácidos, funcionam como ácidos e bases fracas. Ao se dissolver um aminoácido, sem grupo R ionizável, em água a pH neutro, o aminoácido permanece na solução como um íon bipolar, *zwitterion*, que pode agir como ácido ou base [10].

Ao se considerar as propriedades químicas das cadeias laterais, os aminoácidos são subdivididos em classes principais que variam entre grupos hidrofóbicos insolúveis (apolares) a grupos hidrofílicos altamente solúveis (polares) [19]:

- Grupos carregados negativamente (ácidos), possui dois aminoácidos, o Aspartato e o Glutamato, que tem carga do grupo R negativa em pH neutro e contém cada um deles um segundo grupo carboxílico [10].

- Grupos carregados positivamente (básico), o grupo R mais hidrofílico são os carregados positivamente ou negativamente, os aminoácidos pertencentes a esse grupo são a Lisina, a Arginina e Histidina, que em pH neutro contém carga positiva significativa [10].

- Grupos polares não carregados, a esse grupo pertence os aminoácidos Serina, Treonina, Cisteína, Asparagina e Glutamina, esses aminoácidos possuem o grupo R solúvel em água [10].

- Grupos aromáticos, os aminoácidos desse grupo contém cadeias laterais aromáticas, são relativamente apolares, não solúveis em água, e podem participar de interações hidrofóbicas, são eles: Fenilalanina, Tirosina e Triptofano [10].

- Grupos apolares alifáticos, nessa classe o grupo R dos aminoácidos são apolares e hidrofóbicos, nesse grupo se encontra os aminoácidos Alanina, Valina, Leucina, Isoleucina, Metionina, Prolina e Glicina [10].

### 1.3.1 Aminoácidos Alifáticos

Os aminoácidos desta classe apresentam cadeias laterais hidrofóbicas, que tendem a se agrupar no interior das proteínas e funcionam como estabilizadores da estrutura das proteínas por meio de interações hidrofóbicas. A Glicina por apresentar estrutura simples tem pouca contribuição com interações hidrofóbicas apesar de se agrupar na classificação de aminoácidos apolares. A Prolina por conter um grupo amina secundário que reduz a flexibilidade estrutural de regiões polipeptídicas devido a sua rigidez [10, 16]. As formas das moléculas não iônicas e iônicas dos aminoácidos alifáticos são apresentadas na figura 1.6.

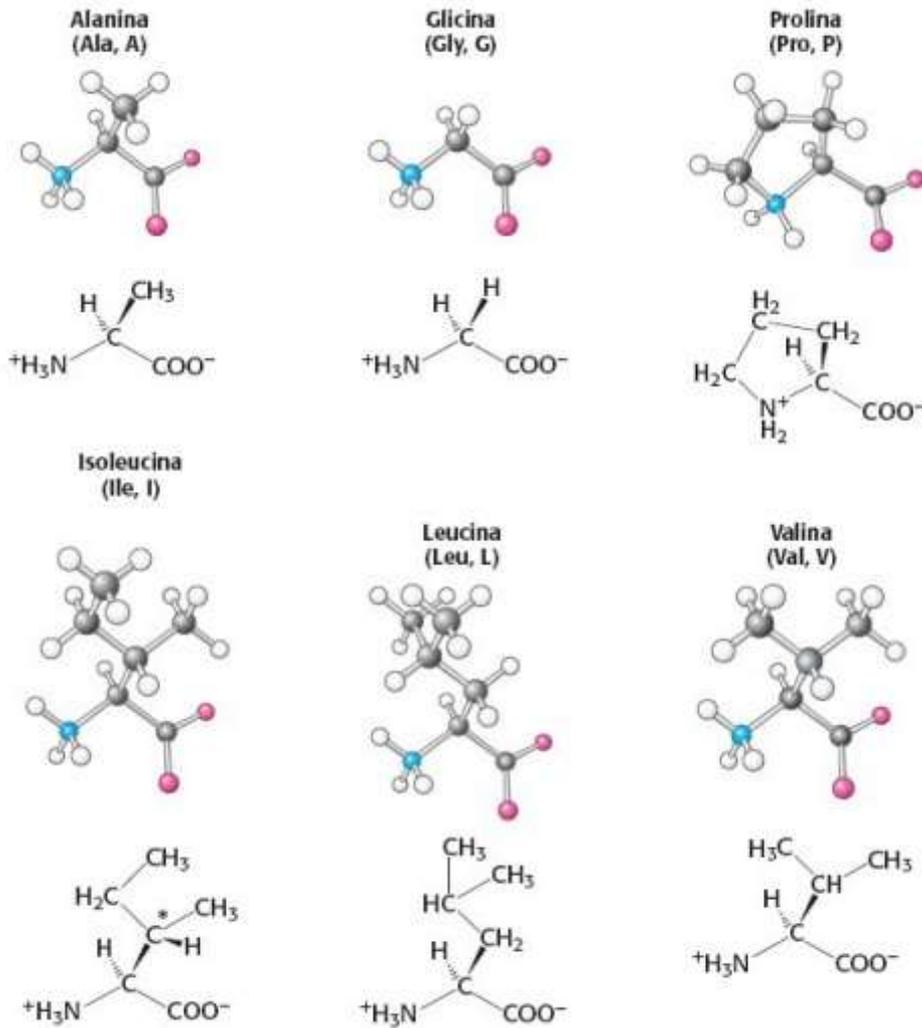


Figura 1.6: Representação das moléculas dos aminoácidos alifáticos na forma não-iônica, sendo carbono – cinza, hidrogênio – branco, oxigênio – cor de rosa e nitrogênio – azul. A forma iônica a cunha sólida representa uma ligação em que o átomo se projeta para fora do plano, na direção do leitor, a cunha tracejada representa a ligação estendida para fora do plano, contra a direção do leitor, o centro quiral secundário da isoleucina é representado por um asterisco (\*). Adaptado de [18].

### 1.3.2 Aminoácidos Aromáticos

Essa classe de aminoácidos apresentam em suas cadeias laterais estruturas aromáticas e assim como os aminoácidos alifáticos, os aminoácidos aromáticos apresentam cadeias laterais apolares. O grupo hidroxila (OH) da Tirosina pode formar ligações de hidrogênio e é um importante grupo funcional de algumas enzimas. Junto com o Triptofano, a Tirosina é mais polar que a Fenilalanina, devido ao seu grupo hidroxila e ao nitrogênio do anel indol do Triptofano. Ainda, os aminoácidos aromáticos apresentam uma forte absorção na região ultravioleta do espectro de radiação eletromagnético, propriedade que é explorada por pesquisadores na caracterização de proteínas [10]. As

formas das moléculas não iônicas e iônicas dos aminoácidos aromáticos são apresentadas na figura 1.7.

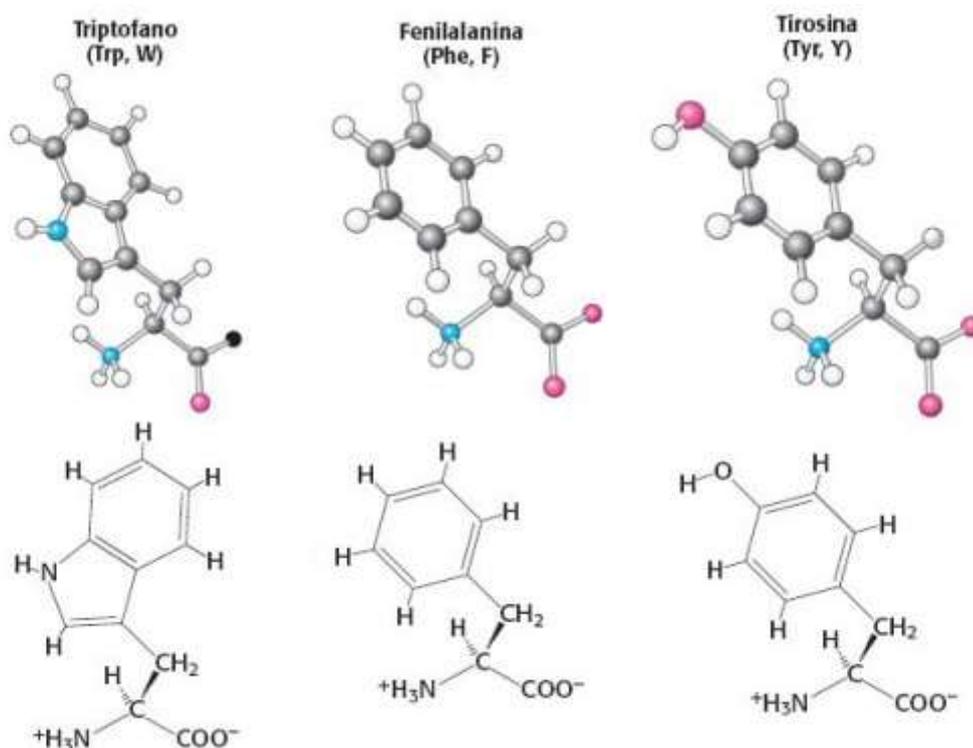


Figura 1.7: Representação das moléculas dos aminoácidos aromáticos na forma não-iônica, sendo carbono – cinza, hidrogênio – branco, oxigênio – cor de rosa e nitrogênio – azul. A forma iônica, a cunha sólida representa uma ligação em que o átomo se projeta para fora do plano, na direção do leitor, a cunha tracejada representa a ligação estendida para fora do plano, contra a direção do leitor. Adaptado de [18].

#### 1.4 Vibrações moleculares

As vibrações moleculares se originam do movimento do núcleo de um átomo ou molécula que causa alongamentos e deformações angulares nas ligações das moléculas que originam os modos normais de vibração [20].

As vibrações possíveis de uma molécula dependem do seu grau de liberdade. Se uma molécula tem  $N$  átomos a molécula terá  $3N$  graus de liberdade, isso devido ao fato que cada um de seus núcleos pode se deslocar para qualquer direção do eixo cartesiano a partir da sua posição inicial. O que acarreta em movimentos compostos por rotações, translações e vibrações [21].

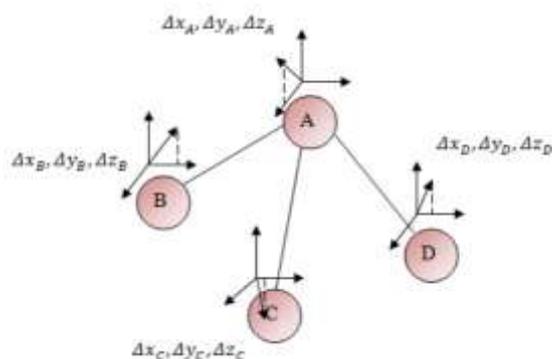


Figura 1.8: Representação do deslocamento de individual dos átomos de uma molécula não-linear [21].

Ao se mover no espaço toda a configuração molecular se move de acordo com o centro de massa do sistema, ou seja, a molécula translada no espaço sem que os átomos se movam em relação ao outro. Além disso, a molécula pode girar no espaço mantendo seu centro de massa fixo. Assim para moléculas não lineares, que tem grau de liberdade de rotação nos 3 eixos dimensionais, a molécula pode ter  $3N - 6$  combinações de movimentos independentes, figura 1.8, e para moléculas lineares que têm simetria de rotação no eixo internuclear o grau de liberdade é  $3N-5$ , que é compensado por um modo vibracional adicional [21].

Igualmente os átomos de uma molécula podem se mover em relação um ao outro, esse movimento causa alterações nos comprimentos das ligações. Essas alterações nos comprimentos das ligações são responsáveis pela vibração molecular, que pode ser classificada como: i) estiramentos que é a causa da variação da distância intermolecular que pode ser simétrico ou assimétrico e ii) deformações dentro e fora do plano que são responsáveis pela variação do ângulo das ligações atômicas. A figura 1.9 ilustra alguns dos diferentes modos de vibração de uma molécula não linear [21].

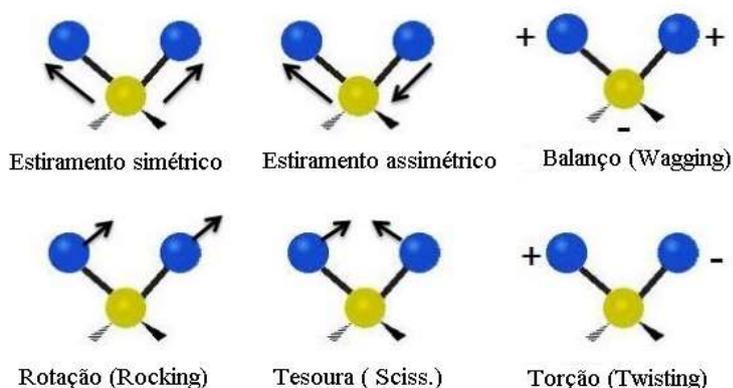


Figura 1.9: Modos normais de vibração. Adaptado de [22].

## 1.5 Espectroscopia vibracional

Na espectroscopia vibracional as técnicas que mais se destacam são a espectroscopia no infravermelho (IR) e Raman. Essas técnicas fornecem vibrações características que são usadas para a investigação da estrutura de uma molécula.

A grande vantagem desse conjunto de técnicas é que a amostra a ser analisada pode ser caracterizada em grandes ou poucas quantidades, em vários estados físicos, líquido, gás, sólido e até mesmo em uma grande faixa de temperatura [23].

A espectroscopia no infravermelho e Raman são usadas em conjunto para uma melhor caracterização de uma amostra, enquanto a espectroscopia Raman é melhor para fornecer informações sobre as vibrações simétricas de grupos apolares, a espectroscopia no infravermelho caracteriza com mais facilidade as vibrações assimétricas de grupos polares [23].

## 1.6 Espalhamento Raman

O efeito Raman foi detectado experimentalmente pelo físico Chandrasekhara Venkata Raman em 1928, em seu experimento Raman utilizou uma lâmpada de mercúrio como fonte de onda eletromagnética, um prisma de vidro como dispersivo e filmes fotográficos [20].

Ao se atingir uma superfície com uma onda eletromagnética, uma fração da luz é absorvida e o restante é refletido. Parte da onda absorvida é dissipada na forma de calor e outra retransmitida na forma de luz espalhada. Parte da luz espalhada é composta por uma frequência diferente da frequência da luz incidente, a esse processo é dado o nome de espalhamento Raman (inelástico), figura 1.10. A outra parte da luz espalhada apresenta a mesma frequência da luz incidente, esse tipo de espalhamento é chamado de Rayleigh (elástico).

O espalhamento inelástico da luz é classificado de dois modos: Stokes quando ocorre que a frequência da luz espalhada é maior que a frequência da luz incidente e anti-Stokes quando a frequência da radiação espalhada é menor que a frequência da luz incidente [24].

A intensidade das bandas Raman Stokes são maiores que as bandas Raman Anti-stokes. A intensidade de banda na espectroscopia é oriunda da variação do momento de

dipolo induzido que é causado pela absorção da radiação que incide sobre uma molécula. Assim, ocorrem diferentes intensidades em diferentes regiões de um espectro de uma molécula devido à ligação a qual a banda é associada. Por exemplo, a banda mais intensa no espectro de octano está em 2971, 2863  $\text{cm}^{-1}$  e é devido ao alongamento da ligação CH. Uma das bandas mais fracas no espectro de octano está em 726  $\text{cm}^{-1}$ , devido à uma deformação do tipo *rocking* de metila de cadeia longa das ligações carbono-carbono no octano. A mudança no momento dipolar em relação à distância para o alongamento CH é maior do que para a vibração de *rocking* de CC, razão pela qual a banda de alongamento CH é mais intensa do que a vibração de *rocking* de CC [48, 49].

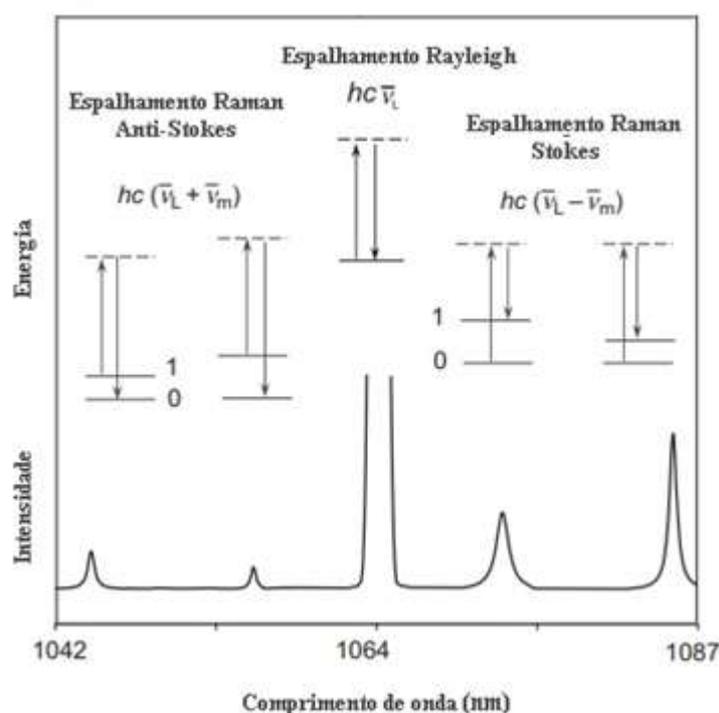


Figura 1.10: Representação do mecanismo dos Espalhamentos Raman anti-Stokes, Rayleigh e Raman Stokes. Sendo  $h$  – constante de Planck;  $C$  – velocidade da luz;  $\nu_L$  – frequência de onda incidente;  $\nu_m$  – frequência da onda espalhada. Adaptado de [23].

Uma onda eletromagnética ao interagir com a matéria pode causar vibrações de diferentes modos nas moléculas, essa oscilação cria uma mudança periódica da posição dos núcleos que constituem a molécula, o que acarreta em uma oscilação do momento de dipolo induzido pela onda eletromagnética. A principal característica de um composto Raman-ativo é que além da oscilação do momento de dipolo induzido é que a polarizabilidade do composto também deve oscilar com a mudança da posição do núcleo [20].

## 2 – MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo é apresentado as técnicas laboratoriais para a obtenção dos espectros dos aminoácidos e como o tratamento matemático e estatístico dos dados dos espectros é feito.

### 2.1 Amostras

Foram analisados aminoácidos em pó pertencentes aos grupos alifáticos e aromáticos. A descrição de cada amostra utilizada está disposta na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Descrição dos aminoácidos.

Aminoácido	Símbolo	Grupo	Grau de pureza	Marca
L-Alanina	Ala	Alifático	≥ 99,0% (NT)	Manipulada
L-Fenilalanina	Phe	Aromático	≥ 99,0% (NT)	Bioultra
Glicina	Gly	Alifático	≥ 99,0% (NT)	Bioultra
L-Isoleucina	Ile	Alifático	≥ 99,5% (NT)	Bioultra
L-Leucina	Leu	Alifático	≥ 99,5% (NT)	Bioultra
L-Prolina	Pro	Alifático	≥ 99,5% (NT)	Bioultra
L-Tirosina	Tyr	Aromático	≥ 99,0% (NT)	Bioultra
L-Triptofano	Trp	Aromático	≥ 99,5% (NT)	Bioultra
L-Valina	Val	Alifático	≥ 99,5% (NT)	Bioultra

L: atividade ótica levógira; NT: titulação não aquosa.

### 2.2 Técnicas experimentais

Todas as amostras foram analisadas utilizando a espectroscopia Raman por transformada de Fourier (FT-Raman). Foi utilizado o espectrômetro FTIR (Bruker, Vertex 70v) acoplado ao módulo Raman (Bruker, Ram II module) para as medidas de FT-Raman, equipado com detector de germânio resfriado por nitrogênio líquido e um laser de excitação Neodímio-Yag com comprimento de onda de 1064 nm e potência nominal de 500 mW.

Para as medidas de FT-Raman as amostras foram postas em um porta amostra de alumínio que é apropriado para a técnica, ou seja, que não apresenta atividade Raman. Os espectros Raman obtidos para cada amostra é uma média de 128 varreduras com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup> no intervalo espectral de 4000 a 40 cm<sup>-1</sup>. A posição das

amostras com relação ao laser de excitação foi determinada de forma a obter a melhor relação sinal ruído nos espectros, sendo a potência nominal nas amostras de 500 mW.

### 2.3 Análise dos espectros

Os espectros foram caracterizados quanto aos principais modos vibracionais existentes nas amostras, de acordo com trabalhos científicos encontrados em base de dados *online*, no intervalo entre 40 a 1700  $\text{cm}^{-1}$  e 2700 a 3300  $\text{cm}^{-1}$  para os espectros Raman, as regiões entre 1700 a 2700  $\text{cm}^{-1}$  e 3300 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  não foram analisadas, pois não apresenta informações espectrais relevantes. Os espectros FT-Raman foram corrigidos por linha de base e normalizados de acordo com a banda de maior intensidade de cada espectro para uma melhor interpretação e apresentação dos modos vibracionais.

Foi usado o *software OPUS* para o registro dos espectros e o tratamento de dados foi feito pelo *software Origin* versão 2020 para teste.

Após a caracterização, os espectros foram submetidos a análise multivariada de dados pela técnica de Análise de Componentes Principais (PCA) nas mesmas regiões descritas anteriormente.

A análise de componentes principais dos espectros foi feita pelo *software Origin*, versão 2020 para testes, para diferentes modos de tratamento de dados dos espectros: inicialmente foi feita a análise dos dados sem pré-tratamento matemático, seguida da análise dos espectros normalizados pela banda de maior intensidade de cada espectro, dados normalizados pela média do de cada espectro, normalizados pela norma e normalizados de zero a um. A partir dos dados da análise de componentes principais, os resultados dos espectros Raman foram comparados a fim de mostrar o que difere entre os pré-tratamento de dados.

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo é apresentado a caracterização espectroscópica na região do infravermelho médio dos aminoácidos a partir da técnica de FT-Raman, bem como a aplicação da técnica de análise de componente principal a fim de mostrar as diferenças entre os modos de pré-tratamento de dados.

#### 3.1 Caracterização Espectroscópica dos Aminoácidos

Os espectros de FT-Raman, obtidos em temperatura ambiente, dos aminoácidos analisados foram normalizados com relação a intensidade da banda mais intensa de cada espectros para uma melhor visualização dos dados experimentais. Os espectros dos aminoácidos e a caracterização com a atribuição dos centros de banda encontrados em literaturas são encontrados no anexo ao final deste trabalho.

Os modos de vibração observados e caracterizados dos grupos químicos  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{COO}^-$  são referentes à cadeia principal dos aminoácidos, do grupo  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  são dos radicais dos aminoácidos. Além disso, o aminoácido Triptofano que contém um grupo um segundo grupo amino, chamado de imino, os modos vibracionais da cadeia principal também é associada ao grupo  $\text{NH}$ . A Prolina por conter o radical ligado tanto ao carbono  $\alpha$  e o grupo amina tem modos vibracionais associados a cadeia principal de  $\text{NH}_2^+$ . Há também, modos vibracionais atribuídos ao esqueleto da molécula. O esqueleto, usualmente conhecido pelo termo esqueleto carbônico, é a união de carbono com outros elementos químicos, principalmente com o hidrogênio. As cadeias que formam o esqueleto das moléculas orgânicas podem ser classificadas como: alifática (cadeias abertas), cíclicas (cadeias fechadas) ou mistas (cadeias fechadas e abertas) [25]. Os aminoácidos aromáticos, Fenilalanina, Tirosina e Triptofano, tem cadeias mistas e seus radicais são formados por cadeias cíclicas, porém, a Prolina que é um aminoácido alifático também contém cadeia mista. É possível também observar que há mais de um modo vibracional referentes a uma mesma frequência e outros não referentes aos grupos funcionais mencionados anteriormente, considerando que os grupos estão ligados para formar a molécula outras vibrações podem ser observadas oriundas destas ligações, mantendo assim a molécula em equilíbrio sem quebras das ligações químicas [26 – 46].

#### 3.2 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais foi realizada nos espectros FT-Raman primeiramente sem pré-tratamento matemático, seguido dos dados com pré-tratamento, sendo: pela banda de maior intensidade de cada espectro, pela média do espectro de cada espectro, pela norma e de zero a um.

### 3.2.1 Espectros FT-Raman sem pré-tratamento matemático

Inicialmente foi aplicada a PCA nos espectros FT-Raman sem pré-tratamento matemático, Figura 3.1. Para a análise é necessário definir se a matriz que é utilizada é de covariância ou de correlação.

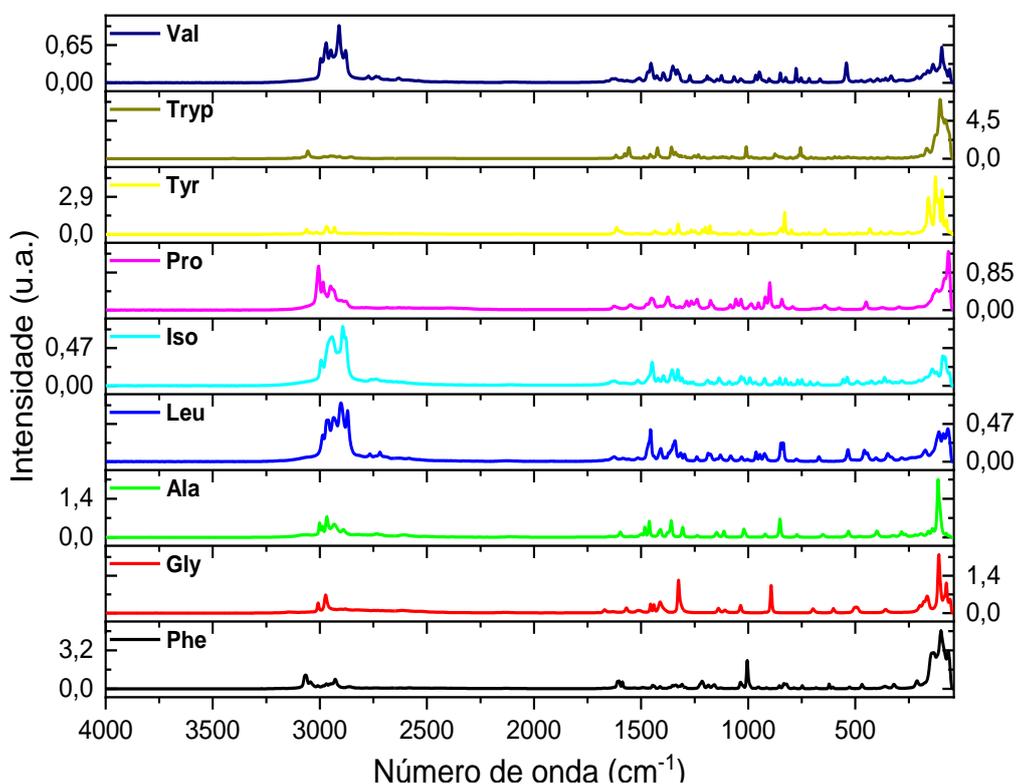


Figura 3.1: Espectros FT-Raman dos aminoácidos sem pré-tratamento matemático.

Na figura 3.2 é mostrado o gráfico de autovalores em função do componente principal (PC), obtidos através das matrizes de covariância e correlação. É notado que o componente principal PC1 é o que representa a maior contribuição na variação dos dados em relação aos outros PCs para ambas as matrizes. Os componentes principais a partir do

PC2 não apresentam contribuições diferentes entre si, autovalores próximos, e a matriz de correlação apresenta uma diminuição constante a partir do PC2.

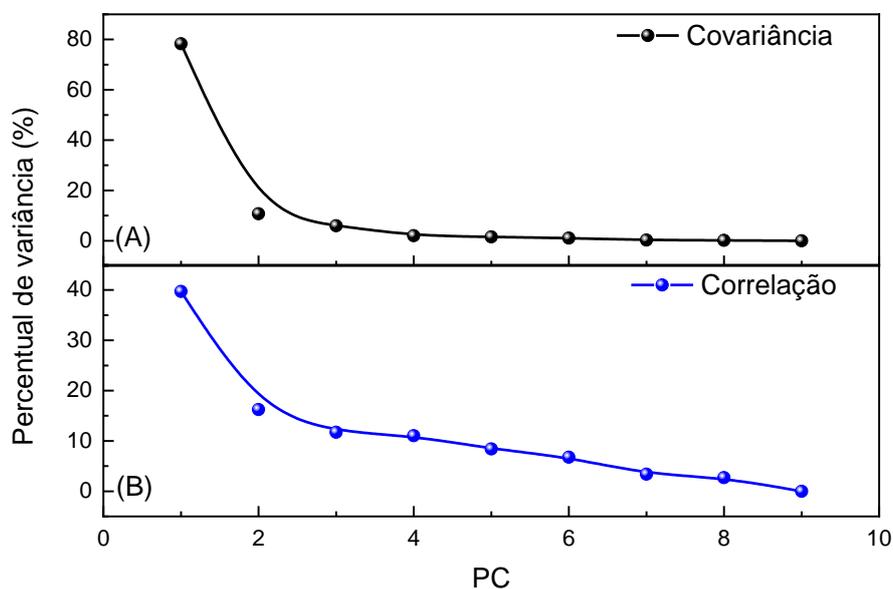


Figura 3.2: Percentual de variância em função do número de componentes principais (PC) obtidos para análise de PCA com as matrizes A) covariância e B) correlação dos espectros FT-Raman sem pré-tratamento.

Tabela 3.1: Percentual de variância da PCA para cada componente.

PC	Percentual de variância (%)	
	Covariância	Correlação
1	78,26995	39,72197
2	10,7392	16,24145
3	5,94442	11,71608
4	2,02261	11,05176
5	1,55048	8,40854
6	1,05756	6,76704
7	0,25541	3,40056
8	0,16038	2,69261
9	$1,50727 \cdot 10^{-30}$	$2,1292 \cdot 10^{-29}$

A quantidade de PCs foi determinada pelo programa como sendo o número de amostras, e o acumulado fornecido indica que para a análise feita com a matriz de covariância até a componente PC2 tem-se aproximadamente 89% da variância total dos dados enquanto na matriz de correlação até o PC2 é de ~56% de variância como é obtido a partir da tabela 3.1. Assim, os resultados obtidos a partir da matriz de correlação mostram que para obter um percentual de variância de dados equivalente a matriz de

covariância é necessária a análise até o PC5 dos dados. Ainda, com a matriz de correlação é observado que o PC1 apresenta ~40% e PC2 ~16% da variância dos dados, e na matriz de covariância tem-se ~80% e 11% para a variância dos dados de PC1 e PC2 respectivamente. Logo, a matriz de covariância dos espectros FT-Raman sem pré-tratamento matemático das amostras apresenta a maior variância dos espectros, representados pelos PC1 e PC2, portanto serão utilizados estes componentes principais durante o estudo deste trabalho. Para evidenciar a diferença que acarreta a escolha entre as matrizes, será apresentado as análises de PCA com ambas as matrizes para os espectros FT-Raman sem pré-tratamento.

A figura 3.3 mostra o gráfico *loading* de PC1 e PC2 em função do número de onda gerados das análise das matrizes de correlação, figura 3.3A) e covariância, figura 3.3B). É mostrado que as variações de PC1 e PC2 da correlação são menores em comparação com a matriz de covariância.

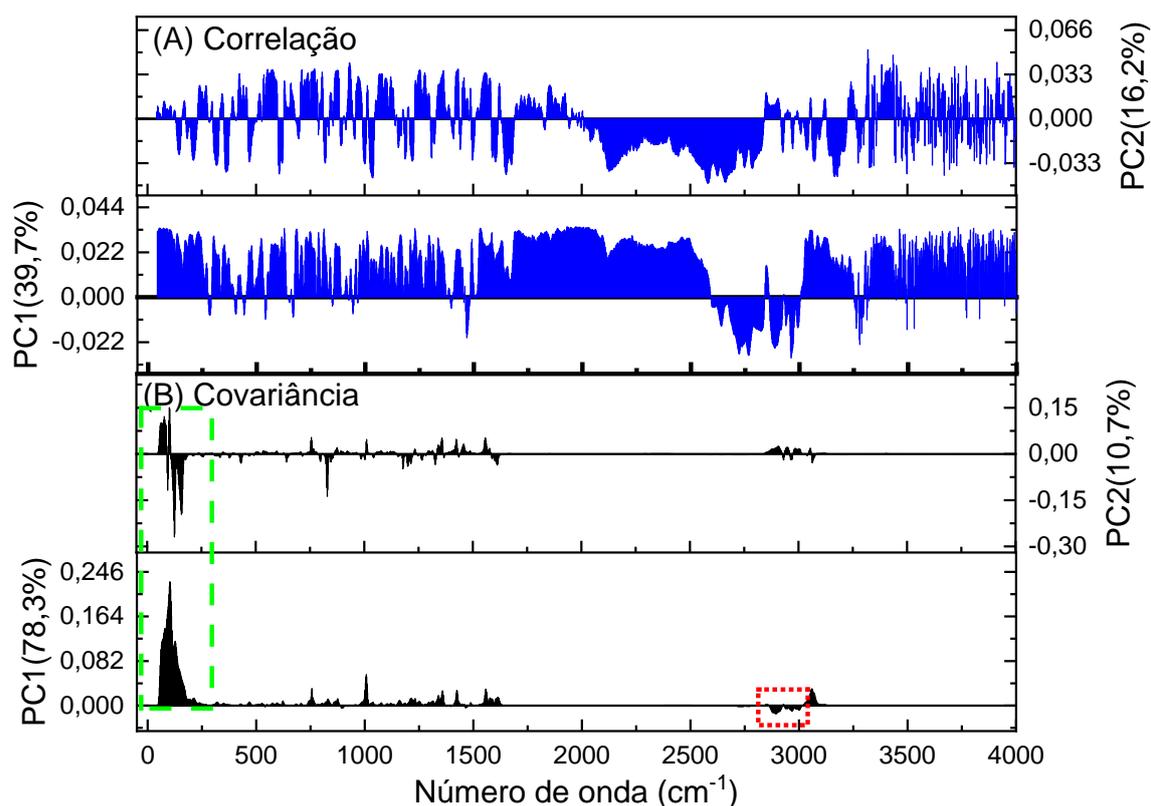


Figura 3.3: Gráficos de *loading* dos componentes principais PC1 e PC2 em função do número de onda para a análise de PCA com as matrizes A) correlação e B) covariância dos espectros FT-Raman sem pré-tratamento. As regiões tracejadas indicam as regiões espectrais em destaque para o estudo.

No PC2 da matriz de correlação o *loading* é bem distribuído por todos os números de onda, mostrando que a componente não apresenta regiões espectrais que diferem entre as amostras, enquanto o PC1 as maiores variações estão em PC1 > 0, a maior variação

ocorre entre  $\sim 2600$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  para  $PC1 < 0$ , como mostrado na tabela 3.1 e evidenciado no gráfico de *loading*, o  $PC1$  equivale a 39,7% da variância dos dados. A matriz de covariância mostra maiores variações para  $PC2 < 0$  na região espectral entre  $\sim 106$  a  $180\text{ cm}^{-1}$  e  $PC1 > 0$  entre  $\sim 50$  a  $190\text{ cm}^{-1}$ , que é a região destacada em verde na figura 3.3B). O gráfico de *loading* mostra as regiões dos espectros que contribuem para a PCA. Levando em consideração o percentual de variância de cada componente principal, assim, a região do espectro que mais contribui na relevância da variação dos espectros FT-Raman sem pré-tratamento fica entre  $\sim 50$  e  $190\text{ cm}^{-1}$  para o  $PC1 > 0$  da matriz de covariância. Devido ao  $PC1$  representar 78,3% da variação dos dados. Mostrando assim, que a matriz de covariância é a que mais indicada para o estudo apresentado neste trabalho.

O gráfico de *score* gerado pela PCA mostra quando há ou não agrupamentos entre as amostras estudadas. Os aminoácidos podem ser classificados dependendo do seu radical (R) em: apolares alifáticos, polares neutros, carregados positivamente (ácido) ou negativamente (básico) e aromáticos [10]. Ainda, os aminoácidos podem ser classificados de acordo com seus aspectos nutricionais: essenciais (não produzidos pelo corpo humano) e não essenciais (produzidos pelo corpo humano) [17, 19]. A PCA foi baseada a partir desta classificação dos aminoácidos.

A figura 3.4 A) e B) respectivamente mostram os gráficos de *score* de  $PC1$  vs  $PC2$  para as matrizes de correlação e covariância. É observado que as matrizes de covariância e de correlação apresentam agrupamentos diferentes das amostras. Na matriz de covariância os aminoácidos são separados em aromáticos e alifáticos ao se analisar o  $PC1$ . Os alifáticos são encontrados para  $PC1 < 0$  e os aromáticos em  $PC1 > 0$ , figura 3.4B). A matriz de correlação, os aminoácidos Gly, Tyr e Pro não se agrupam em  $PC1$  ou  $PC2$ , sendo a Tyr um aminoácido aromático e Gly e Pro alifáticos. A figura 3.5 mostra a classificação dos aminoácidos de acordo com a propriedade nutricional do aminoácido e química do racial.

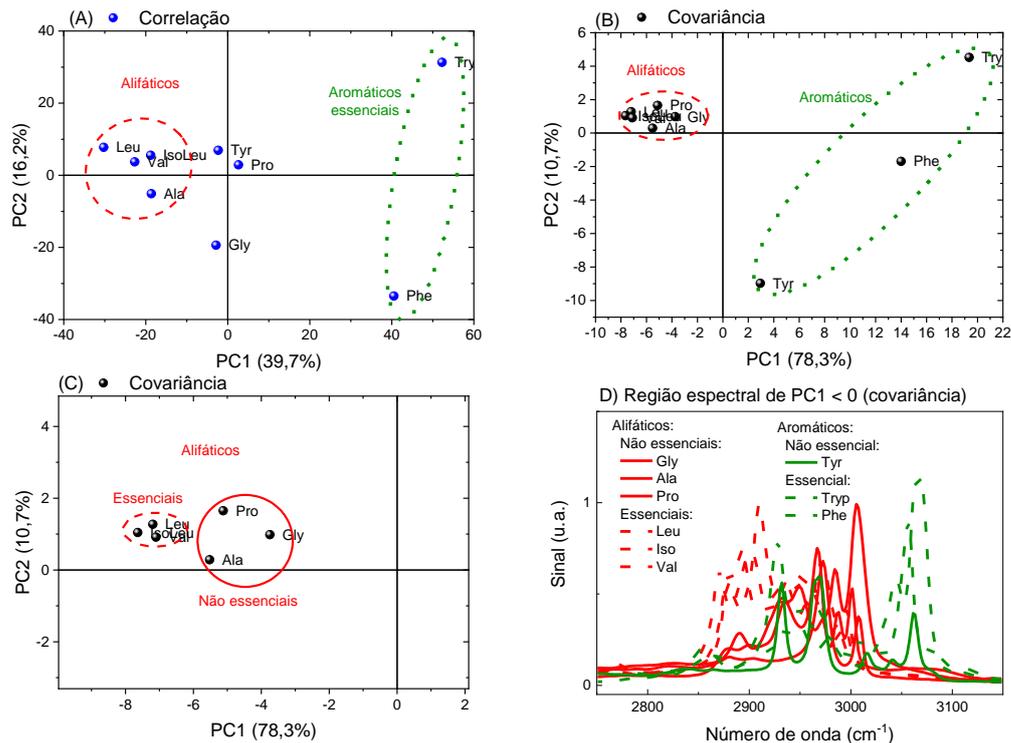


Figura 3.4: (A) gráfico de *scores* de PC1 vs PC2 obtido utilizando a matriz de correlação; (B) gráfico de *score* de PC1 vs PC2 obtido utilizando a matriz de covariância; (C) aplicação gráfica de *score* de PC1 vs PC2 obtido utilizando a matriz de correlação na região de PC1 < 0 e (D) espectro FT-Raman na região entre 2750 a 3150  $\text{cm}^{-1}$  na qual PC1 < 0. As linhas tracejadas e contínuas em (A), (B) e (C) são guias visuais.

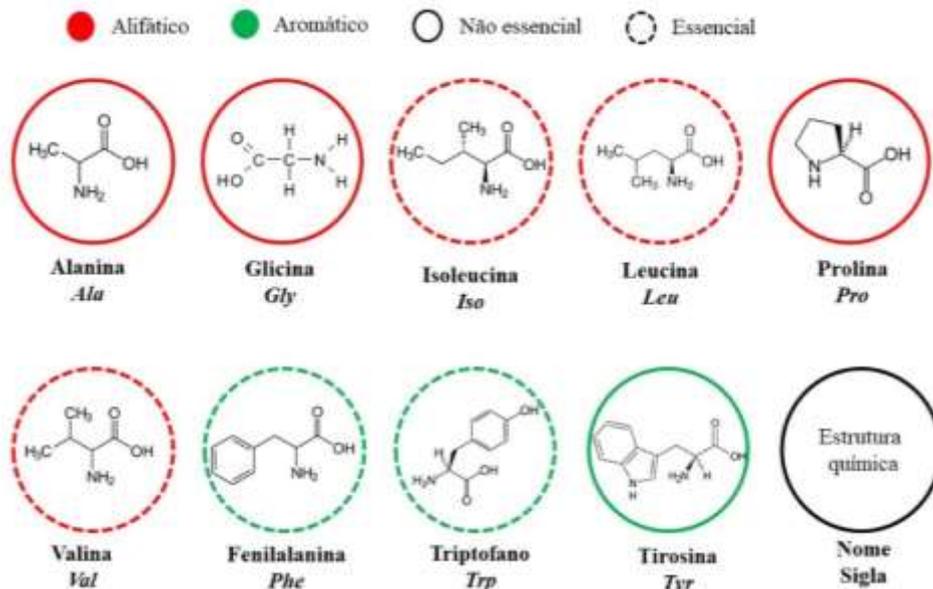


Figura 3.5: classificação dos aminoácidos com relação ao grupo R (alifático e aromático) e a nutrição (essencial e não essencial). Adaptado de [47].

A figura 3.6 mostra o gráfico de *loading* de PC1 vs PC2, em que os pontos mostram os números de onda dos espectros, a região destacada em verde, figura 3.6B), é

a mais distante de  $PC1 = PC2 = 0$ , ou seja, são mais diferenciáveis entre os números de onda. Para a matriz de correlação os números de ondas ficam mais simetricamente distribuídos em torno da origem, dificultando a separação dos números de onda.

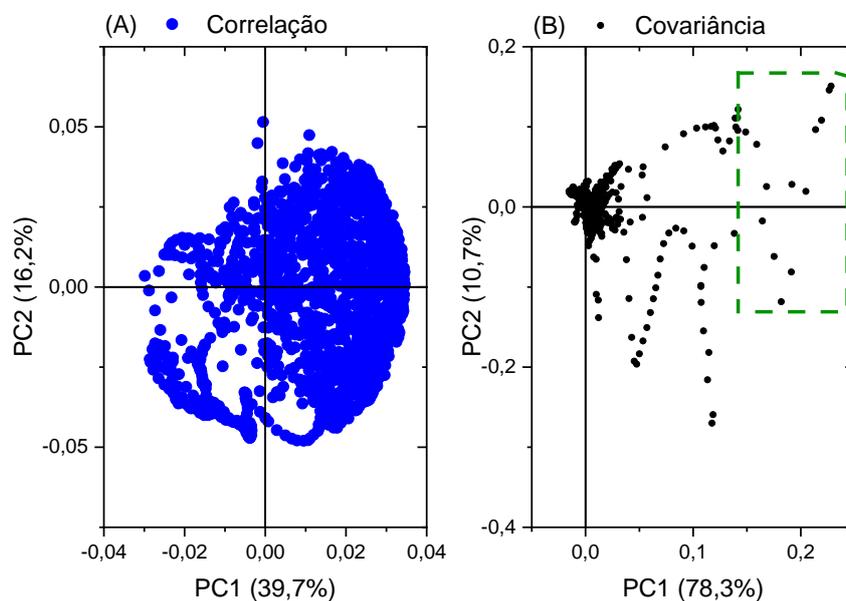


Figura 3.6: Gráfico de *loading* de PC1 vs PC2 obtidos da PCA utilizando as matrizes A) correlação B) covariância dos espectros FT-Raman sem pré-tratamento. As regiões tracejadas são guias visuais que apontam os dados usados para o estudo.

A figura 3.4 (C) que é uma ampliação da figura 3.4 (A) para a região de  $PC1 < 0$ . É notado que há um agrupamento dos aminoácidos alifáticos em essenciais e não essenciais, assim como ocorre na matriz de correlação. Como o PC1 da matriz de covariância é o mais relevante, assim, é notado pela figura 3.3B) que a região dos espectros onde  $PC1 < 0$  em destaque com a linha tracejada em vermelho está entre  $\sim 2860$  a  $3030\text{ cm}^{-1}$ , que é mostrada na figura 3.4D), nesta região os modos de vibração característicos da espectroscopia Raman são estiramentos de CH e NH. Assim, é possível distinguir os aminoácidos não essenciais e essenciais a partir dos modos vibracionais dos espectros nesta região. Na figura 3.4D) também é mostrado que as bandas entre  $2850$  e  $2930\text{ cm}^{-1}$  mais intensas nos aminoácidos alifáticos essenciais e entre  $2960$  e  $3030\text{ cm}^{-1}$  os alifáticos não essenciais, enquanto que os aminoácidos aromáticos não apresentam o mesmo comportamento.

Apesar dos resultados da PCA com a utilização da matriz de covariância não agruparem os aminoácidos em PC1 positiva e negativa, é observado pela figura 3.6, gráfico de *loading* de PC1 vs PC2, que mostra os números de onda dos espectros, que na região destacada em verde, figura 3.6B) é mais distante de  $PC1 = PC2 = 0$ , quer dizer que

os dados são mais diferenciáveis para esses números de onda. Assim, pode-se indicar novamente que a utilização da matriz de covariância na análise dos espectros FT-Raman dos aminoácidos estudados neste trabalho pode ser agrupados em aromáticos e alifáticos, já que a PC1 é equivalente a ~80% da variância dos dados.

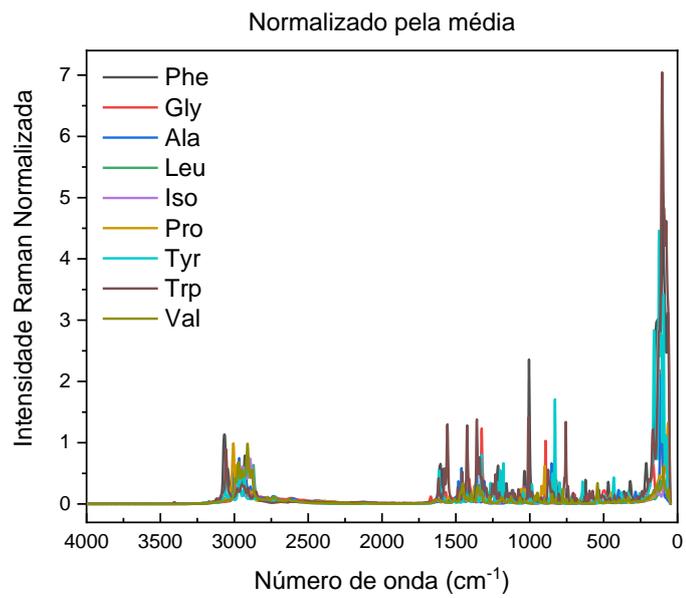
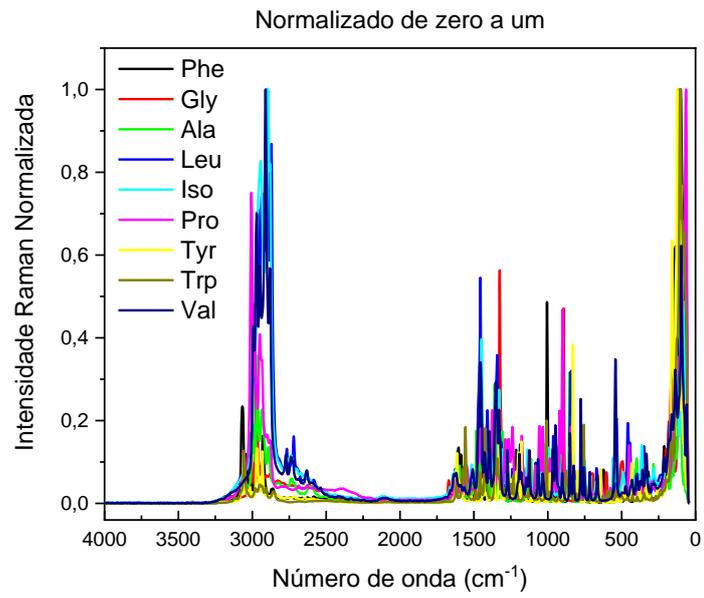
A região espectral onde  $PC1 > 0$  da matriz de covariância, onde os aminoácidos aromáticos se agrupam, (figura 3.4B), que está destacado em verde na figura 3.3B) que fica entre  $\sim 50$  e  $190\text{ cm}^{-1}$  corresponde aos modos vibracionais da rede, que é associada a estrutura cristalina dos aminoácidos. Não será discutido sobre as diferenças entre as estruturas cristalinas de cada aminoácido neste trabalho por se tratar de um estudo detalhado que não se enquadra nos objetivos deste trabalho.

O resultado com os espectros de FT-Raman sem pré-tratamento mostra que dependendo do objetivo do estudo é possível utilizar uma PCA com componentes principais menos ou mais representativos da variância total do estudo. Assim, na continuidade do trabalho será mostrado os resultados onde ocorreu o agrupamento dos aminoácidos em aromáticos ou alifáticos na componente principal que contém a maior variância dos dados, PC1. O trabalho será dedicado a esta classificação visto que a classificação dos aminoácidos envolve diferentes áreas de conhecimento, e vão além dos objetivos deste estudo.

### 3.2.2 Espectros FT-Raman normalizados

Nesta seção é apresentada a análise de componente principal dos espectros FT-Raman dos aminoácidos normalizados utilizando as matrizes de correlação e covariância a partir dos gráficos de *score*, sem o detalhamento como apresentado para os espectros sem pré-tratamento. Na análise dos gráficos de *scores* foram considerados todos os parâmetros de análise de componente principal já discutidos.

A partir dos gráficos dos espectros FT-Raman com pré-tratamento de dados, figura 3.7, é notado que o processo influencia na intensidade das bandas Raman e diferentes métodos matemáticos para a normalização afetam diferentes regiões do espectro como é mostrado. É notado também que quando normalizados de zero a um e pelo máximo as intensidades relativas, as bandas Raman acima da região de  $400\text{ cm}^{-1}$  são muito afetadas. Enquanto, nos espectros normalizados pela média e pela norma, as intensidades das bandas que se encontram na região abaixo de  $400\text{ cm}^{-1}$  ficam mais destacadas em comparação com as bandas do espectro.



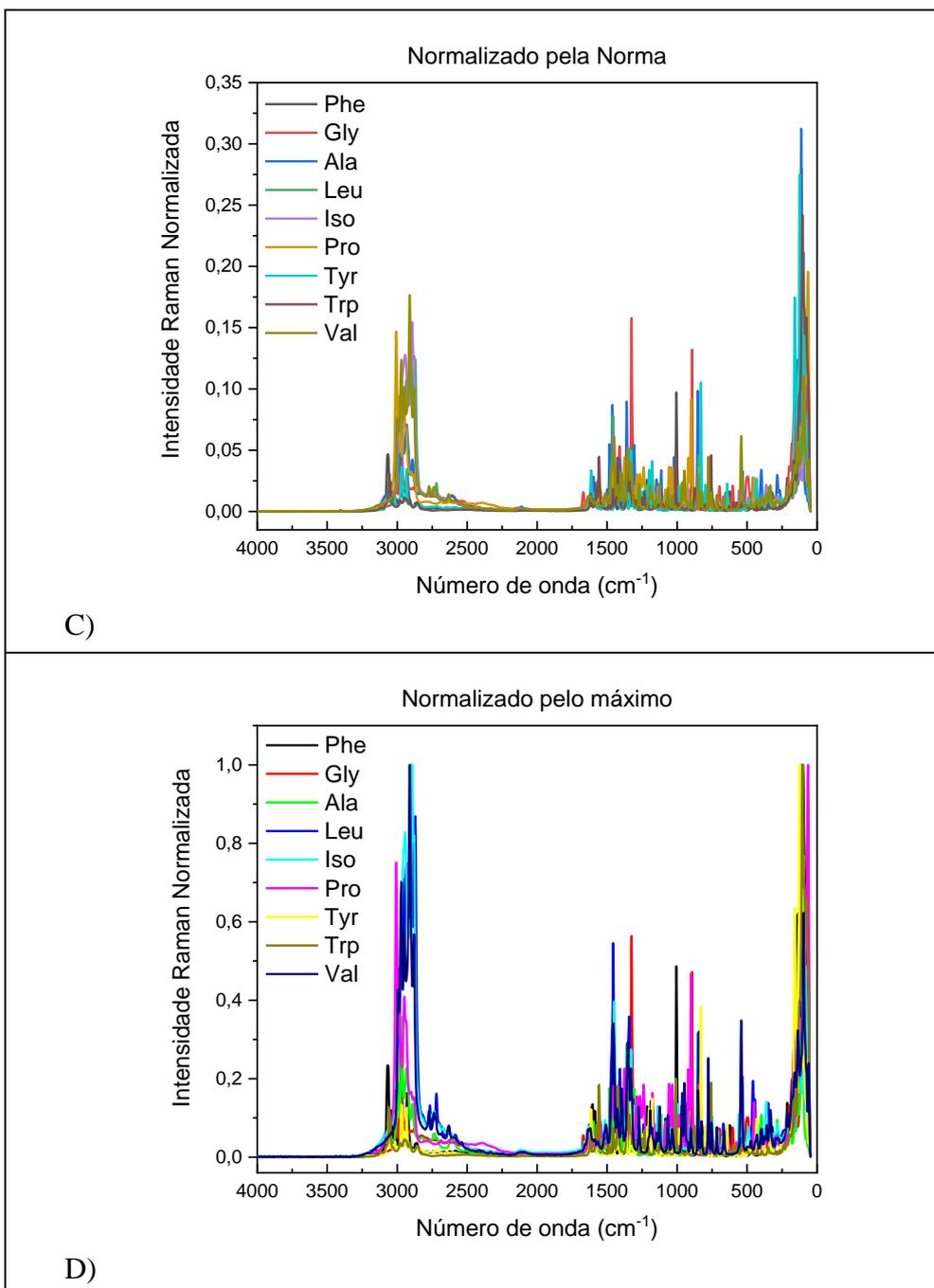


Figura 3.7: Espectros FT-Raman com normalizados A) de zero a um, B) média, C) norma e D) máximo.

A figura 3.8 mostra os gráficos de *score* de PC1 vs PC2 de cada um dos métodos de pré-tratamento de dados utilizada na PCA para as matrizes de correlação e covariância. Não há um agrupamento padrão dos aminoácidos utilizando uma das matrizes. Há o agrupamento entre os grupos aromáticos e alifáticos no PC1 utilizando a matriz de correlação com as normalizações dos espectros pela média e norma, figura 3.8 C) e E), respectivamente. A matriz de covariância não apresenta agrupamento distintos entre os grupos alifáticos e aromáticos.

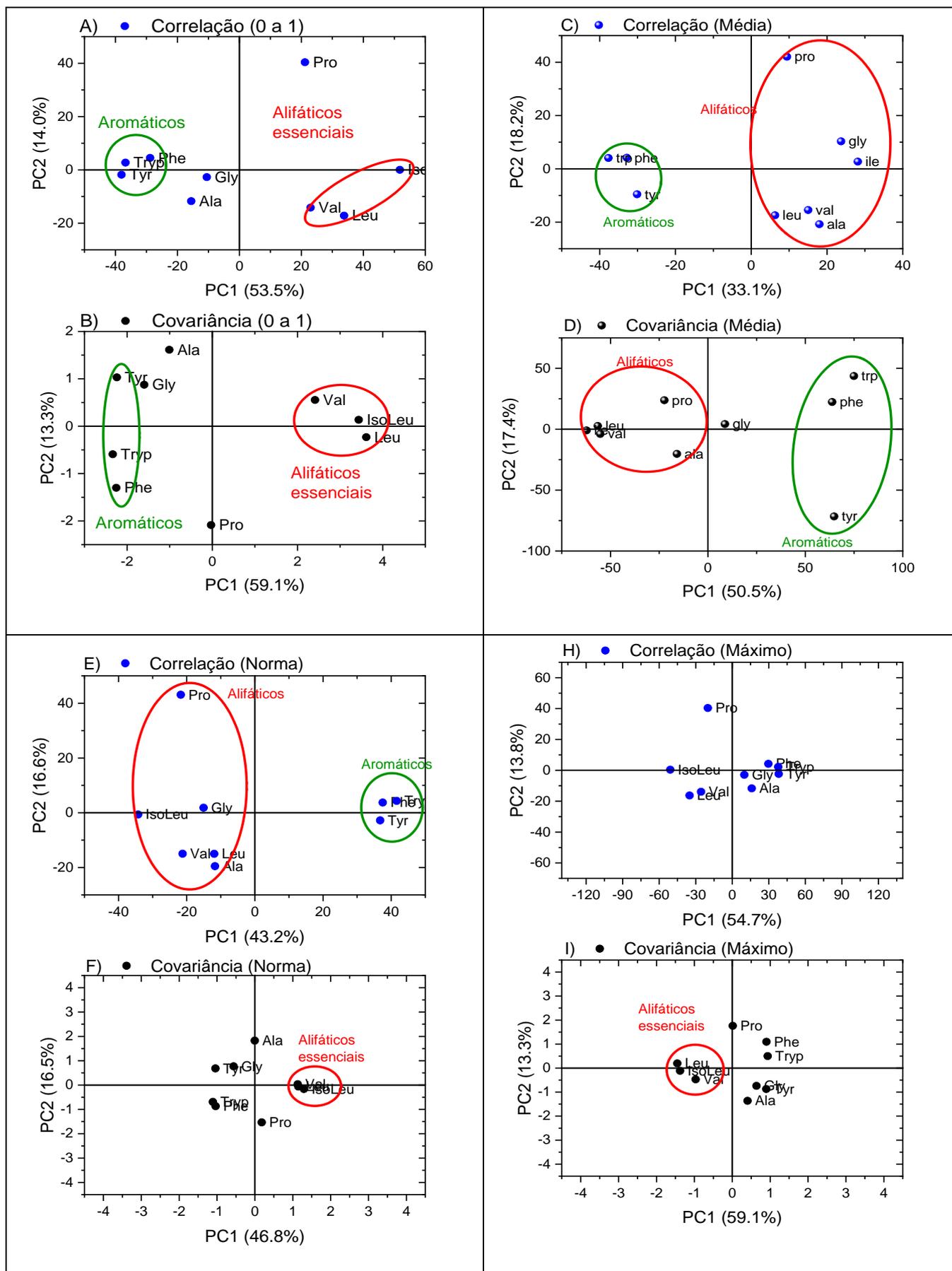


Figura 3.8: Gráfico de *score* de PC1 vs PC2 dos espectros FT-Raman normalizados utilizando na PCA a matriz de covariância ou correlação. As linhas contínuas em verde e vermelho são guias visuais.

Os espectros FT-Raman sem pré-tratamento mostraram que a matriz de covariância seria a mais indicada para obter a separação dos aminoácidos em aromáticos e alifáticos, porém, após a análise de componente principal dos dados com pré-tratamento matemático é visto que os resultados dependem do tipo de tratamento. A figura 3.7 mostra que cada método de normalização fornece diferentes comportamentos para as intensidades das bandas Raman. Logo, o PC1 analisado neste trabalho se mostra influenciável a partir da intensidade das bandas Raman que mudam de acordo com o tipo de normalização. A separação dos aminoácidos no PC1 em aromáticos e alifáticos ocorreu quando a diferença nos espectros se mostraram mais evidentes na região de baixa frequência que é associada aos modos de vibração da rede cristalina.

Ainda, com as normalizações é notado que há um agrupamento dos aminoácidos alifáticos essenciais (Leu, Val, Iso ou IsoLeu) em  $PC1 > 0$  e  $PC1 < 0$ , figura 3.8 A), B), F) e I), sendo a matriz em 3.8 A) referente a matriz de correlação e as demais de covariância.

O percentual da variância dos dados que foi mais afetado pelas normalizações foi o PC1, variando entre ~33 a 59%, já o percentual do PC2 foi menos influenciado pelos pré-tratamentos de dados se mantendo entre ~13 e 18%.

#### 4 – CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise de componente principal dos espectro FT-Raman dos aminoácidos estudados neste trabalho mostrou que a depender do tipo de pré-tratamento e tipo de matriz que é usado podemos obter diferentes interpretações dos dados. Na matriz de covariância se obteve que os espectros dos aminoácidos sem pré-tratamento se agrupam em aromáticos e alifáticos, e ainda ao depender do objetivo do estudo é possível encontrar as características que separam os aminoácidos a partir da sua essencialidade nutricional por meio da representatividade da variância dos componentes principais. Porém, os dados com pré-tratamento, normalizados pela média e pela norma, foram separados entre aromáticos e alifáticos na matriz de correlação.

A intensidade das bandas Raman se mostraram influenciadas dependendo do método de normalização. Os espectros normalizados pela norma e pela banda de maior intensidade mostram que as intensidade das bandas da região de altas frequências, acima de  $2750\text{ cm}^{-1}$ , sofreram maior alteração. Enquanto que os espectros normalizados de zero a um e pela média manteve um comportamento parecido com os espectros sem pré-tratamento, mudando a intensidade das bandas de forma uniforme, mas ainda com influências mais distintas para as bandas entre  $\sim 400$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Evidenciando que a PC1 analisada neste trabalho é, majoritariamente, influenciado pela intensidade das bandas Raman devido ao agrupamento dos aminoácidos em aromáticos e alifáticos ocorrer na região de baixa frequência, que é associada aos modos de vibração da rede cristalina.

Assim, a análise de componente principal dos espectros FT-Raman dos aminoácidos mostrou que pode haver uma abrangente linha de estudo a depender do quanto o experimentador pode aprofundar a análise dos dados fornecidos pelas matrizes de correlação e covariância dos espectros dos aminoácidos estudados neste trabalho.

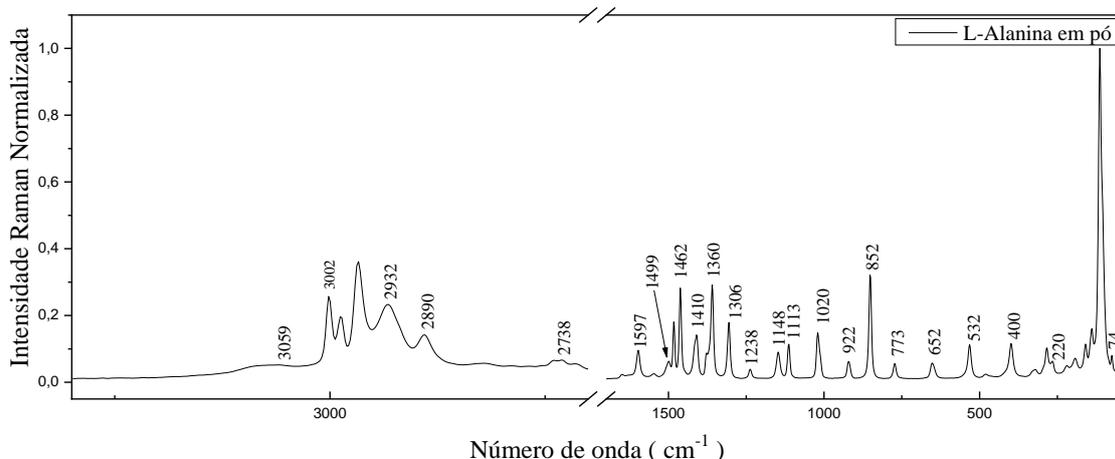
Como perspectivas futuras deste trabalho, pretende-se abranger o estudo da diferença entre a rede cristalina dos aminoácidos, a fim de se determinar o que causa a semelhança entre os espectros dos grupos alifáticos e aromáticos na região de baixas frequências. E ainda, usar diferentes técnicas experimentais para obtenção dos espectros para o estudo da influência do método de experimento a depender do resultado esperado.

## ANEXO

Nesta seção estão apresentados todos os espectros FT-Raman dos aminoácidos estudados neste trabalho, bem como, a caracterização quanto aos modos vibracionais e atribuições químicas.

### L-Alanina

Espectro FT-Raman do aminoácido L-Alanina.



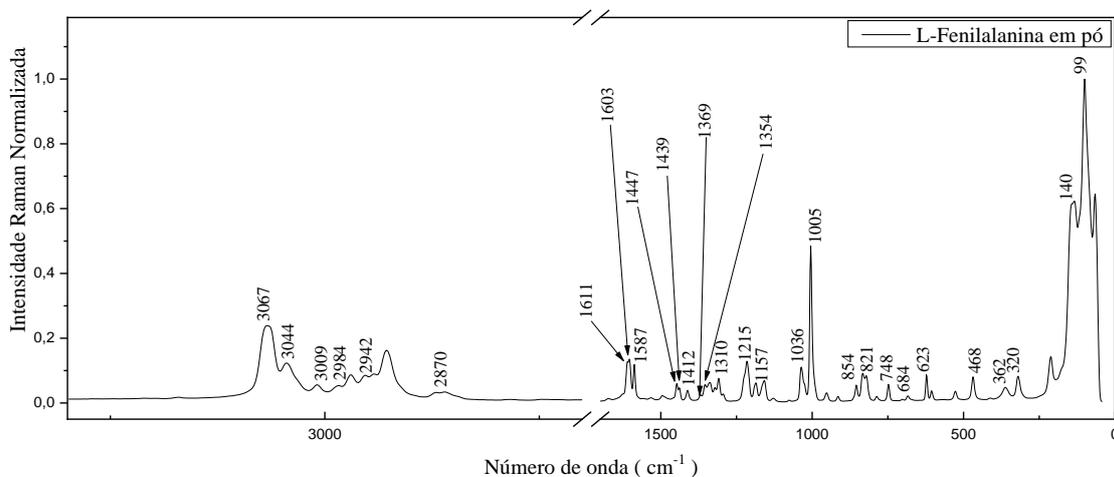
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-alanina.

Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3059	$\nu_{\text{NHO}}$ [28]	1148	$r\text{NH}_3^+$ [29]
3002	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ [27, 28]	1113	$r\text{NH}_3^+$ [27], $\nu_{\text{as}}\text{CCN}$ , $\nu\text{CN}$ [29]
2932	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$ [27, 28]	1020	$r\text{CH}_3$ [29]
2890	$2x \nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ [28]	922	$\nu\text{CCOO}^-$ [29]
2738	$\nu_{\text{NHO}}$ , $\nu_{\text{OHO}}$ [28]	852	$\tau_{\text{s}}\text{CCO}$ [29]
1597	$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$ [28]	773	$\omega\text{COO}^-$ [29]
1499	$\nu\text{NH}_3$ [30]	652	$\tau\text{COO}^-$ [29]
1462	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$ [28]	532	$r\text{COO}^-$ [28]
1410	$\nu\text{NO}_3^-$ [28]	400	$\delta_{\text{esquel.}}$ [28]
1360	$\delta\text{CH}$ [28]	220	$\delta_{\text{esquel.}}$ [28]
1306	$\delta\text{CH}$ [26], $\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$ [30]	74	Modos da rede [28]
1238	$r\text{NH}_3^+$ [29]		

$\nu$  – estiramento;  $\nu_{\text{s}}$  – estiramento simétrico;  $\nu_{\text{as}}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*;  $2x$  – segundo harmônico;

## L-Fenilalanina

Espectro FT-Raman do aminoácido L-Fenilalanina.



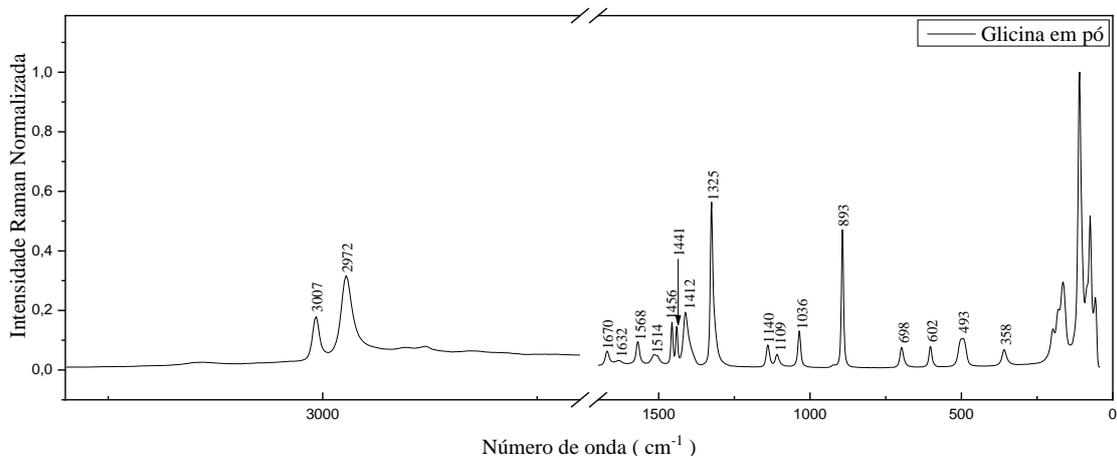
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Fenilalanina.

Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3067	$\nu_{as}NH_3^+$ [31]	1215	$\tau CH_2 + \delta CH_2$ [31]
3044	$\nu_s OH$ [31]	1157	$\nu_s NO_3^-$ [31]
3009	$\nu_{as} CH$ [31]	1036	$\delta(P)$ [31]
2984	$\nu_s CH$ [31]	1005	$\nu CN$ [31]
2942	$\nu_s CH$ [31]	854	$r NO_3^+$ [31]
2870	$\nu_s CH_3$ [31]	821	$\delta NO_3^-$ [31]
1611	$\nu CO$ [31]	748	$r CH_2, \delta OH$ [31]
1603	$\nu CO$ [31]	684	$\gamma NO_3^-$ [31]
1587	$\nu CC(P)$ [31]	623	$\delta NO_3^-$ [31]
1447	$\nu CC(P)$ [31]	468	$\delta CO$ [31]
1439	$\gamma CH_3(P)$ [31]	362	$\delta(P)$ [31]
1412	$\delta CH_3$ [31]	320	$\tau NH_3^+$ [31]
1369	$\gamma OH$ [31]	140	Modo da rede [31]
1354	$NO_2$ [31]	99	Modo da rede [31]
1310	$\delta COH$ [31]		

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*; (P) – anel aromático;

## Glicina

Espectro FT-Raman do aminoácido Glicina.



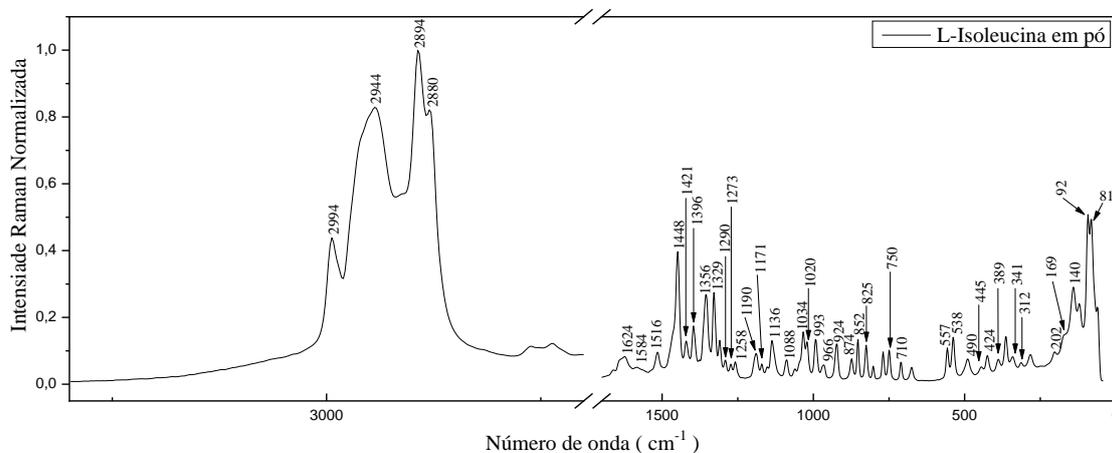
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido Glicina.

Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3007	$\nu_{as}CH_2$ [33]
2972	$\nu_{as}CH_2$ [32]
1670	$\delta NH_3^+$ [33]
1632	$\gamma NH_3^+$ [33]
1568	$\nu_{as}COO^-$ [33]
1514	$\delta NH_3^+$ [33]
1456	$\delta CH_2$ [32]
1441	$\delta CH_2$ [33]
1412	$\nu_s COO^-$ [32]
1325	$\tau CH_2$ [33]
1140	$r NH_3^+$ [33]
1109	$r NH_3^+$ [33]
1036	$\nu_{as}CCN$ [33]
893	$\nu_s CCN$ [33]
698	$\delta COO^-$ [33]
602	$\omega COO^-$ [33]
493	$\tau NH_3^+$ [33]
358	$r CCN$ [33]

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*;

## L-Isoleucina

Espectro FT-Raman do aminoácido L-Isoleucina.



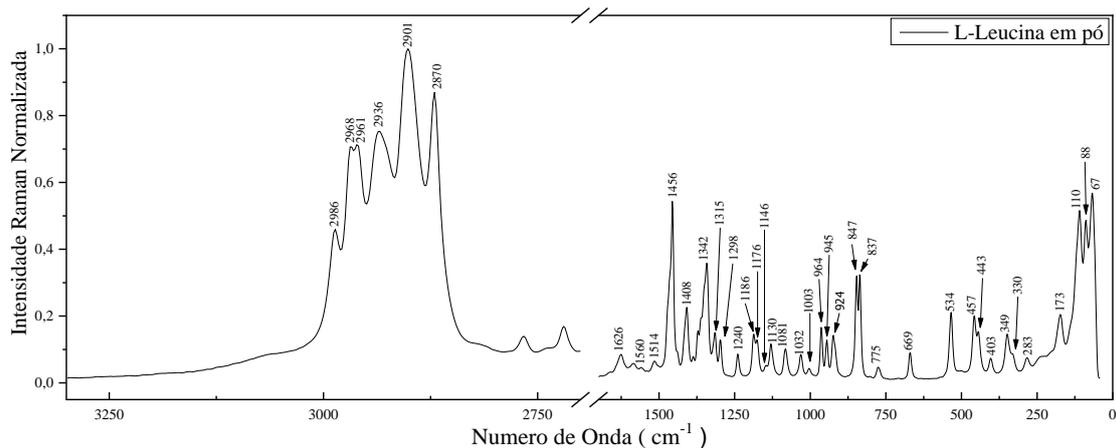
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Isoleucina.

Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
2994	vCH [35]	966	vCC [34, 36]
2944	vCH [36]	924	vCC [34, 36]
2894	v <sub>s</sub> CH <sub>3</sub> [36]	874	vCC [36]
2880	v <sub>s</sub> CH <sub>3</sub> [36]	852	rCH <sub>3</sub> [34, 36]
1624	vCOO <sup>-</sup> [36]	825	γCOO <sup>-</sup> [34, 36]
1584	vCOO <sup>-</sup> [36]	750	δCOO <sup>-</sup> [36]
1448	γCH <sub>3</sub> [36]	710	ωCOO <sup>-</sup> [34, 36]
1421	δCH <sub>3</sub> [30, 32]	557	rCOO <sup>-</sup> [36]
1396	δCH <sub>3</sub> [36]	538	rCOO <sup>-</sup> [34, 36]
1356	δCH [36]	490	δCCC [36]
1329	δCH [34, 36]	445	δCCC [36]
1290	δCCH [35]	424	δCCC [36]
1273	δCCH [35]	389	δCCC [36]
1190	rNH <sub>3</sub> <sup>+</sup> [34, 36]	341	δNCC [36]
1171	vCC [35]	312	δNCC [36]
1136	rNH <sub>3</sub> <sup>+</sup> [36]	202	τCH [36]
1088	vCN [34, 36]	169	τCOO <sup>-</sup> [36]
1034	vCN [36]	140	Modos de Rede [36]
1020	vCC [36]	92	τCCCN [35]
993	vCC [34, 36]	81	Modos de rede [35]

v – estiramento; v<sub>s</sub> – estiramento simétrico; v<sub>as</sub> – estiramento assimétrico; δ – deformação angular no plano; γ – deformação angular fora do plano; τ – *twisting*; ω – abano; r – *rocking*;

## L-Leucina

Espectro FT-Raman do aminoácido L-Leucina.



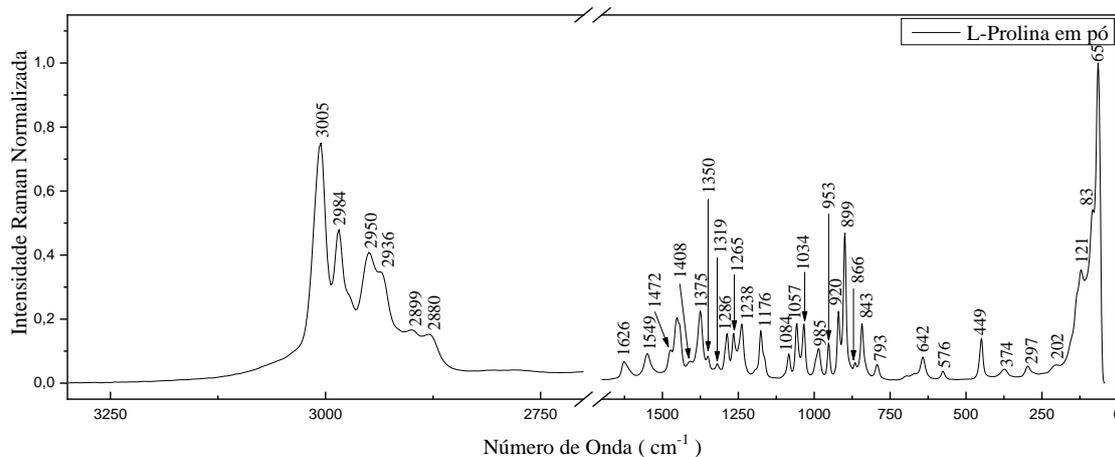
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Leucina.

Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
2986	$\nu_{as}CH_3$ [39]	1032	$\nu CN$ [37, 39]
2968	$\nu CH$ [40]	1003	$\nu CC$ [40], $\nu CN$ [37]
2961	$\nu CH$ [40]	964	$\nu CC$ [40]
2936	$\nu_{as}CH_3$ [40]	945	$\nu CC$ [40]
2901	$\nu CH_2$ [40]	924	$\nu CC$ [40]
2870	$\nu_3CH_3$ [40]	847	$rCH_3$ [40], $rCH_2$ [38]
1626	$\nu COO^-$ [39]	837	$\gamma COO^-$ [40]
1560	$\nu COO^-$ [40]	775	$\delta COO^-$ [39]
1514	$\nu CN$ [40]	669	$\omega COO^-$ [38, 39]
1456	$\nu_{as}CH_3$ [40]	534	$rCOO^-$ [38, 40]
1408	$\delta CH_3$ [39]	457	$\delta_{esquel.}$ [40]
1342	$\nu CH, \nu NH$ [37]	443	$\delta_{esquel.}, \tau NH_3^-$ [39]
1315	$\omega CH_2$ [40]	403	$\delta_{esquel.}$ [39]
1298	$\tau CH_2, \omega CH_2$ [40]	349	$\delta_{esquel.}$ [39]
1240	$\tau CH_2$ [39]	330	$\delta NCC$ [39]
1186	$r NH_3^+$ [40]	283	$\tau CH_3$ [39]
1176	$r NH_3^+$ [36]	173	$\tau COO^-$ [39]
1146	$r NH_3^+$ [40]	110	Modos de rede [39]
1130	$r NH_3^+$ [37, 40]	88	Modos de rede [39]
1081	$\nu CN$ [39]	67	Modos de rede [39]

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*;

## L-Prolina

### Espectro FT-Raman do aminoácido L-Prolina.



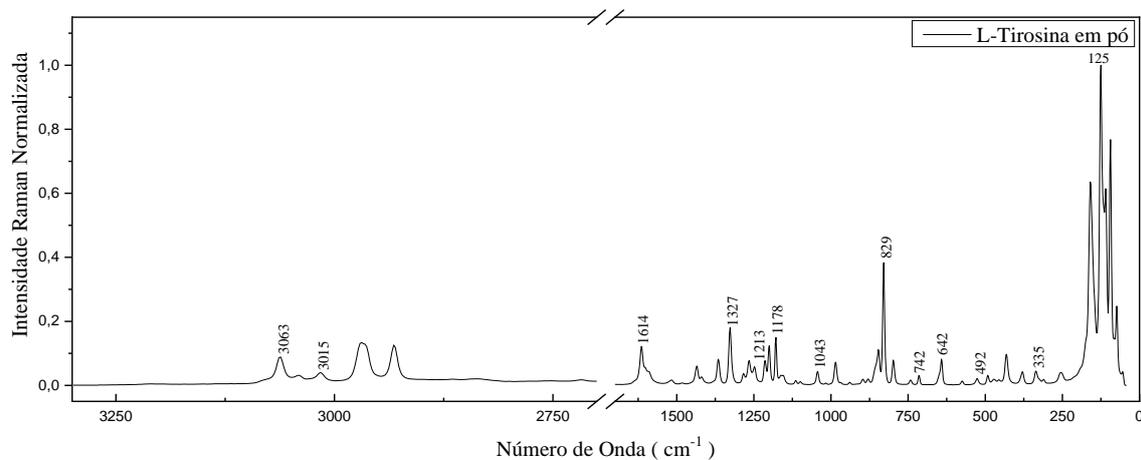
Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Prolina.

Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3005	$\nu$ CH [40]	1057	$\omega$ CH <sub>2</sub> [40]
2984	$\nu$ CH [40]	1034	$\nu$ CCN [40]
2950	$\nu$ CH [40]	985	$r$ NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> [40]
2936	$\nu$ CH [40]	953	$\nu$ CCN [40]
2899	$\nu$ CH [40]	920	$\nu$ CCN [40]
2880	$\nu$ CH [40]	899	$r$ NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> [40]
1626	$\nu_{as}$ COO <sup>-</sup> [40]	866	$r$ CH <sub>2</sub> [40]
1549	$\gamma$ NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> [40]	843	$r$ CH <sub>2</sub> [40]
1472	$\delta$ CH <sub>2</sub> [40]	793	$\delta_{esquel.}$ [40]
1408	$\nu_s$ COO <sup>-</sup> [40]	642	$\omega$ COO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [40]
1375	$\tau$ NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> [40]	576	$\delta_{esquel.}$ [40]
1350	$\delta$ CH [40]	449	$r$ COO <sup>-</sup> [40]
1319	$\delta$ CH [40]	374	$\delta$ CCN [40]
1286	$\tau$ CH <sub>2</sub> [40]	297	$\delta_{esquel.}$ [40]
1265	$\omega$ CH <sub>2</sub> [40]	202	$\delta$ CH [40]
1238	$\omega$ CH <sub>2</sub> , $\omega$ NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> [40]	121	Rede [40]
1176	$\tau$ CH <sub>2</sub> [40]	83	Rede [40]
1084	$r$ CH <sub>2</sub> [39]	65	Rede [40]

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*;

## L-Tirosina

### Espectro FT-Raman do aminoácido L-Tirosina.

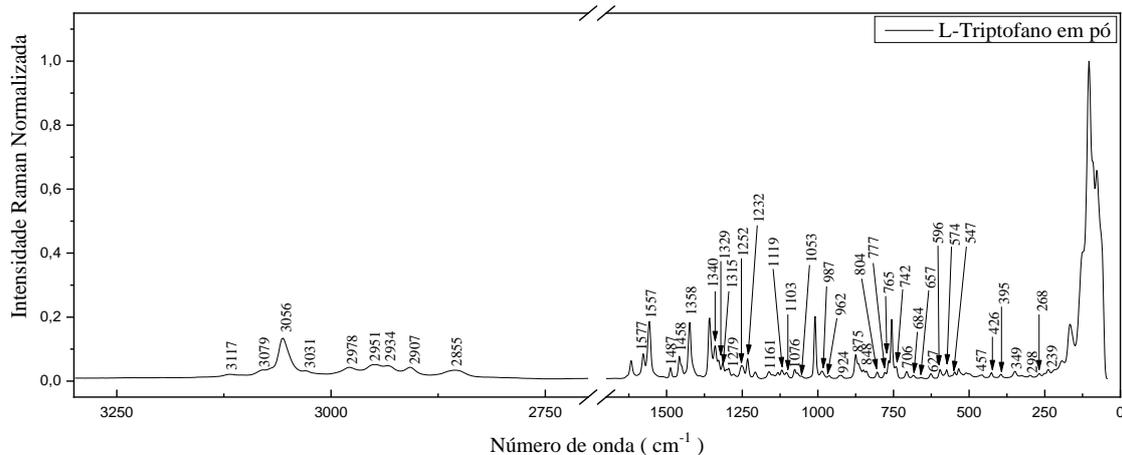


### Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Tirosina.

Centro de banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3063	$\nu_{as}CH$ [41]
3015	$\nu_{as}CH$ (P) [41]
1614	$rNH_3^+$ [41]
1327	$\nu CCC$ [41]
1213	$\delta CH, \delta OH-COO^-$ [41]
1178	$\nu CC$ [41]
1043	$\delta CH$ [41, 42]
829	$\omega$ (P) [42]
742	$\omega NH_3^+, \omega CCC$ [42]
642	$\delta CC$ (P) [42]
492	$\omega CC$ (P) [41]
335	$\gamma NCCC, \delta NH_3^+$ [41]
125	$\tau OCCC, \tau CC$ (P) [41]

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*; (P) – anel aromático;

## L-Triptofano



Espectro FT-Raman do aminoácido L-Triptofano.

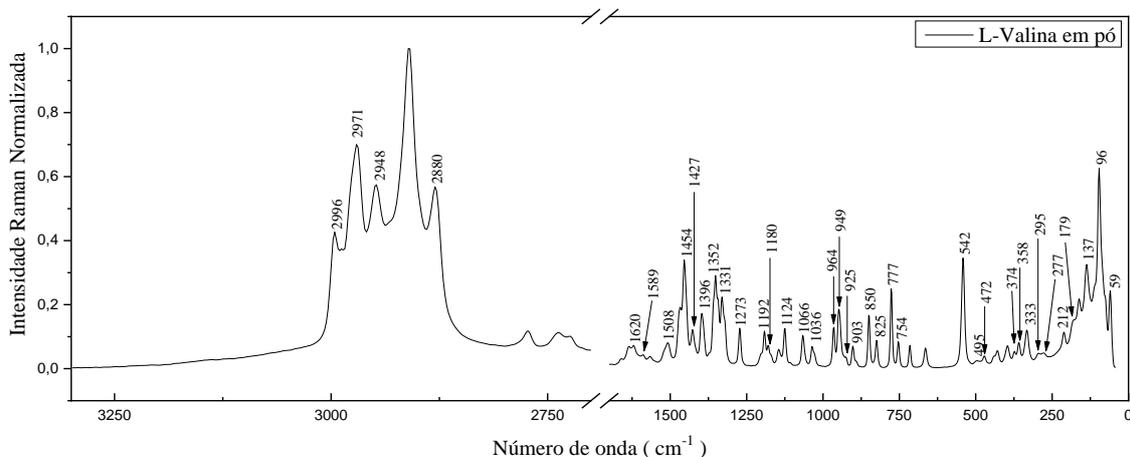
### Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-Triptofano.

Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3079	$\nu_s\text{NH}_3^+$ [43]	1053	$r\text{NH}_3^+$ , $\omega\text{H(C)}$ [43]
3056	$\nu_s\text{H(R)}$ [43]	987	$\tau\text{CH}_2$ , $\nu\text{CN}$ [43]
3031	$\nu_{as}\text{H(R)}$ [43]	962	$\tau\text{H(R)}$ [43]
2978	$\nu_{as}\text{H(R)}$ [43]	924	$\nu\text{CCO}_2^-$ , $r\text{NH}_3^+$ , $r\text{CH}_2$ [43]
2951	$\nu_{as}\text{H(R)}$ [43]	848	$\tau\text{H(R)}$ [43]
2934	$\nu_{as}\text{CH}_2$ [43]	804	$r\text{CH}_2$ , $\nu\text{CCOO}^-$ [43]
2907	$\nu\text{CH}$ , $\nu_s\text{CH}_2$ [43]	765	$\delta(\text{R, P})$ , $\text{sciss.}\text{COO}^-$ [43]
2855	$\nu\text{CH}$ , $\nu_s\text{CH}_2$ [43]	742	$\omega\text{H(R)}$ [43]
1577	$\text{sciss.}\text{NH}_3^+$ [43]	706	$\delta(\text{R, P})$ , $\nu\text{CN}$ [43]
1557	$\nu(\text{R})$ , $\nu(\text{P})$ [43]	684	$\nu(\text{R})$ [43]
1487	$\nu(\text{R})$ , $\nu(\text{P})$ [43]	657	$\omega\text{CH(P)}$ , $\delta(\text{R, P})$ [43]
1458	$\nu(\text{R})$ , $\nu(\text{P})$ [43]	596	$\omega\text{NH(P)}$ , $\delta(\text{R, P})$ [43]
1358	$\omega\text{CH}_2$ , $\omega\text{CH}$ [43]	574	$\omega\text{NH(P)}$ [43]
1340	$\omega\text{CH}$ , $\omega\text{HCH}_2$ [43]	547	$\nu(\text{R, P})$ [43]
1329	$\nu(\text{R})$ , $\nu(\text{P})$ [43]	457	$\nu(\text{R, P})$ [43]
1315	$\omega\text{H(C)}$ , $\omega\text{CH}_2$ , $\nu(\text{P})$ [43]	426	$\delta(\text{R, P})$ [43]
1252	$r\text{H(R)}$ , $r\text{H(P)}$ , $\omega\text{CH}$ [43]	395	$\delta\text{R}$ [43]
1232	$\text{sciss.}\text{H(R)}$ , $r\text{H(P)}$ [43]	349	$\tau\text{CHCH}_2$ [43]
1161	$\delta\text{CH}_2$ , $\text{sciss.}\text{H(R)}$ [43]	298	$\delta(\text{R, P})$ [43]
1119	$\omega\text{H(R)}$ , $\omega\text{NH}_3^+$ , $\omega\text{CH}$ [43]	268	$r\text{CH}_2$ [43]
1103	$\omega\text{NH}_3^+$ , $\omega\text{H(C)}$ [43]	239	$\omega(\text{R, P})$ [43]
1076	$\text{sciss.}\text{H(P)}$ [43]		

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*; R – anel benzeno; P – anel pirrol; *sciss.* – tesoura.

## L-valina

Espectro FT-Raman do aminoácido L-valina.



Atribuições dos modos vibracionais FT-Raman do aminoácido L-valina.

Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Centro de Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
2996	$\nu_{as}CH_3$ [44]	925	$\nu_{CC}$ [44, 45]
2971	$\nu_{as}CH_3$ [44]	903	$\nu_{CC}$ [45]
2948	$\nu_{CH_2}$ [44]	850	$\nu_{CCN}$ [46]
2880	$\nu_sCH_3$ [44]	825	$\gamma_{COO^-}$ [44]
1620	$\nu_{COO^-}$ [44]	777	$\delta_{COO^-}$ [44]
1589	$\nu_sCOO^-$ [46]	754	$\omega_{COO^-}$ [46]
1508	$\nu_{NH_3^+}$ [46]	542	$r_{COO^-}$ [44]
1454	$\delta_{NH_3^+}$ [44]	495	$\delta_{CCC}$ [46]
1427	$\delta_{CH_3}$ [44]	472	$\tau_{NH_3^+}$ [44]
1396	$\delta_{CH_3}$ [44]	374	$\delta_{esquel.}$ [44]
1352	$\delta_{CH_3}$ [44]	358	$\delta_{esquel.}$ [44]
1331	$\delta_{CH}$ [44]	333	$\delta_{NCC}$ [46]
1273	$\delta_{CH}$ [44, 45]	295	$\tau_{CH_3}$ [44]
1192	$r_{NH_3^+}$ [44]	277	$\delta_{CCC}$ [46]
1180	$r_{NH_3^+}$ [44]	212	$\tau_{CH}$ [44]
1124	$r_{NH_3^+}$ [46]	179	Modo de rede [44]
1066	$\nu_{CN}$ [44]	137	Modo de rede [44]
1036	$\nu_{CN}$ [44]	96	Modo de rede [42]
964	$\nu_{CC}$ [44]	59	Modo de rede [42]

$\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_{as}$  – estiramento assimétrico;  $\delta$  – deformação angular no plano;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\tau$  – *twisting*;  $\omega$  – abano;  $r$  – *rocking*; *sciss.* – tesoura.

## REFERÊNCIAS

- [1] W. S. Lyra, E. C. Silva, M. C. U. de Araújo, W. D. Fragoso e G. Veras, Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais, *Química Nova*, vol.33, 2010;
- [2] E. P. G. Areas, Y. Kawano. Aplicações de Técnicas Espectroscópicas Vibracionais ao Estudo Conformacional de Proteínas. *Química Nova*, 1991.
- [3] M. K. Lima, I. M. Raimundo Jr., A. M. S. Silva, M. F. Pimentel, et al. Sensores ópticos com detecção no infravermelho próximo e médio. *Química Nova*, 2009.
- [4] P. T. C. Fraire, F. M. Barboza, J. A. Lima, F. E. A. Melo and J. Mendes Filho. Raman Spectroscopy of Amino Acid Crystals. *Raman Spectroscopy and Applications*, Khan Maaz, IntechOpen, 2017.
- [5] A. L. Jenkins, R. A. Larsen and T. B. Williams, Characterization of amino acids using Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol.61, 2005.
- [6] A. Tozetto, I. M. Demiate e N. Nagata, Análise exploratória de adoçantes de mesa via espectroscopia no infravermelho (FTIR) e análise por componentes principais (PCA), *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. vol.37, 2007;
- [7] P. Porizka, J. Klus, E. Képes, D. Prochazka, D. W. Hahn and J. Kaiser, On the utilization of principal component analysis in laser induced breakdown spectroscopy data analysis, a review, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2018;
- [8] J. G. Sabin, M. F. Ferrão e J. C. Furtado, Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise de componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. vol.40, 2004;

- [9] R. Gautam, S. Vanga, F. Ariese and S. Umapathy, Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy. EPJ Techniques and Instrumentation, 2015.
- [10] D. L. Nelson; M. M. Cox. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6ª ed. Artmed, 2014;
- [11] Y. He, X. Li and X. Deng, Discrimination of varieties of tea using near infrared spectroscopy by principal component analysis and BP model, Journal of Food Engineering, 2007;
- [12] H. H. Nieuwoudt, B. A. Prior, I. S. Pretorius, M. Manley and F. F. Bauer, Principal component analysis applied to Fourier transform infrared spectroscopy for the design of calibration sets for glycerol prediction models in wine and for the detection and classification of outlier samples, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004;
- [13] A. Sarmiento, M. P. Alonso, M. Olivares, K. Castro, I. M. Arkarazo, L.A. Fernández and J. M. Madariaga, Classification and identification of organic binding media in artworks by means of Fourier transform infrared spectroscopy and principal component analysis, 2011;
- [14] S. He, W. Zhang, L. Liu, Y. Huang, J. He, W. Xie, P. Wu and C. Du, Baseline correction for Raman using an improved asymmetric least squares method. The Royal Society of Chemistry, 2014.
- [15] Champe, Harvey & Ferrier. Bioquímica Ilustrada, 3ª edição, Editora Artmed, Porto Alegre, 2006;
- [16] D. Voet e J. G. Voet. Bioquímica. 4ª ed. Artmed, 2013;
- [17] C. S. Moraes; *et al.* Série em Biologia Celular e Molecular - Métodos Experimentais no Estudo de Proteínas. 1ª ed. Rio de Janeiro: IOC - Instituto Oswaldo Cruz, 2013;
- [18] C. D. Ferreira, et al., Coleção Manuais de Nutrição, fundamentos da Nutrição. 1ª ed. Sanar, 2018;

- [19] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Bioquímica. 5ª ed. Guanabara Koogan S.A., 2004;
- [20] J. R. Ferraro, K. Nakamoto and C. W. Brown, Introductory Raman Spectroscopy, 2ª ed. Elsevier, 2003;
- [21] L. V. Castro. Estudo de lesão de cárie experimental via Espectroscopia Fotoacústica e Raman. Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Estadual de Maringá, 2015;
- [22] A. A. J. Santos, Determinação de parâmetros de óleos lubrificantes de motores de ciclo Otto e ciclo Diesel através da Espectroscopia no Infravermelho, métodos multivariados e cartas de controle. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de Brasília Instituto de Química, 2011;
- [23] P. J. Larkin, IR and Raman Spectroscopy, Principles and Spectral Interpretation, Elsevier, 2011;
- [24] A. G. Rodrigues e J. C. Galzerani, Espectroscopia de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. Revista Brasileira de Ensino de Física, vol. 34, 2012;
- [25] T. O. Camel, C. B. G. Koehler e C. A. L. Filgueiras, Organic chemistry in the consolidation of the concepts of atom and molecule. Química Nova, Vol. 32, no 2, 2009.
- [26] E. A. Belo, Espectroscopia vibracional em cristais de D-alanina e DL-alanina sob condições extremas, Programa de Pós-Graduação em Física Universidade Federal do Ceará, 2013;
- [27] V. S. Minkov, Yu. A. Chesalov, and E. V. Boldyreva, A study of the temperature effect on the IR spectra of crystalline amino acids, dipeptides, and polyamino acids. VI. L-alanine and DL-alanine, Journal of Structural Chemistry. Vol. 51, 2010;

- [28] R. A. Soares, Estudo de altas pressões por espectroscopia Raman no cristal de nitrato de L-alanina, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, 2017;
- [29] K. Machida, A. Kagayama, Y. Saito, T. Uno, Polarized Raman spectra and intermolecular potential of L-alanine crystal, *Spectrochimica Acta*, Vol. 34, 1978;
- [30] G. Zhu, X. Zhu, Q. Fan, X. Wan, Raman spectra of amino acids and their aqueous solutions, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011;
- [31] K. P. Silva, Propriedades estruturais e eletrônicas do cristal L-fenilalanina ácido nítrico e estudo vibracional sob condições extremas de pressão e temperatura, Programa de Pós-Graduação em Física. Universidade Federal do Ceará, 2014;
- [32] J. M. T. A. Ramos, Estudo espectroscópico vibracional de complexos de Ni(II) com os aminoácidos serina, glicina e ácido guanidoacético, Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal Fluminense, 2006;
- [33] J. Baran and H. Ratajczak, Polarised vibrational studies of the  $\alpha$ -glycine single crystal Part I. Polarised Raman spectra-the problem of effective local Raman tensors for the glycine zwitterions, Institute of Low Temperature and Structure Research, Polish Academy of Sciences, 2006;
- [34] P. D. Lima, Crescimento e caracterização de cristais do aminoácido isoleucina nas formas L e DL, Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, 2018;
- [35] F. S. C. Rêgo, Propriedades vibracionais dos aminoácidos DL-isoleucina e Ácido DL-glutâmico Monohidratado e do complexo L-leucina oxalato submetidos a altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2019;
- [36] A. S. Sabino, Espectroscopia Raman em cristais do L-valina deuterada e L-isoleucina sob altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2010;

- [37] D. Beugeard, Phase transition and vibrational spectra of L-leucine, Institut für physikalische und theoretische chemie, Universität Essen – Gesamthochschule, 1983;
- [38] J. S. Oliveira, Crescimento e caracterização das propriedades físicas do cristal de maleato de L-leucina, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Maranhão, 2018;
- [39] P. F. Façanha Filho, Estudo de espalhamento raman em cristais de L-leucina submetidos a altas temperaturas e a altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2007;
- [40] B. T. O. Abagaro, Propriedades vibracionais de cristais de DL-leucina e L-prolina monohidratada submetidos a altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2012;
- [41] C. A. A. S. Santos, Estudo de espalhamento raman em cristais de L-tirosina hidrocloreídrica submetidos a altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Materiais, Universidade Federal do Maranhão, 2017;
- [42] P. Anandan, S. Vetrivel, S. Karthikeyan, R. Jayavel, G. Ravi, Crystal growth, spectral and thermal analyses of a semi organic nonlinear optical single crystal: L-tyrosine hydrochloride, Optoelectronics and Advanced Materials – Rapid Communications, vol. 6, 2012;
- [43] C. Chuang and Y. Chen, Raman scattering of L-tryptophan enhanced by surface plasmon of silver nanoparticles: vibrational assignment and structural determination - Journal of Raman Spectroscopy, 2008;
- [44] F. S. C. Rêgo, Medidas de espectroscopia raman em cristais de DL-valina a altas pressões, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2015;
- [45] F. M. Paiva, Propriedades vibracionais de cristais de valina e ácido glutâmico monohidratado na forma DL, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2017;

[46] F. M. Barboza, Espectroscopia raman na L-valina deuterada a baixas temperaturas, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, 2012;

[47] Aminoácidos - Propriedades, Estrutura, Classificação e Funções. Disponível em <  
<https://microbenotes.com/amino-acids-properties-structure-classification-and-functions/>  
>. Acessado em abril de 2021.

[48] L. A. Gribov, The theory of intensities in the infrared spectra of polyatomic molecules, V. I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Academy of Sciences, Moscou.

[49] B. C. Smith, Infrared Spectral Interpretation, CRC Press, 1999.