

Marcelo Nunes Coelho

*Espectroscopia Raman de policristais de
Clorohidrato de L-cisteína sob altas
pressões*

Fevereiro de 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

Marcelo Nunes Coelho

*Espectroscopia Raman de policristais de
Clorohidrato de L-cisteína sob altas
pressões*

Dissertação apresentada ao Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Física.

Orientador:

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire

Fortaleza – CE

Fevereiro de 2010

C618e	<p>Coelho, Marcelo Nunes</p> <p>Espectroscopia Raman de Policristais de Clorohidrato de L-Cisteína sob Altas Pressões/ Marcelo Nunes Coelho.</p> <p>- Fortaleza: [s.n.], 2010.</p> <p>74 f.:il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Departamento de Física.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.</p> <p>1.Espectroscopia Raman. 2.L-Cisteína. 3.Aminoácidos. 4. Ligações de Hidrogênio. I. Título.</p> <p>535.846</p>
-------	--

Dissertação de Mestrado sob o título Espectroscopia Raman de Policristais de Clorohidrato de L-cisteína sob altas pressões, defendida por Marcelo Nunes Coelho e aprovada em 19 de Fevereiro de 2010, em Fortaleza, Ceará, pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire
Departamento de Física - UFC
Orientador

Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho
Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia -
UFMA

Prof. Dr. Diniz Maciel Sena Júnior
Departamento de Ciências Físicas e Biológicas - URCA

Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo
Departamento de Física - UFC

À minha filha Fernanda;

Aos meus pais Evandro e Cecília, *fãs* incondicionais, simplesmente por tudo;

Aos meus irmãos Mara, Mardônio, Patrícia, Fábio e Flávio por sempre torcerem por mim e, em especial à minha irmã Magna pela sua prestatividade em todos os momentos;

À minha amiga Gerusa, pelo apoio e paciência;

Aos meus avós Anália, José Coelho (*in memorian*), Ceci e João Severino (*in memorian*) pelas lições de vida;

Aos meus amigos, Rafael, Glauber, Robério e, especialmente, à Lelê e ao Mardônio;

Às minhas/meus fiéis torcedoras/es e, por isso, grandes amigas(os), Célia, Caroline Jaguaribe e Raimundo Sérgio;

Ao João Paulo e à sua mãe Sílvia Helena por sua imensa generosidade;

Ao Bruno Melo e aos seus pais Neuma e Eudes;

À pessoa que me abriu a primeira porta profissional, Josenildo Virgínio.

*“O mundo é um lugar perigoso de se viver, não por causa daqueles que fazem o mal,
mas sim por causa daqueles que observam e deixam o mal acontecer”.*

(Albert Einstein)

Agradecimentos

Pela possibilidade de realizar este trabalho e por todo o apoio durante esses dois anos, eu agradeço:

Ao meu orientador, Prof. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, pela imensa paciência e dedicação em orientar um aluno sem nenhuma experiência em pesquisa, e pela forma paterna como trata todos os alunos do departamento;

Aos professores da Pós-graduação da UFC, Euclimar Passos, Jeanlex Soares e Eduardo Bedê pelos conhecimentos repassados;

Aos meus ex-professores e eternos amigos, Carlos Braga, Miguel Petrarca, José Alves e Aureliano;

Ao colega Bruno Abagaro, pela ajuda em muitas ocasiões;

Aos amigos Agmael, Valdenir, Danila, Florêncio, Sílvia e Alberto, pelas dúvidas plantadas e dirimidas durante as disciplinas;

À Gardênia e ao Cleânio pelas ajudas no laboratório Raman;

Ao Prof. Josué Mendes Filho, pela preocupação que tem para com todos os alunos do departamento;

Ao CNPq e à Funcap, pelo apoio financeiro.

Resumo

Neste trabalho foi feito o estudo do comportamento dos modos vibracionais presentes nos espectros Raman de policristais de clorohidrato de L-cisteína, submetidos a condições diversas de pressão entre 0 e 6,86 GPa. Para as medidas de pressão foi utilizada uma célula de pressão com extremos de diamante do tipo *National Bureau of Standard*. Verificou-se uma mudança significativa em praticamente todas as regiões do espectro Raman da amostra por volta de 0,8 GPa, inclusive na região relacionada aos modos da rede. Essa alteração nos espectros é um indicativo de que uma transição de fase estrutural ocorreu nesse valor de pressão. Neste valor de pressão também foi observado o surgimento de uma banda que foi associada a uma vibração de estiramento CC e uma banda entre 3300 e 3400 cm^{-1} . Entre 1,66 e 2,31 GPa ocorreram mudanças em alguns modos internos, embora não estejam associadas a alguma transição de fase. Verificou-se também, que alguns espectros apresentam mudanças suaves entre 3,5 e 4,5 GPa. Porém, elas não ocorrem na região dos modos externos e, portanto, não estão associadas à mudança de simetria do cristal. Finalmente, após um estudo de descompressão, verificou-se que a transição de fase é reversível.

Abstract

In this paper it was done a study of the behavior of vibration ways that appear in Raman spectra of polycrystal of L-cysteine.HCl, under different conditions of pressure between 0 and 6.86GPa. To measure of pressures, it was utilized a cell of pressure with diamonds ends, according to National Bureau of Standard. It was observed a strong change in almost all regions of Raman spectra around 0.8GPa, inclusive in the region related to the lattice modes. These alterations in spectras mean that a structural transition of phase took place in this level of pressure. At the same value of pressure, it was noticed the appearing of a band that was associated to a vibration of CC stretching and to a band between 3300 and 3400 cm^{-1} . Between 1.66 and 2.31GPa occurred changes in some internal modes, but not associated to any phase transition. It was also observed that some spectras shown small changes between 3.5 and 4.5GPa. However, they don't occurred in the region of external modes and, therefore, they are not associated to any change of the crystal symmetry. Finally, after a study of decompression, we came to the conclusion that the phase transitions are reversible.

Sumário

Lista de Figuras	p. xi
1 Introdução	p. 13
1.1 Estudos com pressão e temperatura em aminoácidos	p. 16
2 Aspectos Teóricos	p. 21
2.1 O Espalhamento Raman	p. 21
2.1.1 Introdução	p. 21
2.1.2 Estudo Teórico	p. 22
2.1.3 Polarizabilidade	p. 23
2.2 Ligações de Hidrogênio	p. 25
2.3 A L-Cisteína	p. 28
2.3.1 A L-cisteína.HCl	p. 33
3 Parte Experimental	p. 34
3.1 Introdução	p. 34
3.2 Medidas de Espectroscopia Raman	p. 34
3.3 Medidas sob altas pressões	p. 35
3.4 Procedimentos experimentais para as medidas sob pressão hidrostática	p. 36
4 Espectros Raman da L-Cisteína.HCl	p. 39
4.1 Espectros Raman da L-Cisteína.HCl sob altas pressões	p. 39
4.1.1 Região espectral entre 50 e 250 cm^{-1}	p. 39
4.1.2 Região espectral entre 250 e 600 cm^{-1}	p. 42
4.1.3 Região espectral entre 600 e 1300 cm^{-1}	p. 44
4.1.4 Região espectral entre 1300 e 1900 cm^{-1}	p. 46
4.1.5 Região espectral entre 2400 e 2800 cm^{-1}	p. 48
4.1.6 Região espectral entre 2800 a 3500 cm^{-1}	p. 50
4.2 Modificação espectral sob descompressão de 6,86 a 0 GPa	p. 54

4.2.1	Região espectral entre 50 e 250 cm^{-1}	p. 54
4.2.2	Região espectral entre 250 e 600 cm^{-1}	p. 54
4.2.3	Região espectral entre 600 e 1300 cm^{-1}	p. 55
4.2.4	Região espectral entre 1300 e 1900 cm^{-1}	p. 56
4.2.5	Região espectral entre 2400 e 2800 cm^{-1}	p. 56
4.2.6	Região espectral entre 2800 e 3500 cm^{-1}	p. 57
5 Conclusões e Perspectivas		p. 59
Referências		p. 61

Lista de Figuras

1	Forma neutra (a) e <i>zwitterion</i> (b) de um aminoácido	p. 14
2	As estruturas tridimensionais dos vinte aminoácidos protéicos	p. 15
3	Os dois enantiômeros de um aminoácido geral. A forma L está à esquerda na figura.	p. 16
4	Diagrama de níveis para o espalhamento Raman Stokes (a) e espalhamento Raman anti-Stokes (b)	p. 23
5	Molécula do aminoácido cistina formado a partir da oxidação da cisteína	p. 30
6	As células unitárias das duas formas da L-Cisteína. (a) monoclinica, (b) ortorrômbica.	p. 31
7	Duas moléculas simetricamente independentes. (A) conformação <i>gauche</i> e (B) conformação <i>anti</i> , presentes na célula unitária da fase polimórfica monoclinica da L-cisteína. Na fase ortorrômbica somente moléculas da conformação A estão presentes.	p. 31
8	Esquema do sistema de espalhamento Raman utilizado para as medidas dessa dissertação	p. 35
9	Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 usado nas medidas de espalhamento Raman	p. 35
10	(a) Representação esquemática da célula de pressão a extremos de diamante, (b) representação esquemática do interior da célula de pressão a extremos de diamante e corte lateral da gaxeta. Sobre e sob a gaxeta encontram-se os diamantes e, dentro do orifício, são colocados a amostra, o rubi e o meio compressor.	p. 37
11	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região dos modos da rede.	p. 41
12	Dependência da frequência com a pressão na região de 50 a 250 cm^{-1}	p. 42
13	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 250 a 600 cm^{-1}	p. 44
14	Dependência da frequência com a pressão na região de 250 a 600 cm^{-1}	p. 45
15	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 600 a 1300 cm^{-1}	p. 46
16	Dependência da frequência com a pressão na região de 600 a 1300 cm^{-1}	p. 47
17	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 1300 a 1900 cm^{-1}	p. 48

18	Dependência da frequência com a pressão na região de 1300 a 1900 cm^{-1}	p. 49
19	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 2400 a 2800 cm^{-1}	p. 50
20	Dependência da frequência com a pressão na região de 2400 a 2800 cm^{-1}	p. 51
21	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 2800 a 3500 cm^{-1}	p. 52
22	Dependência da frequência com a pressão na região de 2800 a 3500 cm^{-1}	p. 52
23	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 50 a 250 cm^{-1}	p. 54
24	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 250 a 600 cm^{-1}	p. 55
25	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 600 a 1300 cm^{-1}	p. 55
26	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 1300 a 1900 cm^{-1}	p. 56
27	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para a pressão entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 2400 a 2800 cm^{-1}	p. 57
28	Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 60.6 e 0,01 GPa na região de 2800 a 3500 cm^{-1}	p. 57

1 Introdução

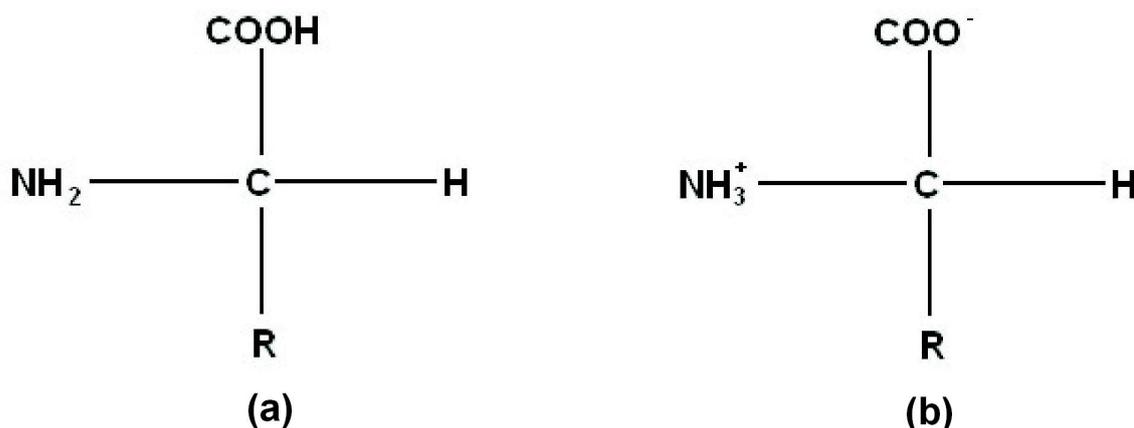
O interesse pelo estudo de cristais orgânicos tem crescido ultimamente devido às possibilidades de aplicações tecnológicas e ao advento de novas técnicas experimentais. Nesse âmbito, deve-se destacar o estudo de cristais de aminoácidos. Aminoácidos são as unidades básicas formadoras dos peptídeos, das proteínas, e também precursores de outras moléculas como: hormônios, coenzimas, nucleotídeos, polímeros de paredes celulares, etc. São, por isso, compostos indispensáveis para a manutenção da vida. Todos os aminoácidos são constituídos de um grupo carboxílico ($COOH$), um grupo amina (NH_2), um hidrogênio (H) e um radical (R), todos ligados ao mesmo átomo de carbono, denominado carbono alfa. O radical é o responsável pelas diferentes propriedades dos diversos aminoácidos, dentre as quais: estrutura, tamanho da molécula, carga elétrica e solubilidade em água. Existem vários tipos de aminoácidos, mas apenas 20 deles participam da formação das proteínas. A Tabela 1 mostra os nomes, as abreviaturas e os radicais de cada um dos 20 aminoácidos protéicos.

Quando cristalizados os aminoácidos se apresentam na forma de íon dipolar (*zwitterion*), onde o grupo carboxílico perde o hidrogênio (tornando-se COO^-) para o grupo amina (que passa a NH_3^+ - cátion amônio primário). A Figura 1 mostra a estrutura geral de um aminoácido nas formas neutra e *zwitterion* e a Figura 2 mostra a estrutura tridimensional de todos os 20 aminoácidos protéicos.

Os aminoácidos são classificados de diversas formas. Quanto à quiralidade (propriedade que a molécula tem de girar o plano de polarização da luz em determinada

Tabela 1: Nomes, abreviaturas, símbolos e radicais dos vinte aminoácidos protéicos

Denominação	Abreviatura	Símbolo	Radical
Alanina	Ala	A	CH_3
Arginina	Arg	R	$(CH_2)_3NHC(NH_2^+)NH_2$
Asparagina	Asn	N	CH_2CONH_2
Ácido Aspártico	Asp	D	CH_2COO^-
Cisteína	Cys	C	$SH(CH_2)$
Glutamina	Gln	Q	$NH_2CO(CH_2)_2$
Ácido Glutâmico	Elu	A	$COOH(CH_2)_2$
Glicina	Gly	G	H
Histidina	His	H	$(C_3N_2H_4)CH_2$
Isoleucina	Ileu	I	$CH(CH_3)CH_2CH_3$
Leucina	Leu	L	$CH_2CH(CH_3)_2$
Lisina	Lys	K	$NH_2(CH_2)_4$
Metionina	Met	M	$CH_3S(CH_2)$
Fenilalanina	Phe	F	$(C_6H_5)CH_2$
Prolina	Pro	P	$3CH_2$
Serina	Ser	S	$OH(CH_2)$
Treonina	Thr	T	$(CH_3)(OH)CH$
Triptofano	Try	W	$(C_6H_4)HNC_2HCH_2$
Tirosina	Tyr	Y	$(OHC_6H_4)CH_2$
Valina	Val	Va	$(CH_3)_2CH$

Figura 1: Forma neutra (a) e *zwitterion* (b) de um aminoácido

direção), os aminoácidos podem ser dextrógiros (D) ou levógiros (L), conforme girem o plano de polarização para a direita ou para a esquerda, respectivamente. Também podemos classificar os aminoácidos quanto aos radicais como: i) Apolares ou hidrofóbicos (alanina, valina, glicina [Biochemistry, Voet], leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptofano e metionina); ii) Polares não-carregados ou hidrofílicos (serina, cisteína, tirosina, asparagina e glutamina) e iii) Polares carregados, que por sua vez podem ser carregados negativamente - ácidos -(ácido aspártico e ácido glutâmico) ou carregado positivamente - básicos - (lisina, arginina e histidina). Outra possível classificação divide os aminoácidos em essenciais (aqueles que não podem ser produzidos pelo corpo humano, tendo que ser

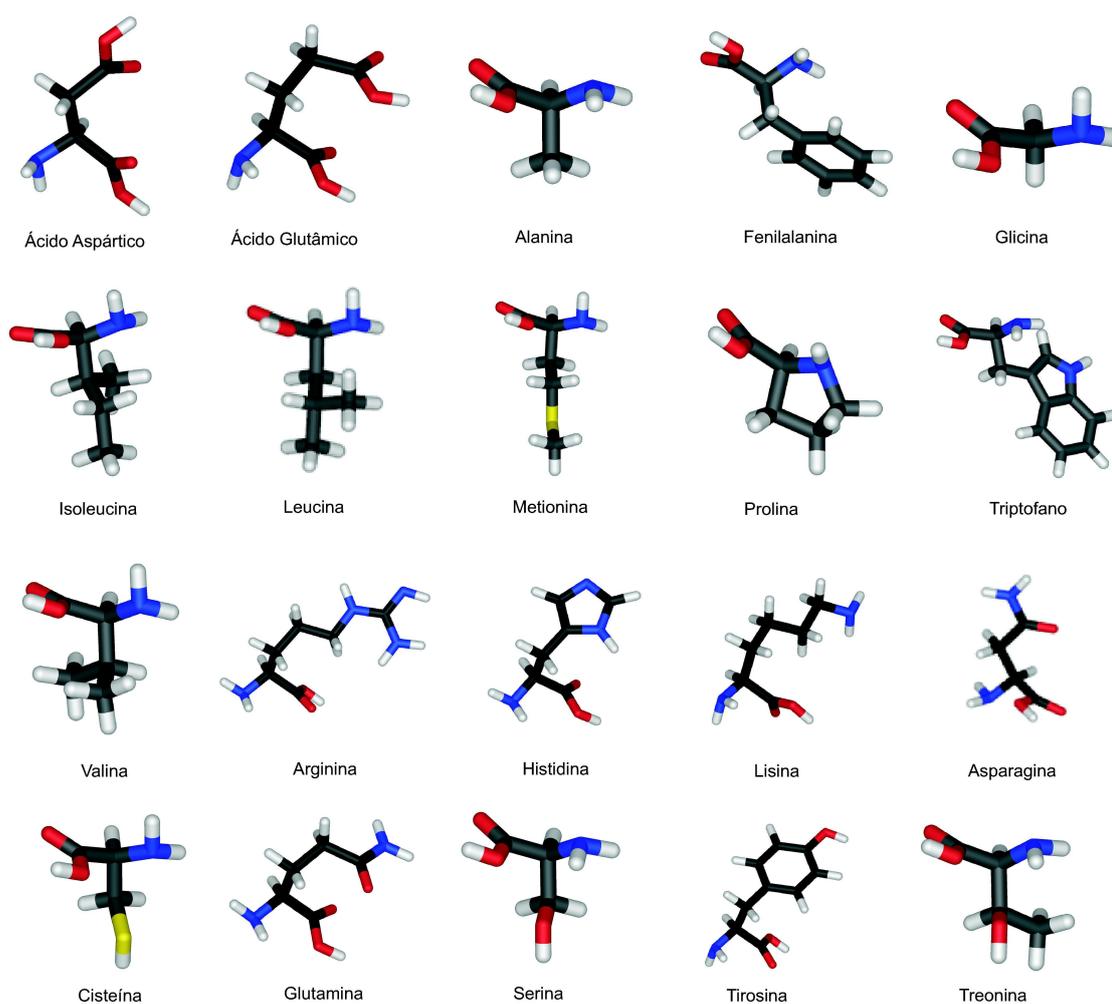


Figura 2: As estruturas tridimensionais dos vinte aminoácidos protéicos

ingeridos): arginina, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, serina, treonina, triptofano e valina; e não-essenciais (aqueles que o próprio corpo humano é capaz de sintetizar): alanina, asparagina, cisteína, glicina, glutamina, histidina, prolina, tirosina, ácido aspártico e ácido glutâmico [1].

Todos os aminoácidos, exceto a glicina apresentam quiralidade. Moléculas que possuem quiralidade são chamadas enantiômeros. As formas L e D diferem somente pela posição do radical em relação ao carbono alfa. Na Figura 3, pode-se ver as formas L e D de um aminoácido geral na forma *zwitterion*.

Embora as duas configurações dos aminoácidos (D e L) sejam, do ponto de vista

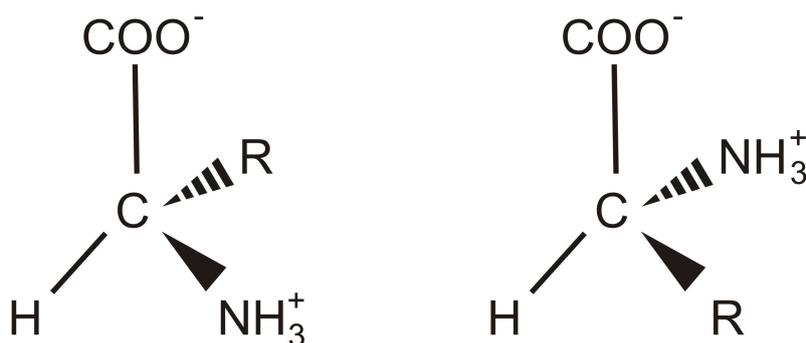


Figura 3: Os dois enantiômeros de um aminoácido geral. A forma L está à esquerda na figura.

energético, igualmente favoráveis, é inevitável notar que, na composição das proteínas, encontramos apenas a forma L. Este fato levantou grandes discussões e mereceu atenção do prêmio Nobel Abdus Salam que sugeriu a hipótese de que em baixas temperaturas deve haver uma transição de fase da forma D para a forma L [2], o que a teria tornado predominante na natureza. Outra hipótese também foi levantada: a de que o bombardeio de radiação ultravioleta a uma mistura racêmica de aminoácidos D e L também favoreceria o acúmulo da última forma [3]. Fato é que nenhuma das duas hipóteses foi confirmada até hoje.

Devido a sua potencial aplicabilidade em diversas áreas [4, 5, 6, 7], tornou-se interessante caracterizar e estudar a estrutura cristalina dos aminoácidos. A fim de promover esses estudos, diversas técnicas experimentais foram empregadas, tais como difração de raios-X [8, 9, 10, 11], difração de nêutrons [9, 12], absorção infravermelho [8, 13] e espectroscopia Raman [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20].

1.1 Estudos com pressão e temperatura em aminoácidos

Verificar a existência ou não de polimorfismos nos aminoácidos tornou-se interessante e útil para diversas áreas como geoquímica [4], medicina e farmacologia [5], ótica não linear [6, 21] e piezoelectricidade [7]. Assim, passou-se a estudar a estabilidade estrutural de cristais de aminoácidos submetidos a condições extremas de pressão e de temperatura.

Estudos desse tipo revelam novos e importantes aspectos de sistemas biológicos como estrutura e funções de moléculas, e estão ajudando no entendimento de funções biológicas excepcionalmente complicadas de organismos vivos [22]. Além do mais, cristais moleculares exibem uma larga região de interações intermoleculares, de fortes contatos iônicos e ligações de hidrogênio a fracas interações de van der waals e a aplicação de altas pressões à materiais orgânicos é uma forma muito poderosa para provar a natureza dessas interações [23].

Em pressões relativamente modestas (0,3-0,8 GPa) as proteínas tendem a desdobrar-se, e água é forçada para o seu interior. Até o momento, não é claro como os efeitos da pressão estão relacionados à estrutura de aminoácidos. Assim, estudos com pressão sobre aminoácidos individuais são o início de uma tentativa para responder essa questão [24].

Estudos com pressão em cristais de aminoácidos foram inicialmente realizados no Departamento de Física da UFC na década de noventa [16, 19]. Hoje, no entanto, muitos trabalhos já foram publicados na literatura. A seguir são apresentados os principais resultados de alguns desses trabalhos.

A L-asparagina monohidratada sofre três transições de fase em pressões menores que 2 GPa [19]. Tais mudanças foram verificadas através de modificações nos espectros Raman do cristal nas regiões de baixo e alto número de onda, e confirmadas por medidas de difração de raios-X.

A L-alanina, o mais simples de todos os aminoácidos quirais (seu radical é formado por um grupo CH_3), foi estudada sob pressão e apresentou uma transição de fase em 2,3 GPa [16]. Este mesmo estudo mostrou que uma modificação no número de modos externos estava relacionado com uma modificação estrutural naquela pressão. Mais ainda: foi observado que mudanças nas intensidades tanto de modos internos quanto de modos externos acontecendo exatamente em 2,3 GPa estavam associados a esta transição de

fase. Não foi possível determinar a nova fase apresentada pelo cristal. No entanto, em outra referência [11] foi feito o estudo de difração de raios-X com radiação síncrotron do cristal L-alanina a altas pressões. Tal estudo veio confirmar a transição estrutural em 2,3 GPa e identificar a nova fase como tetragonal. O trabalho também mostrou que em 9 GPa há uma nova transição de fase para uma fase monoclinica. Na DL-alanina a baixas temperaturas (até 15 K) nenhuma mudança estrutural foi observada. No entanto, uma mudança na inclinação das curvas de algumas frequências sugere que algum tipo de acomodação esteja ocorrendo com as moléculas de alanina na célula unitária [25]. Cristais de L-Alanina parcial e totalmente deuterada também foram estudados em função da temperatura [26]. Nesse trabalho uma separação de duas bandas no espectro da L-alanina- d_7 em aproximadamente 250 K pode estar associada a uma transição de fase estrutural ou a um simples rearranjo das moléculas na célula unitária. Outro estudo feito com L-alanina- d_7 [27] verificou o comportamento desse aminoácido sob pressão, e foi possível concluir que a deuteração do aminoácido alonga as ligações intramoleculares envolvendo os hidrogênios (deutérios), o que faz com que as transições de fase que haviam sido verificadas no aminoácido normal ocorressem no deuterado em mais baixas pressões.

O único aminoácido protéico não-quiral, a glicina, apresenta uma série de polimorfos (α , β , γ , δ e ζ). A forma α mostrou-se estável em estudos por difração de raios-X até 4 GPa [28] e até 23 GPa em estudos por espectroscopia Raman [29]. A forma β sofre uma transição de fase estrutural reversível e sem histerese em 0,76 GPa [30] e a forma γ se transforma em outra fase, δ , em 1,9 GPa [31]. Esta última contradiz um pouco o estudo feito por difração de raios-X [32], no qual a transição só foi observada iniciando-se em 2,7 GPa. Isto é interessante porque ilustra o fato de que muitas vezes a interpretação não é direta e trivial, dando margem a eventuais ambigüidades.

Estudos com o aminoácido L-treonina mostraram três possíveis transições de fase: uma verificada entre 2,03 e 2,24 GPa, outra possível transição entre 2,69 e 2,88 GPa, além de uma possível terceira transição de fase entre 3,56 e 3,95 GPa [33, 34, 35]. Na referência [33] é feito o estudo em função da temperatura de 20 a 463 K. Os mesmos não

revelaram nenhuma mudança no cristal de treonina, embora a perda de sinal e o alargamento das bandas pareçam indicar a criação de uma certa desordem.

A taurina (aminoácido não protéico) revelou uma mudança estrutural em 0,7 GPa e outra possível mudança em 5,2 GPa [22]. Sob temperatura este aminoácido sofre uma transição de fase entre 250 e 260 K [36]. Ambas as mudanças, seguidas através de medidas de espalhamento Raman, ocorrem com alguma variação nos modos da rede, na região de baixo número de onda.

Alguns dos modos NH_3^+ e COO^- da DL-serina apresentam descontinuidades em 1,5 GPa quando feito o estudo de espalhamento Raman desse aminoácido. Este fenômeno é interpretado como sendo devido à uma mudança na natureza das ligações de hidrogênio sob pressão [37]. Estudos de difração de raios-X mostram que em 4,8 GPa a L-serina I transforma-se em L-serina II [23]. Essa mudança foi observada também por difração de nêutrons [24].

A L-valina apresenta transição de fase entre 100 e 120 K [35]. Sob pressão, o mesmo cristal sofre transição em 3 GPa e 5,3 GPa [38]. Já na DL-valina, o modo do $N^+ - H \cdots O$ reduz substancialmente sua intensidade em 3 GPa. Este fato também é interpretado como mudanças nas ligações de hidrogênio [37].

Em um estudo de espalhamento Raman feito no cristal de L-metionina [25], fortes evidências como descontinuidades nos seus modos em torno de $2,2 \pm 0,4$ GPa, sugerem uma transição de fase nessa pressão. Ao realizar a descompressão foi observado que a fase anterior é recuperada. No entanto, há uma histerese de 0,8 GPa. Em medidas a baixas temperaturas, a L-metionina mostrou evidências que caracterizam algumas mudanças conformacionais na célula unitária [25]. Estudos adicionais serão necessários para se criar uma descrição mais precisa deste cristal.

Finalmente, relata-se um estudo por espalhamento Raman em cristais de L-leucina, tanto submetido a altas pressões, quanto a altas temperaturas. A submissão a altas pressões promove duas transições de fase: uma entre 0 e 0,46 GPa e outra entre 0,8 e 1,46 GPa e, em altas temperaturas, a L-leucina mostrou transição de fase em 353 K [39]. Esta última, em particular, parece manter a mesma simetria, monoclinica, quando a transição $C_2 \rightarrow C_s$ ocorre. O importante, no entanto, é que todas estas mudanças são regidas por modificações nas ligações de hidrogênio intermoleculares, como discutiremos mais adiante.

Esta dissertação, além deste capítulo introdutório, está assim dividida: no Capítulo 2 são apresentados aspectos teóricos relacionados ao trabalho, no Capítulo 3 são descritos os procedimentos experimentais, no Capítulo 4 são apresentados os resultados e discussões relacionados ao estudo de espectroscopia Raman em cristais de L-cisteína.HCl sob altas pressões, e no Capítulo 5 apresentamos as conclusões e perspectivas.

2 Aspectos Teóricos

2.1 O Espalhamento Raman

2.1.1 Introdução

Com o intuito de estudar as propriedades dos materiais, podemos lançar mão da propriedade que a matéria tem de absorver luz (absorção no infravermelho) ou de espalhá-la elástica ou inelasticamente. Neste último (principal objeto de discussão aqui), a interação da matéria com a luz se dá através do espalhamento de fótons que incidem sobre partículas, trocando com elas *quanta* de energia vibracional.

O fenômeno de espalhamento foi previsto por Smekal em 1923 [40], usando a teoria quântica para este fim. Contudo, só foi verificado experimentalmente em 1928 por C. V. Raman [41]. Durante uma série de experimentos realizados, Raman estudou a radiação espalhada por várias amostras sólidas transparentes, líquidas e gasosas. Para isso, Raman utilizou a radiação de uma lâmpada de mercúrio para excitar as amostras. Após verificar a luz espalhada por um espectrógrafo, Raman observou que algumas linhas e bandas apareciam deslocadas em relação ao espectro original da lâmpada e que essas novas linhas dependiam da substância utilizada como centro espalhador [42]. Observou também que a diferença de frequência entre a frequência da radiação incidente e da radiação espalhada, para várias linhas do espectro da radiação espalhada, eram iguais às frequências das bandas de absorção no infravermelho da própria substância. Com isso, C. V. Raman concluiu que os deslocamentos de frequências observados nada mais eram que frequências de oscilação dos átomos de uma molécula e que estas frequências dependiam das ligações

químicas e da geometria das moléculas. Daí este fenômeno ser conhecido como Efeito Raman.

2.1.2 Estudo Teórico

A radiação pode interagir com a matéria de quatro formas diferentes: i) absorção - o sistema retira um fóton do campo de radiação; ii) emissão espontânea - o sistema emite um fóton sem nenhuma interação externa. Isso se deve ao fato de que estados excitados, possuem um tempo de vida finito; iii) emissão estimulada - o sistema que já se encontra em um estado excitado, pode, na presença de radiação, ser estimulado a perder fótons (estes com as mesmas características do fóton de entrada); e iv) espalhamento - o sistema sofre a colisão de um fóton, o qual não chega a ser absorvido e sim espalhado, havendo assim transferência de energia entre o fóton e o sistema. O espalhamento pode ser elástico (Rayleigh) ou inelástico (Raman).

Em um experimento de espalhamento Raman, luz monocromática intensa é irradiada sobre uma amostra. A frequência de tal radiação é, geralmente, mais alta que as frequências vibracionais, porém, mais baixa que as frequências eletrônicas. O espalhamento Rayleigh pode ser visto como uma colisão elástica entre os fótons incidentes e uma partícula da amostra. Visto que num espalhamento desse tipo as energias rotacional e vibracional da partícula não se alteram, também não se altera a energia do fóton incidente, portanto sua frequência permanece a mesma. Assim o fóton espalhado tem a mesma frequência que o fóton incidente. Já o espalhamento Raman pode ser visto como uma colisão inelástica. Nesse caso, o fóton alterará a energia da partícula, crescendo-a ou diminuindo-a de uma quantidade ΔE . Para que a energia se conserve na colisão, a energia do fóton espalhado, $h\nu_s$, deve ser diferente da energia do fóton incidente, $h\nu_i$, por um valor ΔE .

Se o fóton espalhado tem energia menor que o fóton incidente, ou seja,

$$h\nu_s = h\nu_i - \Delta E \quad (2.1)$$

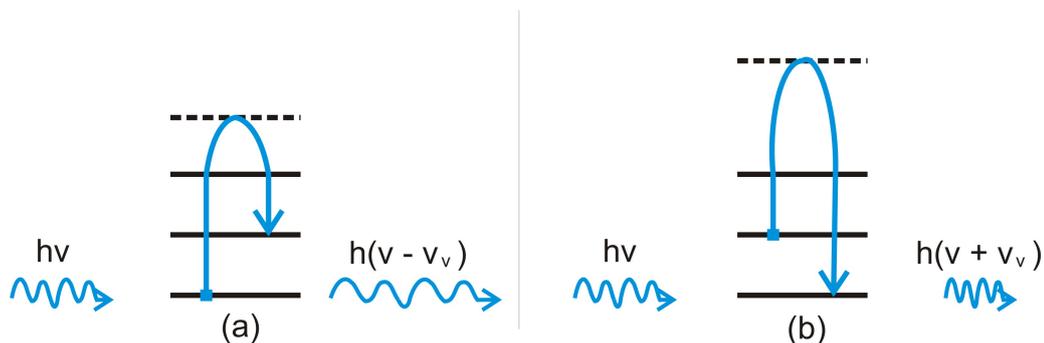


Figura 4: Diagrama de níveis para o espalhamento Raman Stokes (a) e espalhamento Raman anti-Stokes (b)

as linhas do espectro correspondentes a estes fótons são chamadas de linhas Stokes. Caso contrário, se o fóton espalhado tem energia maior que o fóton incidente, ou seja,

$$h\nu_s = h\nu_i + \Delta E \quad (2.2)$$

originam-se daí as linhas anti-Stokes do espectro. Os dois casos estão ilustrados na Figura 4.

Visto que em temperaturas normais, a população do estado fundamental é muito maior que a população dos estados excitados, as linhas Raman Stokes são as mais intensas no espectro.

2.1.3 Polarizabilidade

Quando a radiação interagir com a matéria, seu campo elétrico afetará as distribuições de carga positiva e negativa da molécula, deslocando-as. A molécula adquire, assim, um momento de dipolo induzido ($\vec{\mu}$) causado pelo campo elétrico da radiação. A polarizabilidade (α) é definida pela relação

$$\vec{\mu} = \alpha \vec{E}. \quad (2.3)$$

A polarizabilidade mede a deformação da nuvem eletrônica pelo campo elétrico. Pode-se mostrar que uma vibração só é ativa no Raman (ou seja, tal modo de vibração é selecionado para sofrer espalhamento Raman) se ela for acompanhada por uma variação na polarizabilidade.

Seja o campo elétrico da radiação

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu t) \quad (2.4)$$

onde E_0 é constante, ν é a frequência da radiação e t é o tempo. De acordo com (2.3) e (2.4)

$$\mu = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu t) \quad (2.5)$$

que é um momento de dipolo oscilante. De acordo com a teoria clássica, esse dipolo irá emitir radiação eletromagnética com a mesma frequência da radiação incidente e cuja intensidade é proporcional a $\alpha^2 E_0^2$. Em moléculas, a polarizabilidade não é constante. Para pequenos deslocamentos, podemos expandir a polarizabilidade em uma série de Taylor

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)Q + \dots \quad (2.6)$$

onde α_0 é a polarizabilidade de equilíbrio e $\partial\alpha/\partial Q$ é a variação da polarizabilidade com as coordenadas normais (medidas na configuração de equilíbrio). Q também varia periodicamente:

$$Q = Q_0 \cos(2\pi\nu_\nu t) \quad (2.7)$$

onde Q_0 é constante (o valor máximo de Q) e ν_ν é a frequência de vibração da coordenada normal Q . Combinando (2.6) com (2.7), temos

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)Q_0 \cos(2\pi\nu_\nu t) \quad (2.8)$$

e substituindo isso em (2.5),

$$\mu = \left(\alpha_0 + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)Q_0 \cos(2\pi\nu_\nu t)\right)E_0 \cos(2\pi\nu t) \quad (2.9)$$

que nós podemos reescrever, fazendo uso de uma identidade trigonométrica

$$\mu = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu t) + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)\frac{Q_0 E_0}{2} \{ \cos[2\pi(\nu - \nu_\nu)t] + \cos[2\pi(\nu + \nu_\nu)t] \} \quad (2.10)$$

Daqui, podemos ver que o momento de dipolo induzido da molécula varia com três componentes de frequência, a saber, ν , $\nu - \nu_\nu$ e $\nu + \nu_\nu$, as quais dão origem aos espal-

hamentos Rayleigh, Raman Stokes e Raman anti-Stokes, respectivamente. O fato de que um modo normal só é ativo no Raman se for acompanhado de uma variação na polarizabilidade, pode ser muito bem observado na equação (2.10): Se α não variar, $\frac{\partial\alpha}{\partial Q} = 0$, portanto, o segundo termo em (2.10) é nulo, impossibilitando-nos observar espalhamento Raman Stokes ou anti-Stokes.

Embora este tratamento clássico nos dê uma informação correta acerca do exigido para uma transição Raman, ele não diz tudo. Os estados envolvidos na transição devem satisfazer outro requisito relativo à sua simetria. Para vermos isso, escrevemos a polarizabilidade como

$$\alpha_{if} = \int \psi_i \alpha \psi_f d\tau \quad (2.11)$$

onde ψ_i e ψ_f correspondem às funções de ondas dos estados inicial e final envolvidos na transição, respectivamente. Usando essa definição para a polarizabilidade na equação (2.6), temos

$$\alpha_{if} \simeq \alpha_0 \int \psi_i \psi_f d\tau + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)_0 \int \psi_i Q \psi_f d\tau \quad (2.12)$$

O primeiro termo é igual a zero devido a ortogonalidade dos estados ψ_i e ψ_f . Assim, para que (2.12) seja diferente de zero é necessário que:

- $\left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)_0 \neq 0$ - o resultado obtido classicamente;
- $\int \psi_i Q \psi_f d\tau \neq 0$ - resultado obtido somente por meio do tratamento quântico.

O último termo implica que somente há uma polarizabilidade de transição para determinadas transições selecionadas. É o que chamamos de regra de seleção. Para que essa integral seja diferente de zero é necessário que o integrando seja uma função totalmente simétrica, o que implica, em termos de Teoria de Grupos, que o estado final da transição deve ter uma simetria igual a da coordenada normal Q .

2.2 Ligações de Hidrogênio

As ligações de hidrogênio são ligações do tipo A-H...B. Devido ao fato de que as energias típicas exigidas para alongar ou contrair uma ligação de hidrogênio são muito

menores que aquelas para ligações covalentes, elas podem ser facilmente distorcidas, não somente modificando o meio cristalino, mas também por ações externas (mudanças na temperatura e pressão). Estudos com variação de pressão e temperatura, são bastante comuns (muitos já foram citados aqui). Eles ajudam a estudar a natureza das ligações em si (por exemplo, estimar as energias de ligação e as constantes de força), e também para melhor entender o papel das ligações de hidrogênio na determinação de estruturas e de propriedades de sistemas que as apresentam. Como os efeitos induzidos pela pressão são muito maiores que os efeitos da temperatura, os estudos com pressão se tornam mais eficientes, pois é mais fácil notar e medir confiavelmente tais efeitos.

Mudanças nas ligações de hidrogênio intermoleculares são usualmente relacionadas a mudanças nos comprimentos e ângulos das ligações intramoleculares. O efeito verificado é que uma ligação intramolecular entre átomos, um dos quais está envolvido em uma ligação de hidrogênio intermolecular, alonga quando a ligação de hidrogênio encurta. No entanto, distorções das ligações de hidrogênio intermoleculares induzidas por pressão foram apenas raramente relacionadas às correspondentes distorções intramoleculares. O motivo disto é que as mudanças nos comprimentos e ângulos das ligações intramoleculares sob pressão são muito pequenos, o que exige medidas de alta precisão. Alguns estudos nos quais estas medidas são apresentadas estão nas refs. [43, 44, 45, 46, 47].

Estudar as ligações de hidrogênio é importante, principalmente, para prever a resposta de uma estrutura cristalina à pressão. Além do mais, os dados obtidos para cristais moleculares de pequenas moléculas orgânicas podem, sob certas suposições, ser transferidos também para sistemas biológicos e biomiméticos, visto que ligações de hidrogênio nesses dois tipos de arranjos supramoleculares são essencialmente similares em muitos aspectos. Verificou-se que, algumas vezes, as direções mais rígidas na estrutura podem facilmente ser relacionadas com as direções das ligações de hidrogênio mais curtas, e as direções mais flexíveis, com as direções das ligações de hidrogênio mais longas. Como um exemplo, pode ser citado a compressão dos polimorfos α e γ da glicina [48]. A estrutura do polimorfo γ é menos compressível ao longo da ligação de hidrogênio mais curta

N-H...O. Na estrutura do polimorfo α as moléculas formam camadas duplas; dentro de uma camada, as moléculas são ligadas por ligações N-H...O e a interação entre camadas é do tipo van der Waals. A maior compressão sob pressão foi medida na direção normal às duplas camadas. Dentro da camada, as direções ao longo das ligações de hidrogênio mais longas foram mais compressíveis que as direções ao longo das ligações de hidrogênio mais curtas. A situação pode ser mais complicada. Como um exemplo temos os polimorfos ortorrômbico e monoclinico do paracetamol. Em ambas as estruturas, as moléculas formam camadas moleculares bidimensionais ligadas por ligações de hidrogênio N-H...O e O-H...O [49, 50]. Os dois tipos de ligação, sabe-se, diferem em força [51] e compressibilidade [52] sob pressão. Ao mesmo tempo, a anisotropia da compressão por indução de pressão das camadas ligadas por essas ligações não pode ser prevista pela compressibilidade das ligações individuais somente. As camadas no paracetamol ortorrômbico são comprimidas isotropicamente em todas as direções como se não houvesse diferença entre N-H...O e O-H...O [50]. As camadas no paracetamol monoclinico expandem-se com o aumento da pressão em algumas direções (ao longo das cadeias ligadas por N-H...O), e são comprimidas na outra (ao longo das cadeias ligadas por O-H...O), embora ambos O-H...O e N-H...O sejam comprimidas com o aumento de pressão. O estranho resultado pôde ser interpretado depois que as mudanças nos ângulos de torção das moléculas de paracetamol e nos ângulos entre as moléculas vizinhas em uma camada foram levados em conta [52, 53].

Uma importante propriedade das ligações de hidrogênio é o fato de que elas não são apenas facilmente distorcidas, mas também são facilmente restauradas depois que a força que causou a distorção é removida. Isso pode indicar que cristais moleculares com redes de ligações de hidrogênio sejam estáveis sob pressão, pelo menos, desde que os valores não sejam suficientemente altos e eventualmente produzam amorfização.

O problema de interpretar as observações experimentais do efeito da pressão sobre cristais moleculares com ligações de hidrogênio está longe de ser resolvido. A compressibilidade do mesmo tipo de ligação em diferentes estruturas pode ser diferente ou similar.

Pode também estar ou não relacionada à geometria do cristal à pressão ambiente [43].

O número de trabalhos que visam elucidar o problema do efeito da pressão sobre as ligações de hidrogênio tem crescido ultimamente, e uma considerável quantidade de dados, cada vez mais, faz parte do montante de informação que temos acerca desses sistemas na busca pela solução dessa questão.

2.3 A L-Cisteína

A cisteína é um dos aminoácidos codificados pelo código genético, sendo, portanto, um dos componentes das proteínas dos seres vivos.

A cisteína possui um grupo tiol (SH) na sua cadeia lateral e é principalmente encontrado em proteínas e no tripeptídeo glutationa. O grupo tiol possui carácter nucleofílico, isto é, busca centros positivos em moléculas envolvidas numa reação química. Um nucleófilo é um potencial doador de par de elétrons. Quando exposta ao ar, e sob determinadas condições fisiológicas (incluindo no interior de proteínas), a cisteína oxida-se formando a cistina ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$ - Figura 5), composta por duas cisteínas unidas por uma ligação dissulfeto. O seu nome tem origem na palavra grega *kustis*, significando bexiga, pois foi isolada inicialmente a partir de cálculos renais sob a forma de cistina.

A cisteína tem um papel fundamental na manutenção da estrutura terciária de proteínas. Ao formarem ligações dissulfeto entre os seus grupos tiol, aumentam a estabilidade molecular e a resistência à proteólise. A insulina fornece um exemplo deste tipo de ligação, pois é formada por dois peptídeos ligados por duas destas ligações dissulfeto. A disposição das ligações dissulfeto em proteínas contidas no cabelo determina quão encaracolado o cabelo é.

Alimentos ricos em cisteína incluem pigmentos vermelhos, alho, cebola, brócolis,

couve-de-bruxelas, aveia e gérmen de trigo. Não é, contudo, um aminoácido essencial: é sintetizado no organismo humano se existir uma quantidade disponível suficiente de metionina. A L-cisteína (o enantiômero naturalmente abundante da cisteína) pode ser produzida comercialmente a partir da proteólise em cabelo humano, penas e pêlos suínos. Existe algum debate sobre se o consumo de cisteína derivada de cabelo humano é ou não uma forma de canibalismo. O maior produtor mundial de cisteína é a China [54].

Embora muitos aminoácidos estejam disponíveis já há bastante tempo através da fermentação, só em 2001 uma companhia alemã apresentou uma via fermentativa para a produção de L-cisteína, sem o recurso a produtos animais ou humanos. A forma oxidada, cistina, é encontrada no soro de leite bovino (não tratado); esta forma é encontrada também no leite materno.

A cisteína (particularmente a L-cisteína) é usada não só em investigação laboratorial mas também como suplemento alimentar, em produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal. Uma das maiores aplicações é a produção de aromas. Por exemplo, a reação de cisteína com açúcares, pela reação de Maillard (uma reação química entre um aminoácido ou proteína e um carboidrato reduzido, obtendo-se produtos que dão sabor, odor e cor aos alimentos; o aspecto dourado dos alimentos após assado é o resultado desta reação), resulta num produto com gosto de carne. Também é usada industrialmente em pastelaria e padaria, em doses que não excedam as dezenas de ppm, para amaciar a massa, reduzindo o seu tempo de processamento.

O derivado N-acetilcisteína é usado como medicamento contra a tosse, pois interfere com a formação de ligações dissulfeto em proteínas do muco, liquefazendo-o e tornando mais simples a sua expulsão. A N-acetilcisteína é usada como suplemento alimentar tal como a cisteína.

A cisteína é usada em produtos para o cabelo para fazer permanentes, especialmente

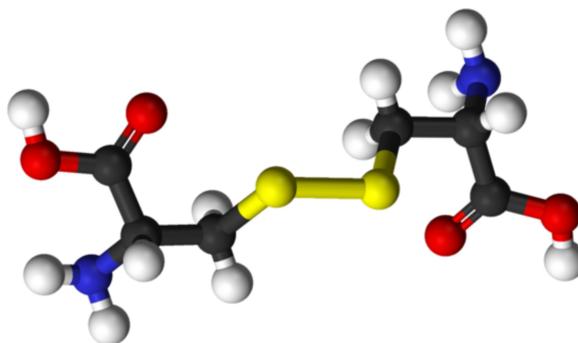


Figura 5: Molécula do aminoácido cistina formado a partir da oxidação da cisteína na Ásia. Neste caso, são as ligações dissulfeto na queratina no cabelo que sofrem a ação interferente deste aminoácido.

O gado ovino necessita de cisteína para produzir lã, sendo nestes organismos um aminoácido essencial. As ovelhas adquirem este aminoácido ao ingerir erva; como tal, a produção de lã cai ou pára totalmente em períodos de baixa disponibilidade de alimentos (como secas prolongadas)[54].

Em investigação laboratorial, a cisteína é muitas vezes alvo em experiências de marcação biomolecular (*labeling*) para investigar aspectos estruturais e funcionais de proteínas que contenham este aminoácido. Por exemplo, é possível adicionar compostos como a maleimida, que forma ligações covalentes com cisteínas, ou usar *labeling* em EPR (*Electronic Paramagnetic Resonance*) [54, 55, 56, 57].

Em 1994, um relatório preparado por cinco representativas marcas de cigarros apontou a cisteína como um dos 599 aditivos permitidos no fabrico de cigarros nos Estados Unidos da América. A função da cisteína como aditivo em cigarros é desconhecida [54].

A L-cisteína ($NH_3^+ - CH - (CH_2SH) - COO^-$) apresenta duas fases polimórficas determinadas: uma monoclinica e outra ortorrômbica. Estudos de difração de raios-X realizados a 120 K [58] mostraram que a fase monoclinica (Figura 6.a) apresenta moléculas

de duas conformações independentes na célula unitária. A estrutura da fase ortorrômbica (Figura 6.b), que foi determinada usando raios-X [59] e difração de nêutrons [60], exibiu moléculas de somente uma das conformações na célula unitária. As duas conformações da molécula de L-cisteína presentes nas células unitárias das duas fases são mostrados na Figura 7.

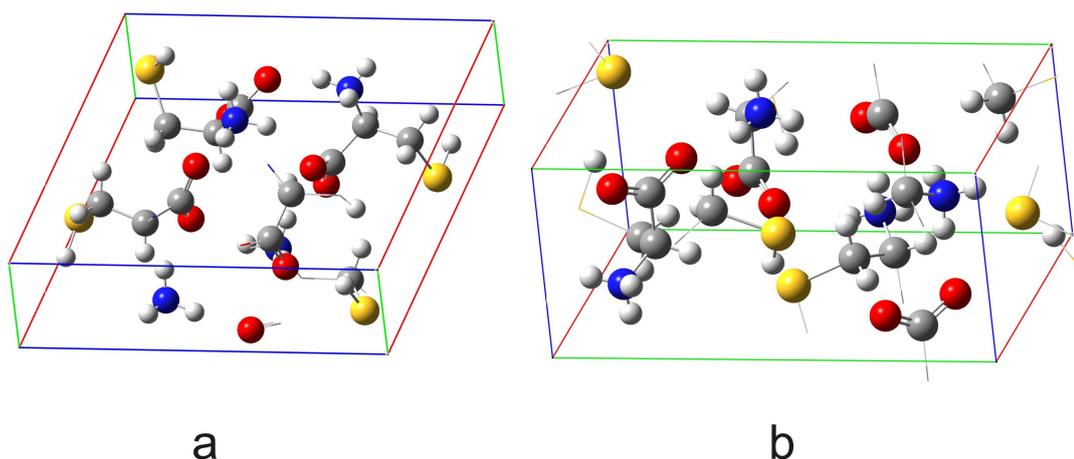


Figura 6: As células unitárias das duas formas da L-Cisteína. (a) monoclínica, (b) ortorrômbica.

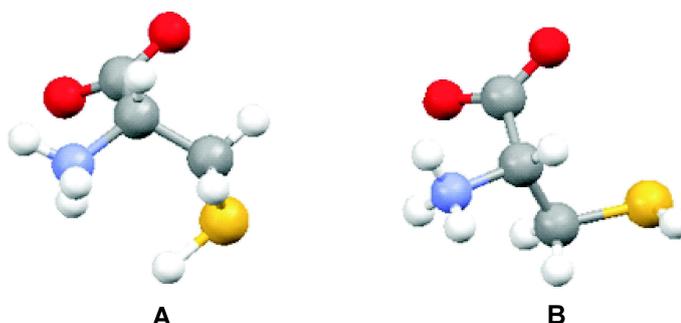


Figura 7: Duas moléculas simetricamente independentes. (A) conformação *gauche* e (B) conformação *anti*, presentes na célula unitária da fase polimórfica monoclínica da L-cisteína. Na fase ortorrômbica somente moléculas da conformação A estão presentes.

Nessas estruturas, os átomos de nitrogênio dos grupos amônia agem como doadores nas ligações de hidrogênio, onde os átomos de oxigênio dos grupos carboxila das moléculas vizinhas são os receptores. Os comprimentos dessas ligações estão na região de 2,703(1)Å a 3,027(2)Å na fase monoclínica e de 2,762(4)Å a 3,025(4)Å na fase ortorrômbica. Ligações de hidrogênio dominam a conformação das moléculas em cada fase e estab-

elecem os ângulos de torção observados. Elas também ligam as moléculas de cisteína em um padrão tridimensional e são responsáveis pela coesão do cristal. Outras ligações de hidrogênio são observadas, onde os hidrogênios dos grupos tiol fazem parte. Na fase monoclinica, o átomo de enxofre age como um doador em uma ligação de hidrogênio com um oxigênio do grupo carboxila em uma molécula adjacente. O comprimento dessa ligação é $d(S - H \cdots O) = 3,404(1)\text{Å}$, sendo $d(O \cdots H) = 2,18(3)\text{Å}$ e o ângulo de $(S - H - O)$ é de $149(2)^\circ$. As outras ligações conectam os átomos de enxofre com $d(S - H \cdots S) = 4,080(1)\text{Å}$, $d(H \cdots S) = 2,78(3)\text{Å}$ e o ângulo $(S - H - S)$ é de $159(3)^\circ$. Na fase ortorrômbica, uma desordem posicional dos átomos de enxofre e hidrogênio foi observada. Os parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio relevantes para oxigênios carboxílicos e átomos de enxofre, estão na mesma região que os da fase monoclinica [61].

Em estudos com pressão, a L-cisteína-I (polimorfo ortorrômbico) apresentou uma transição para L-cisteína-III em 1,8 GPa. Na descompressão, em 1,7 GPa foi verificada uma nova fase, não previamente identificada, chamada L-cisteína IV. Continuando a descompressão até a pressão ambiente, recupera-se a fase I. A primeira transição foi justificada como sendo devido ao encurtamento das distâncias $S \cdots S$ ao seu valor limite $(3,450(4)\text{Å})$ [29]. Verificou-se que a L-cisteína, sob pressão, era mais compressível na direção a [62]. A DL-cisteína sofreu transição da fase I para a fase II sob resfriamento, em 206 K (Amostra A(I)); um pedaço de amostra (Amostra A(II)), obtido da amostra A(I) após a transição mencionada anteriormente, passou por dois ciclos: no primeiro - lento - ela foi resfriada de 206 a 100 K e então aquecida até 305 K, onde retornou à fase I; no segundo ciclo - muito rápido - a amostra A(II) depois do primeiro ciclo, foi resfriada para 100 K e depois aquecida. A amostra sofreu transição para a fase II na região de 245-230 K, sob resfriamento e, novamente para a fase I na região entre 288-300 K sob aquecimento [63].

2.3.1 A L-cisteína.HCl

Da busca por melhores materiais para aplicação em ótica não-linear, surgiu a idéia de produzir materiais de complexos orgânico-inorgânico, onde a alta não-linearidade dos compostos puramente orgânicos, combinada com as favoráveis propriedades mecânicas e térmicas de materiais inorgânicos, permitiriam a obtenção de um novo tipo de material mais eficiente [21]. Ultimamente os aminoácidos ganharam importância como possíveis materiais óticos não-lineares. Assim, esforços foram empreendidos no intuito de combinar aminoácidos com diferentes matrizes orgânicas e inorgânicas. Deste modo, surgiram a L-arginina fosfato [64], o cloridrato de L-arginina [65], a L-histidina-tetrafluoroborato [66], a L-alanina-tetrafluoroborato [67], a L-histidina-brometo [68], etc. Desses esforços surgiu também o cloridrato de L-cistina (LCHCl) crescida pela primeira vez por K. Selvaraju *et al.*[21] e caracterizados por S.K. Kurtz *et al.*[69] e L.K. Steinrauf *et al.*[70]. As três referências concordam que a estrutura é monoclínica, quanto ao grupo pontual da LCHCl (C_2) e quanto aos parâmetros da rede, $a = 18.68\text{Å}$, $b = 5.21\text{Å}$, $c = 7.21\text{Å}$ e $\beta = 101.7^\circ$.

Surpreendentemente, a estrutura do cloridrato de L-cisteína ainda não foi determinada, e esta determinação é uma das perspectivas de trabalho futuro. De qualquer forma, mesmo não sabendo qual é a estrutura original, é possível inferir que a mesma não se preserva a altas pressões, como será visto no capítulo das discussões.

3 Parte Experimental

3.1 Introdução

Neste capítulo fazemos a descrição detalhada da parte experimental, onde descrevemos os equipamentos usados nas medidas de espalhamento Raman, além da célula de pressão onde a amostra foi comprimida.

3.2 Medidas de Espectroscopia Raman

Na Figura 8 mostramos o diagrama de um equipamento necessário para a obtenção de um espectro Raman. O sistema é constituído de uma fonte de radiação monocromática (de energia maior que a energia de vibração molecular da amostra, porém, menor que a energia de excitação eletrônica), um dispositivo para suporte da amostra, um espectrômetro para dispersão da radiação espalhada, e um dispositivo de detecção da luz que pode ser de natureza fotográfica, de natureza fotoelétrica ou de natureza de cargas acopladas (CCD).

As medidas de espalhamento Raman apresentadas nessa dissertação foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Raman da UFC, usando um sistema micro-Raman preparado para a geometria de retroespalhamento num espectrômetro do tipo Jobin - Yvon T64000 equipado com uma CCD (*charge coupled device*) resfriado com nitrogênio líquido. Na Figura 9 temos uma fotografia do espectrômetro usado para a obtenção dos espectros Raman da L-cisteína.HCl. Para a excitação da amostra, usamos um laser de

argônio operando em 532 nm com uma potência de saída de 120 mW. O feixe foi focalizado utilizando-se um microscópio OLYMPUS BH-2 equipado com uma lente de distância focal $f = 20$ mm. As medidas foram feitas com 5 acumulações do espectro para cada região, sendo cada acumulação equivalente a um tempo de 120 s. Os dados foram arquivados em um computador conectado ao espectrômetro.

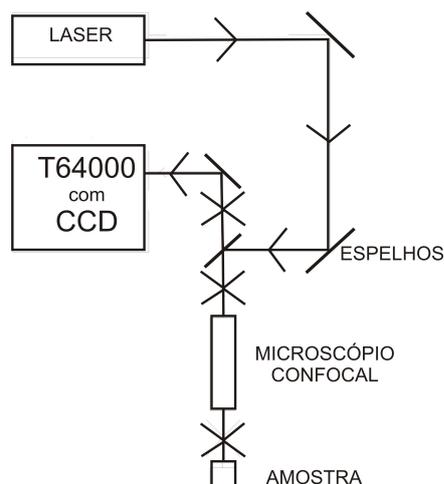


Figura 8: Esquema do sistema de espalhamento Raman utilizado para as medidas dessa dissertação



Figura 9: Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 usado nas medidas de espalhamento Raman

3.3 Medidas sob altas pressões

Na realização das medidas sob altas pressões utilizou-se uma célula de pressão com extremos de diamantes no padrão NBS (*National Bureau of Standards*) conhecida na literatura como DAC (*Diamond Anvil Cell* - Célula de Bigornas de Diamantes). O modelo

de célula usado no presente experimento, foi projetado para trabalhar a temperatura ambiente e com limite superior de pressão de 10 GPa [71]. Tal célula é ideal para se trabalhar a altas pressões conjuntamente com medidas óticas devido ao fato de possuir duas janelas óticas, que são extremos de diamantes de altíssima pureza.

Existem dois métodos de aplicação de pressão, sendo um uniaxial, e outro hidrostático. No método de pressão uniaxial existe a possibilidade de se atingir pressões que ultrapassam a rigidez mecânica do material levando à destruição da amostra em estudo. Na técnica de pressão hidrostática, usamos um líquido compressor o qual exerce uma pressão igual em todos os pontos da amostra. Esse método promove uma redução das distâncias interatômicas e a conseqüente redução do volume da amostra. Esta redução do volume implica em um trabalho realizado sobre a amostra, o que leva a um aumento da energia do sistema. Em sistemas cristalinos, o aumento da energia faz com que os átomos busquem a configuração de menor energia, tentando preservar a simetria do cristal. Acontece que, ao se atingirem altos valores de pressão, nem sempre é possível minimizar a energia, preservando essa simetria. Ocorre, então, uma transição de fase estrutural da amostra [27].

3.4 Procedimentos experimentais para as medidas sob pressão hidrostática

A Figura 10 apresenta o esquema da célula de pressão usada para a aplicação de altas pressões hidrostáticas. O equipamento é constituído dos seguintes componentes:

- Um parafuso principal;
- Algumas arruelas e uma alavanca;
- Dois diamantes: inferior e superior;
- Uma gaxeta metálica, com cavidade para receber a amostra.

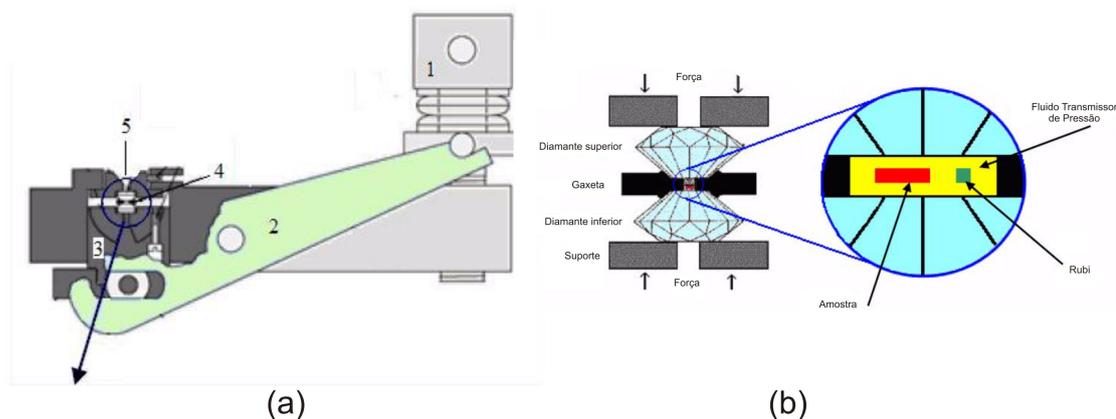


Figura 10: (a) Representação esquemática da célula de pressão a extremos de diamante, (b) representação esquemática do interior da célula de pressão a extremos de diamante e corte lateral da gaxeta. Sobre e sob a gaxeta encontram-se os diamantes e, dentro do orifício, são colocados a amostra, o rubi e o meio compressor.

O parafuso principal é o responsável direto pelo controle da pressão durante a execução do experimento. A pressão aplicada não aumenta linearmente com o número de voltas do parafuso. Portanto, é preciso esperar, após cada volta, ou fração de volta, um tempo de relaxamento da amostra.

As arruelas, a alavanca e mais alguns periféricos, são os responsáveis pela transmissão de força aos diamantes. Estes, por sua vez, são os responsáveis diretos, via fluido compressor, pela aplicação da pressão sobre a amostra. Eles são projetados de modo que a área de contato com a gaxeta seja a menor possível.

A gaxeta é uma peça metálica feita de aço inoxidável, no interior da qual colocamos a amostra, junto com o líquido compressor e um fragmento de rubi.

O fluido compressor utilizado para a transmissão de pressão foi o óleo mineral Nujol. Existem outros fluidos que podem ser usados como líquidos compressores, tais como: metanol-etanol (4 : 1), metanol-etanol-água (16 : 3 : 1) ou n-pentano-isopentano (1 : 1) [72]. Na escolha do fluido compressor, alguns pontos devem ser considerados. Os principais são o valor da pressão até onde se pretende fazer o experimento (no nosso caso, até 7 GPa) e a interação do fluido com a amostra. Deve-se pois usar um líquido que

permaneca hidrostático até esse valor de pressão. Misturas de água e álcool respondem a esse quesito mas, para alguns cristais moleculares, é possível que o fluido interaja com a amostra ou mesmo que esta se dissolva no fluido. O Nujol foi escolhido porque, embora, como alguns outros óleos, tenha modos ativos no Raman, não interage com a amostra, e para os valores de pressões atingidos nos experimentos dessa Dissertação ele pode ser considerado hidrostático.

A calibração da pressão no interior da célula foi feita através da técnica de luminescência do rubi [73]. Sabe-se que as duas linhas de luminescência do rubi ($Al_2O_3 : Cr^{3+}$), R_1 e R_2 , deslocam-se linearmente em função da pressão até o limite de 30 GPa. Assim, a pressão no interior da célula pode ser determinada usando a expressão:

$$P(GPa) = \frac{\omega_{Ri} - \omega_{Ri}^0}{7,535},$$

onde ω_{Ri} é o número de onda de qualquer uma das duas linhas do rubi (em unidades de cm^{-1}) à pressão P e ω_{Ri}^0 é o número de onda da respectiva linha à pressão ambiente.

4 Espectros Raman da L-Cisteína.HCl

4.1 Espectros Raman da L-Cisteína.HCl sob altas pressões

Neste capítulo apresenta-se a evolução dos espectros Raman de um cristal de cloridrato de L-cisteína em função da pressão hidrostática, tanto no processo de compressão quanto no de descompressão. Em todas as regiões espectrais foi feito o assinalamento dos modos de acordo com as referências [61, 63]. Esta identificação dos modos vibracionais é fundamental para se compreender o que está acontecendo com o material quando o mesmo é submetido a altas pressões. A Tabela 2 mostra as frequências das bandas observadas e a identificação dos respectivos modos vibracionais de acordo com as referências citadas.

4.1.1 Região espectral entre 50 e 250 cm^{-1}

A Figura 11 mostra os espectros Raman da L-cisteína-HCl para a pressão variando de 0,0 a 6,86 GPa, na região espectral de 50 a 250 cm^{-1} . Esta região é de extrema importância para a detecção de possíveis mudanças na simetria do cristal, visto que a maioria das bandas presentes aqui são devidas aos modos da rede. Observam-se quatro bandas bem pronunciadas, todas abaixo de 150 cm^{-1} , além de uma de baixa intensidade em aproximadamente 160 cm^{-1} que está relacionada à torção do SH.

É possível acompanhar o comportamento dos modos da rede na região de pressão

Tabela 2: Frequência das bandas Raman observadas no cloridrato de L-cisteína e identificação dos modos de acordo com [61, 63]

Frequência (cm^{-1})	Atribuição
63,40	Modos externos
71,01	
74,43	
81,79	
100,87	
160,51	$\tau(SH)$
287,70	b(CCC)
361,25	$\tau(NH_3)$
394,35	
455,65	b(CCN)
526,44	r(CO_2)
611,08	str(CS)
683,19	str(CS)
739,54	r(CH_2)
754,51	
776,97	b(CO_2)
871,15	str(CC)
927,50	b(SH)
989,54	r(NH_3)
1060,86	r(NH_3)
1140,02	b(CH)
1206,92	t(CH_2)
1224,96	
1403,24	str. sim.(CO_2)
1428,09	
1439,14	
1456,11	
1579,51	b. assim.(NH_3)
1608,93	b. sim.(NH_3)
1743,43	str. assim.(CO_2)
2466,20	
2495,97	
2566,74	str (SH)
2725,04	
2564,99	
2950,02	str (CH)
2996,00	str. assim.(CH_2)
3378,00	

entre 0,0 a 6,86 GPa. Observa-se que o pico marcado com o número 5 no espectro à pressão ambiente, tem uma considerável redução de intensidade em 0,88 GPa e, verifica-se também, o surgimento do pico intenso marcado com um asterisco no mesmo valor de pressão. O surgimento deste modo vibracional associado à vibração da rede é um claro indicativo de que o cristal de L-cisteína.HCl sofre uma transição de fase estrutural em 0,88 GPa. O pico marcado com o número 5 divide-se em dois por volta de 3,48 GPa, sendo que um dos dois novos picos some por volta de 4,69 GPa. Devido à baixa intensidade desta banda, não se pode afirmar com segurança que o desaparecimento da mesma esteja associado a uma mudança de simetria do cristal. De fato, é possível que as duas bandas estejam presentes até nas mais altas pressões atingidas nos nossos experimentos. A banda do espectro em aproximadamente 70 cm^{-1} , desloca-se para maiores frequências até 0,88 GPa, quando ela começa a dividir-se e diminuir de intensidade, além de recuar

para menores frequências a partir daí. A frequência da banda assinalada como modo de torção do SH apresenta uma descontinuidade por volta de 0,88 GPa. A partir daí sua declividade no gráfico $\omega \times P$ permanece constante. Nenhuma outra mudança drástica é observada nessa região entre 0,88 até 6,86 GPa.

A Figura 12 mostra o comportamento da frequência dos modos dessa região com a pressão. Desta figura é clara a separação da banda de número 5 em torno de 0,8 GPa, mostrando de uma forma contundente que o cristal de L-cisteína.HCl deve sofrer uma transição de fase neste valor de pressão.

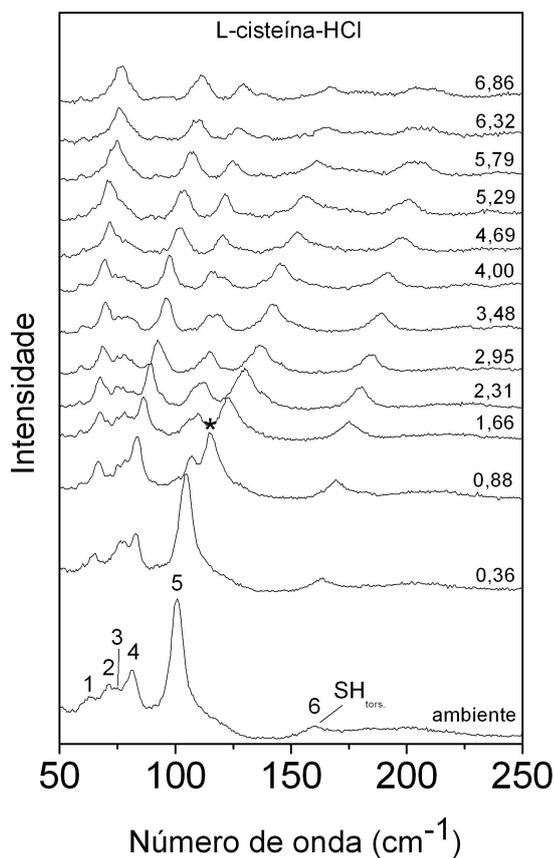


Figura 11: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região dos modos da rede.

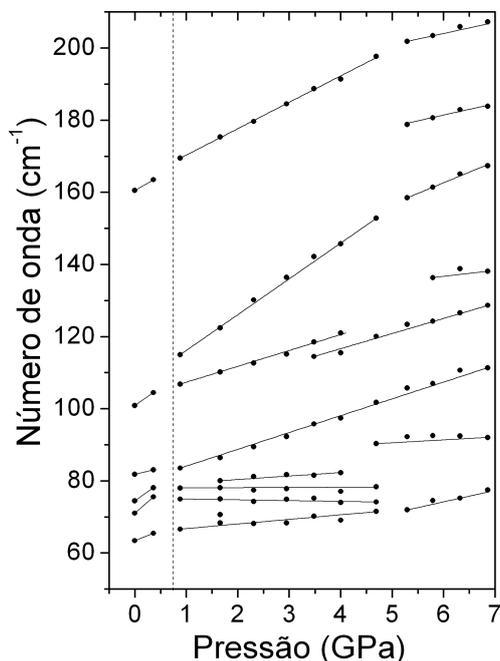


Figura 12: Dependência da frequência com a pressão na região de 50 a 250 cm^{-1} num experimento de compressão.

4.1.2 Região espectral entre 250 e 600 cm^{-1}

A Figura 13 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl entre 0,0 e 6,86 GPa no intervalo entre 250 e 600 cm^{-1} . Nessa região encontramos bandas associadas a modos de vibração classificados como *bending* do CCC (288 cm^{-1}), torção do NH_3 (361 cm^{-1}), *bending* do CCN (455 cm^{-1}) e *rock* do COO^- (526 cm^{-1}). Esta última classificação, em particular, é consistente com os resultados obtidos na L-valina [20], na L-isoleucina [74] e na L-leucina [75], entre outros. Há outra banda pouco intensa entre 350 e 400 cm^{-1} , mas por falta de referência não a associamos a nenhum modo de vibração interna.

A banda associada ao modo *rock* do COO^- possui baixa intensidade em praticamente todos os espectros. Entre 1,66 e 2,31 GPa começa a divisão da banda do *bending* do CCN em dois picos. O novo pico é marcado com uma seta no espectro de 2,31 GPa. Entre 5,29 e 5,79 GPa há novamente a união dos dois picos. A primeira banda, relacionada ao

bending do CCC tem sua intensidade diminuída a menos da metade, por volta de 5,79 GPa.

A Figura 14 mostra o comportamento das frequências dos modos dessa região com a pressão. Destacam-se nesta figura dois pontos principais. O primeiro diz respeito à banda associada à torção do NH_3^+ . Esta banda, que não é visível em todos os espectros de cristais de aminoácidos quando os mesmos são colocados em células de pressão, pode fornecer importantes informações à respeito das ligações de hidrogênio. De fato, as principais ligações de hidrogênio nos cristais de aminoácidos envolvem o grupo NH_3^+ de uma molécula e o grupo COO^- de uma outra molécula. Num trabalho recente [76] mostrou-se que talvez exista uma correlação entre o comportamento da frequência do modo associado à torção do NH_3^+ e as distâncias médias das ligações de hidrogênio na célula unitária. Assim, por exemplo, enquanto que para a L-treonina e a taurina, $d\omega/dP > 0$ (onde ω representa a frequência da banda de torção do NH_3^+), para a L-alanina $d\omega/dP < 0$. Ora, a distância média N-O é 2,86Å para a L-treonina e 2,90Å para a taurina, enquanto que de apenas 2,83Å para a L-alanina. Isto significa que provavelmente exista um valor crítico da distância média N-O para os cristais de aminoácidos a partir do qual $d\omega/dP > 0$ ou $d\omega/dP < 0$ [76]. Numa situação, quando se aumentasse a pressão, seria favorecido o encurtamento da ligação de hidrogênio (L-treonina e taurina) enquanto que em outra situação, as ligações já sendo curtas (L-alanina) o aumento da pressão produziria apenas uma deformação na geometria da ligação. A partir da Figura 14 observa-se que o aumento da pressão produz um *blue-shift* na frequência da banda associada à torção do NH_3^+ , o que significa um comportamento da L-cisteína.HCl similar ao dos cristais de L-treonina e taurina.

O segundo diz respeito ao desdobramento (*splitting*) da banda associada ao *bending* do CCN. Observe-se que este desdobramento ocorre acima de 2 GPa, que é um valor de pressão acima do qual ocorre a transição de fase. Ou seja, este fenômeno não deve estar diretamente associado à transição de fase que ocorre em 0,88 GPa. Mais precisamente, este desdobramento deve estar associado a um aumento da intensidade das ligações intermoleculares via a diminuição do espaçamento da rede cristalina com o aumento da pressão

[77]

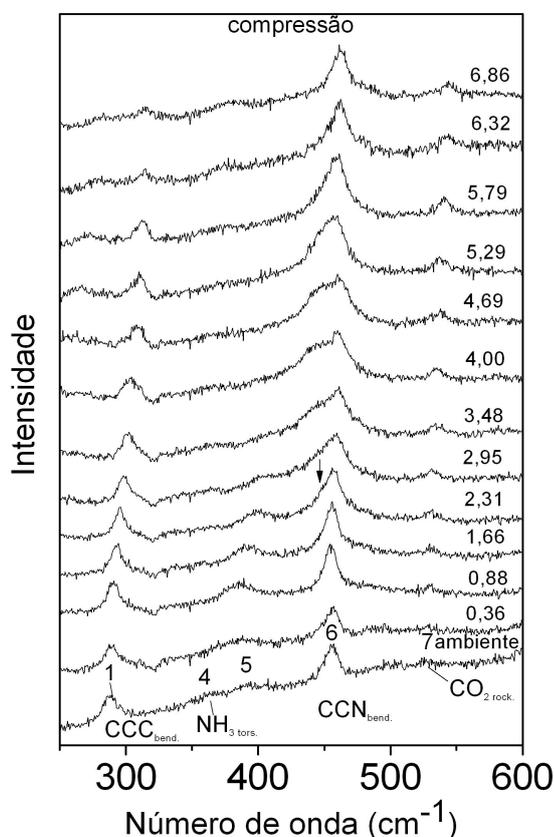


Figura 13: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 250 a 600 cm^{-1}

4.1.3 Região espectral entre 600 e 1300 cm^{-1}

A Figura 15 mostra a evolução do espectro Raman da L-cisteína.HCl entre 0,0 e 6,86 GPa na região espectral de 600 a 1300 cm^{-1} . Essa é a região do espectro com maior número de modos. Em 611 e em 683 cm^{-1} há dois modos de estiramento do CS; em 739 cm^{-1} encontramos o modo *rock* do CH_2 ; em 776 cm^{-1} está o modo de *bending* do COO^- ; o estiramento do CC é encontrado em 871 cm^{-1} ; em 927 cm^{-1} há o *bending* do SH; em 989 e 1060 cm^{-1} são observados dois modos *rock* do NH_3^+ ; o modo em 1140 cm^{-1} possivelmente está associado ao *bending* do CH; e o modo em 1206 cm^{-1} é atribuído ao *twist* do CH_2 . Outros dois modos menos intensos (754 e 1224 cm^{-1}), aparecem no espectro. No entanto, por falta de referência, a eles não foi atribuída nenhuma vibração específica da molécula.

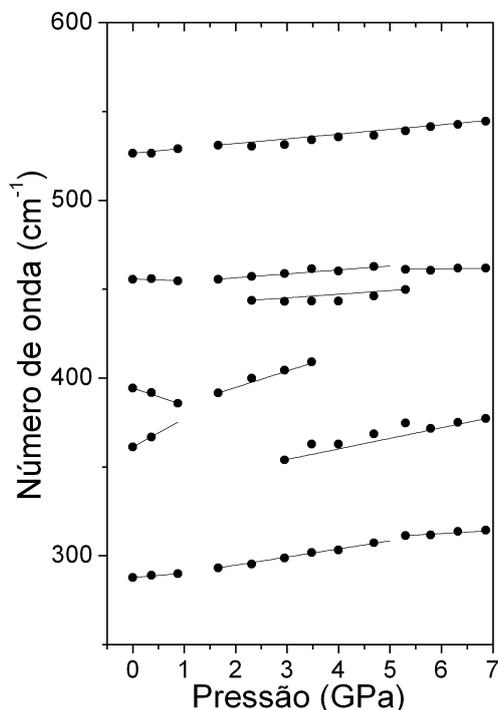


Figura 14: Dependência da frequência com a pressão na região de 250 a 600 cm^{-1} num experimento de compressão.

Observa-se que o modo de baixa intensidade em 754 cm^{-1} (pressão ambiente) já sumiu completamente no espectro de 1,66 GPa. Observa-se, também, o aparecimento de um modo entre 0,88 e 1,66 GPa em 857 cm^{-1} . Este modo deve também estar associado a uma vibração de estiramento CC e seu surgimento possivelmente é consequência da transição de fase sofrida pelo cristal. Os demais modos comportam-se de forma normal. A Figura 16 apresenta o gráfico $\omega \times P$ para a região em questão.

Recentemente foi mostrado que para a L-metionina (o outro aminoácido contendo Enxofre), grandes modificações são observadas na região das vibrações de estiramento do CS (600 a 700 cm^{-1})[20] quando este sofre transição de fase induzida por pressão. No entanto, para a L-cisteína-HCl, nada foi observado nessa região. Isto indica que os mecanismos das duas transições de fase devem ser diferentes nos dois casos. Acrescente-se ainda o fato de que o enxofre na L-metionina pertence ao esqueleto da molécula enquanto que

na L-cisteína o mesmo faz parte de uma cadeia lateral, o que inclusive permite a formação de ligações de hidrogênio.

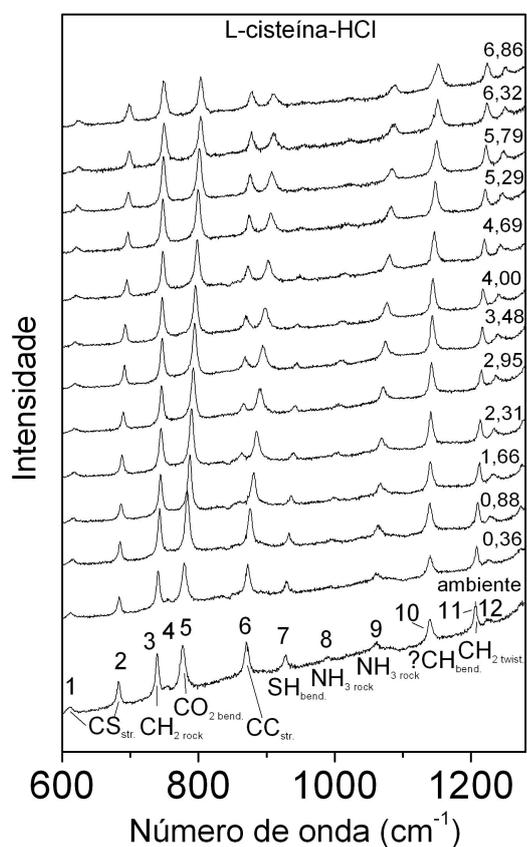


Figura 15: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 600 a 1300 cm^{-1}

4.1.4 Região espectral entre 1300 e 1900 cm^{-1}

Na Figura 17 podemos ver a evolução do espectro Raman da L-cisteína.HCl entre 0,0 e 6,86 GPa, na região entre 1300 e 1900 cm^{-1} . Quatro modos puderam ser associados a vibrações da molécula. Em 1403 cm^{-1} está localizado o modo de estiramento simétrico do COO^{-} ; em 1579 cm^{-1} e em 1608 cm^{-1} encontramos os modos *bending* assimétrico e simétrico do NH_3^{+} , respectivamente. A banda de mais alta intensidade, observada em 1743 cm^{-1} , foi tentativamente associada a uma vibração do tipo estiramento assimétrico do COO^{-} , $\nu(COO^{-})$ [61].

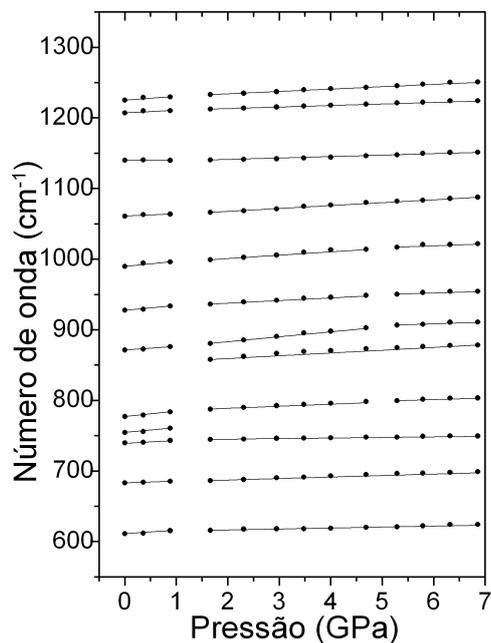


Figura 16: Dependência da frequência com a pressão na região de 600 a 1300 cm^{-1} num experimento de compressão.

Um modo pouco intenso em 1631 cm^{-1} surge em 1,66 GPa. Em 3,48 GPa, a banda em 1743 cm^{-1} divide-se em duas e a relação entre as intensidades desses modos varia drasticamente até 6,86 GPa. É interessante destacar que esta divisão da banda associada ao estiramento do COO^- não foi verificada em experimentos realizados em outros cristais de aminoácidos. Por exemplo, na L-leucina [15] e na L-valina [38] (embora o sinal seja fraco nesta região espectral) não é observado nenhum indício de desdobramento de modos. Uma melhor explicação para o desdobramento destas bandas de estiramento deverá ser obtida futuramente com cálculos de primeiros princípios. Finalmente, as frequências dos demais modos comportam-se de forma bastante linear. A Figura 18 apresenta o gráfico ω x P para essa região.

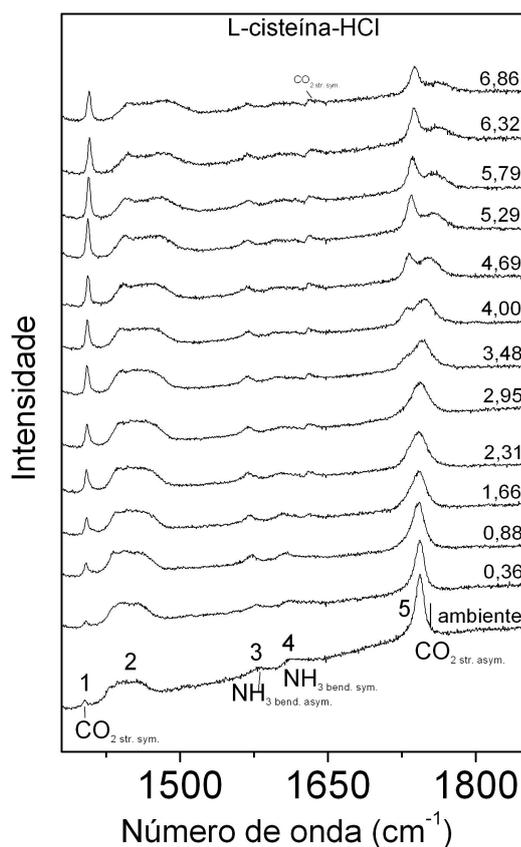


Figura 17: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 1300 a 1900 cm^{-1}

4.1.5 Região espectral entre 2400 e 2800 cm^{-1}

A Figura 19 mostra a evolução com a pressão do espectro Raman da L-cisteína.HCl entre 0,0 e 6,86 GPa na região espectral entre 2400 e 2800 cm^{-1} . Nessa região, é encontrada a banda associada às vibrações de estiramento do grupo SH (2566 cm^{-1}). O fato de a banda apresentar-se como um pico estreito, pode servir para revelar uma certa ordem nas direções de orientação do grupo SH. Na L-cisteína comum, na fase ortorrômbica, a banda associada a essa vibração é larga e esse alargamento é atribuído a uma desordem nas direções de orientação do grupo SH [59, 60].

A frequência da banda referente ao estiramento do SH sofre um notável *red shift*. Isso pode significar um fortalecimento nas ligações envolvendo este grupo. Tal fortalecimento poderia ser devido a uma alteração no comprimento das ligações de hidrogênio das quais o SH faz parte, ou mesmo uma outra mudança: sabe-se que na L-cisteína o grupo SH

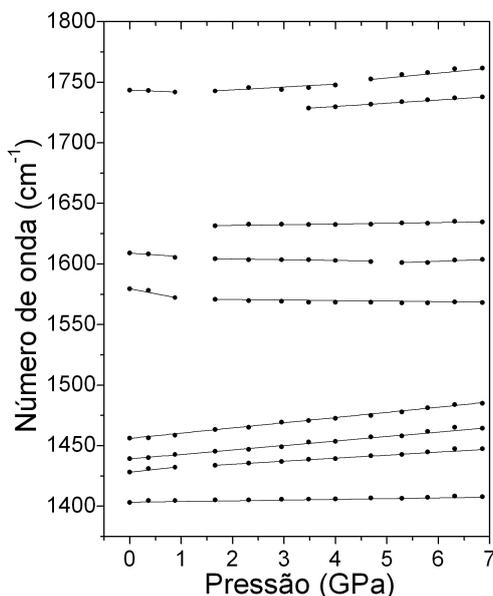


Figura 18: Dependência da frequência com a pressão na região de 1300 a 1900 cm^{-1} num experimento de compressão.

participa de ligações S-H...S (1) e S-H...O (2). Nesse aminoácido (fase ortorrômbica), as vibrações dos grupos SH envolvidos nas ligações tipo 1 são de menor frequência que as vibrações dos grupos SH envolvidos em ligações do tipo 2, ou seja, as ligações do tipo 1 são mais fortes que as ligações do tipo 2. Poder-se-ia supor que o *red shift* sofrido pela vibração de estiramento do SH seja devido à mudança de uma ligação tipo 2 para uma ligação tipo 1. Esta suposição torna-se provável se observarmos na Figura 20 que a declividade da frequência no gráfico $\omega \times P$ tem duas descontinuidades, sendo uma entre 0,88 e 1,66 GPa e a outra entre 4,69 e 5,29 GPa. O alargamento da banda, por outro lado, indica que a desordem na orientação do grupo SH, embora não esteja presente à pressão ambiente, aumenta com o aumento da pressão. Assim, uma segunda possibilidade é estar ocorrendo apenas um tipo de ligação de hidrogênio, mas o aumento da pressão iria aumentando a desordem, de tal modo que a largura de linha desta banda aumentaria significativamente. É impossível saber aqui qual o tipo de ligação que domina: 1 ou 2.

Por intermédio de cálculo [61] encontra-se nessa região as bandas de estiramento do NH relacionadas às vibrações das ligações N-H...O. No entanto, elas não são visíveis

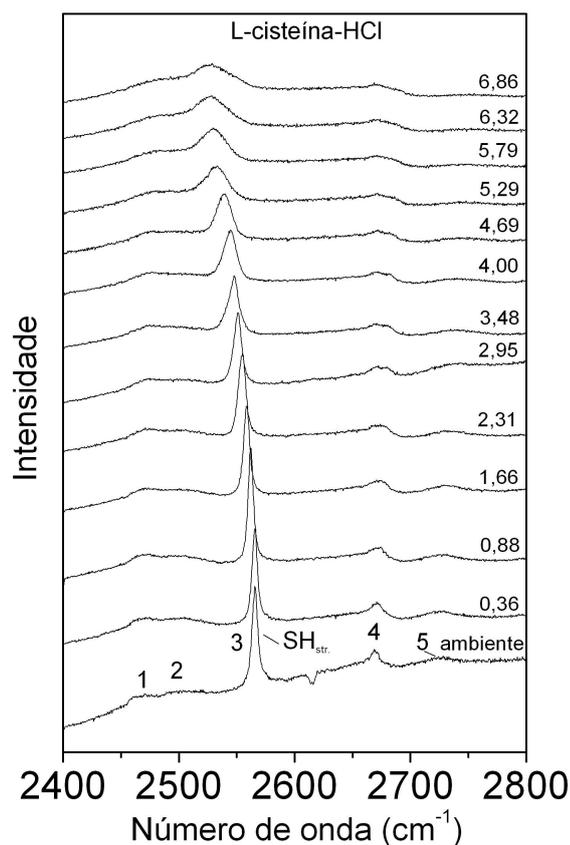


Figura 19: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 2400 a 2800 cm^{-1}

no espectro Raman, aliás como ocorre com a grande maioria dos cristais de aminoácidos [20, 39, 27].

4.1.6 Região espectral entre 2800 a 3500 cm^{-1}

Finalmente, a Figura 21 apresenta a evolução do espectro Raman da L-cisteína.HCl com a pressão de 0,0 a 6,86 GPa na região espectral que vai de 2800 a 3500 cm^{-1} . A banda larga no início da região é devida ao óleo mineral usado como meio compressor. Os outros dois picos bem intensos em 2950 e 2996 cm^{-1} são atribuídos à vibrações de estiramento do CH e de estiramento assimétrico do CH_2 , respectivamente.

Há o surgimento de um pico de muito baixa intensidade entre 0,88 e 2,31 GPa entre 3300 e 3400 cm^{-1} . No espectro a 2,95 GPa, este pico já não é mais visível, talvez por causa da baixa intensidade e focalização, voltando a surgir novamente entre 4,69 e 5,29

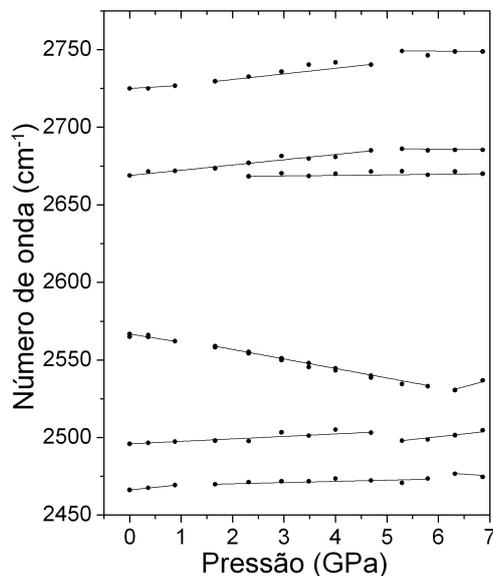


Figura 20: Dependência da frequência com a pressão na região de 2400 a 2800 cm^{-1} num experimento de compressão.

GPa. Podemos relacionar esse modo com o pico que surge da divisão da banda associada ao estiramento do CH_2 na L-cisteína quando submetida a pressão [78]. Observa-se que o pico de estiramento do CH_2 sofre um *blue shift* de $\sim 48 cm^{-1}$, o que indica um encurtamento das ligações envolvidas. A mesma banda também diminui de forma considerável em intensidade.

A Figura 22 mostra o gráfico $\omega \times P$ para essa região. Em particular, destaca-se o *splitting* da banda associada ao estiramento CH. Como alguns estudos têm mostrado, esta região é bastante sensível a mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária [25]. Conseqüentemente, o aparecimento de uma nova banda nesta região espectral deve estar associado a uma mudança conformacional da L-cisteína.HCl para $P > 5$ GPa. A Tabela 3 mostra os valores de ω_0 e $d\omega/dP$ para os modos nas regiões de 0 a 0,88 GPa, 0,88 a 5 GPa e de 5 a 6,86 GPa.

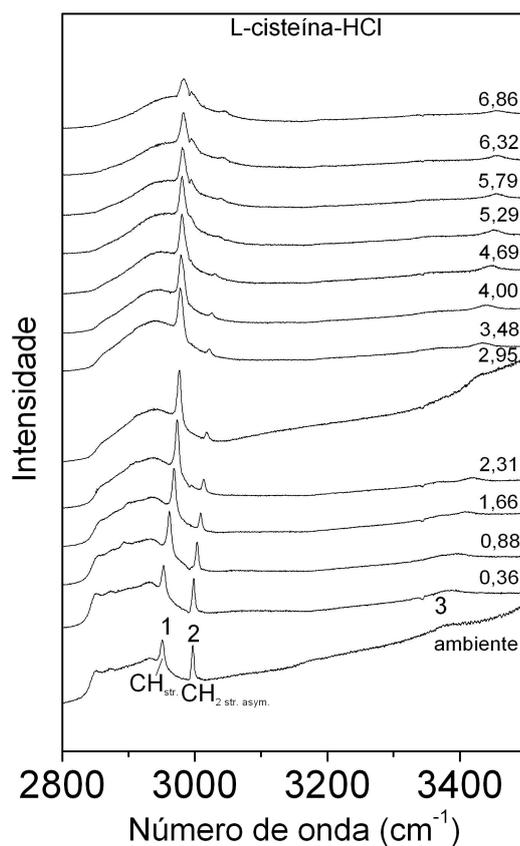


Figura 21: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 0,0 e 6,86 GPa na região de 2800 a 3500 cm^{-1}

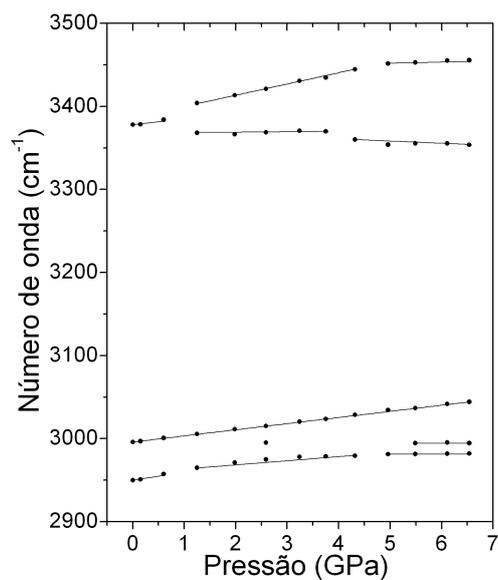


Figura 22: Dependência da frequência com a pressão na região de 2800 a 3500 cm^{-1} num experimento de compressão.

Tabela 3: Parâmetros dos ajustes lineares das plotagens $\omega \times P$

ω_0	$d\omega/dP$	ω_0	$d\omega/dP$	ω_0	$d\omega/dP$
0 a 0,88 GPa		0,88 a 5 GPa		5 a 6,86 GPa	
63,40	5,67	66,61	1,27	71,94	3,17
71,02	12,52	74,97	-0,22	-	-
74,43	10,22	78,01	0,06	-	-
-	-	80,02	4,66	-	-
81,79	3,33	83,53	4,66	83,53	4,66
-	-	-	-	90,27	0,81
100,88	9,97	106,82	4,4	-	-
-	-	114,47	4,19	114,47	4,19
-	-	114,97	9,92	158,45	5,9
-	-	-	-	136,33	1,64
160,51	7,97	169,44	7,32	201,84	3,1
-	-	-	-	178,81	3,18
287,70	2,43	293,21	4,55	311,30	1,64
-	-	353,90	5,95	353,90	5,95
361,25	15,86	391,60	9,24	-	-
394,35	-9,75	-	-	-	-
-	-	443,69	2,05	443,69	2,05
455,65	0	455,65	2,21	461,16	0,33
526,44	2,79	531,04	2,65	531,04	2,65
611,06	4,92	615,81	1,38	615,81	1,38
683,19	2,58	686,34	2,11	686,34	2,11
739,54	4,02	744,66	0,80	744,66	0,80
754,51	6,71	-	-	-	-
775,97	7,61	787,61	2,91	799,43	2,12
-	-	857,75	3,94	857,75	3,94
871,15	5,25	880,60	6,93	906,56	2,35
927,50	6,72	936,16	3,75	950,35	2,12
989,54	7,31	999,04	4,77	1016,81	2,64
1060,86	3,23	1066,16	4,09	1066,16	4,09
1140,02	-0,35	1140,32	2,04	1140,32	2,04
1206,92	3,74	1212,35	2,15	1212,35	2,15
1224,96	5,43	1232,88	3,32	1232,88	3,32
1403,24	0,59	1403,24	0,59	1403,24	0,59
1428,04	4,69	1433,84	2,49	1433,84	2,49
1439,14	3,68	1439,14	3,68	1439,14	3,68
1456,11	4,29	1456,11	4,29	1456,11	4,29
1579,51	-8,26	1570,71	-0,42	1570,71	-0,42
1608,93	-2,99	1604,20	-0,57	1601,14	1,50
-	-	1631,57	0,58	1631,57	0,58
-	-	1728,59	2,68	1728,59	2,68
1743,43	-1,69	1742,82	2,39	1752,67	4,03
2466,20	3,47	2469,88	0,59	2476,71	-2,07
2495,97	1,59	2495,97	1,59	2498,07	3,58
2566,75	-5,35	2558,95	-6,13	2530,65	1,32
-	-	2668,39	0,35	2668,39	0,35
2669,00	3,39	2669,00	3,39	2686,16	-0,38
2725,04	1,99	2729,64	3,62	2749,21	-0,14
2950,02	9,43	2964,95	4,96	2981,26	0
-	-	-	-	2994,61	0
2996,00	7,39	2996,00	7,39	2996,00	7,39
-	-	3368,21	0,5	3360,11	-2,65

4.2 Modificação espectral sob descompressão de 6,86 a 0 GPa

4.2.1 Região espectral entre 50 e 250 cm^{-1}

A Figura 23 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl quando a pressão é relaxada de 6,06 a 0,01 GPa. Observa-se que o espectro a 0,01 GPa é semelhante ao espectro de 0,0 GPa na compressão (verifica-se a presença de todas as bandas que apareciam em 0,0 GPa). Isso evidencia que a amostra retornou à sua fase inicial, ou seja, se houve uma transição de fase, ela é reversível. Note-se também que a transição, na descompressão, ocorre entre 3,27 GPa e 0,01 GPa, mesma região onde a transição aconteceu na compressão. No entanto, como esse intervalo de pressão é muito largo, não foi possível determinar se houve histerese ou não.

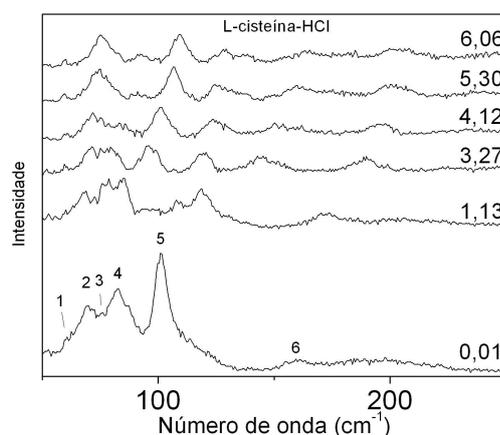


Figura 23: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 50 a 250 cm^{-1}

4.2.2 Região espectral entre 250 e 600 cm^{-1}

A Figura 24 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl quando a pressão é relaxada de 6,06 a 0,01 GPa. Novamente, o gráfico de 0,0 GPa é praticamente todo recuperado em 0,01 GPa, exceto pelas bandas marcadas com 2 e 3 as quais ainda exibem uma pequena intensidade em 0,01 GPa.

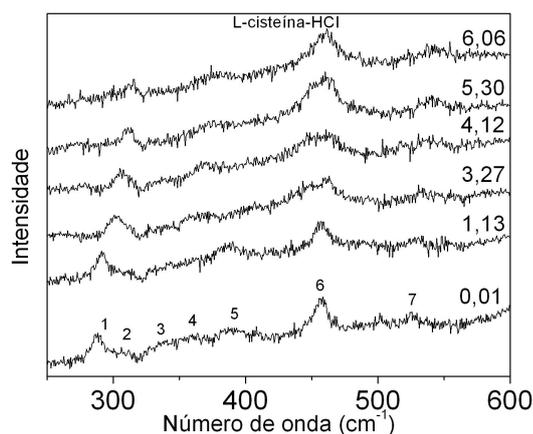


Figura 24: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 250 a 600 cm^{-1}

4.2.3 Região espectral entre 600 e 1300 cm^{-1}

A Figura 25 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl na região 600-1300 cm^{-1} quando a pressão é relaxada de 6,06 a 0,01 GPa. Todas as bandas do espectro à pressão ambiente estão presentes neste espectro. Há, contudo, um pico (marcado com asterisco) que no início da compressão (pressão ambiente), tinha intensidade muito baixa e por isso não foi ajustado. No espectro a 0,01 GPa, no final da descompressão, esse pico aparece com uma intensidade um pouco mais pronunciada.

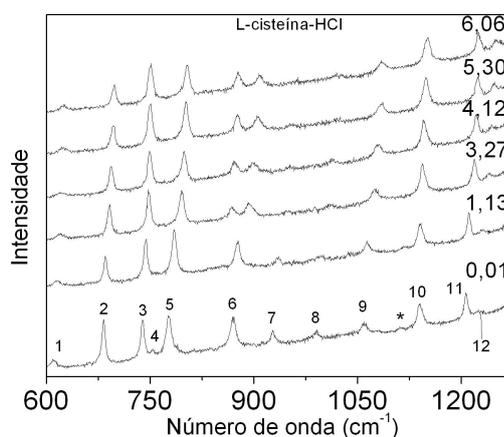


Figura 25: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 600 a 1300 cm^{-1}

4.2.4 Região espectral entre 1300 e 1900 cm^{-1}

A Figura 26 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl na região 1300-1900 cm^{-1} quando a pressão é relaxada de 6,06 a 0,01 GPa. Novamente, nada de discrepante em relação ao gráfico à pressão ambiente do início da compressão é observado. Todas as bandas que apareciam naquele, aparecem neste. Há ainda o modo marcado com asterisco. Este modo só aparecia na compressão, por volta de 1,66 GPa. Aqui, no entanto, ele permanece até o espectro de 0,01 GPa.

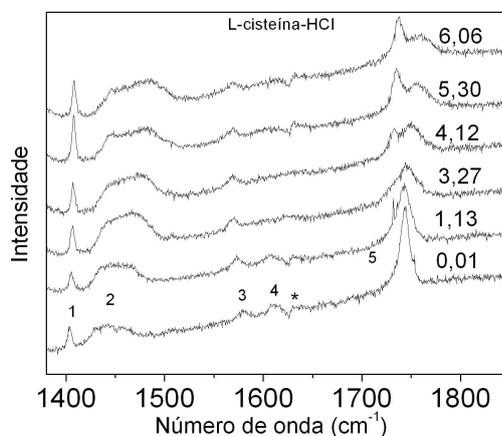


Figura 26: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 1300 a 1900 cm^{-1}

4.2.5 Região espectral entre 2400 e 2800 cm^{-1}

A Figura 27 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl na região 2400-2800 cm^{-1} quando a pressão é relaxada de 6,06 a 0,01 GPa. Todas as bandas nessa região comportam-se de forma reversível, retornando a valores de frequências muito próximos daqueles em 0,0 GPa e mantendo a intensidade relativa dos picos, semelhantemente ao espectro original tomado à pressão atmosférica.

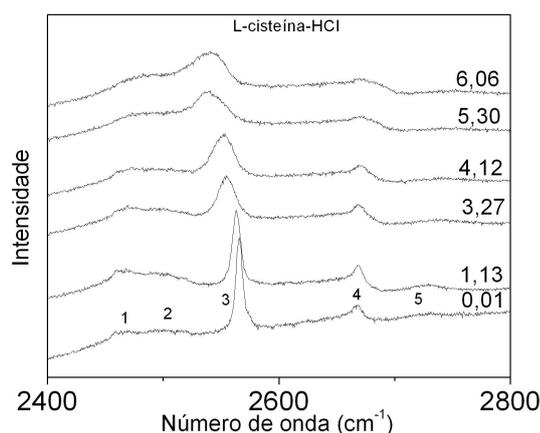


Figura 27: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para a pressão entre 6,06 e 0,01 GPa na região de 2400 a 2800 cm^{-1}

4.2.6 Região espectral entre 2800 e 3500 cm^{-1}

A Figura 28 mostra a evolução dos espectros Raman da L-cisteína.HCl na região 2800-3500 cm^{-1} de 6,06 a 0,01 GPa. É nítido o comportamento reversível de todas as bandas nessa região de frequências.

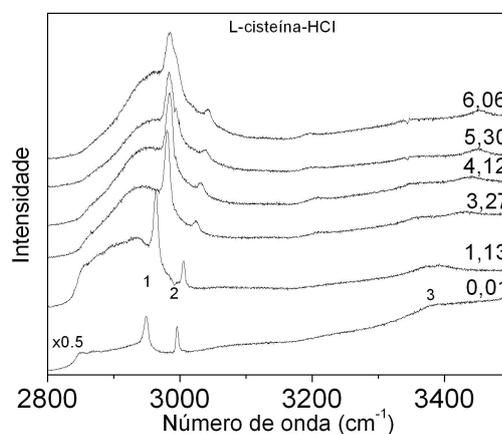


Figura 28: Evolução dos espectros Raman da L-cisteína-HCl para pressões entre 60.6 e 0,01 GPa na região de 2800 a 3500 cm^{-1}

As mudanças que ocorrem entre 0,88 e 1,66 GPa nas regiões de 50 a 250 cm^{-1} , 250 a 600 cm^{-1} , 2400 a 2800 cm^{-1} e 2800 a 3500 cm^{-1} ; próximo a 3,3 na região 250 a 600 cm^{-1} ; entre 3,3 e 5,0 GPa na região 50 a 250 cm^{-1} ; entre 4,0 e 5,0 GPa na região de 2400 a 2800 cm^{-1} ; e próximo a 5,0 GPa nas regiões de 250 a 600 cm^{-1} e 2800 a 3500 cm^{-1} , sugerem a ocorrência de, no mínimo, uma transição de fase, em torno de 0,8 GPa.

A região entre 2400 e 2800 cm^{-1} é também importante para a análise, porque nessa região é que se encontram os modos relacionados ao estiramento do SH. E, sabendo que a L-cisteína apresenta dois tipos de ligação da qual o grupo SH participa, a saber, S-H...S e S-H...O, as descontinuidades no gráfico podem significar uma mudança nas ligações de hidrogênio.

Na descompressão, as alterações inversas acontecem aproximadamente nos mesmos valores de frequência. Não é possível determinar isso com certeza, pelo fato de que os passos na descompressão foram muito largos, o que deixa uma certa região de pressão não avaliada pelos espectros.

De qualquer forma, a reversibilidade é verificada quando se aplica pressão na L-cisteína.HCl até cerca de 6 GPa. É interessante comparar esse resultado com outros da literatura. Por exemplo, submetendo-se cristais de L-metionina a pressões de até 4,7 GPa verificou-se a ocorrência de uma transição de fase reversível em torno de 2,1 GPa [25], embora com uma histerese de 0,8 GPa. Outro cristal de aminoácido que apresentou uma transição reversível foi a L-leucina, que investigado por meio de espalhamento Raman, apresenta no intervalo de 0-5 GPa, no mínimo três anomalias [15, 39]. Um contra-exemplo no qual aparece irreversibilidade associada à aplicação de pressão sobre um cristal de aminoácido é a γ -glicina. Quando se comprime este cristal ele sofre uma transição de fase para a fase δ . Separando-se esta última fase e diminuindo-se a pressão, em vez de se recuperar a fase γ original, atinge-se uma nova fase ζ [79]. Neste último caso, poder-se-ia pensar que a irreversibilidade fosse consequência dos valores de pressão atingidos no experimento. Mas este não é o caso, haja vista que as maiores pressões atingidas na γ -glicina foram de apenas 7,8 GPa, ou seja, da mesma ordem de grandeza dos experimentos realizados na L-metionina e na L-leucina. De qualquer forma fica como perspectivas de trabalhos futuros submeter a L-cisteína.HCl a pressões de até 20 GPa e verificar se a transição de fase continua reversível.

5 Conclusões e Perspectivas

A presente dissertação teve como objetivo estudar o comportamento dos espectros Raman dos policristais do aminoácido L-cisteína.HCl sob condições extremas de pressão. Assim, investigou-se o comportamento dos modos normais de vibração da L-cisteína.HCl no intervalo de pressão de 0,0 a 6,86 GPa. Da discussão conjunta relativa ao comportamento das bandas associadas a diversos modos normais de vibração da L-cisteína.HCl tanto na região dos modos internos quanto na região dos modos externos, foi possível inferir uma série de resultados interessantes:

- (i) Ocorrem mudanças em diversas regiões do espectro Raman quando se atinge uma pressão em torno de 0,8 GPa;
- (ii) Mudanças mais discretas, ocorrem em algumas regiões entre as pressões de 3,5 e 5,0 GPa;
- (iii) Pequenas descontinuidades no gráfico $\omega \times P$ para as frequências associadas ao estiramento do SH por volta dos mesmos valores de pressão mencionados acima, o que pode ser indício de uma mudança no tipo de ligações formadas por esse grupo;
- (iv) Verifica-se a total reversibilidade da estrutura para a fase inicial, depois que o cristal é descomprimido.

Concluimos, da análise desses principais resultados, que é bastante provável ter havido uma transição de fase do cristal em 0,8 GPa e outra possível, mas menos nítida, entre 3,5 e 4,5 GPa.

Como perspectivas de trabalhos futuros para a continuidade desse trabalho, fica a possibilidade de se poder fazer o estudo com raios-X do cristal; crescer o cristal de L-cisteína.HCl, a fim de se fazerem medidas polarizadas com altas pressões (até 20 GPa) e altas e baixas temperaturas. Seria também interessante, estudar o comportamento desse material sob os efeitos combinados de altas pressões e baixas temperaturas.

Referências

- [1] M. K. Campbell. Bioquímica; 3a edição. Artmed. 2006.
- [2] A. Salam *Phys. Lett. B.* **288**, 153, (1992).
- [3] J.E.Bailey, M.D. Knudson, D.L. Hanson, C.A. Hall, J.R. Asay *Phys. Rev. Lett.* **87**, 22, (2001).
- [4] E. Peterson, F. Horz, and S. Chang. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **61**, 3937 (1997).
- [5] S. Datta and D.J.W. Grant, *Nature Rev. Drug Disc.* **3**, 42, (2004).
- [6] K.E. Rieckhof and W.I. Petricola, *Science.* **174**, 610 (1965).
- [7] Y. Iitaka *Journal of Biological Chemistry.* **56**, 157, (1923).
- [8] R. Mahalakshmi, S.X. Jesuraja, S.Jerome Das. *Cryst. Res. Technol.* **41**, 780, (2006).
- [9] W. Q. Wang, Y. Gong, N. Yao. *Acta Phys. Chim. Sin.* **21**, 774, (2005).
- [10] E.V. Boldyreva, H. Sowa, Yu.V. Seryotkin, T.N. Drebuschak, H. Ahsbahs, V. Chernyshev, V. Dmitriev. *Chem. Phys. Lett.* **429**, 474, (2006)
- [11] J. Staun Olsen, L. Gerward, P.T.C. Freire, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, A.G. Souza Filho. *J. Phys. Chem. Sol.* **69**, 1641, (2008)
- [12] C. C. Wilson, D. Myles, M. Ghosh, L. N. Johnson e W. Wang. *New J. Chem.* **29**, 1318, (2005).
- [13] S. Olsztynska, M. Komorowska, L. Vrielynck, N. Dupuy. *Appl. Spect.* **55**, 901, (2001).
- [14] H.I. Lee, M.S. Kim, S.W. Suh. *Bull. Korean Chem. Soc.* **9**, 218, (1988).
- [15] P.F.F. Filho, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P.S. Pizani and D.Z. Rossatto. *J. Raman Spectrosc.* **40**, 46, (2009).
- [16] A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, A.J.D. Moreno, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo. *Solid State Commun.* **116**, 405, (2000).
- [17] I.C.V. Bento , P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J.Mendes Filho, A.J.D. Moreno, M.R. Joya, P.S. Pizani. *Solid State Commun.* **141**, 29, (2007).
- [18] C. Murli, S. M. Sharma, S. Karmakar, S.K. Sikka. *Physica B.* **339**, 23, (2003).
- [19] A.J.D. Moreno, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, M.A. A. Silva, I. Guedes and J. Mendes Filho. *Solid State Commun.* **103**, 655, (1997).

- [20] J.A. Lima Jr., P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho and P.S. Pizani. *Journal of Raman Spectroscopy*. **39**, 1356, (2008).
- [21] K. Selvaraju, R. Valluvan, K. Kirubavathi, S. Kumararaman. *Optics Communications*. **269**, 230, (2007).
- [22] R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, F.E.A. Melo and J. Mendes. *J. Raman Spectrosc.* **32**, 27, (2001).
- [23] S. A. Moggach, D. R. Allan, C. A. Morrison, S. Parsons and L. Sawyer. *Acta Cryst. Section B*. **61**, 58, (2005).
- [24] S. A. Moggach, W. G. Marshall and S. Parsons. *Acta Cryst. Section B*. **62**, 815, (2006).
- [25] J. A. de Lima Jr. *Espetroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2008.
- [26] J. M. de Sousa. *Espalhamento Raman em cristal de taurina parcialmente deuterados e de policristais de L-alanina parcial e totalmente deuterados em função da temperatura*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005.
- [27] R.O. Gonçalves. *Espalhamento Raman em cristais de L-alanina deuterados sob pressão*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2008.
- [28] E.V. Boldyreva, H. Ahsbahs, H.-P. Weber, *Z. Kristallogr.* **218**, 231, (2003).
- [29] C. Murli, Surinder M. Sharma, S. Karmakar, S.K. Sikka, *Physica B*. **339**, 23, (2003).
- [30] S.V. Goryainov, E.N. Kolesnik, E.V. Boldyreva. *Physica B*. **357**, 340, (2005).
- [31] A. Dawson, D.R. Allan, S.A. Belmonte, S.J. Clark, W.I.F. David, P.A. McGregor, S. Parsons, C.R. Pulham and L. Sawyer *Cryst. Growth Des.* **5**, 1415, (2005).
- [32] E.V. Boldyreva, S.N. Ivashevskaya, H. Sowa, H. Ahsbahs, H.-P. Weber. *Dokl Phys. Chem.*, **396**, 358, (2004).
- [33] B. L. da Silva. *Estudo por meio de espalhamento Raman de cristais de L-treonina com temperatura e pressão hidrostática*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1997.
- [34] B.L. Silva, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes, M.A. Pimenta, M.S.S. Dantas, *J. Raman Spectrosc.* **31**, 519, (2000).
- [35] J.A. de Lima Jr., P.T.C. Freite, R.J.C. Lima, A.J.D. Moreno, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, *J. Raman Spectrosc.* **36**, 1076, (2005).
- [36] R.J.C.Lima, A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, F.E.A. Melo and J. Mendes *J. Raman Spectrosc.* **32**, 751, (2001).
- [37] C. Murli, R. Vasanthi, S.M. Sharma. *Chemical Physics*. **331**, 77, (2006).

- [38] J.H. da Silva. *Propriedades vibracionais em cristais de L-valina a altas temperaturas e a altas pressões*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2007.
- [39] P. F. F. Filho. *Estudo de Espalhamento Raman em cristais de L-Leucina submetidos a altas temperaturas e a altas pressões*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2007.
- [40] A. Smekal. *Naturwiss.* **11**, 873, (1923).
- [41] C.V. Raman. *Indian J. Phys.* **2**, 387, (1928).
- [42] R. M. O. Couto. *Espalhamento Raman Eletrônico do Sm^{2+} em CaF_2* . Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas SP, (1981).
- [43] E.V. Boldyreva. *Journal of Molecular Structure.* **700**, 151, (2004).
- [44] A. Katrusiak. *High Press. Res.* **6**, 155, (1991).
- [45] A. Katrusiak. *Acta Crystallogr. B.* **46**, 246, (1990).
- [46] A. Katrusiak. *High Press. Res.* **6**, 265, (1991).
- [47] E.V. Boldyreva, D.Yu. Naumov, H. Ahsbahs. *Acta Crystallogr. B.* **54**, 798, (1998).
- [48] E.V. Boldyreva, H. Ahsbahs, H.-P. Weber. *Z. Kristallogr.* **218**, 231, (2003).
- [49] M. Haisa, S. Kashino, H. Maeda. *Acta Crystallogr. B.* **30**, 2510, (1974).
- [50] E.V. Boldyreva, T.P. Shakhtshneider, H. Ahsbahs, H. Sowa, H. Uchtmann. *J. Therm. Anal. Calorim.* **68**, 437, (2002).
- [51] B.Yu. Shekunov, D.J.W. Grant. *J. Phys. Chem.* **101**, 3973, (1997).
- [52] E.V. Boldyreva, T.P. Shakhtshneider, M.A. Vasilchenko, H. Ahsbahs, H. Uchtmann. *Acta Crystallogr. B.* **56**, 299, (2000).
- [53] E.V. Boldyreva, T.P. Shakhtshneider, H. Ahsbahs, H. Uchtmann, E.B. Burgina, V.P. Baltakhinov. *Polish J. Chem.* **76**, 1333, (2002).
- [54] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cisteína>, consulta realizada em novembro de 2009.
- [55] B. Feng, F. Teng, A. Tang, Y. Wang, Y. Hou, Y. Wang, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.* **8**, 1178, (2008).
- [56] K. Akasaka, *The Journal of Chemical Physics.* **43**, 1182, (1965).
- [57] J.H. Hadley, W. Gordy, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **72**, 3486, (1975).
- [58] C.H. Goerbitz, B. Dalhus. *Acta Crystallogr. C.* **52**, 1756, (1996).
- [59] K.A. Kerr, K.P. Ashmore. *Acta Crystallogr. B.* **29**, 2124, (1973).
- [60] K.A. Kerr, K.P. Ashmore, T.F. Koetzle. *Acta Crystallogr. B.* **31**, 2022, (1975).

- [61] A. Pawlukoje, J. Leciejewicz, A.J. Ramirez-Cuesta, J. Nowicka-Scheibe. *Spectrochimica Acta Part A*. **61**, 2474, (2005).
- [62] S. A. Moggach, D. R. Allan, S. J. Clark, M. J. Gutmann, S. Parsons, C. R. Pulham and L. Sawyer. *Acta Cryst. Section B*. **62**, 296, (2006).
- [63] V.S. Minkov, N.A. Tumanov, B.A. Kolesov, E.V. Boldyreva, S.N. Bizyaev. *J. Phys. Chem. B*. **113**(15), 5262, (2009).
- [64] D. Eimerl, S. Velsko, L. Davis, F. Wang, G. Loicono, G. Kennedy. *IEEE. J. Quantum Electron.* **QE-25**, 179, (1989).
- [65] L.N. Rashkovich, B. Yu Shekunov. *J. Cryst. Growth*. **112**, 183, (1991).
- [66] M.D. Aggarwal, J. Choi, W.S. Wang, K. Bhat, R.B. Lal, A.D. Shields, B.G. Penn, D.O. Fraizer. *J. Cryst. Growth*. **204**, 179, (1999).
- [67] D. Rajan babu, D. Jayaraman, R. Mohan Kumar, R. Jayavel. *J. Cryst. Growth*. **245**, 121, (2002).
- [68] R. Ittyachan, P. Sagayaraj. *J. Cryst. Growth*. **249**, 557, (2003).
- [69] S.K. Kurtz, T.T. Perry. *J. Appl. Phys.* **39**, 3798, (1968).
- [70] L.K. Steinrauf, J. Peterson, L.H. Jensen. *Journal of the American Chemical Society*. **80**, 3835, (1858)
- [71] J. R. Mei. *Projeto de Desenvolvimento de uma Máquina com Extremos de Diamante para Geração de Altas Pressões Hidrostáticas*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Mecânica - Unicamp, 1993
- [72] E.V. Boldyreva. *J. Mol. Struct.* **647**, 159, (2003).
- [73] A. Jayaraman. *Review of Modern Physics*. **55**, 65,(1983)
- [74] F.M. Almeida, P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, C.M.R. Remédios, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, *J. Raman Spectrosc.* **37**, 1296, (2006).
- [75] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, K.C.V. Lima, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, P.S. Pizani, *Braz. J. Phys.* **38**, 131, (2008).
- [76] P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira, *Vib. Spectrosc.* **45**, 99, (2007).
- [77] W.S. Zhou, K.M. Yenice, S.A. Lee, A. Anderson, *J. Raman Spectrosc.* **27**, 9, (1996).
- [78] V.S. Minkov, A.S. Krylov, E.V. Boldyreva, S.V. Goryainov, S.N. Bizyaev, A.N. Vtyurin, *J. Phys. Chem. B*. **112**, 8851, 2009.
- [79] S.V. Goryainov, E.V. Boldyreva, E.N. Kolesnik, *Chem. Phys. Lett.* **419**, 496, (2006).

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)