



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FÍSICA
UNIDADE ACADÊMICA DE FÍSICA

Matheus Guimarães de Oliveira

Caracterização da Vitex Gardneriana Schauer através da espectroscopia UV-Visível e TDDFT

Campina Grande, Paraíba, Brasil

21 de setembro de 2021

Matheus Guimarães de Oliveira

**Caracterização da Vitex Gardneriana Schauer através da
espectroscopia UV-Visível e TDDFT**

Dissertação realizada sob orientação do Prof. Dr. Rodrigo José da Silva Lima, apresentada à Unidade Acadêmica de Física em complementação aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientador: Professor Dr. Rodrigo José da Silva Lima

Coorientador: Professor Dr. José Suassuna Filho

Campina Grande, Paraíba, Brasil

21 de setembro de 2021

O48c Oliveira, Matheus Guimarães de.
Caracterização da Vitex Gardneriana Schauer através da Espectroscopia UV – visível e TDDFT / Matheus Guimarães de Oliveira. – Campina Grande, 2021.
68 f.: il. : color.

Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2021.
"Orientação: Prof. Dr. Rodrigo José da Silva Lima;
Coorientação: Prof. Dr. José Suassuna Filho".
Referências.

1. Vitex Gardneriana Schauer. 2. Espectroscopia. 3. TDDFT.
4. Uv-Vis. I. Lima, Rodrigo José da Silva. II. Suassuna Filho, José.
III. Título.

CDU 633.88(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
POS-GRADUACAO EM FISICA
Rua Aprígio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

MATHEUS GUIMARÃES DE OLIVEIRA

Caracterização da Vitex Gardneriana Schauer através da espectroscopia UV-Visível e TDDFT

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

Aprovada em: 27/08/2021

Rodrigo José da Silva Lima
Presidente da Comissão e Orientador

José Suassuna Filho
Coorientador

Kennedy Leite Agra
Examinador Interno

Thiago Andrade de Toledo
Examinador Externo



Documento assinado eletronicamente por **RODRIGO JOSE DA SILVA LIMA, FISICO**, em 30/08/2021, às 09:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Andrade de Toledo, Usuário Externo**, em 31/08/2021, às 00:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **KENNEDY LEITE AGRA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/09/2021, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **JOSE SUASSUNA FILHO, Usuário Externo**, em 17/09/2021, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **1707952** e o código CRC **00013EF7**.

Dedico esta pesquisa ao Deus criador do universo e doador de toda ciência.

Agradecimentos

- Ao Prof. Dr. Rodrigo José da Silva Lima, pela orientação, sugestão, estímulo e competência com que conduziu este trabalho.
- Aos Profs. Dr. José Suassuna Filho, Dr. Kennedy Leite Agra e Dr. Thiago Andrade de Toledo, pela colaboração que recebi durante a fase de preparação desta dissertação.
- A todos os professores desta Unidade Acadêmica que contribuíram com a minha formação.
- Ao Prof. Paulo Sérgio Pereira de Oliveira pela colaboração na obtenção e envio das amostras.
- A minha esposa, Hortência Gomes de Lima Guimarães, por me auxiliar durante todo o processo.
- Aos meus familiares, pai, mãe e irmão, pelo apoio, confiança e incentivo.
- Aos colegas de pós-graduação, especialmente aqueles do LPAS, e funcionários da Unidade Acadêmica de Física pela grata convivência durante a minha permanência nesta Unidade.
- À CAPES pelo suporte financeiro.
- A Deus Pai, Jesus Cristo e Espírito Santo, que pelo seu divino poder me concede tudo que necessito para a vida e para a piedade.

*Ó profundidade da riqueza da sabedoria e do conhecimento de Deus!
Quão insondáveis são os seus juízos, e inescrutáveis os seus caminhos!
"Quem conheceu a mente do Senhor? Ou quem foi seu conselheiro?"
"Quem primeiro lhe deu, para que ele o recompense?"
Pois dele, por ele e para ele são todas as coisas.
A ele seja a glória para sempre! Amém.
(Romanos 11:33-36)*

Resumo

Atualmente, diversos estudos tem sido realizados utilizando espectroscopia UV-Visível (UV-Vis) para caracterização de moléculas em compostos orgânicos. A *Vitex Gardneriana* Schauer, popularmente conhecida como Jaramataia, é uma árvore que pode ser encontrada no sertão brasileiro e é considerada uma planta medicinal. Entretanto, apesar dos estudos já realizados na Jaramataia, encontrados na literatura para a *Vitex Gardneriana* Schauer não foram encontrados até o momento dados de espectroscopia UV-Vis. Neste trabalho buscou-se estudar e caracterizar a folha de *Vitex Gardneriana* Schauer, através da espectroscopia UV-Vis e cálculos com base na Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TDDFT), visando identificar e descrever as principais moléculas existentes. Para este fim, foram utilizadas técnicas simples de extração através de diluição em solventes, tais como água e etanol. Além disso, as amostras obtidas pelos métodos de extração, foram caracterizadas por espectroscopia UV-Vis. O espectro UV-Vis resulta em bandas de absorção, as quais indicam quais grupos moleculares podem estar presentes na amostra em questão. O TDDFT é capaz de simular computacionalmente os espectros de UV-Vis das moléculas ao calcular as energias e transições eletrônicas usando um funcional da densidade dependente do tempo. Desta forma, comparando os resultados experimentais com dados da literatura, com referenciais teóricos e com as simulações realizadas, foi possível identificar, através de meios de extração simples e da espectroscopia UV-Vis um grupo de moléculas que apresentam atividades no espectro UV-VIS. Os resultados preliminares mostraram que é possível obter moléculas biofuncionais através de métodos de extração simples e caracterizá-las através de espectroscopia UV-Vis e cálculos teóricos usando TDDFT. Em comparação com métodos de extração e análise mais dispendiosos como, por exemplo, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a espectroscopia por ressonância magnética nuclear (NMR), a espectroscopia UV-Vis e os cálculos de TDDFT apresentaram um bom desempenho na caracterização das moléculas existentes.

Palavras-chave: *Vitex Gardneriana* Schauer. Espectroscopia. TDDFT. UV-Vis.

Abstract

Recently, several studies have been made using UV-Visible spectroscopy (UV-Vis) for the characterization of molecules in organic compounds. The *Vitex Gardneriana* Schaer, popularly known as Jaramataia, is a tree that could be founded in a countryside city of Brazil and it is considered a medicinal plant. However, despite the researches already made about Jaramataia, founded in literature, there are no UV-Vis spectroscopy data, until now, for these sample. In this work, were performed the characterization of the *Vitex Gardneriana* Schauer leaf by UV-Vis spectroscopy and calculations with Time Dependent Density Functional Theory (TDDFT), aiming to identify and to describe the main molecules existing. Thereunto, were utilized simple extraction techniques by dilution in solvents like water and ethanol. Furthermore, the samples obtained by these extraction methods, were characterized by UV-Vis spectroscopy. The UV-Vis spectrum results in absorption bands, which indicates what molecular groups could be presents in the sample. The TDDFT is capable to simulate computationally the molecular UV-Vis spectrum when calculating the energies and electronic transitions using a time dependent density functional. Thus, comparing the experimental results with literature data, theoretical references and simulations performed, it was possible to identify, by simple extraction methods and UV-Vis spectroscopy, a group of molecules that shows activities in the UV-Vis spectrum. The results shows that is possible obtain bio-functional molecules by simple extraction methods and characterize them by UV-Vis spectroscopy and theoretical calculation using TDDFT. In comparison with more expensive extraction methods like, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR), the UV-Vis spectroscopy allied with TDDFT calculations presented a good performance in the characterization of the existing molecules.

Keywords: *Vitex Gardneriana* Schauer. Spectroscopy. TDDFT. UV-Vis.

Lista de figuras

Figura 1 – Espectro completo da radiação eletromagnética com o intervalo visível enfatizado. Figura retirada de [1] e adaptada.	21
Figura 2 – Níveis energéticos e transições eletrônicas, rotacionais e vibracionais.	22
Figura 3 – Diagrama do sistema óptico do modelo DU, retirado de [2]	23
Figura 4 – Espectro do estado de vapor e do estado de solução em álcool, imagem retirada de [3]	26
Figura 5 – Tipos de orbitais do estado fundamental. (i) orbital molecular σ (ligante) (ii) orbital molecular π (ligante) (iii) o orbital atômico n (não-ligante). Imagem adaptada de [3]	27
Figura 6 – Energia e transições moleculares. As setas em vermelho indicam as transições permitidas. Imagem adaptada de [3]	28
Figura 7 – Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis de feixe simples. Imagem adaptada de [4].	29
Figura 8 – Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis de feixe duplo. Imagem retirada de [4].	29
Figura 9 – Espectro da solução da folha de Vitex Gardneriana Schauer em água obtida através das medidas realizadas.	31
Figura 10 – À esquerda a árvore Jaramataia e à direita a folha produzida por ela. Imagens retiradas de [5]	38
Figura 11 – Estruturas das moléculas. As linhas são as ligações entre carbonos, outros átomos estão explicitados pelas letras que os representam. Imagens retiradas do banco de dados do PubChem.	40
Figura 12 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de Vitex Gardneriana Schauer obtido utilizando o método de infusão em água em ebulição. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.	47
Figura 13 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de Vitex Gardneriana Schauer obtido utilizando o método de maceração em água destilada a temperatura ambiente. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.	48
Figura 14 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de Vitex Gardneriana Schauer obtido utilizando o método de maceração em etanol a temperatura ambiente. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.	48

Figura 15 – Espectro experimental UV-Vis normalizado e suavizado da folha de Vitex Gardneriana Schauer obtido através do segundo método de extração. O espectro normalizado possui intensidade de 0 a 1 e foi reduzido ao intervalo entre 200nm a 400nm, para utilização nos processos de caracterização e identificação das moléculas.	49
Figura 16 – Gráficos contendo os espectros normalizados obtidos por simulação de todas as moléculas previamente selecionadas usando TDDFT com funcional B3LYP (a) e CAMB3LYP (b) , além do espectro obtido experimentalmente por UV-Vis da folha de Vitex Gardneriana Schauer usando o método de extração de maceração em água destilada.	50
Figura 17 – Comparação entre o espectro experimental UV-Vis da folha de Vitex Gardneriana Schauer usando o método de extração de maceração em água destilada, e os ajustes feitos a partir de combinações lineares das simulações das moléculas em destaque utilizando o funcional B3LYP (a) e o CAMB3LYP (b) . Ao lado de cada molécula são apresentadas as concentrações de cada uma na combinação linear, em porcentagem, para a formação do espectro correspondente.	51
Figura 18 – (a) Simulação da molécula de ácido 3,4-dehidroxibenzoico. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (c) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.	53
Figura 19 – (a) Simulação da molécula de 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (b) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.	54
Figura 20 – (a) Simulação da molécula de 20-hidroxiecdisona. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (c) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.	55
Figura 21 – Simulação de FTIR e Raman, usando DFT com funcional B3LYP da molécula ácido 3,4-dehidroxibenzoico.	56
Figura 22 – Simulação de FTIR e Raman usando DFT com funcional B3LYP da molécula 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova.	57
Figura 23 – Simulação de FTIR e Raman usando DFT com funcional B3LYP da molécula 20-hidroxiecdisona.	58

Lista de tabelas

Tabela 1 – Tabela de possíveis moléculas presentes na folha de Jaramataia	39
Tabela 2 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados do Ácido 3,4-Dihidroxibenzoico, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 39 → Nível 40). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.	53
Tabela 3 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados da 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 84 → Nível 87). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.	54
Tabela 4 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados da 20-hidroxiecdisona, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 131 → Nível 132). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.	55
Tabela 5 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula ácido 3,4-dehidroxibenzoico. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais picos, com intensidades significativas para compor a tabela.	56
Tabela 6 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais, com intensidades significativas picos para compor a tabela.	58
Tabela 7 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula 20-hidroxiecdisona. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais picos, com intensidades significativas para compor a tabela.	59

Sumário

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	Espectroscopia	21
2.2	Espectroscopia UV-Visível	23
2.2.1	História	23
2.2.2	Teoria	24
2.2.3	Técnica Experimental e Instrumentos	28
2.3	Espectroscopia Infravermelho	30
2.4	Espectroscopia Raman	32
2.5	Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	33
2.5.1	Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo - TDDFT	36
2.5.2	Funcionais	36
2.6	Vitex Gardneriana Schauer	37
2.6.1	Pesquisas realizadas	38
2.6.1.1	Ecdisteróides	39
2.6.1.2	Ácidos fenólicos	40
2.6.1.3	Triterpenóides	41
2.6.1.4	Iridoides	41
2.6.1.5	Sesquiterpenos	41
2.6.1.6	Flavonóides	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1	Materiais	43
3.2	Metodologia	43
3.2.1	Preparação das amostras	43
3.2.2	Medidas experimentais	44
3.2.3	Métodos computacionais	44
4	RESULTADOS	47
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	61
	REFERÊNCIAS	63

1 Introdução

Atualmente, a espectroscopia UV-Visível (UV-Vis) tem sido amplamente utilizada nas principais áreas da ciências, como física da alta atmosfera [6], nanotecnologia [7], biomedicina [8], e principalmente no estudo da física atômica e molecular e química quântica voltado para a identificação, análise e caracterização de compostos orgânicos e moléculas funcionais presentes em frutos, flores, folhas, óleos derivados, entre outros [9][10][11][12]. Isso se dá pelo fato de que as principais moléculas que estão presentes em amostras orgânicas são excitadas eletronicamente no intervalo do espectro ultravioleta e visível, cerca de 100 nm até 750 nm, tornando possível essa análise através deste método experimental.

A folha de *Vitex Gardneriana* Schaeur, popularmente chamada de Jaramataia, é conhecida por possuir propriedades medicinais, e utilizada com este fim pela população, com base no senso comum, no tratamento da cefaleia, de infecções, obstipação, entre outros [13]. Diversos estudos foram realizados acerca desta amostra para identificação dos possíveis agentes funcionais presentes [14][15], entretanto, são estudos que utilizam diferentes métodos de extração e análise, como a cromatografia líquida para produção dos óleos essenciais e a espectroscopia por ressonância magnética (NMR), sendo estes métodos demorados e bastante dispendiosos. Desta forma, procurou-se utilizar a espectroscopia UV-Vis juntamente com simulações computacionais utilizando as teorias da física atômica e molecular, para trazer uma nova possibilidade de análise e com ela, auxiliar na identificação e caracterização dos compostos moleculares que contribuem para sua funcionalidade medicinal.

Existem estudos acerca da *Vitex Gardneriana* Schauer que visam determinar a quantidade de fenóis totais utilizando UV-Vis [16], mas nenhum estudo relacionado a identificação das biomoléculas da folha de Jaramataia foi encontrado. Portanto, devido a inexistência de estudos na literatura, até o presente momento, utilizando a espectroscopia UV-Vis para determinação das biomoléculas desta amostra especificamente, bem como o interesse em contribuir para a difusão do conhecimento científico e de informações cientificamente comprovadas acerca da constituição molecular destas amostras, motivou a realização de estudos utilizando a espectroscopia UV-Vis juntamente com simulações computacionais baseando-se nas teorias da física atômica e molecular, a fim de caracterizar a *Vitex Gardneriana* Schauer.

Este trabalho tem como objetivo principal utilizar métodos de extração simples e análise por espectroscopia UV-Vis, aliado a cálculos computacionais de TDDFT, FTIR e Raman para caracterizar as biomoléculas presentes nas folhas de *Vitex Gardneriana*

Schauer. Para a realização do trabalho proposto, fez-se necessário: utilizar diferentes métodos de extração simples, alterando solventes e estratégias, para, em seguida, obter espectros experimentais de UV-Vis das amostras obtidas a partir dos diferentes métodos de extração da folha de *Vitex Gardneriana* Schauer e assim, procurou-se avaliar os métodos de extração a partir dos espectros UV-Vis obtidos. Então, buscou-se produzir um banco de dados de informações sobre as moléculas da *Vitex Gardneriana* Schauer através de pesquisas em referenciais teóricos, para que fosse possível realizar simulações teóricas computacionais das moléculas encontradas na literatura com o auxílio do software Gaussian [17], com a finalidade de comparar com os dados obtidos experimentalmente e, por fim, realizar a análise e tratamento dos dados obtidos.

Com a espectroscopia UV-Vis obtem-se o espectro de absorção gerado por uma dada amostra após a incidência de luz sobre ela, no intervalo ultravioleta e visível, e assim é possível caracterizar esta amostra. Trata-se de um método de fácil execução, o qual utiliza amostras obtidas a partir de métodos de extração elementares, como diluição simples do soluto em um solvente [3][18]. Em relação aos cálculos computacionais, foi utilizada a teoria do funcional da densidade (DFT) e sua variante dependente do tempo (TDDFT), que são usadas para calcular os orbitais moleculares e níveis de energia correspondentes para o estado fundamental e para estados excitados, respectivamente [19]. Além disso, o DFT também foi utilizado para os cálculos de FTIR e Raman presentes neste trabalho. Estas teorias são amplamente utilizadas para comparação com resultados obtidos experimentalmente, pois são muito poderosas no tocante a otimização geométrica das moléculas bem como do cálculo do espectro de absorção UV-Vis, gerando resultados compatíveis com a realidade [20]. A combinação de UV-VIS e TDDFT torna a execução da caracterização de sistemas biológicos mais simples, porém proporcionam qualidade e confiabilidade na análise dos dados e no desenvolvimento da pesquisa científica, além do baixo custo comparado com outros métodos de caracterização que utilizam outras técnicas.

Este trabalho foi estruturado da seguinte maneira: o capítulo 2 contém uma revisão bibliográfica, na qual serão abordados o conceito, história, teoria e técnica experimental da espectroscopia UV-Vis, FTIR e Raman. Além disso, serão apresentadas as técnicas computacionais utilizadas e uma descrição da amostra utilizada para o desenvolvimento da pesquisa. Em seguida, no capítulo 3, será apresentada a metodologia utilizada para realização da pesquisa e, por fim, no capítulo 4, os resultados obtidos ao término da pesquisa e no capítulo 5, as conclusões e perspectivas concernentes a este trabalho.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Espectroscopia

O termo “espectroscopia” vem da junção de duas palavras, *spectron* do latim que significa “fantasma ou espírito”, e *scopein* do grego que significa “para ver”, tendo assim o sentido de indicar algo de natureza “desconhecida” e que pode ser observado [21], e foi um termo cunhado após os estudos de Isaac Newton para descrever e sistematizar a decomposição da luz branca passando através de um prisma no século XVII. Desde a antiguidade, os romanos tinham conhecimento de que esse fenômeno era possível, mas foi Newton que organizou as ideias e publicou acerca do conceito da dispersão da luz, quando aplicou o termo espectro para se referir as cores do arco-íris derivadas da luz branca. Desde então o estudo da espectroscopia foi sendo desenvolvido através de teorias e experimentos adequados com a realidade [22].

O princípio fundamental que guia o estudo da espectroscopia é o da interação entre a radiação e a matéria, mais especificamente a absorção da luz [18]. Sabe-se que a radiação possui um caráter dual, conhecido como dualidade onda-partícula, no qual a luz pode apresentar comportamento corpuscular ou ondulatório, dependendo da forma como ela é observada. Assim, para descrever o comportamento ondulatório, usa-se das teorias do eletromagnetismo, baseado nas Equações de Maxwell, e para descrever o comportamento corpuscular, usa-se as teorias e leis da física quântica, mais precisamente ótica quântica [23], como as desenvolvidas a partir do efeito fotoelétrico, de Einstein, e do efeito Compton. A radiação pode ser apresentada através do espectro eletromagnético a seguir:

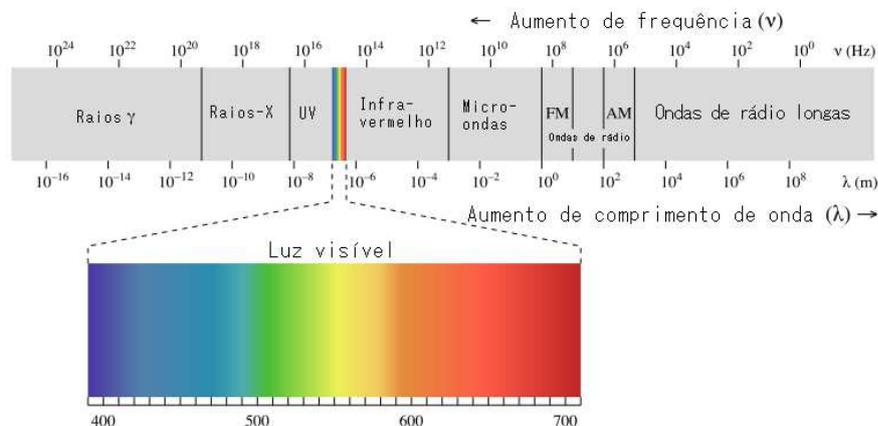


Figura 1 – Espectro completo da radiação eletromagnética com o intervalo visível enfatizado. Figura retirada de [1] e adaptada.

Quando a luz interage com a matéria, a absorção da radiação provoca uma transição energética de um estado fundamental para um estado excitado. Os elétrons dos átomos constituintes da matéria possuem orbitais que são discriminadas através de níveis energéticos, de modo que se pode considerar elétrons ocupando tais níveis de energia. A luz, ao interagir com a matéria, faz com que esses elétrons absorvam a energia proveniente do fóton, e realizem “saltos” entre orbitais, gerando os estados excitados através das transições ilustradas [3] na figura 2:

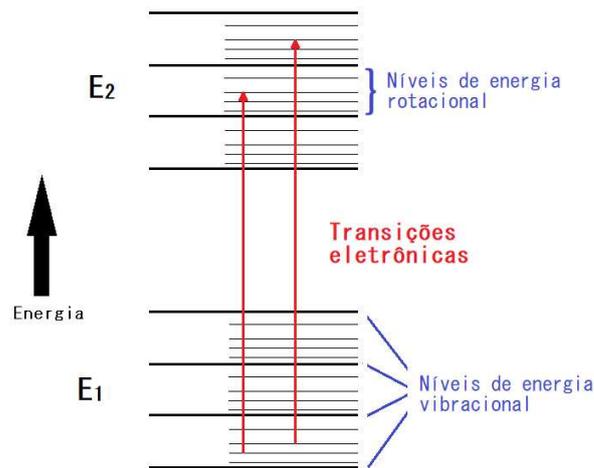


Figura 2 – Níveis energéticos e transições eletrônicas, rotacionais e vibracionais.

Como demonstra a figura 2, existem diferentes tipos de excitações eletrônicas. Esses tipos de excitações e transições dependem da energia da radiação incidente e da natureza do material. Geralmente, as transições rotacionais e vibracionais acontecem por excitação no intervalo do espectro infravermelho [3]. No intervalo do UV-Visível, ocorrem transições entre níveis de energia, ou transições eletrônicas dos níveis mais externos. Essas excitações possuem um tempo de vida muito pequeno, com ordem de grandeza em torno de 10^{-15} , e logo decaem para o estado original e, quando isso acontece, a energia absorvida anteriormente é agora liberada, o que proporciona a realização de medidas experimentais e obtenção de dados que possibilitam a identificação do material, pela obtenção de informações espectroscópicas que funcionam como impressões digitais, ou seja, conjuntos de energias característicos de cada molécula que possibilitam o reconhecimento destas. Desta forma, existem várias técnicas experimentais relacionadas a espectroscopia, as quais se diferenciam pelo intervalo da radiação eletromagnética usado, seja espectroscopia no intervalo de raios X, espectroscopia no ultravioleta, no visível, no infravermelho, entre outros, e também pelo método experimental utilizado mesmo que se use o mesmo intervalo, como por exemplo a espectroscopia fotoacústica e a espectroscopia UV-Vis, que trabalham no mesmo intervalo da luz, mas possuem meios diferentes de captar a informação, a primeira através da "transformação" da energia absorvida pela matéria em ondas acústicas que são captadas por microfones, e a segunda pela detecção da luz transmitida através de

fotodiodos. A técnica espectroscópica utilizada para o desenvolvimento deste trabalho foi a espectroscopia UV-Vis, que utiliza o intervalo de radiação do ultravioleta até o visível, que vai de 100nm até 800nm, aproximadamente.

2.2 Espectroscopia UV-Visível

2.2.1 História

Por volta da década de 1930, era do conhecimento da comunidade científica que algumas vitaminas, principalmente vitamina A, conseguem absorver radiação UV (Ultra violeta) [24]. Desta forma, o governo americano, que possuía o interesse de saber a quantidade de vitaminas que existia nas refeições dos soldados na ocasião da Segunda Guerra Mundial, procurou desenvolver uma forma de realizar essa pesquisa através da espectroscopia [2][24]. A Lei de Beer-Lambert já havia sido publicada, e experimentos de espectroscopia já haviam sido realizados, mas na época era necessário um aparato pesado e dispendioso para alcançar o estado da arte dos espectrômetros UV-Vis, o que tornava esse tipo de experimento algo difícil de se realizar para um grande número de moléculas [2][24].

Então, em 1941, Arnold Beckman desenvolveu o primeiro espectrômetro UV-Vis comercialmente viável [25], o espectrofotômetro modelo DU, o que abriu o caminho para a popularização da espectroscopia, facilitando este tipo de pesquisa experimental [2] [26]. Esse aparelho consistia de uma lâmpada de Hidrogênio, um monocromador feito com um prisma de Quartzo proveniente do Brasil, e uma célula fotoelétrica sensível a UV. A luz proveniente da lâmpada passava por uma serie de fendas e espelhos, formando um espectro ultravioleta e visível, o qual incidia na amostra e em consequência o sinal era capturado pela célula fotoelétrica, como mostrado na figura 3:

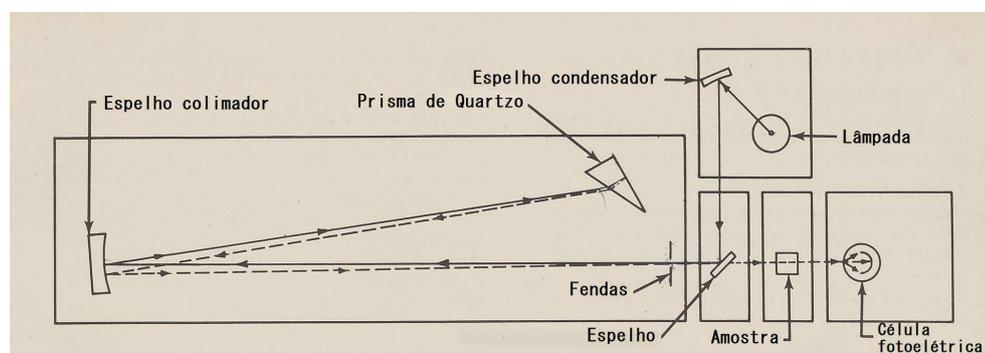


Figura 3 – Diagrama do sistema óptico do modelo DU, retirado de [2]

Esse espectrômetro foi inicialmente usado para analisar alimentos, mas depois trouxe resultados expressivos em outras áreas, como por exemplo em 1947, Erwin Chargaff descobriu que a taxa de monômeros nucleotídeos é a mesma em qualquer organismo, e

essa pesquisa possibilitou a descoberta da estrutura de dupla hélice do DNA [2]. Com o passar do tempo, esse instrumento começou a ser produzido e vendido em grande escala, e assim surgiram outros modelos e marcas.

2.2.2 Teoria

O princípio básico da espectroscopia UV-Vis é a Lei de Beer-Lambert [27]. Sabe-se que a luz, ou radiação eletromagnética, possui um caráter dual, ou seja, uma descrição corpuscular e uma ondulatória. No aspecto ondulatório, pode-se expressar a propagação da onda eletromagnética em um meio não-absorvente através da equação

$$A(\phi) = A_0(\phi)e^{i(\omega t - \delta)} \quad (2.1)$$

de modo que A é a amplitude da onda, ϕ é o ângulo de polarização, t é o tempo, δ é o ângulo de fase e ω é a frequência angular, que pode ser dada em função do comprimento de onda (λ) e do índice de refração (n):

$$\omega = \frac{c}{\lambda n} \quad (2.2)$$

como o interesse da espectroscopia está majoritariamente na análise de interação da luz com meios absorventes, é necessário considerar o índice de refração complexo

$$n^* = n + ik \quad (2.3)$$

onde k é o coeficiente de extinção, que indica a quantidade de atenuação que uma dada onda eletromagnética sofre ao passar pelo meio. No caso de um meio absorvente, k será sempre positivo, e o coeficiente de absorção a é geralmente dado por

$$a = \frac{4\pi k}{\lambda} \quad (2.4)$$

com base na equação (2.1), a intensidade da luz (I) pode ser escrita da seguinte forma:

$$I = I_0 e^{-al} \quad (2.5)$$

desta forma, obtém-se a Lei de Beer-Lambert[28], fazendo

$$I = I_0 e^{-\epsilon Cl} \quad (2.6)$$

e pode ser representada na forma logarítmica como segue

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = Ab = \epsilon Cl \quad (2.7)$$

onde Ab é a absorbância, ϵ é a absortividade molar, C é a concentração da substância absorvente no meio e l é a distância que a luz atravessa pelo corpo. A Lei de Beer-Lambert relaciona a absorção da luz com o material que esta luz interage, indicando que existe uma dependência exponencial entre a distância que a luz consegue atravessar em um corpo e a concentração dele, permitindo o balanceamento destas condições para realização de experimentos envolvendo espectroscopia. No caso do comportamento corpuscular[23], os fótons são descritos pela energia que possuem da seguinte forma:

$$E = h\nu \quad (2.8)$$

onde h é a constante de Planck, que vale $h = 6,626.10^{-34} J.s = 4,135.10^{-15} eV.s$, e ν é a frequência da luz, que também pode ser dada em função do comprimento de onda (λ), como segue:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (2.9)$$

sendo c a velocidade da luz no vácuo. Assim, pode-se descrever a energia da forma:

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.10)$$

essa é a energia de fóton, mas também é utilizada para quantificar a energia necessária para transições eletrônicas, sendo assim a diferença entre os níveis energéticos, como por exemplo:

$$\Delta E = E_N - E_{N-1} = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.11)$$

onde N descreve o n -ésimo nível de energia em questão. Essa relação dá informação da frequência, ou comprimento de onda, do fóton necessário para realizar a transição eletrônica do nível $N-1$ para o nível N [29].

Além desses níveis energéticos eletrônicos, existem outros níveis de energia de excitação eletrônica, rotacionais e vibracionais, que geralmente são também acessados com a radiação UV-Vis. Mais informações acerca desses níveis podem ser encontrados em [18]. Isso faz com que, ao analisar um espectro de absorção neste intervalo, apareçam outras linhas além da linha principal que descreve a transição entre níveis eletrônicos [18]. Além disso, quando se trata de moléculas, onde existem mais de um átomo, os níveis

energéticas das transições existentes se superpõem de modo que os níveis se tornam bandas de energia, e essas bandas são exibidas no espectro UV-Vis. É possível observar este fato através da análise dos espectros UV-Vis do benzeno obtidos da amostra no estado de vapor e no estado de solução, no primeiro caso as bandas de absorção são mais estreitas, se assemelhando a linhas, e no segundo há uma única banda mais larga, tendo a forma de envoltória da primeira [3], como na figura 4.

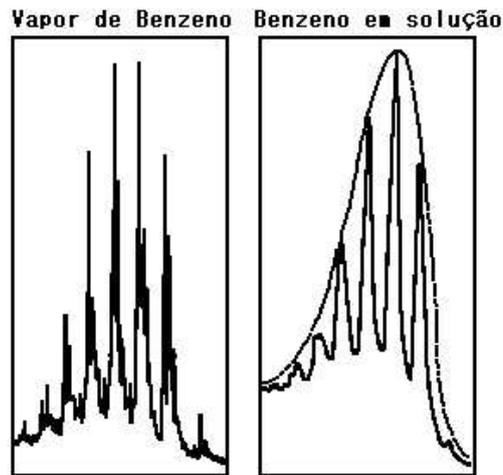


Figura 4 – Espectro do estado de vapor e do estado de solução em álcool, imagem retirada de [3]

As energias desses elétrons nos átomos, no caso estacionário ou estado fundamental, descrevem os orbitais que eles ocupam. Orbitais eletrônicos são funções de onda que representam o comportamento dos elétrons no átomo, e resultam na probabilidade de encontrar o elétron em uma dada posição ao redor do núcleo [30]. Cada orbital é caracterizado por diferentes valores dos números quânticos n, l, m , que representam, respectivamente, a energia do elétron, o momento angular e a componente vetorial do momento angular. Além disso, cada orbital pode ser ocupado por dois elétrons com número quântico de spin s . Para diferentes valores de l , os orbitais recebem nomes diferentes, orbital s ($l = 0$), orbital p ($l = 1$), orbital d ($l = 2$), orbital f ($l = 3$) [31][27].

Quando se trata de moléculas, contendo dois ou mais átomos, os orbitais não são mais considerados individualmente, mas em conjunto com orbitais de mesma ordem, devido às ligações existentes entre os átomos para formar as moléculas, e desta forma recebem novos nomes, utilizando letras gregas, os orbitais s passam a ser orbitais σ , os orbitais p podem se tornar orbitais σ e orbitais π , dependendo da orientação, orbital d permite o surgimento do orbital molecular δ , orbital f permite o orbital ϕ , além do surgimento de um orbital n . Os orbitais mais comuns no estudo da Teoria do Orbital Molecular (TOM) são os dois primeiros, σ e π , e o orbital n , e entre eles ainda existem diferenciações entre orbitais ligantes, orbitais antiligantes e orbitais não-ligantes[30][32]. Orbitais ligantes são os que os elétrons tendem a se atrair, formando e fortalecendo a ligação entre os núcleos

atômicos, orbitais antiligantes são os que os elétrons tendem a se repelir de modo que permita a ligação entre os núcleos atômicos, mas de forma enfraquecida, e os orbitais não-ligantes são semelhantes a orbitais atômicos pelo fato de não formarem ligações[30][32]. Assim, os principais tipos de orbitais estudados são: orbital molecular σ (ligante), orbital molecular σ^* (antiligante), orbital molecular π (ligante), orbital molecular π^* (antiligante), e o orbital atômico n (não-ligante) [31][33][34][30].

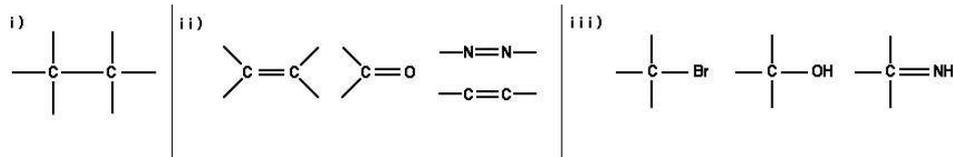


Figura 5 – Tipos de orbitais do estado fundamental. (i) orbital molecular σ (ligante) (ii) orbital molecular π (ligante) (iii) o orbital atômico n (não-ligante). Imagem adaptada de [3]

Sabe-se que, para que ocorram transições eletrônicas, é necessário seguir as regras de seleção [35], as quais seguem o princípio da conservação do momento angular, condição básica para que os saltos quânticos entre os níveis energéticos ocorram. A regra de seleção geral diz que

$$\Delta l = \pm 1 \quad (2.12)$$

ou seja, para que uma transição seja permitida, o número quântico do momento angular só pode apresentar variação de uma unidade, para mais ou para menos. Outra importante regra de seleção é a chamada Regra de Seleção de Laporte [35], em que uma transição só é permitida quando há mudança na paridade. A paridade é uma característica do orbital molecular que aparece quando ele sofre uma inversão no seu centro de simetria, podendo alterar o sinal da função de onda do orbital, se o sinal inicial se manter, a função será par (g), se o sinal mudar, a função será ímpar (u). Desta forma, a Regra de Seleção de Laporte permite que haja transições $u \rightarrow g$, e $g \rightarrow u$. Entretanto, sob condições especiais de eliminação de centro de simetria por uma vibração assimétrica, uma transição $g \rightarrow g$ pode vir a ser permitida com pouca intensidade [35]. Uma terceira regra que deve ser levada em consideração é a da multiplicidade de spin, a qual afirma que para que uma dada transição seja permitida, a orientação do spin do elétron não pode mudar, ou seja,

$$\Delta S = 0 \quad (2.13)$$

isso acontece pelo fato de que fótons não tem spin, logo, para que se mantenha a conservação do momento angular, uma transição eletrônica não pode induzir mudança no spin, desta forma, uma transição de um estado singleto ($S=0$) para um estado tripleto ($S=1$), por exemplo, não é permitida, pois esses estados apresentam configurações de spin diferentes. Essa regra pode ser “relaxada” para o caso de haver um acoplamento spin-órbita, um

fenômeno que ocorre devido a presença do dipolo magnético formado pelo elétron e o núcleo positivamente carregado, e um torque, causado pelo campo magnético gerado pelo próton, exercido neste dipolo, ocasionando numa mudança nos níveis energéticos atômicos [36][37]. Essas relaxações permitem com que ocorram transições anteriormente proibidas, mas com uma baixa probabilidade e resultando em bandas espectrais de pouca intensidade. Sabendo disso, é possível delimitar os tipos de transições que podem ocorrer entre os orbitais conhecidos através da interação com a radiação UV e Visível [3]. São elas:

$$\sigma \rightarrow \sigma^* \quad (2.14)$$

$$n \rightarrow \sigma^* \quad (2.15)$$

$$n \rightarrow \pi^* \quad (2.16)$$

$$\pi \rightarrow \pi^* \quad (2.17)$$

As transições σ para σ^* e n para σ^* requerem uma grande quantidade de energia e ocorrem na região do Ultravioleta com menores comprimentos de onda, já as transições π para π^* e n para π^* necessitam de menos energia e, conseqüentemente, acontecem com comprimentos de onda, em geral, maiores do que as transições envolvendo orbitais σ . A figura 6 ilustra o padrão de níveis de energia levando em consideração os orbitais moleculares citados.

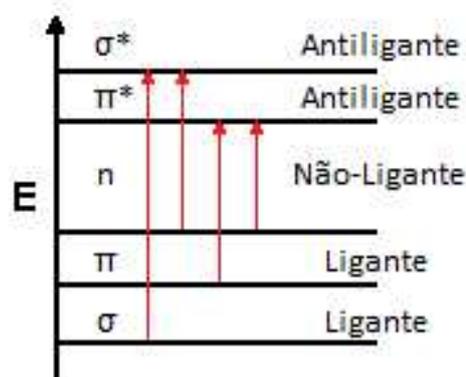


Figura 6 – Energia e transições moleculares. As setas em vermelho indicam as transições permitidas. Imagem adaptada de [3]

2.2.3 Técnica Experimental e Instrumentos

A técnica experimental da espectroscopia UV-Vis é relativamente simples. Como a espectroscopia UV-Vis é uma técnica que se utiliza basicamente da absorção, da transmissão

e da refletância da luz, é necessário que as amostras não sejam opacas, mas possuam uma certa transparência [28]. Isso é obtido pela dissolução do material principal da amostra em algum solvente transparente (por exemplo água, álcool, entre outros). Desta forma, é necessário, antes de qualquer medida, preparar a referência, que nada mais é do que um recipiente contendo o solvente utilizado, para que este seja descontado no resultado final, desta forma se tem certeza de que a medida é apenas da amostra. Por isto, são utilizadas cubetas transparentes, principalmente de Quartzo, para que não se percam fótons ao longo do caminho óptico [28].

Geralmente, os espectrofotômetros UV-Vis são divididos em dois tipos, o espectrofotômetro de feixe duplo e o espectrofotômetro de feixe simples. A principal diferença entre estes dois tipos é, como o nome indica, que no espectrofotômetro de feixe simples, toda a radiação atravessa a amostra, e os dados são obtidos através da análise da quantidade de fótons antes e depois da amostra. Neste caso, é realizada uma medida prévia da referência. Para o espectrofotômetro de feixe duplo, existe um separador de feixe que divide o feixe de luz fazendo com que um passe pela amostra e o outro pela referência, simultaneamente, e no processamento dos dados a referência já é descontada [28]. Nas figuras 7 e 8 estão as representações de cada tipo de espectrofotômetro UV-vis:

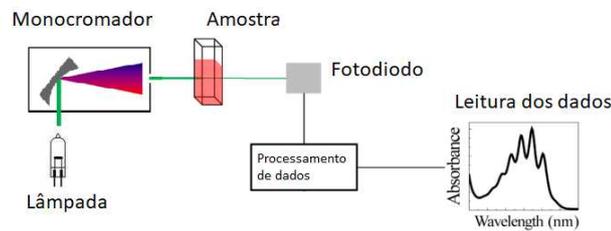


Figura 7 – Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis de feixe simples. Imagem adaptada de [4].

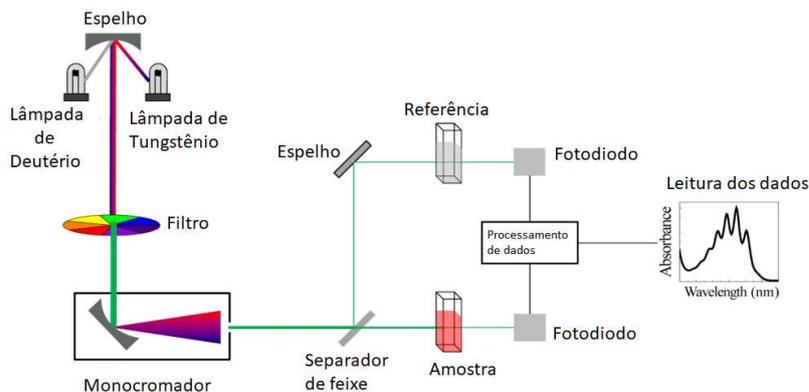


Figura 8 – Esquema de um espectrofotômetro UV-Vis de feixe duplo. Imagem retirada de [4].

Depois de posicionada a referência, a amostra é preparada e colocada no lugar indicado, como mostram as figuras 7 e 8. As amostras precisam ser transparentes, e por isso devem ser diluídas em um solvente transparente. Essa diluição não é arbitrária, é necessário encontrar uma proporção ótima entre o soluto e o solvente de modo que seja possível extrair o máximo de informações da amostra, conforme observado nas diversas tentativas de diluição realizadas para o desenvolvimento deste trabalho.

Os espectrofotômetros UV-Vis possuem lâmpadas que emitem luz branca, contendo desde ultra violeta até o visível, e em alguns casos o início do infravermelho. Essa luz branca é dividida em unidades de comprimento de onda quando passa através de um monocromador. Esse monocromador é um aparelho ótico, formado por uma grade de difração, com pelo menos 1000 linhas/mm podendo conter mais linhas [38], e espelhos ou lentes, que tem o papel de discretizar a luz, a qual é emitida de forma contínua pela fonte, bem como colimar o feixe resultante. Com essa finalidade, ele é posicionado de modo que os comprimentos de onda discretos sejam obtidos quando a luz passa pela grade de difração. Além disso, ao passar pelas lentes e espelhos, o feixe é colimado, fazendo com que seus raios fiquem paralelos, eliminando outros efeitos óticos que poderiam surgir, os quais são prejudiciais a qualidade do feixe. O monocromador se movimenta de modo que vários comprimentos de onda sejam selecionados consecutivamente e assim fazendo uma varredura na amostra [39][28]. Desta forma, a luz incide na amostra com diferentes comprimentos de onda e a amostra interage absorvendo essa luz monocromatizada em frequências específicas, e assim a luz que não é absorvida é transmitida e captada pelos fotodiodos e processada no computador, onde é gerado o espectro característico [28]. A figura 9 é um exemplo de um espectro UV-Vis.

2.3 Espectroscopia Infravermelho

A espectroscopia Infravermelho, ou IR (*Infrared*), é uma das mais utilizadas atualmente devido a sua facilidade e rapidez na realização de medidas para identificação de compostos orgânicos e inorgânicos, na determinação de grupos funcionais em materiais orgânicos, na determinação da composição molecular de superfícies, na determinação da conformação molecular e outros aspectos estruturais, além de ser um método não-destrutivo [40]. Essa espectroscopia segue o mesmo método da UV-Vis, sendo diferente apenas no intervalo da radiação. O infravermelho pode ser classificado da seguinte maneira: infravermelho curto, que possui uma faixa de comprimento de onda entre 800nm à 2,5 μ m, o infravermelho médio, de 2,5 μ m até 25 μ m, e o infravermelho longo que vai de 25 μ m até 1mm [18]. É nessa faixa de energia que se observa transições entre níveis de energia rotacional e vibracional, que são apresentados na figura 2.

Para que uma molécula apresente picos de absorção IR, o momento de dipolo

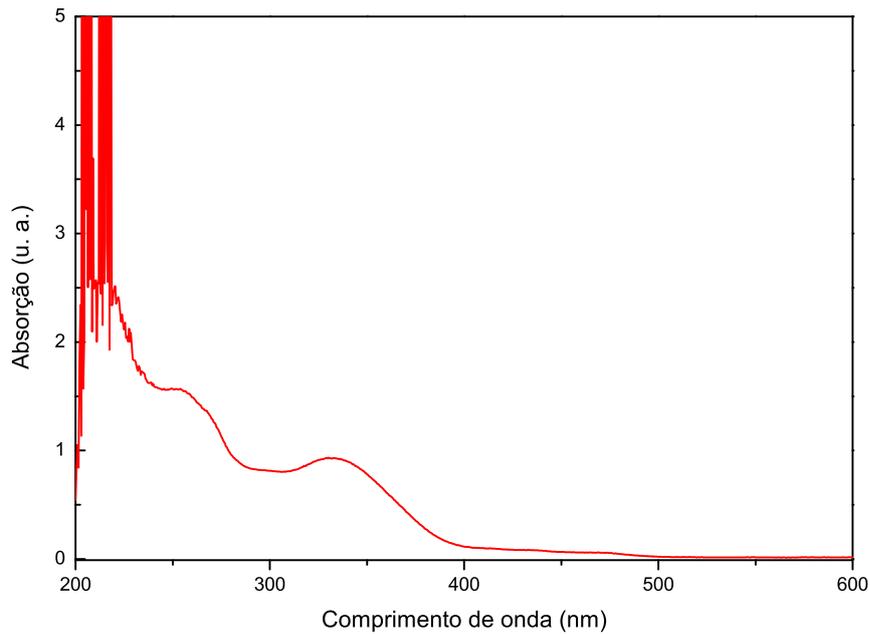


Figura 9 – Espectro da solução da folha de *Vitex Gardneriana Schauer* em água obtida através das medidas realizadas.

elétrico dela deve mudar durante o movimento. Esse tipo de interação entre radiação e matéria é entendido com base em mudanças nos dipolos moleculares, que geram as vibrações e rotações. Essas mudanças podem afetar tanto o comprimento das ligações entre átomos quanto os ângulos entre essas ligações. Cada átomo de uma dada molécula irá absorver radiação infravermelho em determinado intervalo e vibrar de acordo com a energia absorvida, isso faz com que uma molécula possua um espectro específico relacionado aos átomos que a compõem. Desta forma, as bandas associadas as vibrações em moléculas são como impressões digitais para identificação destas moléculas [41].

Por se tratar de uma técnica de espectroscopia muito semelhante a espectroscopia UV-Vis, a espectroscopia IR também se baseia na Lei de Beer-Lambert como descrita na equação 2.7, que dá informação da absorbância. Entretanto, o espectro IR pode também trazer informação da transmitância ao invés da absorbância no eixo y do espectro, pois este apresenta um maior contraste entre as intensidades das bandas fortes e fracas. Isso se dá, pois a transmitância Tr é calculada da seguinte maneira:

$$Ab = \log_{10} \left(\frac{1}{Tr} \right) \quad (2.18)$$

Desta forma, tem-se que

$$10^{Ab} = \frac{1}{Tr} \quad (2.19)$$

Finalmente,

$$Tr = \frac{1}{10^{Ab}} = 10^{-Ab} \quad (2.20)$$

Desta forma, o resultado da transmitância é dado em porcentagem, de 0 a 100% [40].

2.4 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é baseada no espalhamento Raman, onde fótons são espalhados de forma inelástica em contato com a matéria. Um laser monocromático de alta intensidade é utilizado para excitar a molécula para um estado de energia virtual. A luz espalhada é detectada geralmente numa direção perpendicular ao feixe incidente. Após essa excitação, a maioria das moléculas relaxam diretamente para o estado fundamental, emitindo radiação de mesmo comprimento de onda do laser. Entretanto, uma pequena parte relaxa passando por um estado de energia vibracional excitado. Esse fenômeno é visto na luz espalhada, na qual a maior parte é de espalhamento Rayleigh, de mesma frequência da luz incidente, e a menor parte é de espalhamento Raman. Na espectroscopia Raman são medidas as frequências vibracionais como um deslocamento da frequência da luz incidente. A condição para que a molécula seja compatível com o efeito Raman é que ela deve apresentar uma mudança na polarização da nuvem eletrônica durante a interação com a radiação incidente [18][42][43].

Apesar da espectroscopia IR e Raman trabalharem com níveis de energia vibracionais, existem diferenças entre as duas técnicas que tornam uma ou outra mais viável. As vantagens de usar espectroscopia Raman são [42]:

- Abrange uma gama de moléculas que possuem maiores simetrias, pois geralmente as moléculas que são totalmente simétricas são compatíveis com o efeito Raman.
- Algumas vibrações são fracas para IR, mas são fortes para Raman.
- Para soluções onde as moléculas estão orientadas de forma aleatória, o momento de dipolo induzido também será orientado aleatoriamente. Isso faz com que medidas de IR não sejam possíveis de se realizar, enquanto medidas de Raman ainda dão informações sobre a simetria de uma vibração normal para casos assim.
- Usando o efeito de ressonância Raman, é possível realçar de forma seletiva vibrações de grupos particulares em moléculas.
- Como o diâmetro do feixe de laser é muito pequeno, só se faz necessário uma pequena área da amostra para obtenção do espectro.

- Como a água quase não realiza o espalhamento Raman, soluções aquosas são facilmente analisadas pois a água não interfere nas vibrações, o que seria praticamente impossível para IR pelo fato da água apresentar forte absorção nessa faixa de radiação.
- Algumas moléculas homonucleares não podem ser medidas por IR, como N_2 , O_2 , Cl_2 , pois não absorvem neste intervalo de radiação [44], mas apresentam espectro Raman.

Entretanto, a espectroscopia Raman também encontra dificuldades em algumas situações, tais como [42]:

- A possibilidade de acontecer aquecimento ou fotodecomposição na amostra devido a incidência do laser.
- Alguns compostos fluorecem quando irradiados por laser.
- É mais difícil obter espectros vibracionais e rotacionais de alta resolução com Raman do que com IR, pois trabalha no intervalo do UV-Vis, onde é mais difícil de se conseguir fontes de alta resolução.
- O custo para se usar Raman no estado da arte é maior do que com o IR.

2.5 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

A Teoria do Funcional da Densidade, ou DFT (Density Functional Theory), é um método de cálculo computacional, usado para simulações, muito poderoso, que se origina a partir de métodos mais simples, tomando como base, principalmente, o modelo de Thomas-Fermi e a teoria de Hartree-Fock, além de outros conceitos complementares. A teoria do funcional da densidade utiliza um funcional, ou seja, uma função de uma função, para descrever a densidade eletrônica ao invés de trabalhar com uma quantidade N de elétrons nos átomos ou moléculas. Esse funcional pode ter diversas formas, as quais são selecionadas de acordo com a conveniência do cálculo da molécula em questão. Esse método é utilizado para calcular sistemas de muitos corpos ou partículas, os quais não podem ser calculados pela mecânica quântica básica [45] [46], devido a complexidade dos sistemas.

O método de Hartree-Fock, no qual o DFT se baseia, é considerado um dos mais simples métodos pois assume que um sistema de N fermions pode ter sua função de onda aproximada através de um simples determinante de Slater [47]. Inicialmente, esse método

se inicia com a aproximação de Hartree, que utiliza como função o produto das funções de onda dos elétrons (orbitais) do átomo em questão, da seguinte forma:

$$|\psi\rangle = |\phi_1(r_1)\phi_2(r_2)\dots\phi_N(r_N)\rangle \quad (2.21)$$

onde o $|\psi\rangle$ representa a função de onda do sistema, e os $\phi_N(r_N)$ são os orbitais eletrônicos em função da posição r . Entretanto, essa aproximação não leva em consideração o caráter antissimétrico dos elétrons, logo não consegue descrever bem a função de onda deste sistema com N elétrons. Desta forma, se faz necessário a utilização do determinante de Slater, como segue:

$$|\psi\rangle = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(r_1) & \phi_2(r_1) & \dots & \phi_N(r_1) \\ \phi_1(r_2) & \phi_2(r_2) & \dots & \phi_N(r_2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \phi_1(r_N) & \phi_2(r_N) & \dots & \phi_N(r_N) \end{vmatrix} \quad (2.22)$$

representando através de uma somatória, obtém-se:

$$|\psi\rangle = \frac{1}{\sqrt{N!}} \sum_{i=1}^{N!} (-1)^{p_i} |\phi_{1i}(r_{1i})\phi_{2i}(r_{2i})\dots\phi_{Ni}(r_{Ni})\rangle \quad (2.23)$$

essa equação é conhecida como a aproximação de Hartree-Fock [47].

Além disso, existe o operador de Fock, que é utilizado para calcular um sistema de N partículas. Esse operador é da forma

$$\hat{F} = \hat{h}_1 + \sum_i (\hat{J}_i + \hat{K}_i) \quad (2.24)$$

esse operador engloba outros operadores, o operador Hamiltoniano de um elétron \hat{h}_1 , o operador de Coulomb \hat{J}_i , que dá a energia de repulsão entre dois elétrons em uma mesma orbita, e o operador de troca \hat{K}_i , que determina a energia de troca entre elétrons pelo fato deles possuírem funções antissimétricas, e é encontrado usando o determinante de Slater [47]. Assim, para resolver um sistema utilizando o método de Hartree-Fock, basta resolver a equação de autovalores a seguir:

$$\hat{F}\phi_i = \epsilon_i\phi_i \quad (2.25)$$

onde \hat{F} é o operador de Fock, ϕ_i é uma função de onda arbitrária e ϵ_i é o autovalor associado a este operador. Esse método tem como princípio básico a aproximação de Bohn-Oppenheimer, que considera o núcleo atômico praticamente estático pelo fato de sua massa ser muito maior que a massa dos elétrons que o envolve [29]. Resolver esta equação

é o equivalente a resolver um sistema de uma única partícula, de modo que a contribuição das N partículas está incluída no operador de Fock, de acordo com a função de onda da aproximação de Hartree-Fock [45][46][47].

Entretanto, usar um método que considera funções de onda para os N elétrons despendia muito tempo e trabalho, principalmente computacional, no caso de um N muito grande. Desta forma, Thomas e Fermi propuseram uma descrição diferente para um sistema de muitos elétrons. O modelo Thomas-Fermi trabalha considerando a densidade eletrônica para calcular a energia dos elétrons ao invés da função de onda [45][46]. Levando em consideração que N é o número de elétrons no sistema, a densidade eletrônica pode ser calculada da seguinte forma

$$n(\mathbf{r}) = N \int \dots \int \psi_{el}^*(\mathbf{r}, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) \psi_{el}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d^3\mathbf{r}_2 \dots d^3\mathbf{r}_N \quad (2.26)$$

com n sendo a densidade eletrônica. A equação (2.23) satisfaz a condição de normalização $\int n(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N$ e o limite $n(\mathbf{r} \rightarrow \infty) \rightarrow 0$. O hamiltoniano do sistema será da forma

$$\hat{H} = T + U_{ee} + U_{ei} \quad (2.27)$$

onde T é o operador energia cinética, U_{ee} é o operador energia potencial de interação entre elétrons e U_{ei} é o operador energia potencial de um elétron i sob a influência dos íons. A energia dos elétrons pode ser calculada fazendo:

$$E_{el} = \langle \psi_{el} | \hat{H} | \psi_{el} \rangle = \int [T + U_{ee} + U_{ei}] n(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2.28)$$

Posteriormente, Hohenberg e Kohn desenvolveram o modelo de Thomas-Fermi ao substituir U_{ei} por V_{ext} , para indicar que os elétrons se movem sob influência de um potencial externo. Desta forma, O hamiltoniano de (2.24) fica da seguinte forma:

$$\hat{H} = T + U_{ee} + V_{ext} \quad (2.29)$$

além disso, a energia eletrônica passa a ser um funcional, isto é, uma função de uma função, da densidade n . Assim, a energia é calculada como segue:

$$E_{el}[n] = \langle \psi_{el} | \hat{H} | \psi_{el} \rangle = F[n] + \int V_{ext} n(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2.30)$$

onde

$$F[n] = \langle \psi_{el} | T | \psi_{el} \rangle + \langle \psi_{el} | U_{ee} | \psi_{el} \rangle = T[n] + U_{ee}[n] \quad (2.31)$$

Deste modo, foi possível mostrar que a energia poderia ser obtida como um funcional da densidade eletrônica, onde o $F[n]$ sempre conterà informações acerca da energia cinética e da energia potencial de interação elétron-elétron. As outras contribuições necessárias, como o potencial de interação íon-íon, o potencial de interação íon-elétron e a energia de correlação e troca, estão incluídas no V_{ext} e dependem da configuração do sistema que está sendo calculado[45][46].

Nisto consiste a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), utilizar funcionais da densidade para calcular a energia do estado fundamental de sistemas com muitos elétrons [45][46].

2.5.1 Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo - TDDFT

O DFT é muito eficiente para a realização do cálculo da energia do estado fundamental de um dado sistema, entretanto para obter resultados acerca das energias referentes à transições eletrônicas, ele não se aplica. Para isso, é necessário desenvolver esta teoria inserindo uma dependência temporal. Daí surge a teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TDDFT), a qual se baseia no teorema de Runge-Gross [48], que afirma que o Hamiltoniano (2.26) assume a forma

$$\hat{H} = T + U_{ee} + V_{ext}(t) \quad (2.32)$$

onde o potencial externo $V_{ext}(t)$ depende da configuração do sistema a ser calculado e agora possui dependência temporal. Além disso, a densidade eletrônica também passa a depender do tempo,

$$n(\mathbf{r}) = N \int \dots \int \psi_{el}^*(\mathbf{r}, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N, t) \psi_{el}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N, t) d^3\mathbf{r}_2 \dots d^3\mathbf{r}_N \quad (2.33)$$

utilizando a equação de Schrödinger dependente do tempo, é possível calcular as energias do sistema em questão, com a seguinte condição inicial,

$$\hat{H}(t) |\psi(t)\rangle = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} |\psi(t)\rangle, |\psi(0)\rangle = |\psi\rangle \quad (2.34)$$

O TDDFT é muito utilizado para simular espectros de absorção de espectroscopia UV-Vis.

2.5.2 Funcionais

Sabendo que os métodos para realização dos cálculos exigem a utilização de funcionais, faz-se necessário a escolha dos melhores funcionais para os sistemas a serem calculados. Existem diversos funcionais que podem ser aplicados em diferentes sistemas,

atualmente o mais utilizado é o funcional híbrido B3LYP [45]. Ele é chamado de funcional híbrido pelo fato de ser composto por funcionais de diferentes métodos como, por exemplo, a porção da energia de troca é proveniente da teoria de Hartree-Fock. No caso do B3LYP, que significa "Becke, 3-parameter, Lee–Yang–Parr", o funcional de correlação e troca é da seguinte forma [49][50][51]:

$$E_{TC}^{B3LYP} = E_T^{LDA} + a_0(E_T^{HF} - E_T^{LDA}) + a_T(E_T^{GGA} - E_T^{LDA}) + E_C^{LDA} + a_C(E_C^{GGA} - E_C^{LDA}) \quad (2.35)$$

Os subscritos indicam se o funcional é de troca (T) ou de correlação (C) e os sobrescritos indicam o tipo e origem desses funcionais [49][50][51].

Apesar do funcional B3LYP ser o mais utilizado e apresentar resultados satisfatórios na grande maioria das simulações realizadas, ele não consegue descrever bem algumas situações como a polarizabilidade de longas cadeias, excitações em TDDFT para estados de Rydberg e excitações de transferência de carga. Apesar desse não ser o principal escopo deste trabalho, aspectos como estes podem influenciar no resultado final. Desta forma, além do B3LYP, foi utilizado outro funcional para os cálculos em TDDFT, o funcional CAMB3LYP.

Devido as dificuldades que o funcional B3LYP apresenta, citadas anteriormente, fez-se necessária a utilização de um funcional que englobasse esses aspectos. O funcional CAMB3LYP surge com esse propósito, pois ele combina as informações energéticas do B3LYP com as qualidades assintóticas de funcionais que fazem correção de longo alcance. Ele tem esse nome pois utiliza a abordagem do Método de Atenuação de Coulomb (Coulomb-Attenuating Method - CAM) [52]. Essa abordagem envolve a combinação de recursos provenientes de funcionais híbridos, como o B3LYP, e dos funcionais de correção de longo alcance (LC) de Hirao et al [53] [54]. Com isso, é possível fazer correções na contribuição de uma nuvem eletrônica de um orbital sobre o outro e, assim, descrever mais sistemas, agora também envolvendo longas cadeias e excitações onde ocorrem transferências de carga, além de melhorar o cálculo para algumas moléculas, em relação ao B3LYP.

2.6 Vitex Gardneriana Schauer

A Vitex Gardneriana Schauer, conhecida popularmente no Brasil como Jaramataia, é uma planta do gênero Vitex, da família Lamiaceae[55][56][57]. O gênero Vitex pertencia à família Verbenaceae até os anos 90, quando foi transferido para a família Lamiaceae, que possui um relação próxima com a Verbenaceae, devido a novos estudos filogenéticos de seqüências de DNA. É um gênero nativo dos trópicos e subtropicais [58][59].

Esta espécie é muito popular no nordeste brasileiro, principalmente no sertão, na

caatinga, preferencialmente em margens de rios e em leito de rios secos. É uma árvore caducifólia, ou seja, que as folhas caem em certas estações do ano em que o clima fica mais frio. Chega a atingir 6-7 metros de altura e possui um tronco de cerca de 15-25 centímetros de diâmetro [5].

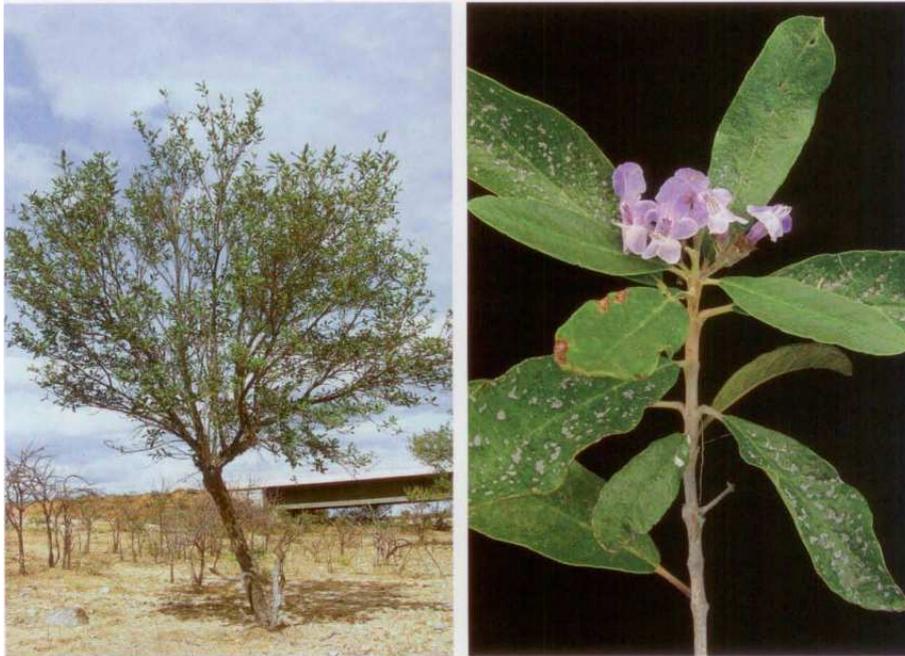


Figura 10 – À esquerda a árvore Jaramataia e à direita a folha produzida por ela. Imagens retiradas de [5]

Apesar de não existirem estudos plenamente conclusivos acerca da funcionalidade dessa planta, popularmente o seu chá é considerado medicinal[60]. O senso comum da população aponta diversas indicações para uso deste chá, as principais são no combate à hipertensão arterial, problemas na próstata e mamas, cálculo renal, além de auxiliar na cicatrização, entre outros [13]. Alguns trabalhos realizados, principalmente na área da farmacologia e química, tem indicado a presença de diversas biomoléculas com propriedades funcionais, que pode realmente prenunciar um possível caráter medicinal desta planta [61] [62].

2.6.1 Pesquisas realizadas

A realização de pesquisas em referenciais teóricos acerca da *Vitex Gardneriana* Schauer permitiu a coleta de informações referentes aos métodos de extração e às moléculas presentes nesta folha. Vale salientar que não foi encontrado nenhum trabalho que tivesse feito uma análise acerca da identificação de biomoléculas presentes na folha de Jaramataia utilizando a espectroscopia UV-Vis e, além disso, a maioria dos métodos de extração realizados nestas pesquisas não eram de fácil execução. As principais moléculas encontradas nos referenciais teóricos podem ser vistas na tabela 1. As estruturas de cada uma dessas moléculas podem ser vistas na figura 11.

Nº	NOME	CLASSIFICAÇÃO
1	20-Hydroxyecdysone	Ecdisteróide
2	4-Hydrobenzoic Acid	Ácido fenólico
3	Oleanolic acid	Triterpenóide
4	Vanilic acid	Ácido fenólico
5	Ursolic acid	Triterpenóide
6	Aucubine	Iridoide
7	Cis-calamene	Sesquiterpeno
8	5-Hydroxy-3,4,7-Trimethoxyflavone	Flavonóide
9	6,9-Guaiadiene	Sesquiterpeno
10	α -Cadinol	Sesquiterpeno
11	3,4-Dihydroxybenzoic acid	Ácido fenólico
12	Caryophyllene oxide	Sesquiterpeno

Tabela 1 – Tabela de possíveis moléculas presentes na folha de Jaramataia

As moléculas que tiveram mais citações, dentre os referenciais teóricos encontrados, foram *cis-calamene*, α -*cadinol*, *6,9-guaiadiene* e *caryophyllene oxide* [63][64][65][66][67]. Nestes trabalhos, o método de extração utilizado foi a hidrodestilação, para extração dos óleos essenciais, e em seguida foram utilizados métodos de cromatografia gasosa para análise. Para as moléculas de *aucubine* e *20-hydroxyecdysone*, o método de extração utilizado foi a infusão metanólica e em seguida cromatografia de coluna [14]. As moléculas *5-hydroxy-3,4,7-trimethoxyflavone*, *ursolic acid*, *oleanolic acid*, *vanilic acid*, *4-hydrobenzoic acid* e *3,4-dihydroxybenzoic acid* foram isoladas da folha através de técnicas de cromatografia e caracterizadas através de ressonância magnética nuclear [68][15].

De acordo com a tabela 1, as moléculas encontradas podem ser classificadas em grupos, são eles: ecdisteróides, ácidos fenólicos, triterpenóides, iridoides, sesquiterpenos e flavonóides.

2.6.1.1 Ecdisteróides

Ecdisteróides são hormônios esteróides naturais que possuem efeitos farmacológicos, principalmente em mamíferos. Eles são encontrados principalmente em artrópodes e em alguns espécies de plantas. Eles desempenham um papel importante no processo de muda de alguns animais e na embriogênese. Para os seres humanos, seus principais efeitos biológicos são: estimula o crescimento, melhora o desempenho físico, afeta a proliferação e diferenciação celular, melhora a síntese de proteína, reduz hipoglicemia e melhora a conversão de colesterol em ácido biliar [69][70].

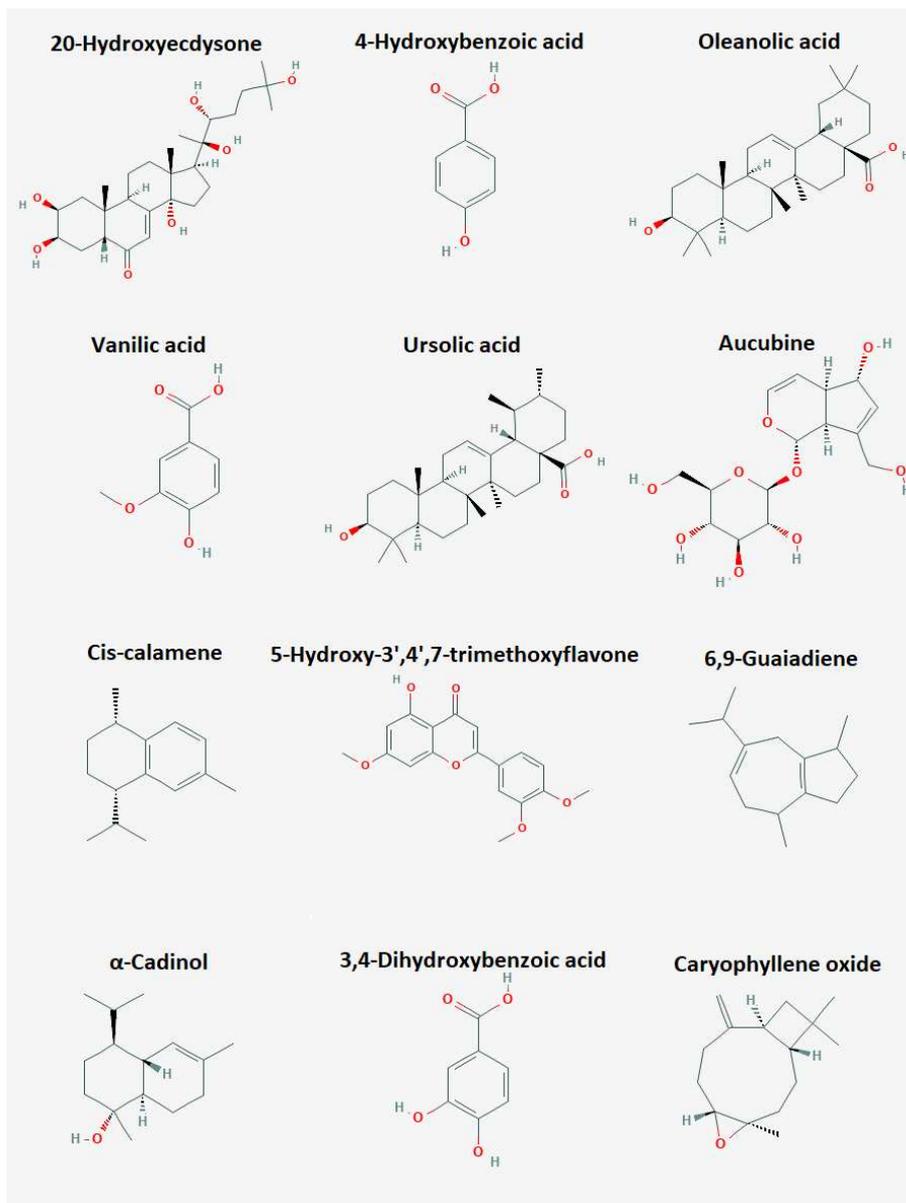


Figura 11 – Estruturas das moléculas. As linhas são as ligações entre carbonos, outros átomos estão explicitados pelas letras que os representam. Imagens retiradas do banco de dados do PubChem.

2.6.1.2 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são uma classe de polifenóis, que são antioxidantes naturais, encontrados principalmente em plantas, vegetais e frutas, e são caracterizados por possuírem um grupo de ácido carboxílico ligado a um ou mais anéis aromáticos. Os ácidos fenólicos apresentam diversas aplicações biológicas, tais como: atua na defesa das plantas, cura e previne doenças como câncer, problemas de coração, entre outros, pela sua atividade antioxidante, combate a diabetes e atua como agente antimicrobiano e antiinflamatório [71][72][73].

2.6.1.3 Triterpenóides

Triterpenóides compõem o grupo mais importante dos terpenóides, devido a sua vasta diversidade de atividades biológicas e sua forte presença principalmente em plantas medicinais, frutas, vegetais, cereais, fungos, e etc. Eles possuem diversas estruturas de acordo com o número de anéis presentes na sua composição. Os triterpenóides desempenham importantes atividades anticancerígenas, bactericida, fungicida, analgésica, espermicida, cardiovascular, moluscicida, antialérgico, antiparasitário, antiinflamatório, antidiabético e antiviral. Devido a sua ampla atuação na área da saúde, nos últimos anos, muitas pesquisas tem sido feitas sobre os triterpenóides [74].

2.6.1.4 Iridoides

Os iridoides são uma classe de monoterpenóides ciclopentanos compostos basicamente por estruturas de carbono, e podem ser encontrados amplamente entre as espécies do reino Plantae. Os iridoides podem ser glicosídeos ou não, dependendo da sua composição. Este tipo de molécula possui um vasto campo de atuação na área biológica, atuando como protetor e restaurador do sistema nervoso, apresenta também efeitos hepatoprotetores, atividades antiinflamatórias, anti-hipoglicêmicas, hipolipemiantes, antitumorais, antioxidante, cardiocerebrovascular, entre outros [75].

2.6.1.5 Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são compostos lipofílicos formados por redes de 15 carbonos, os quais podem estar dispostos de diferentes formas, sejam elas cíclicas, que são a maioria, ou não-cíclicas. Os sesquiterpenos, apesar de não apresentarem resultados tão conclusivos como os polifenóis, por exemplo, possuem diversas atividades biológicas como tratamento de doenças cardiovasculares, prevenção da neurodegeneração, atividade anti-enxaqueca, analgésica, sedativa, além de atividades antitumorais, antiinflamatórias, anticancerígenas, e outros [76][77].

2.6.1.6 Flavonóides

Flavonóides são um grupo de polifenóis, compostos basicamente de um esqueleto de 15 carbonos, dispostos em 2 anéis fenil, chamados de A e B, e 1 anel heterocíclico, C. Os flavonóides são uma importante classe de produtos naturais, e podem ser amplamente encontrados em plantas, frutas, vegetais e certas bebidas. Eles desempenham um importante papel de promotor de saúde, pois possui a capacidade de modular as funções de enzimas celulares, além de apresentar propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antimutagênicas, anticancerígenas, antitrombogênicas e etc [78].

3 Materiais e Métodos

Aqui estão dispostos os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento desta pesquisa.

3.1 Materiais

- Folhas secas de *Vitex Gardneriana* Schauer - Pau dos Ferros (RN)
- Água destilada – CERTBIO
- Etanol – (Toscano, lote: 259)

3.2 Metodologia

3.2.1 Preparação das amostras

Para a realização de medidas no espectrofotômetro UV-Vis é necessário preparar uma solução translúcida contendo a amostra e algum solvente. Com isso, foram produzidas 3 soluções utilizando solventes e métodos de extração diferentes. A preparação das amostras se deu no Laboratório de Espectroscopia Fotoacústica (LPAS) na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

As primeiras medidas foram obtidas para as amostras produzidas através do método de extração de infusão em água em ebulição [79], seguindo a proporção de 20 folhas para 2 litros de água, metodologia bastante semelhante a usada pela população [13]. As folhas foram pesadas numa balança analítica de precisão e, totalizando 5 folhas, foram utilizados 4,000g de amostra, as quais foram depositadas em um recipiente contendo cerca de 500mL de água destilada, e depois aquecida até o ponto de ebulição por cerca de 5 minutos.

O segundo método de extração utilizado foi a maceração das folhas em água destilada, mantidas a temperatura ambiente, cerca de 23°C [79]. Foram utilizadas as mesmas quantidades do método anterior, 500mL de água destilada (solvente) e 4,000g de folhas de Jaramataia. As folhas foram mergulhadas no solvente, em um béquer, e deixadas por um período mínimo de 40 minutos.

A terceira extração foi realizada utilizando novamente o método da maceração, entretanto foi utilizado o etanol como solvente [79]. Foi utilizada a mesma proporção para todas as medidas, 4,000g de folhas para 500mL de etanol. As folhas foram depositadas em um béquer juntamente com o solvente e deixadas por um período mínimo de 30 minutos.

3.2.2 Medidas experimentais

As soluções obtidas após a utilização de cada método de extração foram colocadas em cubeta de quartzo de 10mL e levadas para a realização das medidas no espectrofotômetro Cary 50 Scan UV Visible Spectrophotometer (Varian, Inc., Agilent, Austrália), localizado no Laboratório de Espectroscopia Fotoacústica (LPAS) na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Trata-se de um espectrofotômetro de feixe simples que utiliza uma lâmpada de Xenônio. Para cada solvente utilizado, é realizada inicialmente a medida do solvente puro para a produção do espectro de base que será utilizado para a compensação do espectro da solução, subtraindo o solvente da amostra. Foram obtidos pelo menos 3 espectros de cada amostra através de medidas UV-Vis, com faixa de varredura de 200nm a 800nm, a fim de comparar os espectros obtidos e analisar as semelhanças e diferenças, bem como confirmar a reprodutividade dos espectros.

3.2.3 Métodos computacionais

Foram realizadas simulações do espectro UV-Vis no software GAUSSIAN [17] de cada uma das moléculas encontradas nos referenciais teóricos. Para isso, o modelo 3D de cada molécula foi adquirido através do banco de dados do PubChem [80], então foi feita a otimização geométrica de cada molécula, a fim de encontrar a conformação inicial correta. A otimização foi feita utilizando o método DFT para encontrar a geometria das moléculas no estado fundamental. Esse processo procura ajustar a geometria da molécula até um ponto estacionário onde a superfície de energia potencial é encontrada [81] através do algoritmo de Berny [82] com coordenadas internas redundantes [83]. Logo após a otimização, foi calculado o espectro UV-Vis através do método de TDDFT utilizando os funcionais B3LYP [49][50] e CAMB3LYP [52][54], com a função de base 6-311G [84], que é uma função que combina orbitais gaussianos (G), sendo 6 orbitais para os elétrons do núcleo, 3 orbitais para os elétrons de valência de camadas internas e 2 orbitais diferentes (1 e 1) para os elétrons de valência da camada mais externa [20]. Foram realizados cálculos com os dois funcionais diferentes, B3LYP e CAMB3LYP, para fins de comparação e assim obter uma maior confiabilidade nos resultados.

Foram efetuados alguns tratamentos nos dados referentes aos espectros experimentais e obtidos pelas simulações. Foi realizado o procedimento de smooth, ou suavização, da curva experimental para retirar o ruído existente devido a limitações do espectrofotômetro abaixo de cerca de 230 nanômetros. Após isso, foi executada a normalização [0,1] em todos os espectros, tanto experimentais quanto os espectros calculados. Em seguida, foram feitas diversas tentativas de ajustes dos espectros calculados ao espectro experimental através de combinações lineares das moléculas simuladas com ambos os funcionais. Essas combinações lineares foram realizadas tomando como base os espectros de cada molécula isolada (figuras 16 e 17). Foram executadas todas as tentativas de ajustes possíveis levando em

consideração grupos de três moléculas e de quatro moléculas, alterando uma a uma a fim de encontrar os melhores resultados. A equação utilizada para as combinações lineares foi:

$$R = a.x_1 + b.x_2 + c.x_3 + d.x_4 \quad (3.1)$$

onde R é o resultado do ajuste, x_1 , x_2 , x_3 e x_4 são as variáveis que representam cada molécula calculada, e a , b , c e d são constantes que representam o peso de cada variável no ajuste.

A partir das combinações lineares, foram encontradas moléculas que apresentam maior probabilidade de ocorrência, devido ao perfil do espectro gerado. Para estas moléculas, foram realizadas simulações de FTIR e Raman no GAUSSIAN [17], utilizando o método de DFT com funcional B3LYP, com a finalidade de ajustar os resultados obtidos nas simulações com futuros espectros experimentais de IR e Raman para a Vitex Gardneriana Schauer que venham a ser obtidos.

4 Resultados

Os espectros de absorção obtidos experimentalmente por UV-Vis podem ser encontrados a seguir. Primeiramente, o espectro obtido da amostra de *Vitex Gardneriana* Schauer produzido através do método de extração por infusão, como mostrado na figura 12:

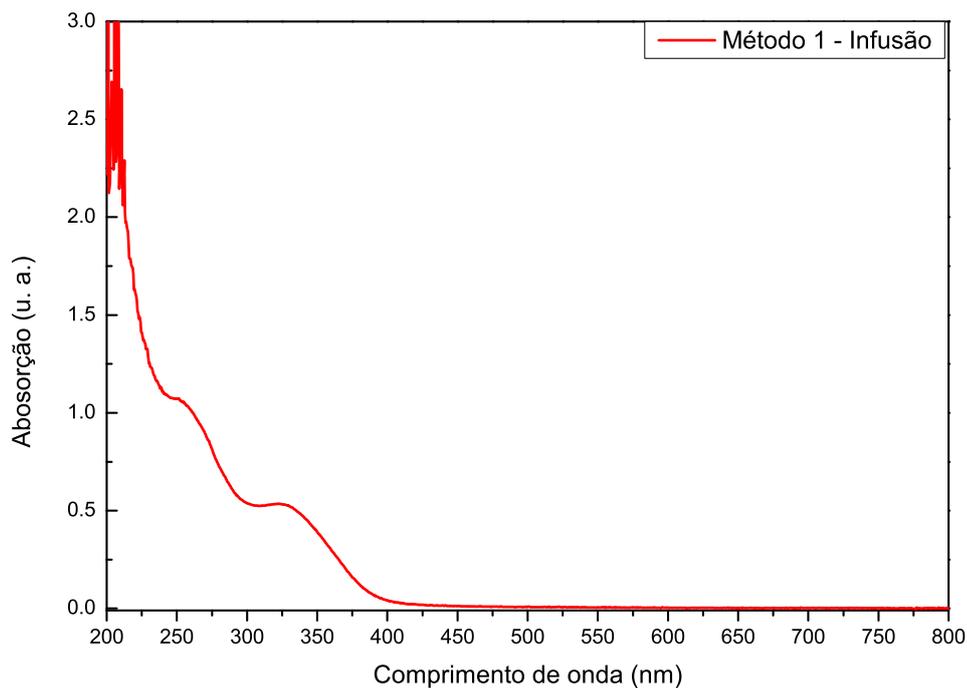


Figura 12 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de *Vitex Gardneriana* Schauer obtido utilizando o método de infusão em água em ebulição. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.

Neste método, observa-se duas bandas de absorção principais, uma centrada por volta de 322nm e a outra centrada por volta de 251nm. É possível também observar a saturação que ocorre entre 200nm e 230nm, a qual se deve a limitações do espectrofotômetro utilizado, que não possui uma boa resolução nesta região. Entretanto, é possível observar que existe uma queda do espectro nas proximidades de 200nm, o que pode indicar que, mesmo nesta região onde o espectro se encontra saturado, pode existir uma banda de absorção. Verifica-se também que acima de cerca de 430nm não há nenhuma informação espectral observada para a amostra com as concentrações utilizadas.

Na figura 13 é possível observar, no espectro obtido utilizando água destilada a temperatura ambiente como solvente, duas bandas de absorção principais centradas em 322nm e 251nm, que são as mesmas bandas encontradas utilizando o método de extração por infusão. Além disso, o mesmo comportamento abaixo de 230nm é visualizado.

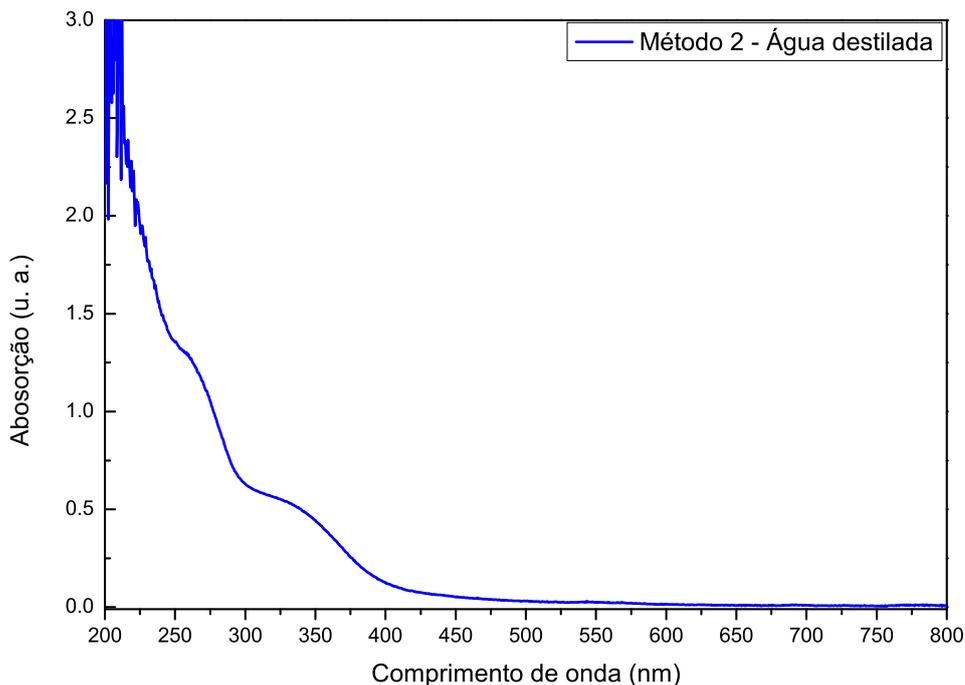


Figura 13 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de *Vitex Gardneriana Schauer* obtido utilizando o método de maceração em água destilada a temperatura ambiente. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.

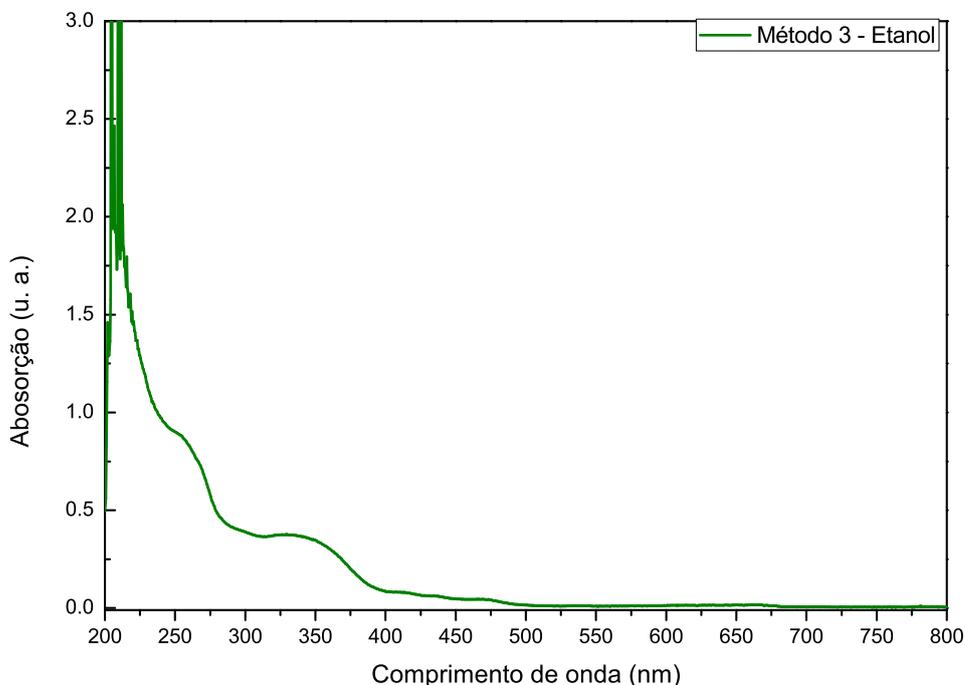


Figura 14 – Espectro UV-Vis, não normalizado, na faixa de 200nm à 800 nm, da folha de *Vitex Gardneriana Schauer* obtido utilizando o método de maceração em etanol a temperatura ambiente. É possível observar que a medida não apresentou absorção significativa entre 400nm e 800nm.

No espectro obtido pela diluição no etanol, figura 14, pode-se observar a presença

de três bandas de absorção, centradas em 333nm, 249nm e 210nm, aproximadamente. A primeira banda, de 333nm, apresenta um desvio de cerca de 10nm em relação aos métodos de extração anteriores. Esse desvio se deve exatamente pela mudança do solvente utilizado [85]. Entretanto, em relação a banda central, em 249nm, o desvio em relação aos outros espectros é praticamente nulo, logo essa banda não sofreu alteração no centro com a mudança do solvente. No que se refere à banda considerada em 210nm, ela se encontra na região de pouca resolução do espectrofotômetro, mas apesar da saturação, é possível notar um comportamento que se assemelha a uma envoltória de uma banda de absorção, à semelhança dos espectros anteriores das figuras 12 e 13, portanto foi considerado aqui.

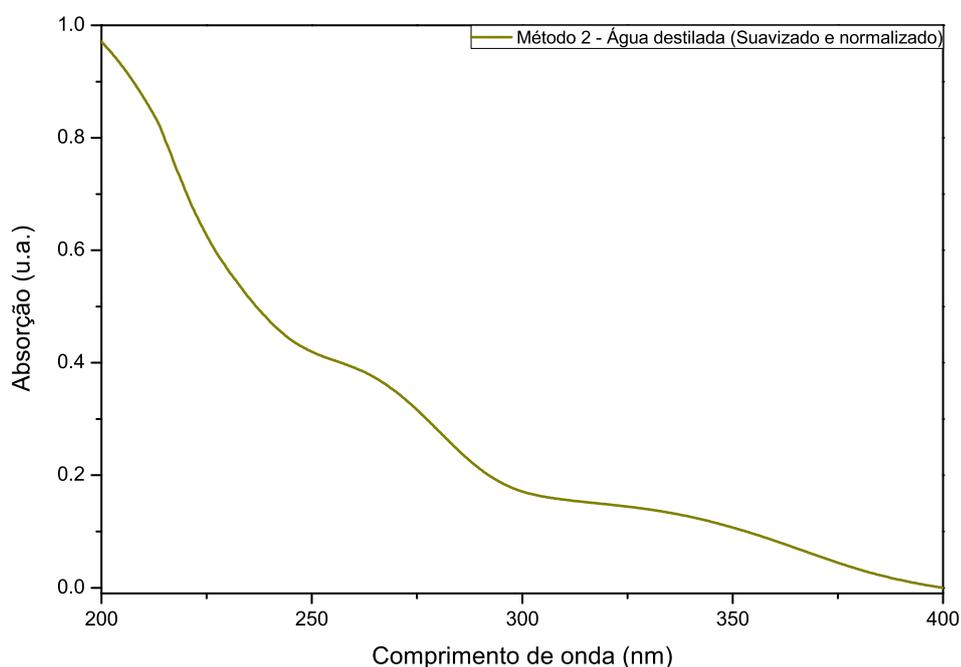


Figura 15 – Espectro experimental UV-Vis normalizado e suavizado da folha de *Vitex Gardneriana* Schauer obtido através do segundo método de extração. O espectro normalizado possui intensidade de 0 a 1 e foi reduzido ao intervalo entre 200nm a 400nm, para utilização nos processos de caracterização e identificação das moléculas.

O resultado apresentado na figura 15 traz o espectro obtido experimentalmente, utilizando o segundo método de extração, maceração em água destilada a temperatura ambiente, já normalizado e suavizado. Este método foi escolhido por ser o mais simples dos três e por conter as mesmas informações espectroscópicas. Este espectro foi o utilizado como base para o ajuste através de combinações lineares com os espectros calculados através das simulações das moléculas. Visto que o espectro experimental só pode ser obtido a partir de 200nm, por limitações presentes no espectrofotômetro e, como é possível observar nas figuras 12, 13 e 14, não existe informação espectroscópica relevante acima de 400nm para essa amostra, por isso resolveu-se utilizar os espectros experimentais e os espectros calculados levando em consideração apenas o intervalo de 200nm à 400nm.

Visando encontrar uma combinação linear dos espectros calculados para cada

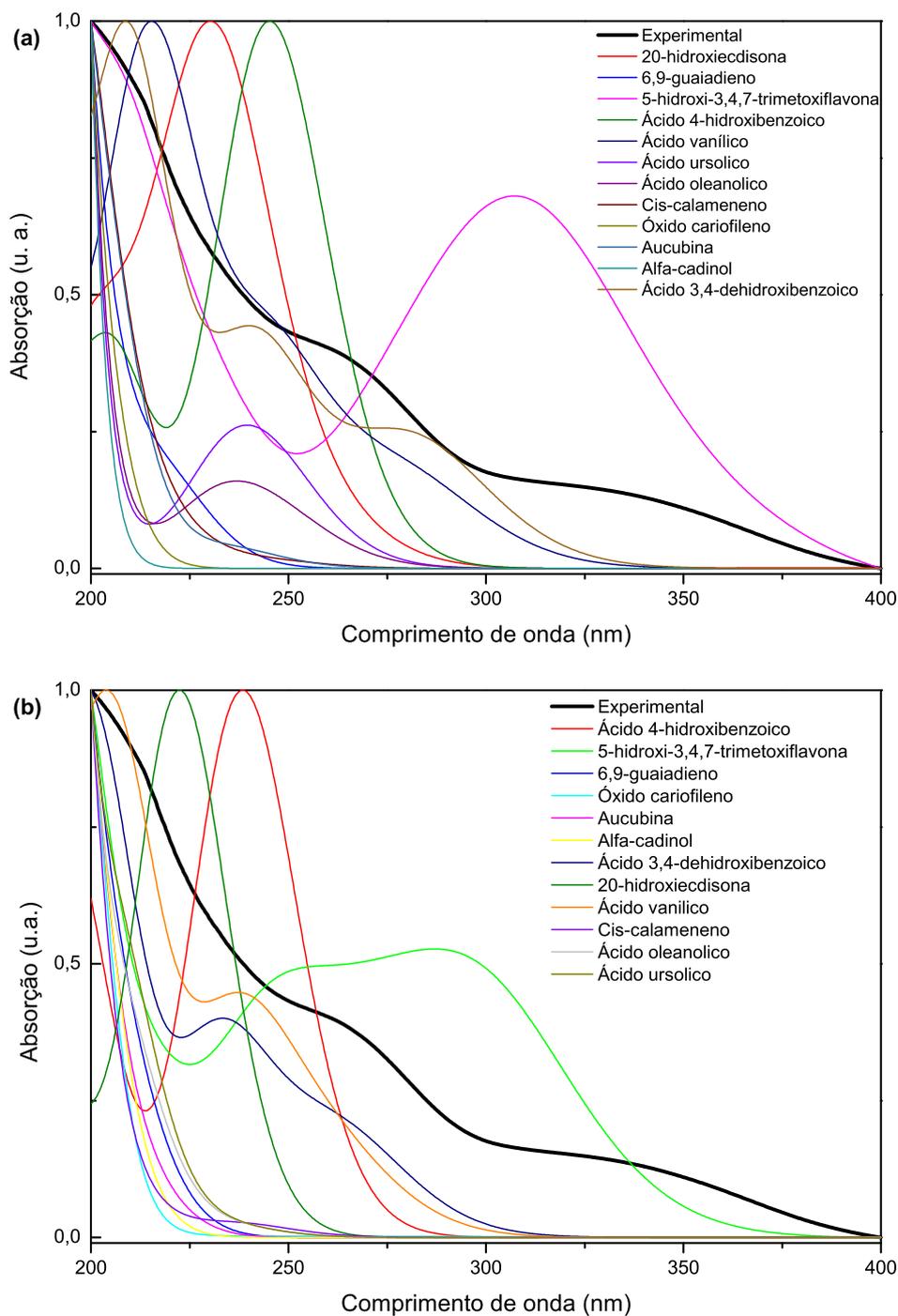


Figura 16 – Gráficos contendo os espectros normalizados obtidos por simulação de todas as moléculas previamente selecionadas usando TDDFT com funcional B3LYP (a) e CAMB3LYP (b), além do espectro obtido experimentalmente por UV-Vis da folha de *Vitex Gardneriana* Schauer usando o método de extração de maceração em água destilada.

molécula, foram feitos dois gráficos contendo os espectros de todas as moléculas. Esses gráficos podem ser observados nas figuras 16 (a) e (b). As moléculas, listadas na tabela 1 e utilizadas nas combinações lineares, foram encontradas nos referenciais teóricos utilizados, e foram escolhidas pelo fato de serem as principais moléculas citadas nestes referenciais. Além disso, os gráficos contém o espectro experimental e as simulações, um usando o

funcional B3LYP e outro com o funcional CAMB3LYP, com a finalidade de comparação e visualização completa do perfil gerado por esses espectros, sendo assim possível uma seleção adequada das moléculas que seriam utilizadas para realizar as combinações lineares.

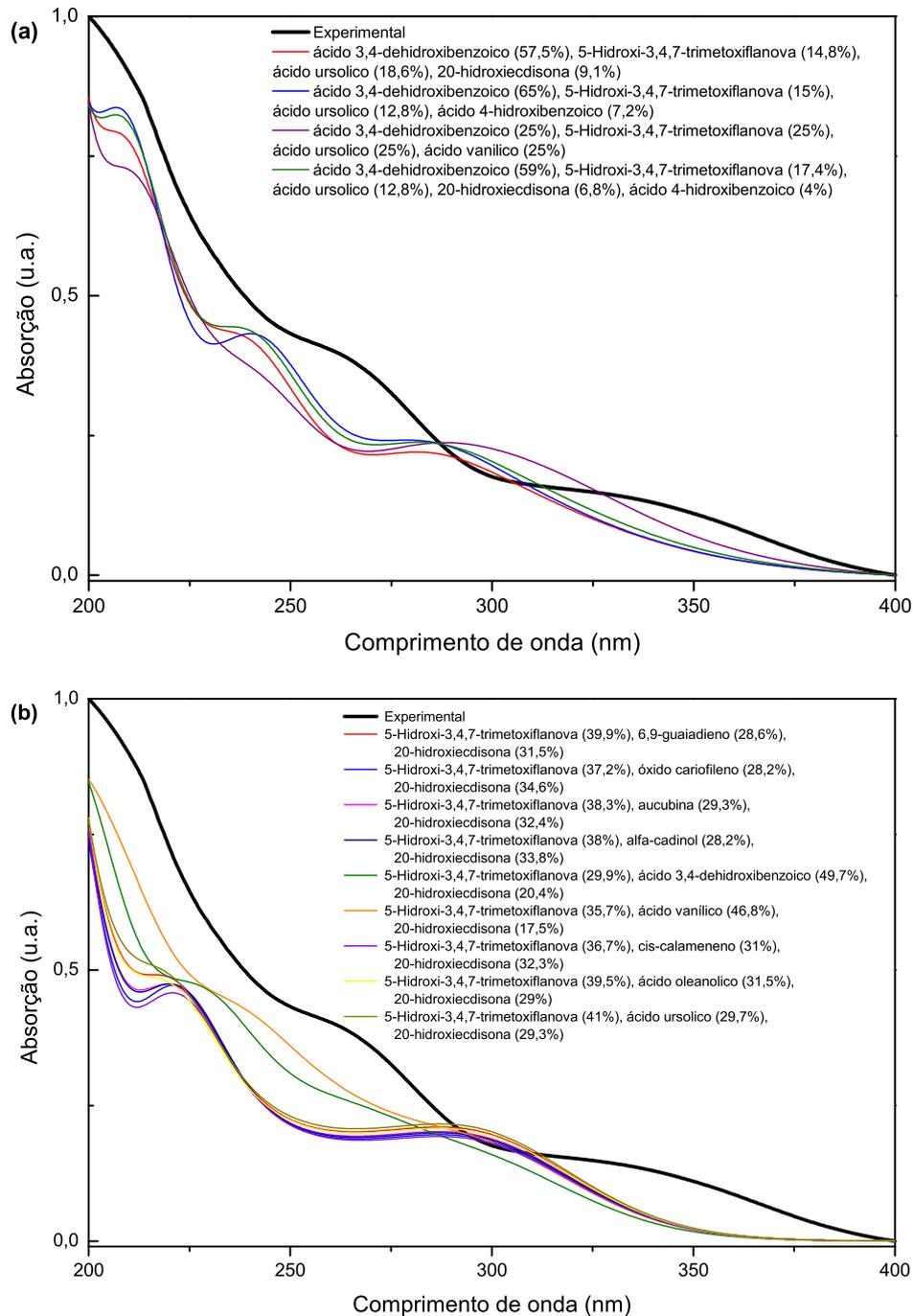


Figura 17 – Comparação entre o espectro experimental UV-Vis da folha de *Vitex Gardneriana Schauer* usando o método de extração de maceração em água destilada, e os ajustes feitos a partir de combinações lineares das simulações das moléculas em destaque utilizando o funcional B3LYP (a) e o CAMB3LYP (b). Ao lado de cada molécula são apresentadas as concentrações de cada uma na combinação linear, em porcentagem, para a formação do espectro correspondente.

Na figura 17 é possível observar as combinações lineares que apresentaram melhor

ajuste com o espectro experimental utilizando as simulações de TDDFT.

Com isso, nos espectros combinados, vê-se que existe um padrão de duas bandas de absorção claras e uma possível banda próximo a 200nm, semelhante ao padrão do espectro experimental. Apesar disso, existe um desvio do espectro das combinações lineares calculadas para a esquerda, em relação ao espectro experimental [85]. Para os ajustes feitos com as simulações usando B3LYP, os desvios são de 13,6eV para a primeira banda (315nm) e 26,3ev para a segunda banda (250nm), já usando CAMB3LYP, os desvios foram de 15,8eV para a primeira banda e 13,2eV para a segunda banda. Isso se dá pelo fato de que, na medida de UV-Vis foi utilizado um solvente polar para diluir a amostra, o que não acontece nas simulações, pois as moléculas foram calculadas sem levar em consideração a interação com o solvente.

Foram realizadas todas as combinações lineares possíveis para grupos de três e de quatro moléculas, sem levar em consideração permutações, e as moléculas que resultaram nessas combinações, para o caso do B3LYP, foram ácido 3,4-dehidroxibenzoico, 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova, ácido ursólico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido vanílico e 20-hidroxiecdisona. Dentre as moléculas citadas, as que apresentam maior contribuição nas combinações para a formação dos espectros ajustados são: ácido 3,4-dehidroxibenzoico, 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova e ácido ursólico, pelo fato de possuírem maior peso nos ajustes realizados.

Para o funcional CAMB3LYP, foram encontrados ajustes envolvendo praticamente todas as moléculas, mas duas delas se repetiram em todas as ocasiões, mostrando que a qualidade dos ajustes dependem principalmente delas. São elas: 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova e 20-hidroxiecdisona. Além disso, em duas combinações é possível observar, na figura 17 (b), um comportamento diferente em relação às outras, isto é, nos espectros de cor laranja, que além de 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova e 20-hidroxiecdisona, possui ácido vanílico, e na cor verde, que possui ácido 3,4-dehidroxibenzoico juntamente com o 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova e 20-hidroxiecdisona. Nestes espectros, estas moléculas diferentes apresentam grande porcentagem de contribuição, o que gera a mudança no aspecto da curva espectral. Desta forma, são moléculas que parecem ter certa prioridade em relação as outras, ou seja, podem apresentar maior probabilidade de serem encontradas na solução extraída, principalmente o ácido 3,4-dehidroxibenzoico. É possível observar também um padrão de duas bandas bem definidas e a formação de uma possível banda nas proximidades de 200nm. E de modo semelhante ao caso do B3LYP, o desvio destas bandas em relação ao espectro experimental se dá, provavelmente, pela presença do solvente, o qual não foi considerado nas simulações [85].

De posse destes resultados, cruzando as informações adquiridas com os dois tipos de ajustes, concluiu-se que as principais moléculas obtidas através do método de extração por maceração em água destilada foram: ácido 3,4-dehidroxibenzoico, 5-Hidroxi-3,4,7-

trimetoxiflanova e 20-hidroxiecdisona.

Pode-se observar as simulações realizadas para essas moléculas nas figuras 18, 19 e 20. Os orbitais ocupados de mais alto nível energético (HOMO) e os orbitais desocupados de nível energético mais baixo (LUMO) são encontrados ao lado das moléculas. Além disso, abaixo de cada figura, encontra-se as tabelas 2, 3 e 4, contendo os valores das principais bandas de absorção calculadas e as transições eletrônicas correspondentes a cada banda para cada uma das moléculas.

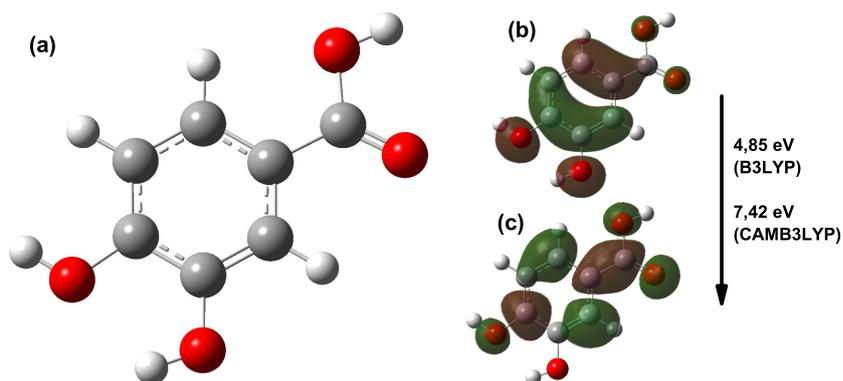


Figura 18 – (a) Simulação da molécula de ácido 3,4-dihidroxi benzoico. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (c) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.

Ácido 3,4-Dihidroxi benzoico

B3LYP		CAMB3LYP	
Banda de absorção	Transições	Banda de absorção	Transições
281,59 nm	39 → 41	263,68 nm	39 → 41
	39 → 42		39 → 43
	40 → 41 (H-L)		40 → 41 (H-L)
	40 → 42		40 → 43
263,23 nm	38 → 41	250,33 nm	38 → 41
	38 → 44		38 → 50
241,29 nm	39 → 41	233,31 nm	39 → 41
	40 → 41 (H-L)		40 → 41 (H-L)
	40 → 42		40 → 43
209,6 nm	39 → 41	223,07 nm	39 → 42
	39 → 42		40 → 42
	39 → 44		40 → 45
	40 → 42		
	40 → 44		
202,74 nm	40 → 43	202,28 nm	39 → 41 40 → 43

Tabela 2 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados do Ácido 3,4-Dihidroxi benzoico, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 39 → Nível 40). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.

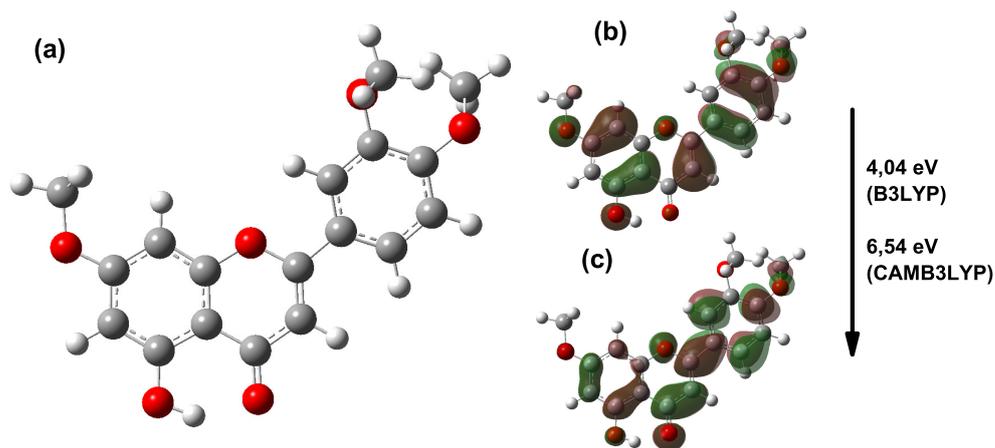


Figura 19 – (a) Simulação da molécula de 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (c) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.

5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova

B3LYP		CAMB3LYP			
Banda de absorção	Transições	Banda de absorção	Transições		
358,80 nm	84 → 87	303,34 nm	84 → 88		
	86 → 87 (H-L)		86 → 87 (H-L)		
332,72 nm	83 → 87	252,90 nm	86 → 88		
	83 → 88		83 → 87		
318,41 nm	85 → 87	240,87 nm	83 → 88		
255,85 nm	80 → 87		84 → 87		
	81 → 87	84 → 89			
248,24 nm	80 → 87	223,33 nm	85 → 89		
	81 → 87		86 → 89		
	84 → 88		81 → 87		
	85 → 88		84 → 88		
	86 → 88		85 → 87		
241,80 nm	86 → 89	202,28 nm	85 → 88		
	83 → 87		86 → 87 (H-L)		
	83 → 88		86 → 88		
	84 → 88		81 → 87		
205,36 nm	85 → 88	202,28 nm	83 → 87		
	82 → 89		84 → 88		
	83 → 89		84 → 89		
	84 → 90		85 → 88		
	201,42 nm		83 → 90	202,28 nm	86 → 87 (H-L)
			83 → 91		86 → 88
			82 → 87		
			82 → 88		
			82 → 89		

Tabela 3 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados da 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 84 → Nível 87). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.

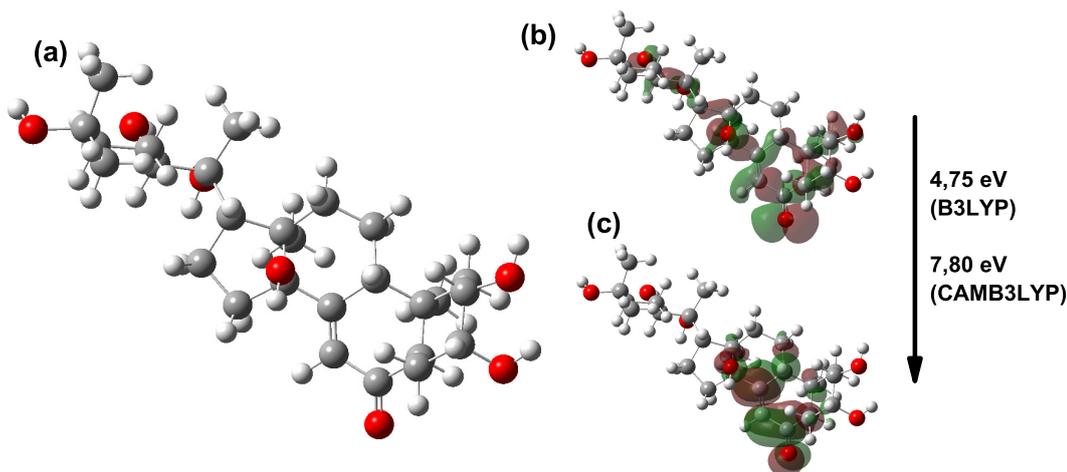


Figura 20 – (a) Simulação da molécula de 20-hidroxicodona. Do lado direito, os orbitais (b) HOMO e (c) LUMO. A energia de transição HOMO-LUMO foi calculada convertendo as energias obtidas na simulação, para cada orbital, de Hartree para eV.

20-hidroxicodona

B3LYP		CAMB3LYP	
Banda de absorção	Transições	Banda de absorção	Transições
379,89 nm	131 → 132 (H-L)	349,26 nm	131 → 132 (H-L)
241,01 nm	124 → 132	222,59 nm	128 → 132
	125 → 132		129 → 132
	126 → 132		130 → 132
221,36 nm	120 → 132	207,65 nm	117 → 132
	121 → 132		124 → 132
	123 → 132		125 → 132
	124 → 132		126 → 132
	125 → 132		127 → 132
	126 → 132		123 → 132
203,48 nm	127 → 132	199,60 nm	124 → 132
	118 → 132		125 → 132
	119 → 132		126 → 132
	120 → 132		127 → 132
	121 → 132		128 → 132
	122 → 132		130 → 132

Tabela 4 – Tabela contendo os valores centrais dos principais estados excitados da 20-hidroxicodona, e as bandas de absorção calculadas para as transições energéticas entre os estados correspondentes (Nível 131 → Nível 132). A tabela contém os dados para os dois funcionais utilizados nos cálculos, B3LYP e CAMB3LYP. A abreviação H-L se refere a transição HOMO-LUMO.

A transição HOMO-LUMO do ácido 3,4-dehidroxibenzoico contribui para a formação das bandas centradas em 281,59nm e 241,29nm com B3LYP, e em 263,68nm e 233,31nm com CAMB3LYP; a transição HOMO-LUMO da 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanona contribui para a formação das bandas centradas em 358,80nm com B3LYP, e em 303,34nm, 240,87nm e 223,33nm com CAMB3LYP; e a transição HOMO-LUMO da 20-hidroxicodona contribui para a banda centrada em 379,89nm com B3LYP, e em 349,26nm com CAMB3LYP.

Além disso, foram realizados cálculos de FTIR e Raman para estas moléculas, e os resultados obtidos podem ser vistos a seguir nas figuras 21, 22, 23, bem como nas tabelas 5, 6 e 7 a seguir.

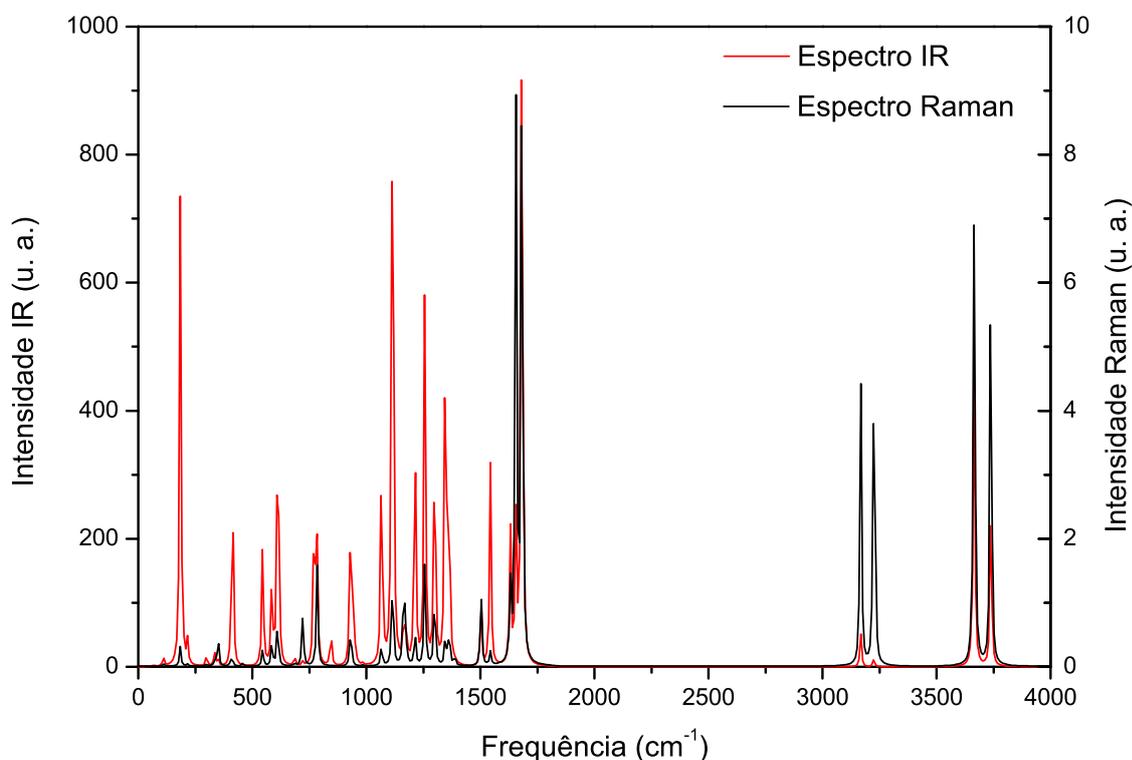


Figura 21 – Simulação de FTIR e Raman, usando DFT com funcional B3LYP da molécula ácido 3,4-dehidroxibenzoico.

Modo	Frequência (cm ⁻¹)	Intensidade		Vibrações principais
		IR (u.a.)	Raman (u.a.)	
4	184,39	4635,16	3,34	O-H
10	413,50	804,98	0,86	O-H
26	1115,22	1285,11	23,60	O-H, C-H, O-H
30	1256,30	527,37	23,20	O-H, C-H, O-H
32	1346,82	518,78	7,70	O-H, C-H, O-H, C-H, O-H
39	1682,11	797,41	170,2	C=O, O-H
40	3167,67	18,72	103,10	C-H (aromático)
41	3222,88	3,14	49,13	C-H (aromático)
42	3227,74	1,53	81,91	C-H (aromático)
43	3662,78	104,24	68,91	O-H
44	3666,51	63,06	166,53	O-H
45	3737,92	83,01	176,67	O-H

Tabela 5 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula ácido 3,4-dehidroxibenzoico. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais picos, com intensidades significativas para compor a tabela.

Foram calculados 45 modos vibracionais para a molécula de ácido 3,4-dehidroxibenzoico. Na tabela 5 estão apresentados apenas os principais picos de FTIR e Raman calculados para esta molécula. Como é possível observar nos espectros presentes na figura 21, existe um grupo de picos de 0cm^{-1} até 1750cm^{-1} , e outro grupo a partir dos 3000cm^{-1} , este segundo conjunto de picos está relacionado as vibrações dos Hidrogênios. Para o IR o pico de maior intensidade foi na frequência de $184,39\text{cm}^{-1}$, correspondente a uma vibração em $O - H$, enquanto para Raman aconteceu em $3737,92\text{cm}^{-1}$, também em uma vibração em $O - H$.

Para a molécula de 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova foram calculados 114 modos vibracionais. Como é possível observar nos espectros presentes na figura 22, existe um grupo de picos de 0cm^{-1} até 1750cm^{-1} , e outro grupo a partir dos 3000cm^{-1} , este segundo diz respeito as vibrações dos Hidrogênios. Para o IR o pico de maior intensidade foi na frequência de $1634,34\text{cm}^{-1}$ e, de modo semelhante, para o Raman o pico de maior intensidade foi em $1634,34\text{cm}^{-1}$, ambos correspondentes a uma vibração em um ligação $C - H$ e em uma ligação $C = C$ de um anel aromático.

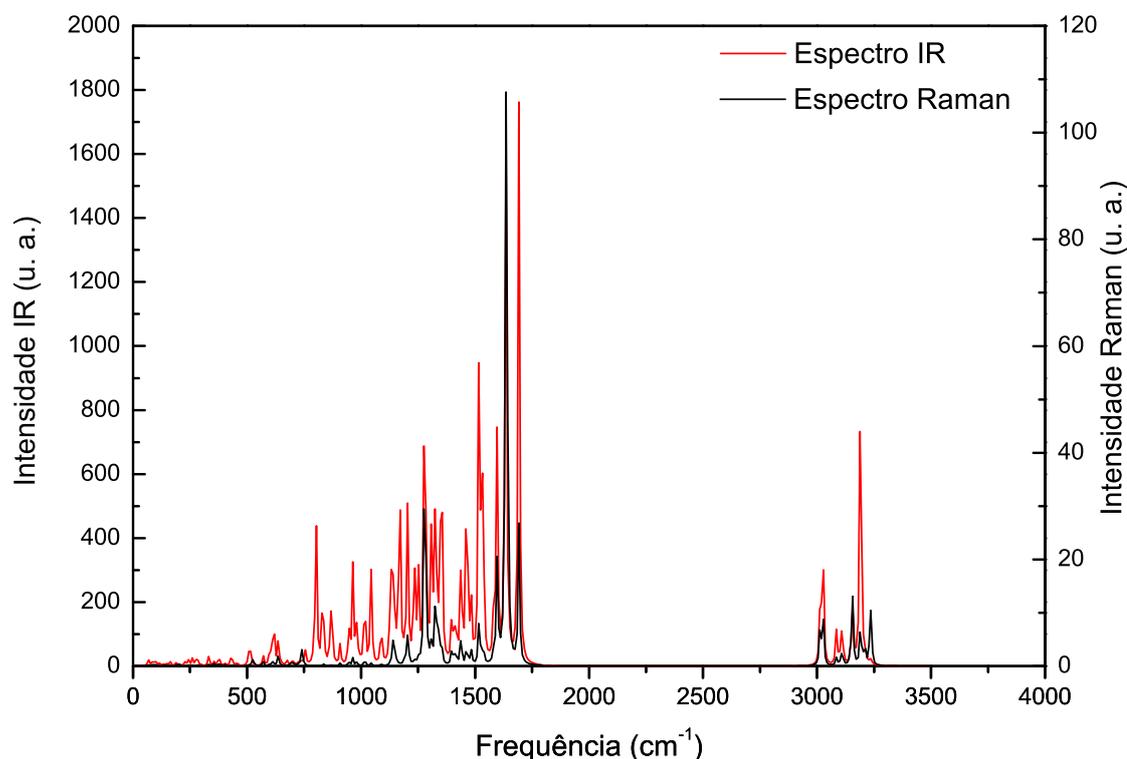


Figura 22 – Simulação de FTIR e Raman usando DFT com funcional B3LYP da molécula 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova.

Na tabela 6 a seguir estão apresentados apenas os principais picos de FTIR e Raman calculados para esta molécula e as vibrações relacionadas a cada pico de absorção.

Modo	Frequência (cm^{-1})	Intensidade		Vibrações principais
		IR (u.a.)	Raman (u.a.)	
45	802,23	742,23	0,86	O-H
72	1279,23	983,61	799,23	C-H, C-H (aromáticos)
77	1352,21	737,61	82,63	C-H (aromático), O-H
87	1517,64	684,58	107,24	C-H (x3), C-H (aromático)
96	1634,34	1252,26	1270,96	C-H, C=C (aromáticos)
98	1692,31	1201,96	477,66	O-H
99	3012,27	53,88	147,51	C-H (x3)
101	3026,65	82,56	188,94	C-H (x3)
106	3155,69	25,38	130,15	C-H (x3)
107	3156,14	24,93	161,72	C-H (x3)
109	3190,81	329,39	204,80	C-H (aromático), O-H
113	3234,70	0,11	175,96	C-H (aromático)

Tabela 6 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanova. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais, com intensidades significativas picos para compor a tabela.

Para a molécula de 20-hidroxiecdisona foram calculados 228 modos vibracionais. Observou-se nos espectros da figura 23, um grupo de picos de 0cm^{-1} até 1750cm^{-1} , e outro grupo a partir dos 2900cm^{-1} , este segundo diz respeito as vibrações dos Hidrogênios.

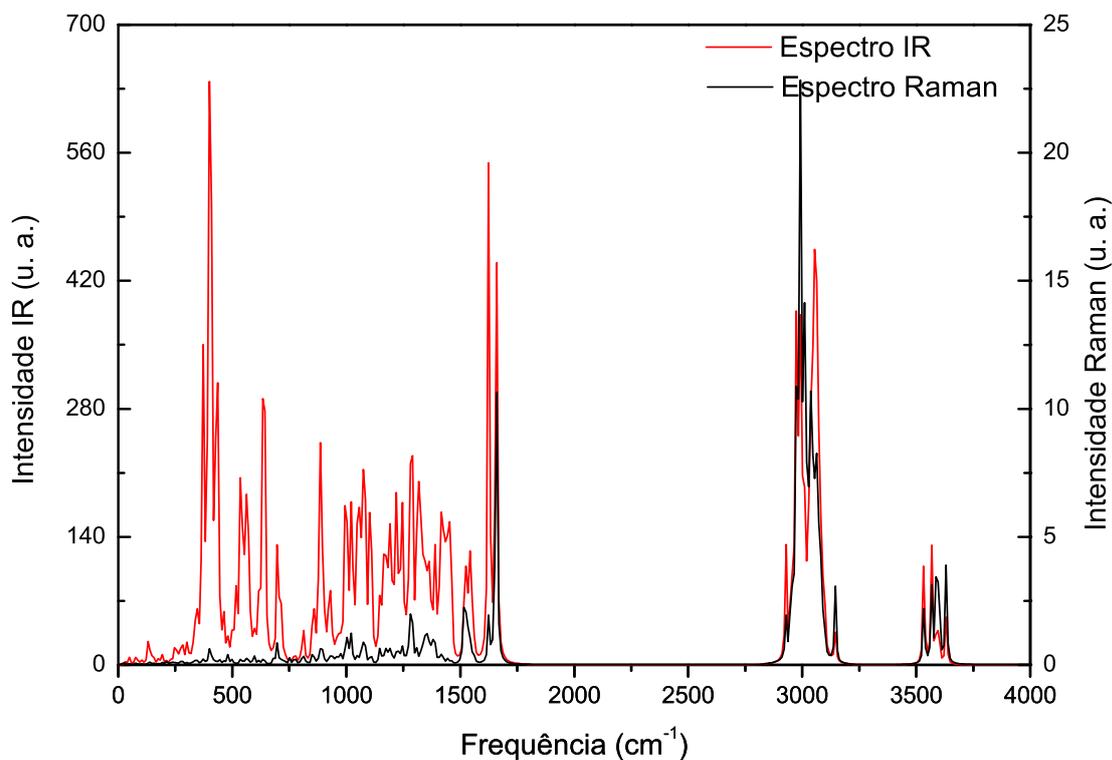


Figura 23 – Simulação de FTIR e Raman usando DFT com funcional B3LYP da molécula 20-hidroxiecdisona.

Para o IR o pico de maior intensidade foi na frequência de $406,80\text{cm}^{-1}$, correspondente a uma vibração em uma ligação $O - H$, enquanto para Raman aconteceu em $3013,63\text{cm}^{-1}$, vibrações em três Hidrogênios ligados a um Carbono. Na tabela 7 estão apresentados apenas os principais picos de FTIR e Raman obtidos através dos cálculos para esta molécula.

Modo	Frequência (cm^{-1})	Intensidade		Vibrações principais
		IR (u.a.)	Raman (u.a.)	
39	371,85	964,34	2,29	O-H
43	398,11	1253,03	0,93	O-H
45	406,80	1377,32	2,22	O-H
49	436,14	601,68	0,44	O-H
59	558,35	478,18	3,82	O-H
65	638,93	964,24	3,31	O-H, O-H
195	2990,17	67,97	226,88	C-H2
196	2993,63	28,44	225,51	C-H (3x)
202	3013,63	21,29	311,95	C-H (3x)
224	3567,78	41,34	83,56	O-H
225	3587,78	8,47	100,59	O-H
228	3631,78	16,67	115,71	O-H

Tabela 7 – Tabela contendo dados da simulação de FTIR e Raman para a molécula 20-hidroxiecdisona. Os dados foram retirados do arquivo de saída do Gaussian e não estão normalizados. Foram selecionados apenas os principais picos, com intensidades significativas para compor a tabela.

5 Conclusões e Perspectivas

O objetivo principal deste trabalho foi a caracterização das biomoléculas da *Vitex Gardneriana Schauer* através da utilização de métodos de extração simples e pouco onerosos aliado a análise através da espectroscopia UV-Vis e cálculos computacionais, principalmente, em TDDFT. Diante disso, dentre os métodos de extração utilizados no trabalho, o escolhido para a produção dos resultados foi a maceração com água destilada, pois foi o método mais simples, em comparação com o da infusão e o de maceração com etanol, e que apresentou dados experimentais satisfatórios. De modo geral, os espectros obtidos pelos três métodos foram semelhantes (figuras 12, 13 e 14), logo a escolha se deu pela simplicidade do método.

Além disso, notou-se a viabilidade de aliar métodos computacionais e experimentais na caracterização das biomoléculas encontradas, pois através da análise dos cálculos e dos dados experimentais, por meio de combinações lineares dos espectros calculados para ajuste da curva experimental, foi possível a identificação de três principais moléculas que contribuem majoritariamente para a formação do espectro obtido experimentalmente. Desta forma, sugere-se que, mediante o método de extração utilizado, as seguintes moléculas foram extraídas: ácido 3,4-dehidroxibenzoico, 5-Hidroxi-3,4,7-trimetoxiflanona e 20-hidroxiecdisona. A identificação destas moléculas principais permite a análise de aspectos importantes relacionados as bandas de absorção através do TDDFT, pois foi possível observar os orbitais HOMO e LUMO de cada uma destas moléculas e assim perceber como essas transições eletrônicas contribuem para a formação do espectro UV-Vis.

Os resultados obtidos se mostraram promissores, pois observou-se que é possível extrair e caracterizar as principais biomoléculas, sensíveis na região UV-Vis, que constituem a folha de *Vitex Gardneriana Schauer*, através de técnicas de extração simples, com solventes e métodos de fácil utilização, e técnicas de análise como a espectroscopia UV-Vis e os cálculos de TDDFT. Visto que não foram encontrados dados de espectroscopia UV-Vis para essa amostra na literatura, essa pesquisa traz uma alternativa para o estudo da *Vitex Gardneriana Schauer* e contribui para o desenvolvimento do conhecimento científico. Serão publicados artigos com os resultados obtidos.

Foram ainda calculados os espectros IR e Raman para cada uma das moléculas identificadas e os dados destas simulações podem vir a ser de grande valia para comparação com futuros experimentos de espectroscopia IR e Raman para a *Vitex Gardneriana Schauer*. Os cálculos e suas previsões de DFT para espectroscopias RAMAN e IR desse conjunto de biomoléculas possibilitarão novos estudos experimentais nessas técnicas e também estudos com Espalhamento Inelástico de Nêutrons.

Referências

- 1 ASTRONOMER. *Frequency*. Disponível em: <<https://en.wikipedia.org/wiki/Frequency>>. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 21.
- 2 OCKERBLOOM, M. M. *DU spectrophotometer*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/DU_spectrophotometer#mw-head>. Citado 3 vezes nas páginas 13, 23 e 24.
- 3 SPECTRONIC, T. Basic uv-vis theory, concepts and applications. *Thermo Spectronic*, p. 1–28, 2012. Citado 6 vezes nas páginas 13, 20, 22, 26, 27 e 28.
- 4 PAOLINI, T. B. *Espectroscopia UV/Visível*. Disponível em: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_UV/visível>. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 29.
- 5 HARRI, L. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 1. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 38.
- 6 Masieri, S. et al. Vertical distribution of lower tropospheric NO₂ derived from diffuse solar radiation measurements: A geometrical retrieval approach. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, v. 52, n. 8, p. 4846–4857, 2014. Citado na página 19.
- 7 ULAGESAN, S.; NAM, T.; CHOI, Y. Biogenic preparation and characterization of pyropia yezoensis silver nanoparticles (p.y agnps) and their antibacterial activity against pseudomonas aeruginosa. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2020. Citado na página 19.
- 8 JEONG, W. et al. Enhancing the conductivity of pedot:pss films for biomedical applications via hydrothermal treatment. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 171, 2021. Citado na página 19.
- 9 BASHIR, S. et al. Biophysical elucidation of fibrillation inhibition by sugar osmolytes in α -lactalbumin: Multispectroscopic and molecular docking approaches. *ACS Omega*, 2020. Citado na página 19.
- 10 VENIL, C. K. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using canthaxanthin from dietzia maris aurccbt01 and their cytotoxic properties against human keratinocyte cell line. *Journal of Applied Microbiology*, 2020. Citado na página 19.
- 11 TIAN, W. et al. Rapid quantification of total phenolics and ferulic acid in whole wheat using uv–vis spectrophotometry. *Food Control*, 2020. Citado na página 19.
- 12 JANUSCHEWSKI, E. et al. Rapid uv/vis spectroscopic dye authentication assay for the determination and classification of reactive dyes, monascus pigments, and natural dyes in coloring foodstuff. *J. Agric. Food Chem.*, 2020. Citado na página 19.
- 13 FLORIOS, D. *Chá de jaramataia: remédio popular que cura câncer. Será?* Disponível em: <https://www.greenme.com.br/remedios-caseiros/4544-cha-de-jaramataia-cura-cancer/#Jaramataia_-_que_planta_e_essa>. Citado 3 vezes nas páginas 19, 38 e 43.

- 14 BARRETO, L. de S. et al. Ecdisteróide e iridóide glicosilado de vitex gardneriana schauer (verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 51–54, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 39.
- 15 MACEDO, I. et al. Structural and microbiological characterization of 5-hydroxy-3,7,4-trimethoxyflavone: A flavonoid isolated from vitex gardneriana schauer leaves. *Microbial Drug Resistance*, Mary Ann Liebert, Inc., v. 25, n. 3, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 39.
- 16 MORAIS, S. M. de et al. Atividades antioxidantes e anticolinesterásicas do extrato das folhas de jaramataia (vitex gardneriana schauer) / antioxidant and anticholinesterase activities of jaramataia (vitex gardneriana schauer) leaf extract. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 5, 2020. Citado na página 19.
- 17 FRISCH, M.; CLEMENTE, F. Gaussian 09, revision a. 01, mj frisch, gw trucks, hb schlegel, ge scuseria, ma robb, jr cheeseman, g. *Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, GA Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, HP Hratchian, AF Izmaylov, J. Bloino, G. Zhe*, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 20, 44 e 45.
- 18 GAUGLITZ, G.; VO-DINH, T. *Handbook of Spectroscopy*. 1. ed. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003. Citado 5 vezes nas páginas 20, 21, 25, 30 e 32.
- 19 NETO, M. et al. Tddft calculations and photoacoustic spectroscopy experiments used to identify phenolic acid functional biomolecules in brazilian tropical fruits in natura. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 193, p. 249–257, 2018. Citado na página 20.
- 20 TOMBERG, A. *GAUSSIAN 09W TUTORIAL AN INTRODUCTION TO COMPUTATIONAL CHEMISTRY USING G09W AND AVOGADRO SOFTWARE*. Tutorial. Accessed: 2020-07-20. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 44.
- 21 ZANATTA, A. R. *Espectroscopia óptica - 2*. 2014. Laboratório avançado de física - IFSC USP. Accessed: 2020-07-22. Citado na página 21.
- 22 SCHMIDT, W. *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*. 1. ed. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. Citado na página 21.
- 23 EISBERG, R.; RESNICK, R. *Física quântica: átomos, moléculas, sólidos, núcleos e partículas*. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier-Campus, 1979. Citado 2 vezes nas páginas 21 e 25.
- 24 BUIE, J. *Evolution of UV-Vis Spectrophotometers*. Disponível em: <<https://www.labmanager.com/laboratory-technology/evolution-of-uv-vis-spectrophotometers-18481>>. Citado na página 23.
- 25 GANGULI, I. *The First Commercial UV-Vis Spectrometer*. Disponível em: <<https://www.the-scientist.com/foundations-old/the-first-commercial-uv-vis-spectrometer-47756>>. Citado na página 23.
- 26 SIMONI, R. D. et al. A classic instrument: The beckman du spectrophotometer and its inventor, arnold o. beckman. *J. Biol. Chem.*, v. 278, n. 49, 2003. Citado na página 23.

- 27 ATKINS, P.; PAULA, J. de; FRIEDMAN, R. *Quanta, matter, and change: a molecular approach to physical chemistry*. 1. ed. Nova Iorque, EUA: W. H. Freeman and Company, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 26.
- 28 SKOOG, D. A.; HOLLER, F.; CROUCH, S. R. *Principles of Instrumental Analysis*. 6. ed. Califórnia: Thomson Higher Education, 2007. Citado 3 vezes nas páginas 24, 29 e 30.
- 29 GRIFFITHS, D. J. *Introduction to quantum mechanics*. 2. ed. Nova Jersey, EUA: Prentice Hall, 1995. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 34.
- 30 BALEHAUSEN, C. J.; GRAY, H. B. *Molecular orbital theory; an introductory lecture note and reprint*. 1. ed. Nova Iorque, EUA: W. A. Benjamin, INC, 1965. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.
- 31 ORCHIN, M. et al. *The Vocabulary and Concepts of Organic Chemistry*. 2. ed. Nova Jersey, EUA: John Wiley & Sons, Inc, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.
- 32 CARNOT, S. *Molecular orbital theory*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_orbital_theory#cite_ref-Tarr_2013_15-1>. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.
- 33 MULLIKEN, R. S. *Spectroscopy, molecular orbitals, and chemical bonding*. 1966. Nobel Lecture. Accessed: 2020-07-20. Citado na página 27.
- 34 OPENSTAX. *Chemistry*. Disponível em: <<http://cnx.org/content/col11760/latest/>>. Citado na página 27.
- 35 DONOSO, J. P. *Espectroscopia eletrônica: moléculas*. 2015. Accessed: 2020-07-22. Citado na página 27.
- 36 WINKLER, R. *Spin-Orbit Coupling Effects in Two-Dimensional Electron and Hole Systems*. 1. ed. Berlim: Springer-Verlag, 2003. Citado na página 28.
- 37 ELPAN. *Spin-orbit interaction*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Spin-orbit_interaction#cite_ref-1>. Citado na página 28.
- 38 COSTA, A. C. *Fontes de luz, detetores e monocromadores*. 2012. Nota experimental 12. Accessed: 2020-07-20. Citado na página 30.
- 39 BENSACCOMB. *Monochromator*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Monochromator#cite_ref-3>. Citado na página 30.
- 40 HSU, C.-P. S. Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry. In: _____. Nova Jersey: Prentice Hall, 1997. cap. 15 - Infrared Spectroscopy. Citado 2 vezes nas páginas 30 e 32.
- 41 STUART, B. Infrared spectroscopy. In: _____. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. American Cancer Society, 2015. p. 1–18. ISBN 9780471238966. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471238961.0914061810151405.a01.pub3>>. Citado na página 31.
- 42 FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K.; BROWN, C. W. *Introductory Raman Spectroscopy*. 2. ed. [S.l.]: Academic Press, 2003. Citado 2 vezes nas páginas 32 e 33.

- 43 ZONG, C. et al. Surface-enhanced raman spectroscopy for bioanalysis: Reliability and challenges. *Chemical Reviews*, v. 118, p. 4946–4980, 2018. Citado na página 32.
- 44 IR spectroscopy. Disponível em: <<https://sisu.ut.ee/heritage-analysis/book/31-ir-spectroscopy>>. Citado na página 33.
- 45 BRETONNET, J. L. Basics of the density functional theory. *AIMS Materials Science*, v. 4, n. 6, 2017. Citado 4 vezes nas páginas 33, 35, 36 e 37.
- 46 ESCHRIG, H. *The Fundamentals of Density Functional Theory (revised and extended version)*. 1. ed. Dresden: Institute for Solid State and Materials Research Dresden and University of Technology Dresden, 2003. Citado 3 vezes nas páginas 33, 35 e 36.
- 47 BASTOS, C. M. O. *Método de Hartree-Fock*. 2015. Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo. Accessed: 2020-09-10. Citado 3 vezes nas páginas 33, 34 e 35.
- 48 RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. Density-functional theory for time-dependent systems. *Phys. Rev. Lett.*, American Physical Society, v. 52, p. 997–1000, Mar 1984. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.52.997>>. Citado na página 36.
- 49 BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical review A*, v. 38, n. 6, 1988. Citado 2 vezes nas páginas 37 e 44.
- 50 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the colic-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical review B*, v. 37, n. 2, 1988. Citado 2 vezes nas páginas 37 e 44.
- 51 PARKER, W. D. *Hybrid functional*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hybrid_functional>. Citado na página 37.
- 52 YANAI, T.; TEW, D. P.; HANDY, N. C. A new hybrid exchange-correlation functional using the coulomb-attenuating method (cam-b3lyp). *Chemical Physics Letters*, v. 393, p. 51–57, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 37 e 44.
- 53 K., H. et al. A long-range-corrected time-dependent density functional theory. *Chemical Physics Letters*, v. 120, n. 18, p. 8425–8433, 2004. Citado na página 37.
- 54 KOBAYASHI, R.; AMOS, R. D. The application of cam-b3lyp to the charge-transfer band problem of the zincbacteriochlorin-bacteriochlorin complex. *Chemical Physics Letters*, v. 420, p. 106–109, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 37 e 44.
- 55 HARLEY et al. *Lamiaceae Genera*. Disponível em: <<http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/genera/lamiaceagen.html>>. Citado na página 37.
- 56 PIRANI; PRADO. *Lamiales*. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/orders/lamialesweb.htm#Lamiaceae>>. Citado na página 37.
- 57 THE Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-213464>>. Citado na página 37.
- 58 OSé, J. *Vitex*. Disponível em: <<https://en.wikipedia.org/wiki/Vitex#mw-head>>. Citado na página 37.

- 59 TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Citado na página 37.
- 60 BARRETO-Sá, L. C. L. et al. Avaliação preliminar da atividade biológica e toxicidade aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 27, n. 6, 2008. Citado na página 38.
- 61 BARRETO, L. C. L. de S. *Estudo farmacognóstico e determinação da atividade biológica de Vitex gardneriana Schauer (Verbenaceae)*. Dissertação (Mestrado) — Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPE, Recife, PE, set. 2004. Citado na página 38.
- 62 PAIXÃO, E. de P. *Vitex gardneriana Schauer: revisão de literatura sobre o uso popular, farmacologia e toxicologia*. 2019. Monografia (Bacharel em Farmácia), UFRN (Universidade Federal do Rio Grande do Norte), Natal, Brazil. Citado na página 38.
- 63 SILVA, P. et al. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer. *South African Journal of Botany*, v. 124, p. 329–332, 2019. Citado na página 39.
- 64 VALE, J. P. C. do et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of *Vitex gardneriana* Schauer leaves's essential oil. *Microbial Pathogenesis*, v. 135, 2019. Citado na página 39.
- 65 PEREIRA, E. et al. Chemical composition, cytotoxicity and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, v. 17, n. 3, p. 302–309, 2018. Citado na página 39.
- 66 PEREIRA, E. et al. Circadian rhythm, and antimicrobial and anticholinesterase activities of essential oils from *Vitex gardneriana*. *Natural Product Communications*, v. 15, n. 5, p. 635–638, 2018. Citado na página 39.
- 67 FILHO, J. G. de S. et al. Volatile metabolomic composition of *Vitex* species: Chemodiversity insights and acaricidal activity. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, n. 1931, 2017. Citado na página 39.
- 68 VALE, J. P. C. do et al. Isolation and antioxidant activity of chemical constituents from *Vitex gardneriana* Schauer. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 6, n. 6, p. 1806–1811, 2017. Citado na página 39.
- 69 ISENMANN, E. et al. Ecdysteroids as non-conventional anabolic agent: performance enhancement by ecdysterone supplementation in humans. *Archives of Toxicology*, v. 93, p. 1807–1816, 2019. Citado na página 39.
- 70 DINAN, L. Ecdysteroid structure-activity relationships. *Studies in Natural Products Chemistry*, v. 29, p. 3–71, 2003. Citado na página 39.
- 71 KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, v. 24, 2019. Citado na página 40.
- 72 SOARES, S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, Revista de Nutrição, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002. Citado na página 40.

- 73 MONTEIRO, L. C. C. F. et al. Atividade antioxidante, teor de fenóis e atividade larvicida frente ao *aedes aegypti* de *vitex gardneriana schauer*. *Blucher Chemistry Proceedings*, Blucher Chemistry Proceedings, v. 3, n. 1, 2015. Citado na página 40.
- 74 RASCÓN-VALENZUELA, L. A. et al. Triterpenoids: synthesis, uses in cancer treatment and other biological activities. *Advances in Medicine and Biology*, v. 106, 2017. Citado na página 41.
- 75 WANG, C. et al. Iridoids: Research advances in their phytochemistry, biological activities, and pharmacokinetics. *Molecules*, v. 25, n. 287, 2020. Citado na página 41.
- 76 CHADWICK, M. et al. Sesquiterpenoids lactones: Benefits to plants and people. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 14, 2013. Citado na página 41.
- 77 LEEPER, F. J.; VEDERAS, J. C. *Biosynthesis: Aromatic Polyketides, Isoprenoids, Alkaloids*. 1. ed. Nova Iorque: Springer-Verlag, 2000. Citado na página 41.
- 78 PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, v. 5, n. 47, p. 1–15, 2016. Citado na página 41.
- 79 UETA, B. M.; SANTANA, L. O.; OLIVEIRA, A. C. Análise comparativa entre métodos de extração da tintura-mãe de camomila 10% (*matricaria chamomilla*). *III SIMPÓSIO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA*, 2015. Citado na página 43.
- 80 KIM, S. et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research*, v. 49, n. D1, p. D1388–D1395, 11 2020. ISSN 0305-1048. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>>. Citado na página 44.
- 81 OPTIMIZATION. Disponível em: <<https://gaussian.com/opt/>>. Citado na página 44.
- 82 LI, X.; FRISCH, M. J. Energy-represented diis within a hybrid geometry optimization method. *J. Chem. Theory and Comput.*, 2006. Citado na página 44.
- 83 PULAY, P.; FOGARASI, G. Geometry optimization in redundant internal coordinates. *J. Chem. Phys.*, 1992. Citado na página 44.
- 84 ANTUNES, J. A. et al. Characterization of zinc complex with 4-[(1E)-(2-Hydroxyphenyl) methylidene]amino-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-3h-pyrazol-3-one by ft-ir and ft-raman spectroscopies and dft calculations. *Journal of Molecular Structure*, 2019. Citado na página 44.
- 85 MATYUSHOV, D. V.; NEWTON, M. D. Solvent-induced shift of spectral lines in polar–polarizable solvents. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 49 e 52.