

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

Edmilson Tadeu Martins

“Espectroscopia Raman na biomolécula de cisteína”

São José dos Campos, SP
2007

Edmilson Tadeu Martins

“Espectroscopia Raman na biomolécula de cisteína”

Dissertação apresentada no programa de Pós-Graduação em Física e Astronomia, como complementação dos créditos necessários para a obtenção do título de Mestre em Física e Astronomia.

Orientador: Prof^o Dr. Herculano da Silva
Martinho

São José dos Campos
2007

S696e

Martins, Edmilson Tadeu

Espectroscopia Raman na biomolécula de cisteína/ Edmilson Tadeu Martins.
São José dos Campos: UniVap, 2007.

1 Disco laser.: color


Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Física e Astronomia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento-Universidade do Vale do Paraíba, 2007.

1. Raman, espectroscopia de 2. Cisteína 3. Física I. Martinho, Herculano da Silva, Orient II. Título.

CDU: 53

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação por processos fotocopiadores ou por transmissão eletrônica.

Aluno:



Data:

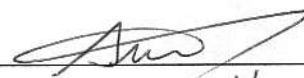
22/06/07

“ESPECTROSCOPIA RAMAN NA BIOMOLÉCULA DE CISTEINA”

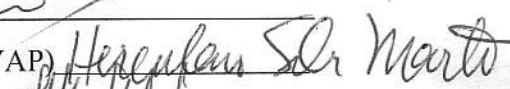
Edmilson Tadeu Martins

Banca Examinadora:

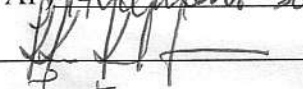
Prof. Dr. **AIRTON A. MARTIN** (UNIVAP)



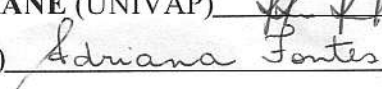
Prof. Dr. **HERCULANO DA SILVA MARTINHO** (UNIVAP)



Prof^ª. Dra. **KUMIKO KOIBUCHI SAKANE** (UNIVAP)



Prof^ª. Dra. **ADRIANA FONTES** (UFPE)



Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor do IP&D – UniVap

Dedico este trabalho a meus pais, Donozor
Martins Junqueira (*in memóriam*) e Alice
Jacobelles Martins que não pouparam esforços
para que pudesse estudar.

Minha esposa Lucia Helena que me apoiou a
cada momento e minha filha Nayla Ingrid que é
a minha luz.

Agradecimentos

Secretaria da Educação do Estado de São Paulo pelo projeto “Bolsa Mestrado” pela qual foi possível efetuar este trabalho.

Ao Reitor da Universidade do Vale Paraíba, Prof^o Dr. Baptista Gargione Filho.

Ao meu orientador, Prof^o Dr. Herculano da Silva Martinho pela dedicação e paciência durante o desenvolvimento do projeto.

Ao *Prof. Dr. Eduardo Granado* – GPOMS/IFGW/UNICAMP que gentilmente cedeu o uso do espectrômetro, laser e criostato para a elaboração deste experimento.

Aos meus amigos do LEVB e IP&D pela alegria nos momentos de ansiedade, pelo carinho, pelo apoio, pela troca de experiências e companheirismo.

Às Secretarias do IP&D, sempre atenciosas e prestativas.

“Posso pegar o meu telescópio e ver quilômetros de distância no espaço; mas também posso pôr o meu telescópio de lado, ir para o meu quarto, fechar a porta e, em oração fervorosa, consigo ver mais do Céu e me aproximar mais de DEUS do que quando estou equipado com todos os telescópios e instrumentos do mundo”.

ISAAC NEWTON

Nota

Esta dissertação apresenta-se dentro das normas explicitadas pelo Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - IP&D – UNIVAP, para obtenção do título de mestre em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Física e Astronomia. Para aproximar as expressões técnicas às normas lexicográficas, o texto foi adequado segundo os seguintes dicionários:

- GARCIA, H.; Nascente, A. **Dicionário Contemporâneo de língua Portuguesa Caldas Aulete**. 5. ed. Rio de Janeiro, Editora Delta. 1987.
- FERREIRA, Aurélio Buarque de Holanda **Mini Dicionário Aurélio Século XXI**, 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira. 200.
- Para as referências bibliográficas, foram adaptadas e simplificadas as normas da Associação Brasileira de Normas e técnicas, ABNT-NRB 06023/2000.

“Espectroscopia Raman na biomolécula de cisteína”

Resumo

A espectroscopia Raman tem sido usada com muito sucesso no estudo de novos materiais. Além disso, por ser uma técnica interdisciplinar, tem aplicação direta em várias áreas do conhecimento, como bioquímica, biologia, farmacologia e recentemente, diagnóstico precoce de doenças. Neste trabalho, aplicamos esta técnica ao estudo dos modos vibracionais do aminoácido L-cisteína em sua estrutura monoclinica. Estudando a evolução com a temperatura dos modos vibracionais entre 500 – 1020 cm^{-1} fomos capazes de distinguir três grupos de modos vibracionais de acordo com o comportamento de sua frequência: (i) os modos de “stretching” do CS e “rocking” do CH_2 apresentaram um amolecimento incomum acima de 50 K; (ii) os modos “rocking” do CO_2 e do NH_3 apresentaram um amolecimento incomum entre 50 – 200 K, com recomposição do comportamento esperado acima de 200 K e (iii) os modos “bending” do CCN e do SH bem como o modo “stretching” do CC e os outros modos do CO_2 apresentaram o comportamento esperado devido à expansão térmica. A ocorrência destes diferentes regimes de comportamento está de acordo com o que foi relatado na literatura para biomoléculas maiores (lisozima, mioglobina, etc), porém sem uma interpretação conclusiva a respeito da origem deste comportamento. Nossos resultados possibilitaram uma interpretação simples destas transições como ocorrendo em função da dinâmica de quebra e recomposição das pontes de hidrogênio do sistema. Abaixo de 50 K a biomolécula apresenta-se com sua estrutura monoclinica estável, entre 50-200 K há o processo de rompimento das pontes de hidrogênio que estabilizam a estrutura e acima de 200 K estas pontes são recompostas por moléculas de água adsorvidas no meio intermolecular. Esta interpretação contrasta com outras suposições da literatura que se baseiam em efeitos mais complexos, como transições quânticas dinâmicas, para explicar este fenômeno.

Palavras-chave: Espectroscopia Raman, cisteína, biomoléculas, aminoácidos.

Raman spectroscopy in the cysteine biomolecule

Abstract

Raman spectroscopy had been used in the novel materials study with great success. Moreover, due to its interdisciplinary character, it has direct application in several fields of knowledge as biochemistry, biology, pharmacology, and recently, precocious diagnosis of diseases. In this work we applied this technique to study the vibrational modes of L-cysteine aminoacid in their monoclinic structure. By studying the temperature evolution of the vibrational modes between 500 – 1020 cm^{-1} we were able to distinguish three groups of vibrational modes according to the behavior of their frequency: (i) the CS stretching and CH₂ rocking modes presented an anomalous softening above 50 K; (ii) the CO₂ and NH₃ rocking modes presented an anomalous softening between 50 and 200 K, restoring their expected behavior above 200 K; (iii) the bending modes of CCN and SH as well as the CC stretching and other CO₂ modes presented the expected behavior due to thermal expansion. The occurrence of these different regimes of behavior agrees with what is reported in the literature for greater biomolecules (lysozyme, myoglobin, etc). However, there is a lack concerning the interpretation of this observed behavior. Our results enabled a simple interpretation for the occurrence of these transitions as a function of the breaking and recovering of the hydrogen bridges of the system. Below 50 K the biomolecules had a stable monoclinic structure. Between 50-200 K there is the breaking and recovering of the hydrogen bridges. These bridges stabilize the structure. Above 200 K water molecules adsorbed in the intermolecular medium recover the bridges. This interpretation contrasts with other ones in the literature based on more complex effects, as quantum dynamical transitions, to explain the phenomena.

Key words: Raman spectroscopy, cysteine, biomolecules, aminoacids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Espalhamento elástico (Rayleigh) (a) e espalhamento Raman Stokes (b) e Anti-Stokes (c).....	24
Figura 2. Diagrama mostrando o mecanismo de espalhamento Raman.	25
Figura 3. Forma de íon dipolar (zwitterion) da molécula de L-cisteína.....	36
Figura 4. A célula unitária e o empacotamento cristalino visto ao longo de <i>b</i>	38
Figura 5. Esquema do experimento de espectroscopia Raman.	40
Figura 6. Montagem experimental.	40
Figura 7. Criostato óptico DISPLEX.	41
Figura 8. Amostras montadas no criostato.	41
Figura 9. Espectro Raman da amostra de L-Cisteína a 300 K.....	44
Figura 10. Espectro Raman da amostra diluída comparada com a amostra compactada.	46
Figura 11. Espectro Raman na região de 330 cm^{-1} até 600 cm^{-1}	48
Figura 12. Espectro Raman na região de 735 cm^{-1} até 1040 cm^{-1}	49
Figura 13. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína ...	52
Figura 14. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína ...	53
Figura 15. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína. ..	54
Figura 16. Comportamento da largura de linha com a temperatura.	56
Figura 17. Comportamento da largura de linha com a temperatura.	57
Figura 18. Comportamento da largura de linha com a temperatura.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores calculados e experimentais dos modos vibracionais da L-Cisteína.	45
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

L-Cys(A)	Forma de íon dipolar da L-cisteína
L-Cys(B)	Forma de íon dipolar da L-cisteína
T _D	Temperatura de transição dinâmica
BRCA1	Gene supressor do câncer
BRCA2	Gene supressor do câncer
p53	Gene supressor do câncer
FT-IR	Fourier Transform Infrared

SUMÁRIO

1 Introdução	15
2 OBJETIVO	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Espectroscopia Raman.....	23
3.1.1 Visão semiclássica do Efeito Raman.....	24
3.1.2 Visão quântica do Efeito Raman	27
3.1.3 Classificação dos Processos Raman	29
3.1.4 Regras de Seleção	31
3.1.5 Limites da aproximação harmônica: efeitos de anarmonicidade na frequência e largura de linha dos fônons	32
3.2 Cisteína	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Espectroscopia Raman	39
4.2 Amostra	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÕES	59
BIBLIOGRAFIA	

1 Introdução

A espectroscopia Raman tem sido usada com muito sucesso no estudo de novos materiais. As excitações mais diversas como fônons, polarons, magnons, orbitons, gap supercondutor, campo cristalino, ondas de densidade de carga e flutuações de spin, dentre outras, são sondadas por espectroscopia Raman e fornecem informações relevantes para a compreensão dos mecanismos físico-químicos envolvidos em sistemas de forte correlação eletrônica de interesse atual, tais como supercondutores (MARTINHO, 2003), óxidos com magneto resistência colossal, (GARCIA-FLORES, 2006) semicondutores, (TSEN, 2006), nanotubos de carbono, (JIANG, 2005) dentre outros.

Além disso, por ser uma técnica interdisciplinar, tem aplicação direta em várias áreas do conhecimento, como bioquímica, biologia, farmacologia e recentemente, no diagnóstico precoce de doenças (HANLON, 2000). Em particular, devido a sua versatilidade, pode ser aplicada com sucesso ao estudo de propriedades físico-químicas de biomoléculas, principalmente de suas propriedades eletrônicas e ópticas.

Vários trabalhos (ROH, 2005; BJARNE, 1992) têm mostrado a importância de se estudar o espectro vibracional em baixas energias de proteínas e outras biomoléculas no sentido de se entender o papel da anarmonicidade e a sua atividade bioquímica, pois a mesma possui forte influência das vibrações moleculares.

O estudo experimental e teórico a respeito das propriedades físicas e químicas de biomoléculas tem sido motivado recentemente pela busca de inter-relações entre flutuações/excitações e atividade bioquímica. Na realidade, sistemas biológicos tendem a apresentar níveis de flutuações maiores do que sistemas típicos em física e química, visto que as flutuações dependem da raiz quadrada do número de moléculas envolvidas. As escalas de

tamanhos tão especiais encontradas na biologia tendem a gerar sistemas flutuantes únicos. Nestes sistemas, flutuações e, por conseguinte, excitações, são partes intrínsecas da atividade biomolecular e compreendê-las é de vital importância.

Em particular, os modos vibracionais são ingredientes muito importantes para as biomoléculas. Em todas elas, há uma grande variedade de modos vibracionais, incluindo fônons e excitações coletivas de baixa energia.(KURKAL-SIEBERT, 2006) Têm-se demonstrado que estas excitações de baixa energia têm papel importante nas funções biológicas das biomoléculas, participando no ativamento dos arranjos conformacionais entre os diferentes estados funcionais (ligações a enzimas, degradação, catálise, etc.) e no balanço energético das energias de ligação.(FRAUENFELDER, 1991; FRAUENFELDER, 1988; BALOG, 2004) Além disso, tem-se demonstrado que o limiar do movimento anarmônico observado em muitas biomoléculas hidratadas que ocorre a uma temperatura de transição dinâmica $T_D \sim 200-230$ K pode estar correlacionado ao limiar da atividade bioquímica (ROH, 2005; PARAK, 1984; DOSTER, 1989).

Outra informação de óbvia relevância no estudo de biomoléculas consiste na compreensão de como ligantes se unem às biomoléculas. A associação biomolécula-ligante tem sido assumida como sendo dominada por fatores como efeito hidrofóbico, ligações de hidrogênio, eletrostática e interações de Van der Waals. Todavia, tem-se sugerido que algum mecanismo adicional deve existir, devido ao aumento da flexibilidade do complexo biomolécula-ligante manifestado pelas variações observadas no espectro vibracional devido à formação de novas ligações intermoleculares.(BALOG, 2004) Modelos teóricos usados para estimar essas contribuições vibracionais (TIDOR, 1994; FISCHER, 2001; LEE, 2006; JALKANEM, 2005; WATSON, 2005; SADLEJ, 2006) tem sugerido que elas devem ser termodinamicamente relevantes. Porém, a determinação experimental destas alterações não é de fácil execução e existem poucos dados a esse respeito na literatura. Uma possibilidade seria estudar a evolução

com a temperatura do espectro de fônons das biomoléculas. Essa problemática é, em alguns aspectos, semelhante ao que ocorre em sistemas “glassy”, que compartilham muitas propriedades físico-químicas com biomoléculas, tais como processos de relaxação peculiares e a ocorrência de transições dinâmicas reveladas pela dependência com a temperatura dos deslocamentos médios quadráticos dos átomos. (CILIBERI, 2006; PIAZZA, 2005; ROH, 2005).

Outra característica importante observada na dependência com a temperatura de muitas biomoléculas hidratadas é a existência de uma temperatura de transição dinâmica em $T_D \sim 200\text{-}230$ K que corresponde ao início de um regime anarmônico da rede, como já comentado. Coincidentemente, esta temperatura também corresponde ao início de sua atividade bioquímica (PARAK, 1984; DOSTER, 1989; OSTERMAN, 2000). Isto sugere algum tipo de correlação entre anarmonicidade e atividade bioquímica (ROH, 2005). Estes estudos necessitam ser complementados e ampliados a fim de buscar um entendimento mais claro e específico a respeito das correlações entre anarmonicidade e propriedades bioquímicas. A atividade bioquímica também está relacionada ao nível de hidratação, e se têm sugerido que este parâmetro também influencia a dinâmica das proteínas, principalmente, os modos de baixa energia.(ROH, 2005; JOTI, 2005) Além da transição em T_D , observa-se uma outra transição em torno de 100 K. A natureza microscópica desta transição ainda é uma questão em aberto. As possibilidades discutidas na literatura incluem efeitos quânticos perto da vibração de ponto zero (CORDONE, 1999), rotações do grupo metil (FRICK, 1994), a rotações do grupo metil relacionadas a anarmonicidade em baixas temperaturas. (ROH, 2005).

Dentro de espectro de excitações de baixa energia das biomoléculas, há uma outra excitação em especial que não possui seu caráter plenamente compreendido até o momento. Trata-se do pico de bóson observado entre $50\text{-}100$ cm^{-1} .(JOTI, 2005) O pico de bóson é observado em muitos materiais vítreos,(GRIGERA, 2003) polímeros, (FRICK, 1995) e

macromoléculas biológicas (CUSAK, 1990; DIEHL, 1997; KATAOKA, 1999) abaixo de 200 K. Ele é caracterizado por um excesso na densidade de estados espectral quando comparado à lei de frequência de Debye, $g(\omega) \sim \omega^2$. As sugestões a respeito de sua origem incluem oscilações tipo sanfona das α -hélices e folhas β , [CHOU, 1986] vibração estendida sobre toda a estrutura, (KATAOKA, 1999) ou grande aumento no número de mínimos locais no cenário energético da biomolécula devido a efeitos de hidratação (JOTI, 2005), o que não é o caso dos aminoácidos. Curiosamente, o desaparecimento deste pico coincide com a transição dinâmica em T_D , que representa o limiar de anarmonicidade do sistema, indicando que o pico de bóson também deve ter alguma correlação com atividade bioquímica das biomoléculas.

Dentro do universo das biomoléculas, o estudo das propriedades físicas da molécula do ácido desoxirribonucléico (DNA) tem atraído interesse especial recentemente, tanto por motivações relacionadas ao entendimento de problemas biológicos, tais como mutações gênicas, mecanismos tumorais, clonagem, mecanismos de reparo genético, bem como possíveis aplicações tecnológicas em eletrônica molecular. Em relação a este último, desde a elucidação da estrutura do DNA, reconheceu-se a possibilidade desta molécula ser condutora (ENDRES, 2004). Em nanotecnologia as aplicações do DNA são muito promissoras, visto que se trata do melhor nanofio conhecido, que se auto-replica e constrói, adotando vários estados e conformações, sendo suas propriedades mais facilmente controláveis do que as dos nanotubos de carbono, por exemplo, (BHALLA, 2003). De fato, o primeiro transistor de efeito de campo baseado no DNA já foi construído. (YOO, 2001).

Um problema biológico onde o DNA desempenha papel primordial é o entendimento da carcinogênese. Comparativamente, há grandes diferenças entre os crescimentos de células

normais e células tumorais. As células normais crescem e se espalham dispostas numa simples camada de células. As células tumorais crescem desordenadamente em agrupamentos. É importante considerar que ao contrário das células normais, as células malignas não respondem aos sinais de regulação para cessar o crescimento e a divisão celular e, assim, se acumulam e transforma-se em tumores. Em muitos tipos de neoplasias a susceptibilidade genética aliada à idade e ainda, a fatores ambientais é elementos preponderantes para o aparecimento de tumores. O câncer de mama, por exemplo, é uma doença complexa cuja causa parece ser multifatorial. Em especial dois genes supressores de tumor o BRCA1 (MIKI, 1994) e o BRCA2 (WOOSTER, 1995) quando mutados implicam em um risco de 80% de desenvolver o câncer de mama e de 40% para o de ovário. Muitos outros genes também estão envolvidos na indução de tumores, como o p53 e diversos fatores de crescimento. Assim sendo, uma causa importante para o aparecimento do câncer é a inabilidade do DNA reparar mutações específicas em genes como o BRCA1, BRCA2 e p53, dentre outros. Sabe-se ainda que existem aminoácidos específicos que controlam os processos de reparação por participarem na composição de enzimas fisiológicas importantes. Dentre estes podemos citar quatro em especial, por terem estrutura química simples e, por possuírem poucos carbonos: cisteína, cistina, prolina e hidroxiprolina. A cisteína atua na regulação das funções do p53 (RAINWATER, 1995). Além desta propriedade, ela apresenta também efeitos antioxidantes e antiinflamatórios devido à presença do grupamento tiol na sua composição (RAHMAN, 2006). Proteinases baseadas na cisteína participam na ativação de proteínas precursoras, na apresentação de antígenos, no remodelamento de ossos e nos mecanismos de reprodução e apoptose (morte) celular. Também estão envolvidas nos mecanismos tumorais de vários tipos de câncer, incluindo cânceres de mama, pulmão, cérebro, gastrintestinais, cabeça e pescoço (BERDOWSKA, 2004). Já o aminoácido prolina e seu correspondente hidratado hidroxiprolina possuem papel fundamental nos mecanismos de

apoptose em células tumorais (BERGER, 2005; COOPER, 2005). Como essas moléculas desempenham essas funções? Porque muitas vezes elas falham em sua tarefa? Porque justamente essas e não outras tantas biomoléculas? Será possível ativá-las de modo preventivo em um organismo? São questões fundamentais onde estudos relacionados a anarmonicidade e excitações elementares presentes nestes sistemas, podem influenciar diretamente na solução de um problema de ordem prática imediato que é a origem de tumores, pois, através da anarmonicidade podemos verificar o crescimento de células tumorais. Essas biomoléculas são excelentes exemplos de como o estudo de suas propriedades físico-químicas pode ajudar a compreender suas funções bioquímicas que por sua vez são essenciais para o entendimento de uma doença tão fatal como o câncer.

Biomoléculas em geral não apresentam periodicidade similar à rede cristalina de um cristal ou outro condutor convencional. Porém, elas podem apresentar interações de longo alcance (BOON, 2003; CARPENA, 2002; DANDLIKER, 1997) que podem ser muito importantes para o entendimento de seu mecanismo de condutividade elétrica.

Uma grande complicação ao estudo das propriedades eletrônicas do DNA e outras biomoléculas está relacionada à forte influência das vibrações moleculares. Um fato comum tanto a condutores orgânicos unidimensionais, nanotubos de carbono, e biomoléculas é que em todos os casos a transferência de elétrons se dá através de sólitons (FINK, 1997; HERMON, 1998), ressaltando a importância dos fônons no entendimento das propriedades destes sistemas. Por exemplo, a amplitude das vibrações de rede no DNA é tipicamente da ordem de um décimo da constante de rede (3-4 Å) sendo uma ordem de magnitude maior do que num cristal convencional. Isso torna este sistema altamente anarmônico, com interação elétron-fônon não linear, de modo semelhante ao supercondutor MgB_2 (MARTINHO, 2003). Todos estes elementos tornam estes sistemas bastante adequados para testar conceitos e modelos da física da matéria

condensada, além de representarem um desafio científico e tecnológico extremamente interessante. Devido à importância que as vibrações de rede desempenham nestes sistemas, uma técnica natural para o estudo de biomoléculas é a Espectroscopia Raman (TWARDOWSKI, 1994).

2 OBJETIVO

Dentro do contexto apresentado, objetivamos neste trabalho estudar o regime de anarmonicidade da biomolécula cisteína e possíveis transições de fase conformacionais, através da análise dos resultados da dependência com a temperatura (15-300 K) do espectro Raman entre 20-1200 cm^{-1} .

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Espectroscopia Raman

A maior parte da luz espalhada apresenta o mesmo comprimento de onda da luz incidente, e este espalhamento é conhecido como espalhamento elástico ou Rayleigh como mostrado na figura 1a. Uma pequena parcela desta luz espalhada, no entanto, apresenta um comprimento de onda diferente daquele da luz incidente, e a sua existência constitui espalhamento inelástico ou Raman conforme a figura 1.

Dentre as técnicas espectroscópicas, a espectroscopia Raman ocupa lugar privilegiado no estudo de excitações elementares (fônons, magnons, excitons, polaritons, etc.), devido à sua alta resolução em energia e sensibilidade à simetria no centro da zona de Brillouin. Deste modo, com esta técnica, é possível obter de modo relativamente simples e direto a energia, tempo de vida e propriedades de simetria destas excitações.

O espalhamento Raman nada mais é do que espalhamento inelástico de fótons por um dado material. Atualmente, está bem estabelecido que a luz é espalhada inelasticamente pelas flutuações espaciais e temporais nas contribuições eletrônicas à susceptibilidade elétrica, que estão por sua vez associadas às excitações elementares.

No espalhamento Raman a radiação que interage com a molécula é espalhada com frequência ligeiramente modificada. Esta variação da frequência corresponde à diferença de energia entre dois estados vibracionais, a qual leva a matéria para um nível de energia excitado, o que resulta em uma perda de energia do fóton, e este espalhamento com frequências menores que a incidente, sendo estas frequências Raman conhecidas com linhas de Stokes como mostrado na figura 1b. Se a matéria está em um estado excitado, a colisão com um fóton pode causar uma

perda de energia e os elétrons sofrem uma transição para um estado de energia mais baixa. Neste caso, as frequências Raman são conhecidas com Anti-Stokes, como é indicado na figura 1c abaixo.

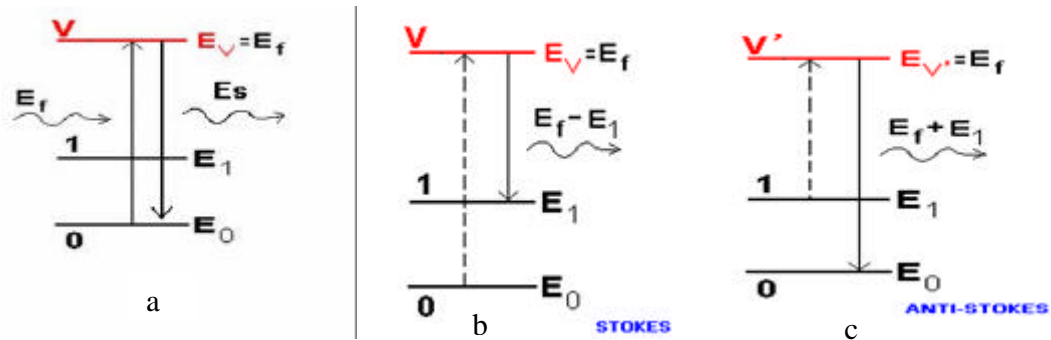


Figura 1– Espalhamento elástico (Rayleigh) (a) e espalhamento Raman Stokes (b) e Anti-Stokes (c)

3.1.1 Visão semiclássica do Efeito Raman

Com o desenvolvimento do laser, a espectroscopia Raman se tornou um método importante para investigar excitações elementares em sólidos. Neste tipo de espectroscopia se estuda o espalhamento inelástico da luz pelas excitações elementares. Por conservação de energia e momento, temos:

$$\hbar\omega_0 - \hbar\omega \pm \hbar\omega(q) = 0 \quad (3.1.1.1)$$

$$\hbar\mathbf{k}_0 - \hbar\mathbf{k} \pm \hbar\mathbf{q} + \hbar\mathbf{G} = 0 \quad (3.1.1.2)$$

onde ω_0 e \mathbf{k}_0 são a frequência e o vetor de onda da luz incidente, respectivamente. Os correspondentes ω e \mathbf{k} são frequência e o vetor de onda da luz espalhada, respectivamente. As quantidades $\omega(q)$ e \mathbf{q} são as frequência e o vetor de onda do fônon enquanto que \mathbf{G} corresponde a um vetor da rede recíproca. A geometria de espalhamento é indicada na Fig. 2 abaixo.

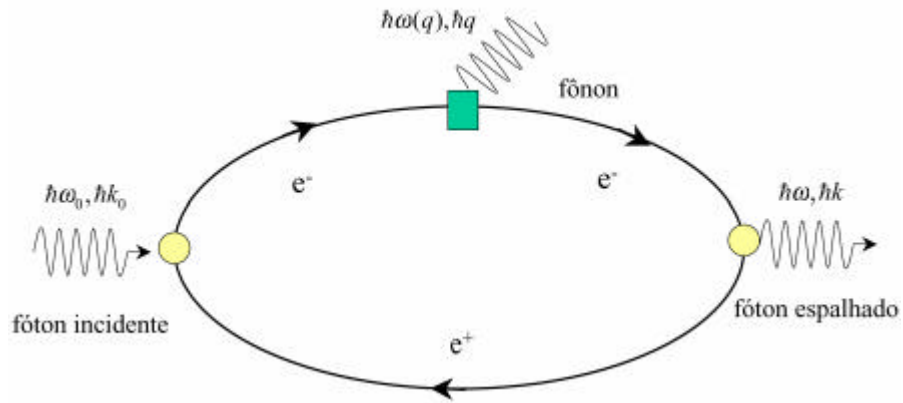


Figura 2. Diagrama mostrando o mecanismo de espalhamento Raman.

Para a região do espectro da luz visível $|k_0|$ e $|k|$ são da ordem de $1/1000$ de G . Logo, a espectroscopia Raman é capaz de sondar somente excitações do centro da Zona de Brillouin $q = 0$.

A interação da luz visível com o sólido acontece devido à polarizabilidade dos elétrons de valência. O campo elétrico \vec{E}_0 da onda de luz incidente, pelo tensor de susceptibilidade $\vec{\epsilon}$ gera uma polarização \vec{P} dada por:

$$\vec{P} = \epsilon_0 \vec{\epsilon} \cdot \vec{E}_0 \quad \text{ou} \quad P_i = \epsilon_0 \sum_j \epsilon_{ij} E_{0j} \quad (3.1.1.3)$$

A modulação periódica de \vec{P} produz, por sua vez, a emissão da onda espalhada. Em uma aproximação clássica, a onda espalhada, pode ser considerada como a radiação do dipolo P . Das leis da eletrodinâmica obtemos a densidade do fluxo de energia na direção \vec{s} . O vetor de Poynting fica:

$$\vec{S}(t) = \frac{w^4 P^2 \sin^2 \theta}{16 \pi^2 \epsilon_0 r^2 c^3} \vec{s} \quad (3.1.1.4)$$

onde q é o ângulo entre a direção de observação \hat{s} e a direção da vibração P . A suscetibilidade eletrônica \underline{c} em (3.1.1.3) é agora uma função das coordenadas nucleares e o deslocamento associado com a vibração de rede $X[\mathbf{w}(q), q]$.

Estes deslocamentos $X[\mathbf{w}(q), q]$ podem ser interpretados como uma perturbação em uma expansão formal de χ :

$$\underline{c} = \underline{c}^0 + \left(\frac{\partial \underline{c}}{\partial X} \right) X \quad (3.1.1.5)$$

Como nós só precisamos considerar excitações com $q = 0$, nós podemos simplificar escrevendo $X = X_0 \cos[\mathbf{w}(q)t]$ e, se o campo elétrico da onda incidente E_0 é descrito como $E_0 = E_0 \cos \mathbf{w}_0 t$, temos:

$$\begin{aligned} P &= \underline{e}_0 \underline{c}^0 E_0 \cos \mathbf{w}_0 t + \underline{e}_0 \frac{\partial \underline{c}}{\partial X} X_0 E_0 \times \cos[\mathbf{w}(q) \cdot t] \cos \mathbf{w}_0 t \\ &= \underline{e}_0 \underline{c}^0 E_0 \cos \mathbf{w}_0 t + \frac{1}{2} \underline{e}_0 \frac{\partial \underline{c}}{\partial X} X_0 E_0 \times [\cos[\mathbf{w}_0 + \mathbf{w}(q)]t + \cos[\mathbf{w}_0 - \mathbf{w}(q)]t] \end{aligned} \quad (3.1.1.6)$$

Assim, a radiação espalhada expressa em (3.1.1.6) contém a contribuição elástica da frequência \mathbf{w}_0 (espalhamento de Rayleigh) termos adicionais conhecidos com banda lateral de frequências de Raman $\mathbf{w}_0 \pm \mathbf{w}(q)$. O positivo e o negativo correspondem ao espalhamento do quanta de energia absorvido e ao quanta de energia perdida respectivamente, relativo à excitação elementar $[\mathbf{w}(q), q]$. As linhas com frequência menor que \mathbf{w}_0 são chamados de linhas de Stokes e, aqueles com frequência mais elevada são as linhas anti-Stokes. Para este último estar presente é necessário que exista a excitação elementar, fônon, que é o estado excitado do sólido. Assim em temperaturas baixas a intensidade das linhas anti-Stokes é reduzida. A intensidade da radiação espalhada inelasticamente é um fator de 10^{-6} da radiação primária.

3.1.2 Visão quântica do Efeito Raman

Fótons de energia $\hbar\omega_0$ e com momento \vec{k}_0 incidem no material e são espalhados fornecendo fótons de energia $\hbar\omega_s$ e momento \vec{k}_s . O estado inicial do cristal, i , tem energia E_i e o estado final energia E_f . A probabilidade de espalhamento é dada pela regra de ouro de Fermi (COWLEY, 1978):

$$w = \frac{2\pi}{\hbar} \mathbf{r}(\omega_s) \left| H(\vec{k}_0, i; \vec{k}_s, f) \right|^2 \mathbf{d}(\hbar\omega_0 + E_i - \hbar\omega_s - E_f) \quad (3.1.2.1)$$

onde $(\mathbf{r}\omega_s)$ é a densidade de estados dos fótons, dada por:

$$\mathbf{r}(\omega_s) d\omega_s d\Omega = \left(\frac{1}{2\pi c} \right)^3 \left(\frac{\omega_s^2}{\hbar} \right) d\omega_s d\Omega$$

onde $d\Omega$ é o elemento de ângulo sólido. A interação entre os fótons e o material é especificada pela hamiltoniana H .

A interação entre radiação eletromagnética e o cristal é um problema bastante complexo. Para espalhamento Raman, todavia, os comprimentos de onda da luz incidente e espalhada são muito maiores que o tamanho dos átomos. Ainda, quase sempre são os campos elétricos associados à luz que dão origem ao espalhamento Raman. Assim, a hamiltoniana de interação pode ser escrita em termos da polarizabilidade P do cristal como:

$$H = \sum_{ab} P_{ab}(\vec{k}_0, i; \vec{k}_s, f) E_a(0) E_b(s) \quad (3.1.2.2)$$

onde $E_a(0)$ e $E_b(s)$ são os campos elétricos associados à luz incidente e espalhada e \mathbf{a}, \mathbf{b} as coordenadas cartesianas.

O campo elétrico pode ser escrito em forma quantizada como (MERZBACHER, 1998):

$$\vec{E}(0) = i(2\mathbf{p}\hbar\mathbf{w}_0)^{1/2}\vec{e}(0)[b(\vec{k}_0) - b^+(-\vec{k}_0)] \quad (3.1.2.3)$$

com o vetor $\vec{e}(0)$ sendo o vetor de polarização do fóton e $b(\vec{k}_0)$ o operador de destruição de um fóton com momento \vec{k}_0 .

Podemos escrever a expressão para o espalhamento Raman em termos de energia espalhada para um particular campo elétrico incidente. A energia espalhada é $\hbar\mathbf{w}_s$ e o número de fótons é $n = (\vec{E}(0) \cdot \vec{E}(0)) / 2\mathbf{p}\hbar\mathbf{w}_0$. Com estes resultados e as eqs (3.1.2.1) e (3.1.2.2), a intensidade do espalhamento Raman entre os estados i e f fica:

$$\frac{\partial^2 S}{\partial\Omega\partial\mathbf{w}} = \frac{\mathbf{w}_f^4}{2\mathbf{p}c^3} \sum_{abgd} P_{ab}(\vec{k}_0 i; \vec{k}_s f) P_{gd}^+(\vec{k}_0 i; \vec{k}_s f) E_a(0) E_g(0) e_b(s) e_d(s) \times \mathbf{d}(E_i + \hbar\mathbf{w}_0 - E_f - \hbar\mathbf{w}_s) \quad (3.1.2.4)$$

A intensidade de espalhamento Raman total é então obtida fazendo-se uma média sobre os estados finais e iniciais do cristal:

$$\frac{\partial^2 S}{\partial\Omega\partial\mathbf{w}} = \frac{\mathbf{w}_f^4}{2\mathbf{p}c^4} \sum_{abgd} E_a(0) E_g(0) e_b(s) e_d(s) I_{abgd} \quad (3.1.2.5)$$

onde

$$I_{abgd} = \sum_{if} \frac{\exp\left(-\frac{E_i}{k_b T}\right) P_{ab}(\vec{k}_0 i; \vec{k}_s f) P_{gd}^+(\vec{k}_0 i; \vec{k}_s f) \mathbf{d}(E_i + \hbar\mathbf{w}_0 - E_f - \hbar\mathbf{w}_s)}{Z}$$

é o chamado tensor Raman de posto 4, com Z sendo a função de partição.

Escrevendo a função delta como uma integral sobre o tempo temos

$$\text{finalmente: } I_{abgd} = \int_{-\infty}^{\infty} \left\langle \left\langle P_{ab}(\vec{k}_0 \vec{k}_s t) P_{gd}^+(\vec{k}_0 \vec{k}_s t) \right\rangle \right\rangle \exp(i\mathbf{w}t) dt \quad (3.1.2.6)$$

onde introduzimos a frequência transferida $\omega = \omega_0 - \omega_s$. Os operadores de polarizabilidade foram escritos na versão de Heisenberg.

3.1.3 Classificação dos Processos Raman

Consideraremos agora os princípios do espalhamento Raman quando aplicado ao caso de espalhamento pelos modos normais de vibração de um cristal harmônico. Existem muitos textos que tratam da teoria destes modos normais. Aqui particularmente usaremos a notação de Anderson.

A coordenada do fônon que corresponde ao j -ésimo modo normal com vetor de onda \vec{q} é, em termos dos operadores de criação e destruição de fônons: $A(\vec{q}, t) = a(\vec{q}, t) + a^+(-\vec{q}, t)$

O desenvolvimento formal da teoria do fônon é completado estudando-se a evolução temporal dos operadores a e a^+ . Na representação de Heisenberg temos:

$$A(\vec{q}, t) = a(\vec{q}, 0) \exp[i\omega(\vec{q})t] + a^+(-\vec{q}, 0) \exp[-i\omega(\vec{q})t] \quad (3.1.3.1)$$

O valor médio do produto destes operadores é:

$$\begin{aligned} \langle \langle a(\vec{q}) a^+(\vec{q}) \rangle \rangle &= n(\vec{q}) + 1 \\ \langle \langle a^+(\vec{q}) a(\vec{q}) \rangle \rangle &= n(\vec{q}) \end{aligned} \quad (3.1.3.2)$$

onde n é o fator de população de Bose-Einstein

$$n(\vec{q}) = \frac{1}{\left\{ \exp\left[\frac{\hbar \omega(\vec{q})}{k_B T} \right] - 1 \right\}}$$

Expandindo a polarizabilidade em termos das coordenadas normais dos fônons temos:

$$P_{ab} = P_{ab}^0 + \sum_{\vec{q}j} P_{ab}(\vec{q}j)A(\vec{q}j) + \sum_{\vec{q}_1\vec{q}_2j_1j_2} P_{ab}(\vec{q}_1\vec{q}_2j_1j_2)A(\vec{q}_1j_1)A(\vec{q}_2j_2) + \dots \quad (3.1.3.3)$$

Os coeficientes são assumidos para serem independentes da frequência transferida. Substituindo-se (3.1.3.1), (3.1.3.2) e (3.1.3.3) em (3.1.2.6) temos para o tensor Raman de posto 4:

$$I_{abcd} = I_{abcd}^1 + I_{abcd}^2 + I_{abcd}^3 + \dots \quad (3.1.3.4)$$

onde temos a contribuição dos espalhamentos por 1, 2, ... fônons.

A seção de choque para espalhamento por 1 fônon fica então proporcional à:

$$I_{abcd}^1 \sum_j P_{ab}(\vec{q}j)P_{gd}^+(\vec{q}j) \left\{ n(\vec{q}j) \mathbf{d}[\mathbf{w} + \mathbf{w}(\vec{q}j)] + [n(\vec{q}j) + 1] \mathbf{d}[\mathbf{w} - \mathbf{w}(\vec{q}j)] \right\} \quad (3.1.3.5)$$

onde $\vec{q} = \vec{k}_0 - \vec{k}_s$ é o momento do fônon.

Esta última expressão mostra que o espalhamento por 1 fônon ocorre para frequências de fônons cujos vetores de onda são iguais aos vetores de onda transferidos no experimento. Como os vetores de onda da luz são pequenos, quando comparados à dimensão da primeira zona de Brillouim, $\vec{k}_0, \vec{k}_s \approx 0$ o que implica $\vec{q} \approx 0$ e portanto, os processos de espalhamento Raman por 1 fônon serão sensíveis somente ao centro da zona de Brillouim. Este fato já foi comentado anteriormente.

O espectro é discreto, com máximos dados pelas funções delta, centradas em $\mathbf{w} = -\mathbf{w}(qj)$ e $\mathbf{w} = \mathbf{w}(qj)$. O primeiro caso corresponde ao processo no qual um fônon é destruído (processo anti-Stokes), e o segundo ao processo no qual um fônon é criado (processo Stokes).

Como a frequência incidente é usualmente muito maior do que a de qualquer modo normal de vibração do cristal, o acoplamento com a rede é fraco e a contribuição à modulação da polarizabilidade vem principalmente de distorções eletrônicas.

O mecanismo responsável pelo espalhamento Raman por fônons foi desenvolvido primeiramente por Loudon e está esquematizado na Fig. 2 para o caso de um fônon. A luz incidente excita um par elétron-buraco virtual e_1 que pode tanto criar, como absorver um fônon, criando o par e_2 , que posteriormente se recombina emitindo o fóton espalhado.

3.1.4 Regras de Seleção

A intensidade de espalhamento Raman pode ser descrita de modo mais simples em termos de um tensor de posto 2, chamado genericamente de tensor Raman e denotado por R_{ab} , que é proporcional à polarizabilidade do material.

Podemos escrever o tensor Raman de posto 4, dado anteriormente, em função do tensor Raman como $I_{abgd} \propto R_{ab} R_{gd}^+$ e podemos descrever todas as propriedades do espectro de modo mais simples utilizando este tensor.

A seção de choque Raman é então escrita como:

$$\frac{\partial^2 S}{\partial \omega \partial \Omega} \propto \left| \sum_{ab} e_a(0) R_{ab} e_b(s) \right|^2 \quad (3.1.4.1)$$

Disto se vê que o principal pré-requisito para a observação de linhas Raman em primeira ordem é que $R_{ab} \neq 0$. Neste ponto, é a simetria do cristal que nos fornecerá quais elementos do tensor Raman estarão presentes ou não e com não poderia deixar de ser, os métodos de teoria de grupos serão bastante utilizados e conhecido como análise do fator de grupo e está resumido no trabalho de D. L. Rousseau, R. P. Bauman e S. P. S. Porto. No presente trabalho, estas regras de seleção não serão exploradas porque trabalharemos com amostras policristalinas.

3.1.5 Limites da aproximação harmônica: efeitos de anarmonicidade na frequência e largura de linha dos fônons

Implícito em tudo o que foi mostrado até aqui está a aproximação harmônica, ou seja, para obter os modos normais de vibração do cristal utilizamos como boa aproximação que os íons em sua posição de equilíbrio ocupam as posições dadas pela rede de Bravais, com ou sem uma base, e que na expansão do potencial cristalino, em termos das posições de deslocamento dos íons de sua posição de equilíbrio, os termos superiores aos de segunda ordem são desprezíveis. A partir disso, escrevemos as equações de movimento para os íons e obtendo a matriz dinâmica para o sistema temos todas as informações a respeito dos modos de vibração do cristal. Dentro deste esquema são desprezadas as interações entre fônons que originariam algum tipo de decaimento em outros fônons.

Isto funciona bastante bem às baixas temperaturas, onde não há energia térmica suficiente para causar grandes deslocamentos dos íons de suas posições de equilíbrio. Porém, quando a temperatura se eleva, estes deslocamentos aumentam em amplitude e não mais é possível desprezar os termos de ordem superior. Deste modo a aproximação harmônica deixa de ser uma boa aproximação, devendo-se levar em conta a interação fônon-fônon.

Como resultado observamos anomalias no comportamento da frequência e largura de linha dos modos. A frequência diminui com o aumento da temperatura, o que pode ser entendido qualitativamente quando imaginamos que os íons ligados pelo potencial harmônico são semelhantes a vários sistemas massa-mola acoplados; o aumento na temperatura tem o efeito de aumentar a distância entre os íons e conseqüentemente tornar a “mola” menos rígida, diminuindo assim sua frequência de vibração.

Já a largura de linha está diretamente relacionada ao tempo de vida do fônon, através da relação de incerteza do tempo-energia, como já demonstrado em experimentos de tempo de vida de fônons óticos no domínio de tempo, utilizando-se pulsos ultra-curtos gerados por lasers em semicondutores.(KUHL; BRON, 1983, VON DER LINDE; KUHL, ; KLINGENBERGER,1980). Deste modo, como já comentado, com o aumento na temperatura o acoplamento fônon-fônon se apresenta importante e assim esperamos que a largura de linha aumente como efeito do aumento dos canais de decaimento para o fônon, que reduzem seu tempo de vida.

Cowley (1965) propôs uma teoria para explicar o comportamento da frequência e largura de linha para espalhamento Raman. Esta teoria é bastante geral, levando em conta todos os processos possíveis de decaimento, e é o ponto de partida para modelos mais simples como o de Klemers e Menendez & Cardona. Daremos agora um breve resumo do conteúdo desta teoria.

Passaremos utilizar, ao invés da frequência real dos fônons, uma outra grandeza imaginária denominada frequência própria do fônon, que leva em conta os efeitos de largura de linha finita do modo:

$$\bar{\omega}(\vec{0}; j; \mathbf{w}_0) = \omega(\vec{0}, j, \mathbf{w}_0) + \Delta(\vec{0}, j, \mathbf{w}_0) + i\Gamma(\vec{0}, j, \mathbf{w}_0)$$

onde j corresponde ao índice do ramo do modo, \mathbf{w}_0 é a frequência incidente, $\omega(\vec{0}, j)$ é a frequência harmônica do modo, Δ é o deslocamento desta frequência devido aos efeitos de anarmonicidade e Γ é a largura de linha do fônon.

Deste modo, obtém-se que a forma de linha para processos Stokes é uma Lorentziana dada por:

$$\frac{\partial^2 \mathbf{s}}{\partial \mathbf{w} \partial \Omega_{Stokes}} \mathbf{a} \frac{\Gamma(\vec{0}; j; \mathbf{w}_0)}{[\omega(\vec{0}; j) - \mathbf{w}_0 + \Delta(\vec{0}, j; \mathbf{w}_0)]^2 + \Gamma^2(\vec{0}; j; \mathbf{w}_0)} [n(\mathbf{w}) + 1]$$

(3.1.5.1)

Levando em conta os efeitos de expansão térmica da rede e somente processos de decaimento do fônon em outros dois vetores de onda opostos, temos que o deslocamento da posição do pico é dado por:

$$(3.1.5.2) \quad \Delta(\vec{0}, j, \mathbf{w}_0) = \Delta^{(0)} + \frac{12}{\hbar} \sum_{qj} V \begin{pmatrix} \vec{0} & \vec{0} & q & -q \\ j & j & j' & j' \end{pmatrix} [2n(\vec{q}j') + 1] - \frac{18\mathbf{p}}{\hbar^2} \sum_{\vec{q}_1, j_2} V \begin{pmatrix} \vec{0} & \vec{0} & q & -q \\ j & j & j' & j' \end{pmatrix}^2 [n(\vec{q}j_1) + n(-\vec{q}j_1)] \left[\frac{1}{\mathbf{w}(\vec{q}j_1) + \mathbf{w}(\vec{q}j_2) - \mathbf{w}_0} \right]$$

onde as somatórias se estendem sobre os vetores de onda \vec{q} e sobre os ramos j . O elemento V corresponde à transformada de Fourier do potencial do cristal em 3ª ordem entre os estados de fônons, nos ramos j e j' com vetores de onda \vec{q} e $-\vec{q}$. O elemento n representa o fator de Bose-Einstein. O primeiro termo na expressão corresponde à contribuição devida exclusivamente à expansão térmica e pode ser escrito como:

$$(3.1.5.3) \quad \Delta^{(0)}(T) = \mathbf{w}_0(\vec{0}j) \exp \left[-3\mathbf{g} \int_0^T \mathbf{a}(T') dT' \right]$$

Os parâmetros na expressão são: o coeficiente de expansão térmica linear \mathbf{a} e o parâmetro de Grüneisen \mathbf{g} . Na grande maioria dos casos, este primeiro termo no deslocamento da posição do pico já é suficiente na descrição do comportamento da frequência com a temperatura, que fica então escrita como:

$$(3.1.5.4) \quad \bar{\mathbf{w}}(T) = \mathbf{w}_0 \left\{ 1 - \exp \left[-3\mathbf{g} \int_0^T \mathbf{a}(T') dT' \right] \right\}$$

Já a largura de linha, também em terceira ordem, representado processos de decaimento do fônon em dois outros de vetores de onda opostos, é escrita como:

$$\Gamma(\vec{0}j\mathbf{w}_0) = \frac{18\mathbf{p}}{\hbar^2} \sum_{\vec{q}_1, \vec{s}_{j_2}} \left| V \begin{pmatrix} \vec{0} & \vec{q} & -\vec{q} \\ j & j_1 & j_2 \end{pmatrix} \right|^2 [n(\vec{q}j_1) + n(-\vec{q}j_2) + 1] \mathbf{d}(\mathbf{w}(\vec{q}j_1) + \mathbf{w}(-\vec{q}j_2) - \mathbf{w}_0) \quad (3.1.5.5)$$

Como esta expressão é bastante complicada para se aplicar na prática, Klemers propôs um modelo bem mais simples de decaimento, onde um fônon ótico decai em dois acústicos do mesmo ramo $j_1=j_2$ com frequências correspondendo à metade da frequência original \mathbf{w} :

$$\Gamma(\mathbf{w}, T) = \Gamma(\mathbf{w}, 0) \left[1 + 2n\left(\frac{\mathbf{w}}{2}\right) \right] \quad (3.1.5.6)$$

Tendo em vista que neste modelo, inúmeros canais de decaimento foram ignorados, Menendez e Cardona propuseram um modelo um pouco mais sofisticado, onde o fônon ótico decai em outros dois não necessariamente do mesmo ramo, obtendo para a largura de linha a expressão:

$$\Gamma(\mathbf{w}, T) = \Gamma(\mathbf{w}, 0) \left[1 + n(\mathbf{w}(\vec{q}j_1)) + n(\mathbf{w}(-\vec{q}j_2)) \right] \quad (3.1.5.7)$$

Esta expressão fornece melhor acordo com os resultados experimentais. É importante comentar que modelos que levam em conta todos os processos de decaimento, como o de Cowley, fornecem sempre uma estimativa bem maior para a largura de linha.

3.2 Cisteína

As estruturas e dinâmica molecular de aminoácidos alifáticos foram por muitos anos o assunto de largo interesse e de estudos intensivos (PAWLUKOJC, et al., 1995; 1996; 1997; 2001;. et al., 2002).

A forma da cisteína (L-cisteína) cristaliza em dois polimorfos: uma forma ortorrômbica, chamada L-cisteína I (MOGGACH, 2005; KERR, ASHMORE, 1973; KERR, ASHMORE,

KOETZLE, 1975) e uma forma monoclinica, chamada de L-cisteína II, (MOGGACH, 2005; HARDING, LONG, 1968; GORBITZ, DALHUS, 1996). A unidade assimétrica da L-cisteína II tem duas moléculas cristalograficamente independente L-Cys(A) e L-Cys(B), que são isômeros conformacionais mostradas na Figura 3. A L-Cys(A) apresenta conformação gauche e a L-Cys(B) apresenta conformação trans. Estas duas são as formas zwitterionicas, que são os íons na forma dipolar. O átomo de nitrogênio da amina (NH_3^+) age como doador para as pontes de hidrogênio que se liga com o átomo de oxigênio do carboxil (COO^-) das moléculas adjacentes. As pontes de hidrogênio dominam a conformação das moléculas em cada fase e ajustam os ângulos de torção e são responsáveis para a coesão do cristal. As pontes de hidrogênio adicionais são observadas no grupo tiol (SH). Na fase monoclinica, o átomo de enxofre age como um doador na ponte com o oxigênio do carboxil. Na fase ortorrômbica uma desordem posicional dos átomos do enxofre e do hidrogênio foi observada (PAWLUKOJC, PADUREANU, ARANGHEL, 2004). Os parâmetros geométricos das pontes de hidrogênio caem na mesma escala que na fase monoclinica (PAWLUKOJC, PADUREANU, ARANGHEL, 2004).

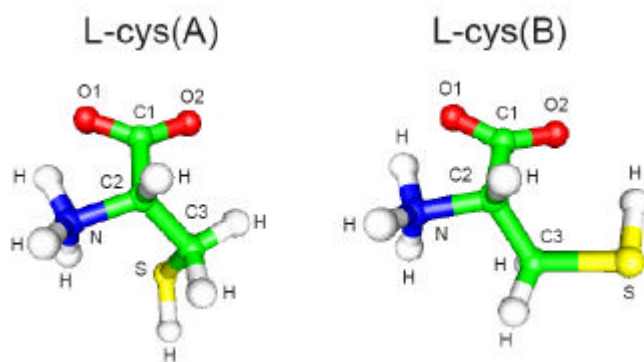


Figura 3. Forma de íon dipolar (zwitterion) da molécula de L-cisteína

A estrutura cristalina da L-Cisteína-I foi determinada por Kerr & Ashmore (1973) por difração de raios-X e mais tarde por Kerr et al. (1975) por difração de nêutrons. Ambos na

temperatura ambiente. Moggach et al (MOGGACH, 2005) desenvolveram um estudo da L-Cisteína I a 30 K. Nesta estrutura a molécula adota a conformação de gauche⁺, que é a formação da cadeia N1-C2-C1-S1 com um ângulo de torção de 60° e consiste em zwitterions conectados de maneira senoidal através das pontes de hidrogênio na forma tridimensional. Na temperatura ambiente o grupo tiol apresenta-se de forma desordenada na forma intermolecular S-H...S e S-H...O das pontes de hidrogênio. Em 30 K a estrutura é ordenada com retenção dos contatos S-H...S.

A L-Cisteína-II foi caracterizada na temperatura ambiente por Harding & Long (1968) e mais tarde por Görbitz e Dalhus (1996) a 120K, ambos utilizando a difração de raios-X. Na Figura 4 apresentamos a célula unitária e o empacotamento cristalino visto ao longo de **b** para a L-cisteína II. As interações intermoleculares em ambas as formas da L-cisteína são dominadas por pontes de hidrogênio entre os grupos amina e carboxil (N-H...O). Na L-cisteína II o caminho mais curto é formado por N1-H7...O2 ao longo do eixo **c**. A segunda mais curta ponte de hidrogênio é formada por N1-H5...O1, ao longo do eixo **a**. As ligações que irão dar forma às camadas ao longo de **b** incluem pontes envolvendo os grupos tiol, S-H...S. As interações S-H...S formam infinitas cadeias de pontes de hidrogênio que zigzagueiam ao longo de **c**. O empacotamento ao longo do eixo **b** ocorre pela superposição sinusoidal das camadas citadas anteriormente. O grupo tiol da estrutura cristalina da L-cisteína II é ordenado à temperatura ambiente.(MOGGACH, 2005).

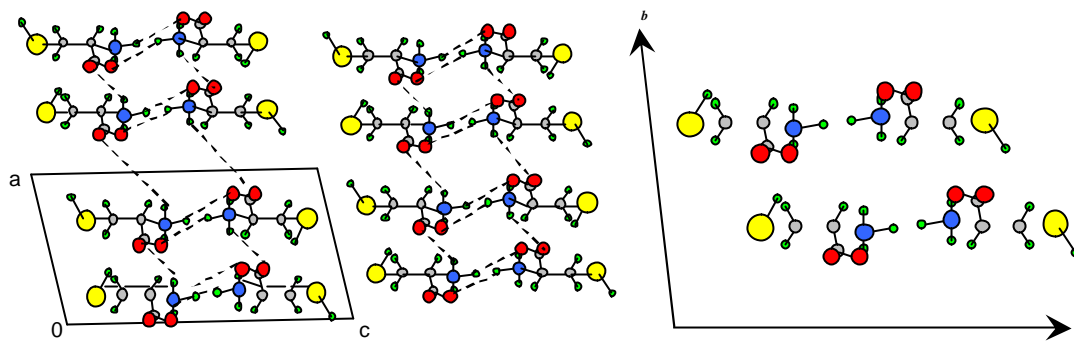


Figura 4. A célula unitária e o empacotamento cristalino da L-cisteína II.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Espectroscopia Raman

Os experimentos de espectroscopia Raman foram realizados num espectrômetro T 64000 da Jobin-Yvon do Grupo de Propriedades Ópticas e Magnéticas dos Sólidos, Instituto de Física “Gleb Wataghin”, UNICAMP. As amostras foram montadas num dedo frio refrigerado por um sistema de circuito fechado de Hélio DISPLEX. Utilizamos sempre a linha 514.5 nm de um laser de íon Ar^{3+} da Coherent. Um esquema da montagem utilizada está mostrado na Figura 5.

O feixe vindo do laser é focalizado com o auxílio de uma lente e dirigido sobre a amostra dentro do criostato numa geometria de quasi-retroespalhamentos. O feixe chega à normal da superfície. A luz espalhada e coletada por uma outra lente que focaliza o sinal na entrada no espectrômetro.

Em todos os experimentos, o espectrômetro foi utilizado na configuração de triplo subtrativo, ou em outras palavras, as duas primeiras grades são utilizadas como filtro para o espalhamento elástico e a última age como monocromador. O sinal oriundo desta última grade é direcionado a um detector tipo CCD e um sistema de aquisição coleta os dados enviando-os a um microcomputador.

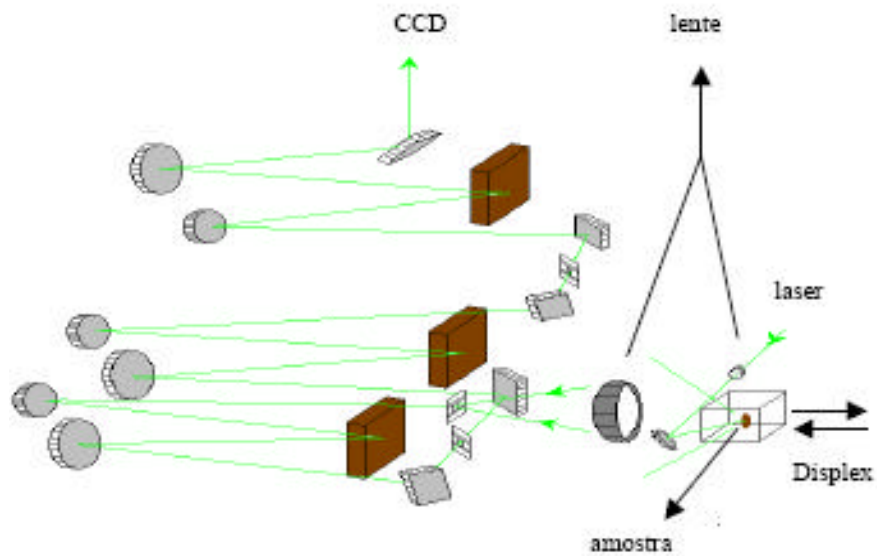


Figura 5. Esquema do experimento de espectroscopia Raman.

Na Figura 6 abaixo, mostramos a foto da montagem experimental utilizada. Na Figura 7 mostramos uma foto do criostato utilizado e na Figura 8 as amostras montadas no criostato.



Figura 6. Montagem experimental.

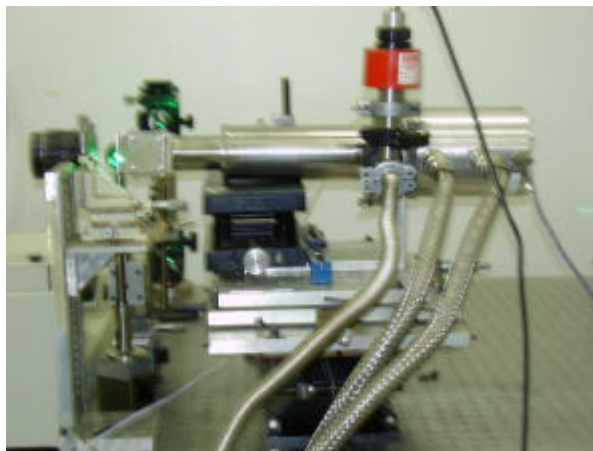


Figura 7. Criostato óptico DISPLEX.

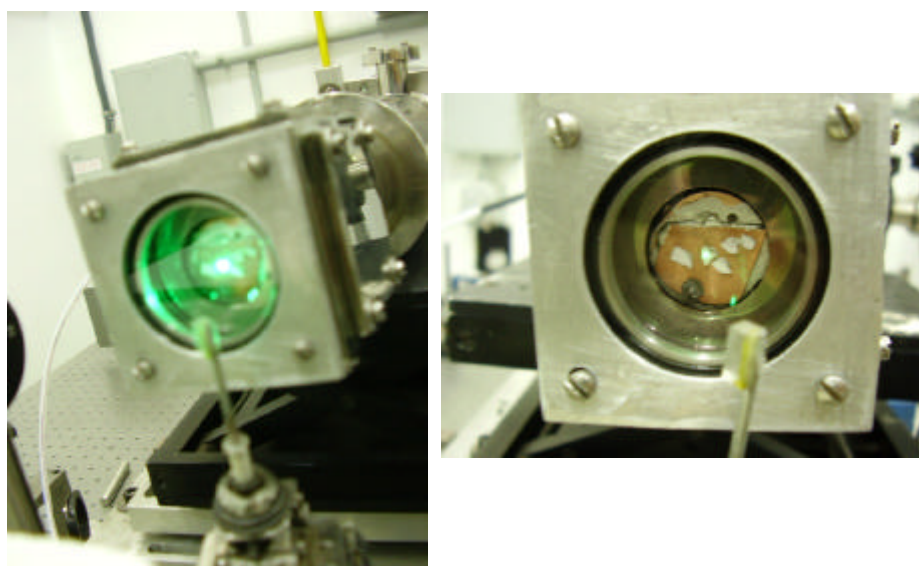


Figura 8. Amostras montadas no criostato.

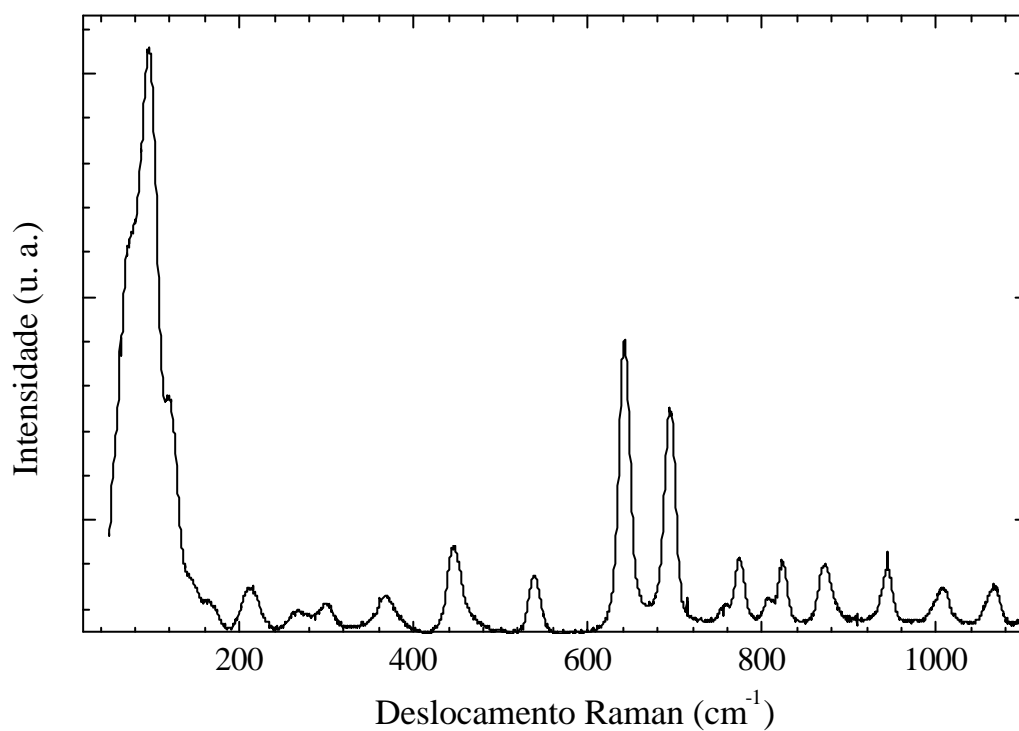
4.2 Amostra

A L-cisteína utilizada foi adquirida da empresa Sigma-Aldrich com grau de pureza para biologia molecular (99,9%). Ela foi compactada em uma prensa hidráulica com pressão de 1 ton numa pastilha de 6 mm de diâmetro e 1 mm de espessura.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na fig. 9 é mostrado um espectro Raman representativo da cisteína em 300 K. Na tabela 1 listamos as energias dos modos vibracionais observados em 300 K, comparando-se com a atribuição apresentada por Pawlukojc' et al (PAWLUKOJC, 2004).

Neste trabalho, Pawlukojc' et al fizeram os cálculos de dinâmica molecular para a molécula livre utilizando o programa Gaussian 98, a análise de coordenadas normais e atribuição de bandas foram baseadas nos cálculos *ab initio* e compararam os valores de energia dos modos obtidos com dados experimentais de difração de nêutrons, Raman e FT-IR. As medidas foram feitas em amostras policristalinas de L-cisteína. Os dados deste trabalho estão resumidos na Tabela 1. Conforme discutiremos na Fig. 10, os modos abaixo de 500 cm^{-1} são vibrações



intermoleculares, que não foram consideradas dentro do escopo do trabalho de Pawlukojc' et al. Nos limitaremos neste trabalho apenas à discussão das vibrações intermoleculares acima de 500 cm^{-1} . Dentre os picos observados podemos notar que o nosso trabalho esta de acordo com o que foi feito por Pawlukojc'.

Figura 9. Espectro Raman da amostra de L-Cisteína a 300 K.

Tabela 1. Valores calculados e experimentais dos modos vibracionais da molécula livre L-cisteína. Comparando -se com o trabalho de Pawlukoje' et al (Pawlukoje', 2004).

				Experimental (300 K)			
L-cisteína (A)		L-cisteína (B)		Pawlukoje'			Este trabalho
modo	teórico	modo	teórico	INS	Raman	IR	Raman
CCN _{bend.}	466			454 487	443	445	455
CO ₂ rock.	505	CO ₂ rock.	506	533	536	536	538
CS _{str.}	666			684	692		640
		CS _{str.}	721		756		757
CH ₂ rock.	752	CH ₂ rock.	733	763	773		775
CO ₂ bend.	795	CO ₂ bend.	795	810	807	804	806
CO ₂ wagg.	837	CO ₂ wagg.	837		822	822	824
CC _{str.}	878	CC _{str.}	867	877	869	866	871
SH _{bend.}	987	SH _{bend.}	961	945	942	939	942
NH ₃ rock.	1004	NH ₃ rock.	1010	997	1001		1004

Na fig. 10, foram feitas duas montagens de amostras diluídas, uma a 1% e a outra em 30%, com o objetivo de verificar quais modos eram intermoleculares para podermos diferenciar os modos que pertenciam à molécula livre e os modos que pertenciam ao empacotamento, para podermos analisar o experimento. Observamos que os modos abaixo de 500 cm⁻¹ desaparecem, o que caracteriza que estes modos ocorrem apenas a nível intermolecular e, quando a amostra foi diluída passaram a se comportar como moléculas livres. Notamos ainda na região compreendida entre 100 – 250 cm⁻¹ há o aparecimento de uma banda que caracteriza a contribuição de todos os modos vibracionais existentes nesta região.

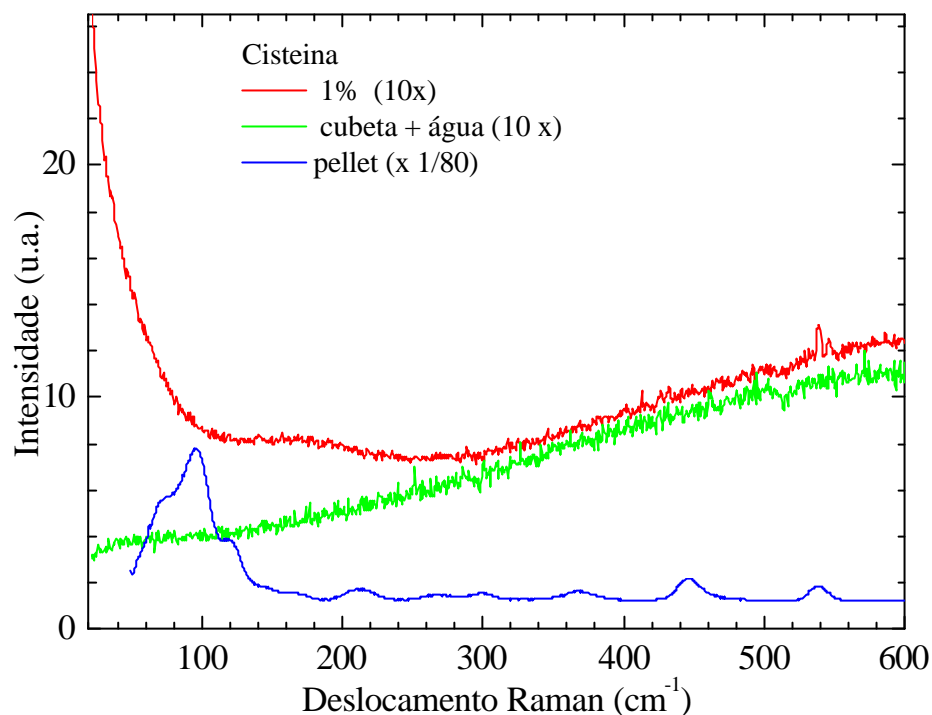


Figura 10. Espectro Raman da amostra diluída comparada com a amostra compactada.

Com o desaparecimento destes modos concentraremos nossos estudos na região compreendida entre 500 cm⁻¹ e 1000 cm⁻¹ e, em trabalhos futuros iremos discutir-los.

Nesta região estaremos analisando em duas etapas sendo a primeira à região compreendida entre 500 cm⁻¹ até 700 cm⁻¹, na segunda a região compreendida entre 700 cm⁻¹ até 1000 cm⁻¹ como mostrada nas figuras 11 e 12 respectivamente.

Na figura 11, temos os espectros da L-Cisteína de 290K até 19K, no intervalo de 350cm⁻¹ até 600cm⁻¹, representados pelas letras a, b, c, d, e, sendo que os picos abaixo de 450cm⁻¹ serão desconsiderados visto que quando repetimos a experiência utilizando uma amostra diluída os mesmos desapareceram. Na figura 12 temos os espectros da L-Cisteína, no intervalo de 700cm⁻¹ até 1040cm⁻¹, para diferentes temperaturas. A curva em verde representa o ajuste aos

espectros experimentais (curva em preto), ou seja, a melhor curva para cada modo vibracional, obtida através da Gaussiana:

$$y = y_0 + \frac{A}{\Gamma \sqrt{P/2}} \cdot e^{-2 \left(\frac{w-w_0}{\Gamma} \right)^2}$$

Onde:

Γ = largura de linha do fônon

A = área do espectro

w_0 = energia do fônon

Já a curva em vermelho representa a soma da contribuição de todos os picos.

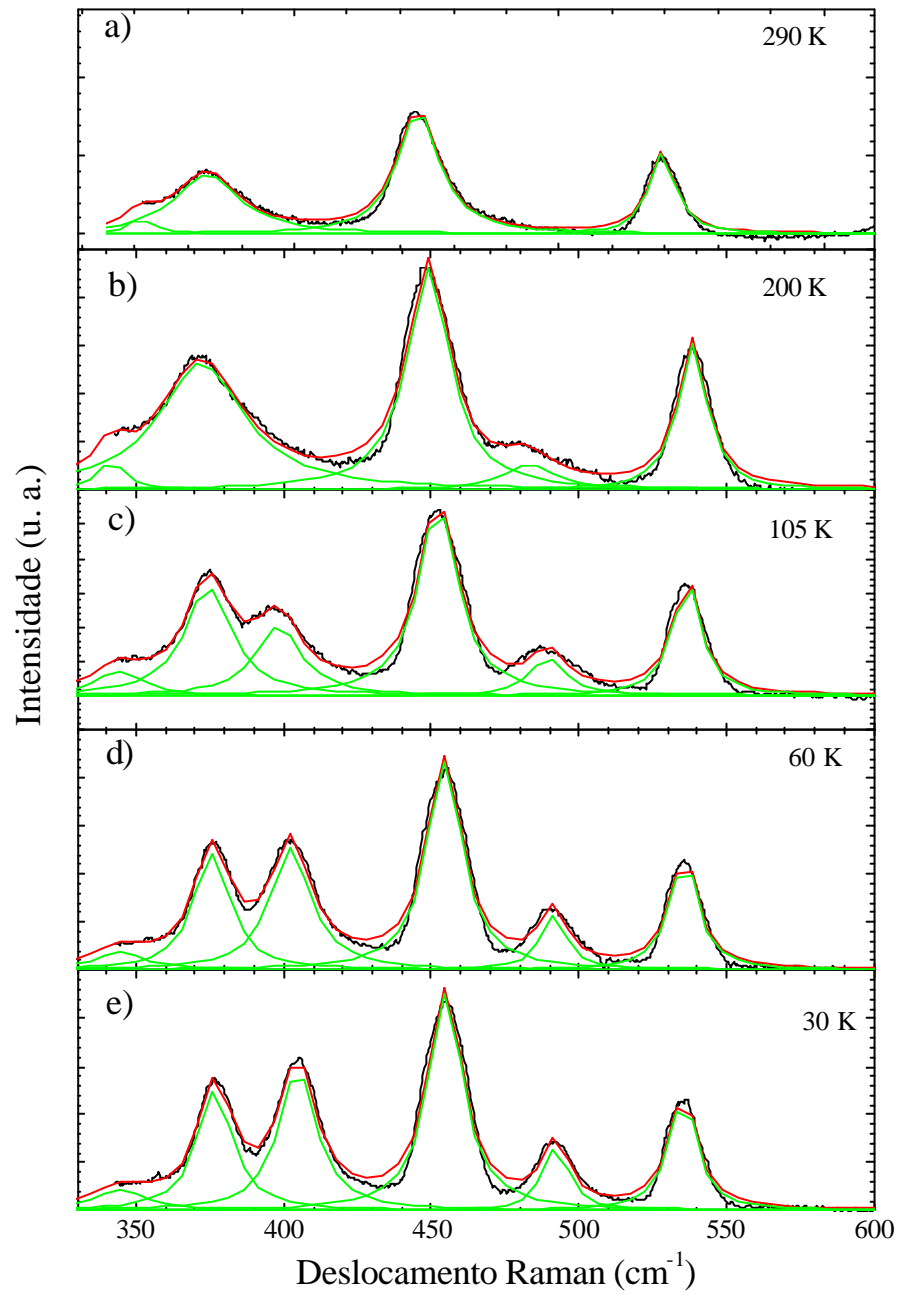


Figura 11. Espectro Raman na região de 330 cm^{-1} até 600 cm^{-1}

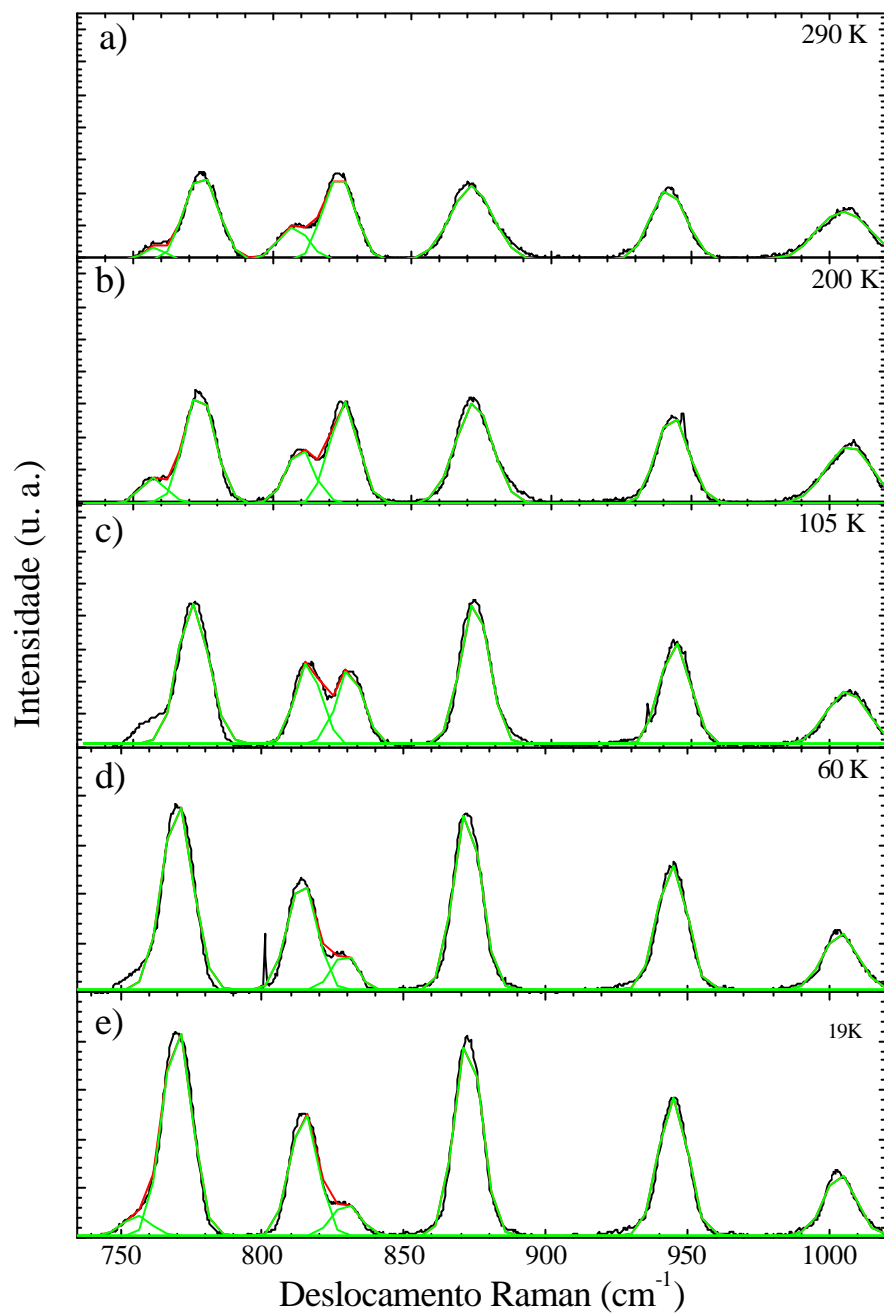


Figura 12. Espectro Raman na região de 735 cm^{-1} até 1040 cm^{-1}

Na Fig. 11 podemos verificar dois modos vibracionais que são CCN_{bend} em 455 cm^{-1} e $\text{CO}_{2(\text{rock})}$ em 538 cm^{-1} , sendo que os demais picos abaixo desaparecem quando a amostra é

diluída. Notamos também quando a temperatura aumenta o modo CCN_{bend} tem sua intensidade diminuída, pois, a interação intermolecular diminui, a estrutura torna-se menos tencionada, o que significa que este modo tende a desaparecer, enquanto o modo $CO_{2(rock)}$ permanece. Este fato se deve a interação intermolecular devido à formação das pontes de hidrogênio curtas como mostrado na figuras 4.

Na Fig. 12 verificamos a presença dos modos vibracionais $CS_{stret.}$, $CH_{2(rock)}$, $CO_{2(bend)}$, $CO_{2(wagg)}$, $CC_{stret.}$, SH_{bend} e $NH_{3(rock)}$. O primeiro modo vibracional esta na forma L-cisteína(B), o segundo modo vibracional está acompanhando as ordens nos planos (MOGGACH, 2005) os três próximos modos observados estão de acordo com o que foi proposto na Tabela 1. Já o modo SH_{bend} e o último modo também estão coerente.

Nas figuras 13 a 15 temos a frequência dos fônons em função da temperatura. Na figura 13, observamos que o modo CCN_{bend} tem sua frequência diminuída com o aumento da temperatura, como era esperado, sendo que quando a temperatura atinge aproximadamente 250 K a frequência começa a se estabilizar. Já o modo $CO_{2\ rock}$ apresenta um amolecimento incomum com o aumento na temperatura. Uma possível explicação seria interpretarmos isso como originado do rompimento das pontes de hidrogênio entre as camadas. Notamos ainda que este modo apresenta duas particularidades que ocorrem em 100 K e 200 K, pois, abaixo de 100 K ocorre uma variação muito pequena na sua frequência e o mesmo ocorre após 200 K quando tende a se estabilizar. O modo CS_{str} que esta na forma L-cisteína B apresenta o comportamento esperado, sofrendo pequenas oscilações na sua frequência. Na figura 14 notamos que o modo $CH_{2\ rock}$ comporta-se de forma semelhante ao modo $CO_{2\ rock}$ da figura 13, mostrando que este tipo de vibração tem sua frequência aumentada com a temperatura, já os modos $CO_{2\ bend}$ e $CO_{2\ wagg}$ apresentam comportamento esperado. Na figura 15 os modos CC_{str} e SH_{bend} apresentam o

comportamento esperado para uma rede cristalina, o modo $\text{NH}_3_{\text{rock}}$ apresenta particularidades entre 50K e 200 K, que são as seguintes:

Antes de 50 K o modo apresenta-se de forma esperada e entre 50 K e 200 K apresenta uma breve variação do aumento da sua frequência e após 200 K volta a apresentar comportamento esperado que é da diminuição da frequência o que ocorre de forma muito sucinta. Estas anomalias encontradas no sistema esta relacionada com a hidratação do sistema que, quando a 50 K começa o rompimento das pontes de hidrogênio entre camadas, como pode ser observado na figura 13 quando do surgimento do amolecimento do $\text{CO}_{2\text{rock}}$, as moléculas de água existente no sistema começam a recompor as pontes de hidrogênio o que vai ocorrer de forma completa ao atingir a temperatura de 200 K.

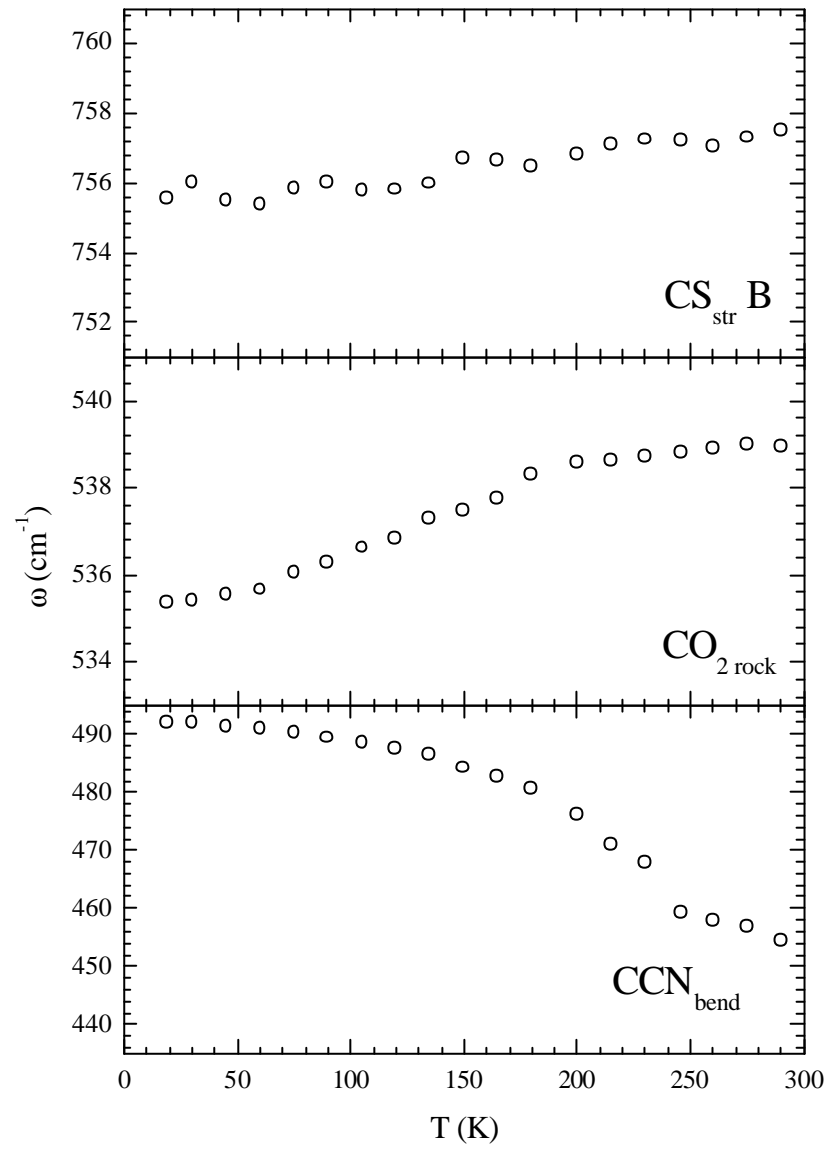


Figura 13. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína

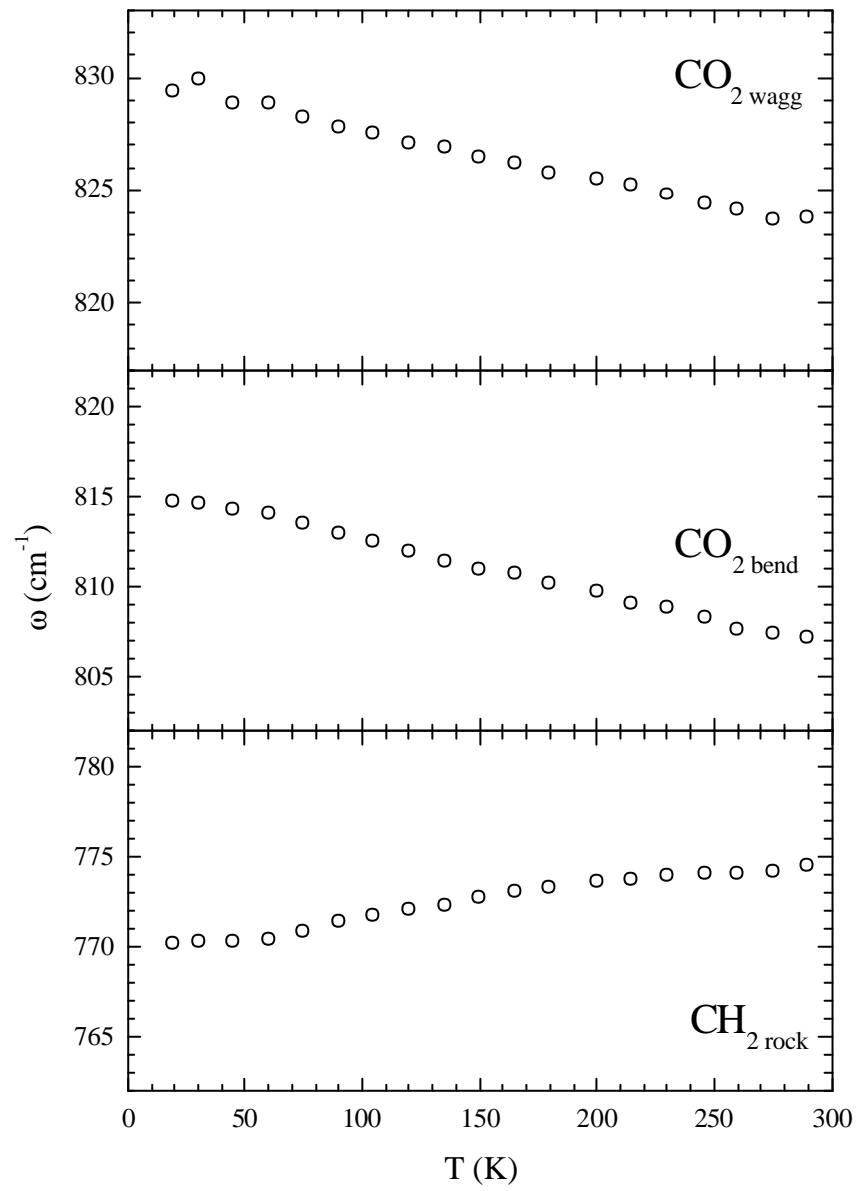


Figura 14. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína

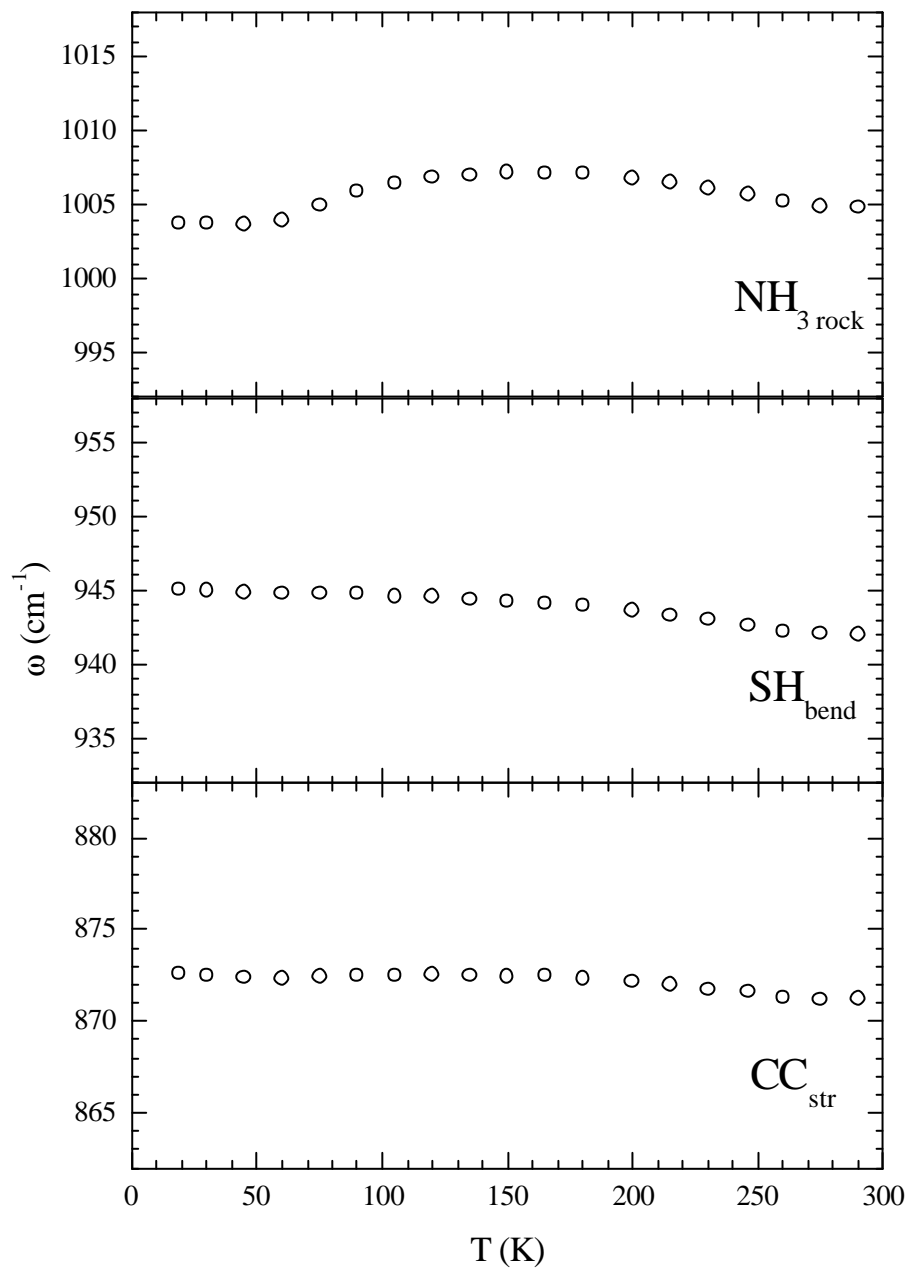


Figura 15. Comportamento da energia dos fônons em função da temperatura para L-Cisteína.

Analisando o comportamento da largura de linha em função da temperatura, ilustrado nas figuras 16 a 18, as linhas sólidas representam o comportamento esperado para o decaimento de um modo ótico em dois modos acústicos de frequências opostas de acordo com o modelo de *Klemers* (KLEMERS, 1966), que é dado pela expressão 3.1.5.6 já apresentada anteriormente. Na figura 16 o modo CCN_{bend} apresenta o decaimento em vários outros modos, que é comportamento esperado, o modo $CO_{2\text{rock}}$ apresenta um comportamento variável no intervalo entre 50 K e 200 K devido ao rompimento das pontes de hidrogênio que ocorre a 50 K e a recomposição das pontes de hidrogênio devido ao acoplamento das moléculas de água que ocorre a 200 K. O modo $CS_{\text{tr}} B$ também apresenta comportamento variável, pois com o rompimento das pontes de hidrogênio que ocorre em 50 K a molécula da L-cisteína B também terá sua largura de linha alterada e verificamos que quando ocorre o acoplamento das moléculas de água recompondo as pontes de hidrogênio que ocorre em 200 K a sua largura de linha irá diminuir consideravelmente. Nas figuras 17 e 18 os comportamentos apresentados pelos modos vibracionais estão de acordo com o esperado, que é o decaimento em vários outros modos.

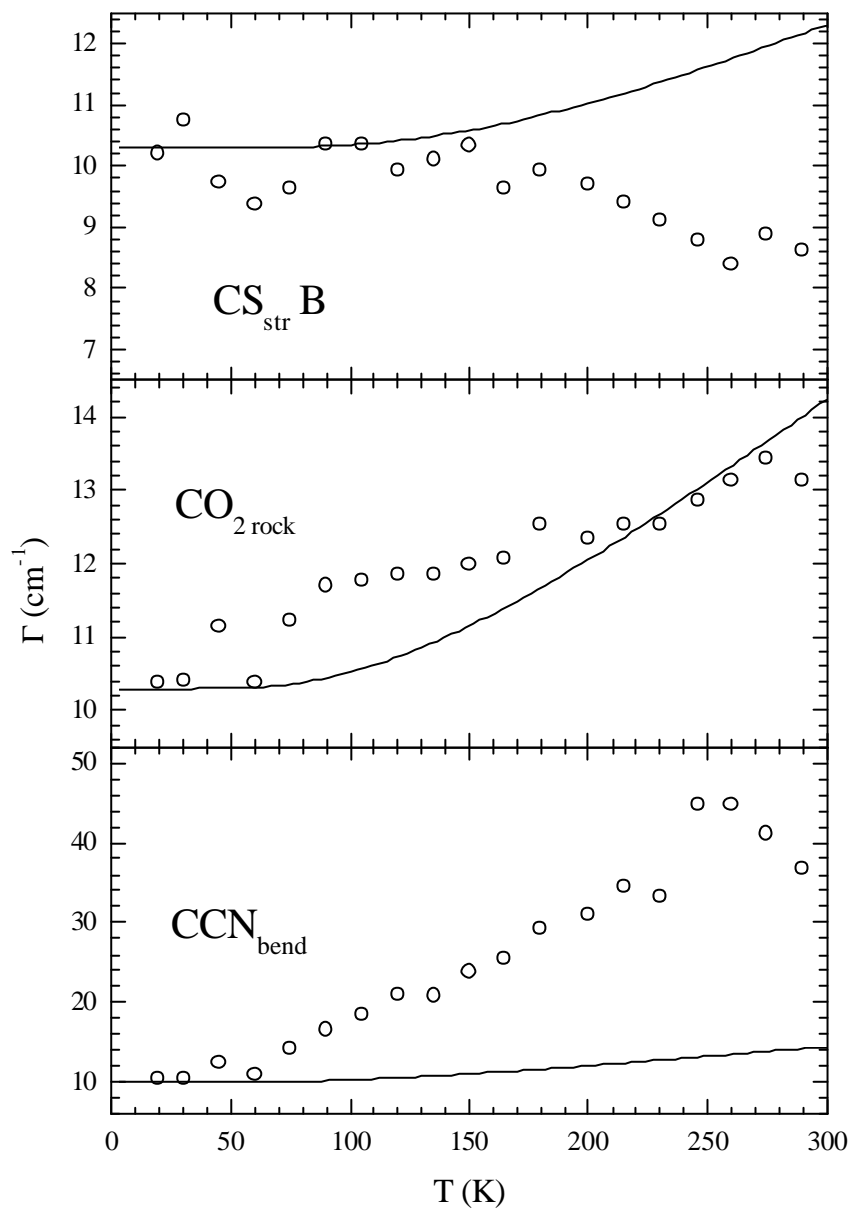


Figura 16. Comportamento da largura de linha com a temperatura.

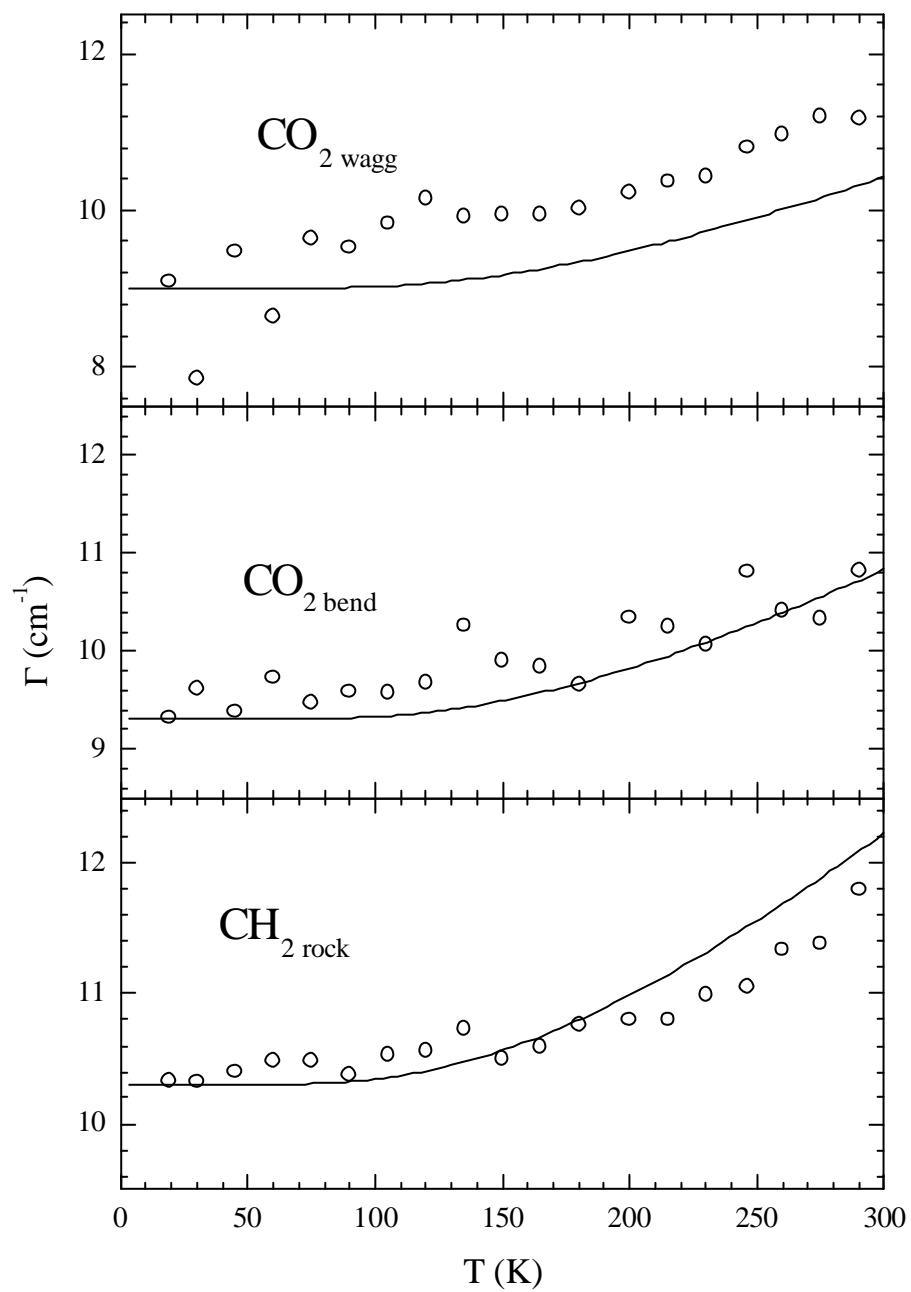


Figura 17. Comportamento da largura de linha com a temperatura

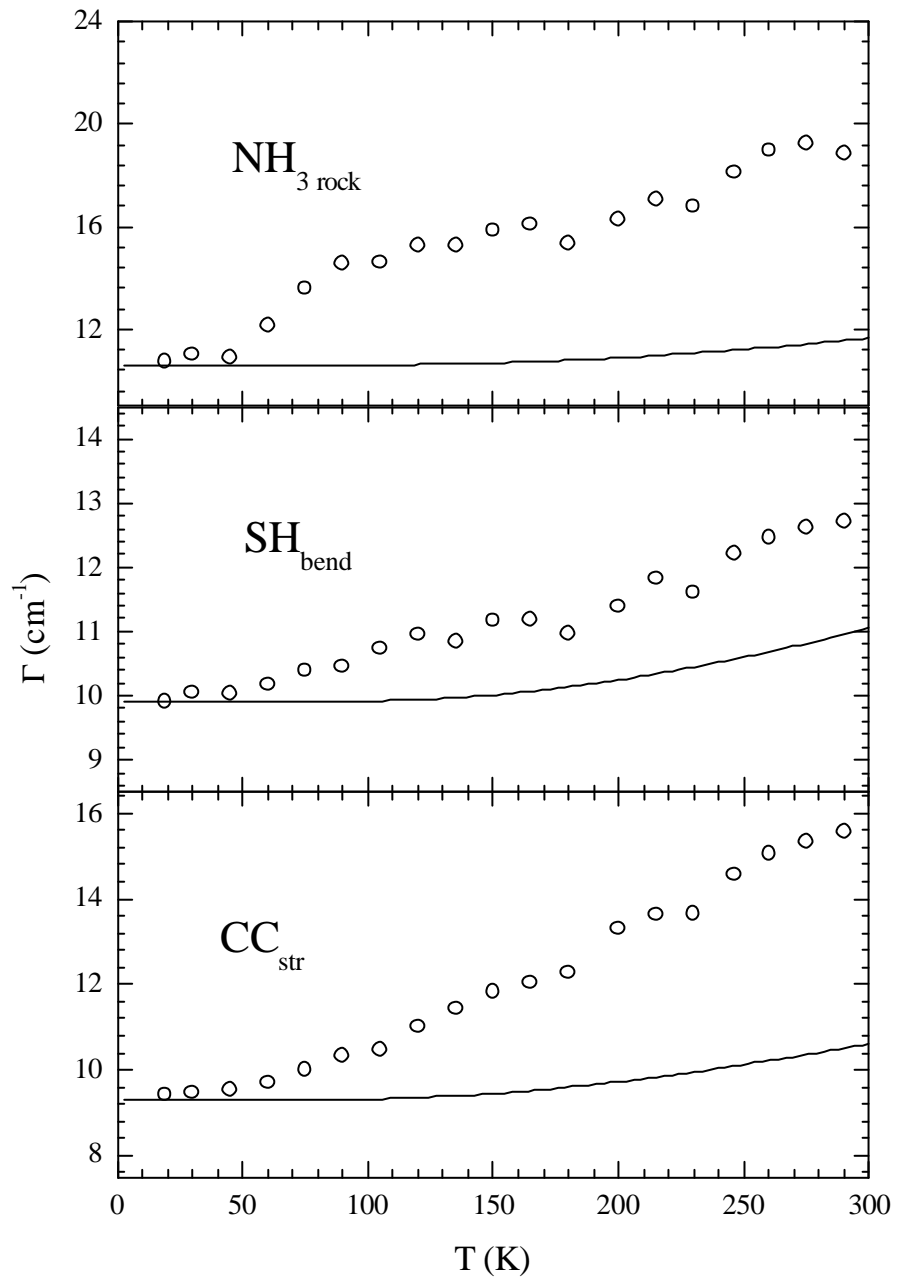


Figura 18. Comportamento da largura de linha com a temperatura.

7 CONCLUSÕES

Os resultados experimentais obtidos foram coerentes com os cálculos executados e os resultados experimentais de Pawlukoje apresentados na tabela 1. (PAWLUKOJC, 2004)

Estudando a evolução com a temperatura dos modos vibracionais entre 500 – 1020 cm^{-1} fomos capazes de distinguir três grupos de modos vibracionais de acordo com o comportamento de sua frequência: (i) os modos de “stretching” do CS e “rocking” do CH_2 apresentaram um amolecimento incomum acima de 50 K; (ii) os modos “rocking” do CO_2 e do NH_3 apresentaram um amolecimento incomum entre 50 – 200 K, com recomposição do comportamento esperado acima de 200 K e (iii) os modos “bending” do CCN e do SH bem como o modo “stretching” do CC e os outros modos do CO_2 apresentaram o comportamento esperado devido à expansão térmica. A ocorrência destes diferentes regimes de comportamento está de acordo com o que foi relatado na literatura para biomoléculas maiores (lisozima, mioglobina, etc), porém sem uma interpretação conclusiva a respeito da origem deste comportamento. Nossos resultados possibilitaram uma interpretação simples destas transições como ocorrendo em função da dinâmica de quebra e recomposição das pontes de hidrogênio do sistema. Abaixo de 50 K a biomolécula apresenta-se com sua estrutura monoclínica estável, entre 50-200 K há o processo de rompimento das pontes de hidrogênio que estabilizam a estrutura e acima de 200 K estas pontes são recompostas por moléculas de água adsorvidas no meio intermolecular. Esta interpretação contrasta com outras suposições da literatura que se baseiam em efeitos mais complexos, como transições quânticas dinâmicas, para explicar este fenômeno.

BIBLIOGRAFIA

- ASHCROFT, N.W.; MERMIM, N.D. **Solid State Physics**. New York: Saunders, 1976.
- BALOG, E. et al., Direct Determination of Vibrational Density of States Change on Ligand Binding to a Protein, **Phys. Rev. Lett.**, v. 93, n.2, p. 028103-028104, 9 Jul. 2004.
- BERDOWSKA, I., Cysteine proteases as disease markers, **Clin. Chim. Acta.** v. 342, p. 41-69, 2004.
- BERGER, M.; STAHL, N. ; GIANNINO, Del Sal; HAUPT, Y., Mutations in Proline 82 of p53 Impair Its Activation by Pin1 and Chk2 in Response to DNA Damage, **Mol. and Cel. Biol.**, v. 25, n. 13, p. 5380-5388, 2005.
- BHALLA, V. et al, DNA electronics, **Eur. Mol. Biol. Org. Rep.**, v. 4, p. 442-445, 2003.
- BJARNE, F. et al., Crystalline ribonuclease A losses function below the dynamical transition at 220 K, **Nature**, v. 357, p. 423-424, 1992.
- BOON, E. M. et al, DNA-mediated charge transport for DNA repair, **Proc. Natl. Acad. Sci**, v.100, n. 22, p. 12543-12547, 2003.
- BRAUM, E. et al., DNA-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire, **Nature**, v. 391, p. 775-778, 1998.
- CALLAWAY, J., **Quantum Theory of the Solid State**. New York: Academic Press, 1974. 2v.
- CARDONA M, **Light scattering in solids II : basic concepts and instrumentation** Berlin: Springer-Verlag, 1982.
- CARDONA, M.; Güntherodt, G., **Topics in Applied Physics**, Heidelberg: Springer-Verlag, 1991. v. 68
- CARPENA, P. et al., Metal-insulator transition in chains with correlated disorder, **Nature**, v. 418, p. 955-959, 2002.
- CHOU, K. C., Origin of low-frequency motions in biological macromolecules. A view of recent progress in the quasi-continuity model, **Biophys. Chem**, v.25, p. 105-116, 1986.
- CHRISTIANSON, A. D.; LACERDA, A. H., Magneto transport of CeRhIn₅, **Phys. Rev. B**, v. 66, p. 054410-054418, 2002.
- CILIBERTI, S; LOS RIOS, P. D.; PIAZZA, F., Glasslike structure of Globular Proteins and the Boson Peak, **Phys. Rev. Lett.**, v.96, p. 198103-198106, 2006.
- COOPER, S. K.; PANDHARE, J.; PHANG, J. M, Proline Oxidase, a Proapoptotic gene , is induced by Troglitazone, **J. Biol. Chem**, v. 281, p. 2044-2052, 2005.

- CORDONE, L. *et al*, Harmonic Behavior of Trehalose- Coated Carbon-Monoxo-Myoglobin at High Temperature, **Biophys. J.**, v. 76, p.1043-1047, 1999
- COWLEY, R. A., **The Raman Effect. New York:** , Marcel Dekker. 1971, v.1.
- COWLEY, R.A., Raman Scattering from Crystals of Diamond Structure, **J. Phys.**, Paris, 26, p. 659-675, 1965.
- CURRO, N. J.; SARRAO; J. L.; THOMPSON, J. D., Low-Frequency Spin Dynamics in the CeMnIn₅ Materials, **Phys. Rev. Lett.**, v. 90, p. 227202-227205, 2003
- CUSACK, S.; DOSTER, W., Temperature dependence of the low frequency dynamics of myoglobin. Measurement of the vibrational frequency distribution by inelastic neutron scattering, **Biophys. J.**, v. 58, p. 243-251, 1990
- DANDLIKER, A. *et al*, Oxidative Thymine Dimer Repair in the DNA Helix, **Science**, v. 275, p. 1465-1468, 1997
- DEMTRÖDER, W. **Laser Spectroscopy: basic concepts and instrumentation.**, New York: Springer, 1996, 2ed
- DIEHL, M. *et al*, Water-coupled low-frequency modes of myoglobin and lysozyme observed by inelastic neutron scattering., **Biophys. J.** V. 73, p. 2726-2732, 1997.
- DÓRA, B. *et al*, Unconventional density wave in CeCoIn₅, **Phys. Rev. B**, v. 71, p. 172502-172505, 2005
- DÓRA, B. *et al*, Gapped optical excitations from gapless phases: Imperfect nesting in unconventional density waves, **Phys. Rev. B**, v. 71, p. 245101-245108, 2005
- DOSTER, W.; CUSACK, S.; PETRY, W., Dynamical transition of myoglobin revealed by inelastic neutron scattering, **Nature**, v. 337, pp.754-756, 1989.
- ENDRES, R. G.; COX, D. L.; SINGH, R., Colloquium: The quest for high-conductance DNA, **Rev. Mod. Phys.** v.. 76, p. 195-209, 2004.
- FINK, H. W. *et al*, Electrical conduction through DNA molecules, **Nature**, v. 398, p.407-410, 1999.
- FISCHER, S.; SMITH, J. C.; VERMA, C. S., Dissecting the vibrational entropy change on protein/ligand binding: burial of a water molecule in bovine pancreatic trypsin inhibitor, **J. Phys. Chem. B**, v. 105, p. 8050-8055, 2001
- FRAUENFELDER, H.; PARAK, F.; YOUNG, R. D., Relaxations and Fluctuations in Myoglobin, **Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.**, v. 17, pp. 451-479, 1988.
- FRAUENFELDER, H.; SLIGAR, S. G., WOLYNES, P. G., The energy landscapes and motions of proteins, **Science** v. 254, p.1598-1603, 1991.

- FRICK, B.; FETTERS, L. J., Methyl Group Dynamics in Glassy Polyisoprene: A Neutron Backscattering Investigation, **Macromolecules**, v. 27, p. 974-980, 1994.
- FRICK, B.; RICHTER, D., The Microscopic Basis of the Glass Transition in Polymers from Neutron Scattering Studies, **Science**, v. 267, p. 1939-1945, 1995.
- GARCIA-FLORES, A. *et al*, Anomalous phonon shifts in the paramagnetic phase of multiferroic RMn_2O_5 (R=Bi, Eu, Dy): Possible manifestations of unconventional magnetic correlations, **Phys. Rev. B**, v. 73, p.104411-14416, 2006.
- GRANADO, E. *et al*, Dramatic Changes in the Magnetic Coupling Mechanism for La-Doped CaMnO_3 , **Phys. Rev. Lett.**, v. 86, p. 5385-5388, 2001.
- GRIGERA, T. S.; MARTÍN-MAYOR, V.; PARISI, G.; VERROCCHIO, P., Phonon interpretation of the 'boson peak' in super cooled liquids, **Nature**, v. 422, p. 289-292, 2003
- HAKEN, H.; WOLF H. C., **Molecular Physics and Elements of Quantum Chemistry**, Springer, 1998
- HANLON, E. B. *et al*, Prospects for in vivo Raman spectroscopy, **Phys. Med. Biol.**, v. 45, R1-59, 2000.
- HERMON, Z.; CASPI, S.; BEN-JACOB, E., Prediction of charge and dipole solitons in DNA molecules based on the behavior of phosphate bridges as tunnel elements, **Europhys. Lett**, v. 43, p. 482-487, 1998.
- IBACH, H.; LÜTH, H.; **Solid-State Physics An Introduction to theory and experiment**, Springer-Verlag, 1993.
- JALKANEN, K. J. *et al*, Use of vibrational spectroscopy to study protein and DNA structure, hydration, and binding of biomolecules: A combined theoretical and experimental approach, **Int. J. of Quantum Chem.**, v. 106, p.1160-1198, 2005.
- JIANG, J. *et al*, Intensity of the resonance Raman excitation spectra of single-wall carbon nanotubes, **Phys. Rev. B**, v. 71, pp. 205420-205432, 2005.
- JOTI, Y.; KITAO, A.; GO, N., Protein Boson Peak Originated from Hydration-Related Multiple Minima Energy Landscape, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 127, p. 8705-8709, 2005.
- KASUMOV, A., Proximity-Induced Superconductivity in DNA, **Science**, v. 291, pp. 280-282, 2001.
- KATAOKA, M. *et al*, Low energy dynamics of globular proteins studied by inelastic neutron scattering **J. Phys. Chem. Solids**, v. 60, p. 1285-1289, 1999.
- KLEMERS, P. G., Anharmonic Decay of Optical Phonons, **Phys. Rev.**, v. 148, p. 845-848, 1966.
- KRAFFT, C. *et al*, Interaction of Tet Repressor with Operator DNA and with Tetracycline Studied by Infrared and Raman Spectroscopy, **Biophys. J.**, v. 74, p. 63-71, 1998.

KUHL J.; BRON, W.E., **Physics of Semiconductors**, ed. M. Averous, North-Holland, Amsterdam, 1983.

KURKAL-SIEBERT, V.; SMITH, J. C., Low-Temperature Protein Dynamics: A Simulation Analysis of Interprotein Vibrations and the Boson Peak at 150 K, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 128, pp. 2356-2364, 2006.

LEE, C. et al., Vibrational dynamics of DNA III Molecular dynamics simulations of DNA in water and theoretical calculations of the two-dimensional vibrational spectra, **J. Chem. Phys.** v. 125, p. 114510-14520, 2006

LEHNINGER A. L.; NELSON D. L.; COX M., **Lehninger Principles of Biochemistry**, W. H. Freeman & Co., 2004, 4 ed

LODISH, H.; BALTIMORE, D.; BERK, A.; ZIPURSKY, S. L.; MATUSUDAIRA, P.; DARNELL, J.; **Molecular Cell Biology**; Scientific American Books: New York 1995; p 55.

MADLUNG O., **Introduction to Solid State Theory**, Springer, Berlin, 1996.

MARTINHO, H. *et al*, Magnetic properties of the frustrated antiferromagnetic spinel $ZnCr_2O_4$ and the spin-glass $Zn_{1-x}Cd_xCr_2O_4$, **Phys. Rev. B**, v. 64, p.24408-24413, 2001.

MARTINHO, H. *et al*, Vibrational and electronic excitations in the (Ce, La)MIn₅ (M=Co, Rh) heavy-fermion family. **Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics**, v. 75, p. 45108-45113, 2007.

MARTINHO, H. et al, Role of the E_{2g} phonon in the superconductivity of MgB₂: a Raman scattering study, **Sol. Stat. Comm.**, v. 125, p. 499-502, 2003.

MENENDEZ, J.; CARDONA, M., Temperature dependence of the first-order Raman scattering by phonons in Si, Ge, and α -Sn: Anharmonic effects, **Phys. Ver. B**, v. 29, pp. 2051-2059, 1984.

MERLIN, R ; WEBER, W. H., **“Raman Scattering in Materials Science”**, Berlin:Springer, 2001

MERZBACHER, E., **Quantum Mechanics**, 3.ed, John-Wiley & Sons, N.Y., 1998.

MIKI, Y.; SWANSEN, J.; SHATTUCK-EIDENS, D., et al, A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1, **Science**, v. 266, p. 66-71, 1994

MOGGACH, S. A. et al., High-pressure polymorphism in L-cysteine: the crystal structures of L-cysteine III and L-cysteine IV, **Acta Cryst. B**, v. 62, p. 296-309, 2006.

MOURACHKINE, A, Quasi-One-Dimensional Topological-Excitation Liquid in Bi2212 from Tunneling Spectroscopy, **J. Supercond.**, v. 14, p. 329-345, 2001.

O'BRIEN, F. E. M., The Control of Humidity by Saturated Salt Solutions, **J. Sci. Instr.** v. 21, p. 73-76, 1948.

OSTERMANN, A. *et al*, Ligand binding and conformational motions in myoglobin, **Nature**, v. 404, p. 205-208, 2000.

PARAK, F.; KNAPP, E. W., A Consistent Picture of Protein Dynamics, **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v. 81, p. 7088-7092, 1984.

PAWLUKOJC, A.; PADUREANU, I.; ARANGHEL, D., Inelastic neutron scattering, infrared, spectroscopy, Raman spectroscopy and ab initio study of L-cysteine, **Spectrochimica Acta Part A**, v. 61, p. 2474–2481, 2005

PEYRARD, M., **Nonlinear Excitations in Biomolecules**, Berlin:Springer-Verlag,1995.

PIAZZA, F. *et al.*, Slow Energy Relaxation of Macromolecules and Nanoclusters in Solution, **Phys.Rev.Lett.** v. 94, p. 145502, 2005.

PINCZUK, A.; BURNSTEIN E., **Light Scattering in Solids** (Topics in Applied Physics, v. 8), Berlin, Springer-Verlag, 1982.

PORATH, D. *et al*, Backbone-induced semiconducting behavior in short DNA wires, **Phys. Rev. B**, v. 65, pp. 241314-241317, 2002.

RAHMAN, I.; ADCOCK, I. M., Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD, **EUROPEAN RESPIRATORY JOURNAL**, v. 28, p. 219-242, Jul 2006

RAINWATER, R. *et al*, Role of Cysteine Residues in Regulation of p53 Function, **Mol. Cell. Biol.**, v.15, p.3892-3903, 1995.

RAKITIN, A. *et al*, Metallic Conduction through Engineered DNA: DNA Nanoelectronic Building Blocks, **Phys.Rev.Lett.** v. 86, p.3670-3673, 2001.

REIF, F., **Fundamentals of Statistical and Thermal Physics**, Sigapura, McGraw-Hill, 1985

ROH, J. H. *et al*, Onsets of Anharmonicity in Protein Dynamics, **Phys. Rev. Lett.** v 98, p. 38101-38104, 2005.

ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P. S.P.S. Porto, Normal mode determination in crystals, **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 10, p. 253-290, 1981.

SADLEJ, J. *et al*, DFT study of vibrational circular dichroism spectra of D-lactic acid-water complexes, **Phys. Chem., Chem. Phys.**, v. 8, p. 101-113, 2006.

THOMAS JR.; GEORGE, J., Raman Spectroscopy of Protein and Nucleic Acid Assemblies, **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v. 28, p. 1 -27, 1999

TIDOR, B.; KARPLUS, M., The contribution of vibrational entropy to molecular association. The dimerization of insulin., **J. Mol. Biol.**, v. 238, p. 405-414, 1994.

TSEN, K.T. *et al*, Observation of large electron drift velocities in Inn by ultrafast Raman spectroscopy, **App. Phys. Lett.** v. 86, p. 222103-222105, 2005.

TWARDOWSKI, J.; ANZENBACHER, P., “**Proteins,**” **Chap. 4 in *Raman and IR spectroscopy in biology and biochemistry***, New York: Ellis Horwood, 1994. p. 107-202.

VON DER LINDE, D.; KUHL, J.; KLINGENBERGER, H., Raman Scattering from Nonequilibrium LO Phonons with Picosecond Resolution, **Phys. Rev. Lett.** v. 44, p. 1505-1508, 1980.

WATSON, T. M.; HIRST, J. D., Theoretical studies of the amide I vibrational frequencies of [Leu]-enkephalin, **Molecular Physics**, v. 103, p. 1531-1536, 2005.

WOOSTER, R.; BIGNELL, G.; LANCASTER, J. et al, BRCA2 mutations in primary breast and ovarian cancers, **Nature**, v. 13, p. 238-240, 1996.

YOO, K.-H *et al*, Electrical Conduction through Poly(dA)-Poly(dT) and Poly(dG)-Poly(dC) DNA Molecules, **Phys.Rev.Lett.** v. 87, p.198102-198105, 2001.

ZHANG, Y. *et al*, Insulating Behavior of α -DNA on the Micron Scale, **Phys. Rev. Lett.** v. 89, p. 198102-198105, 2002.