



Universidade Federal do Ceará
Centro de Ciências
Departamento de Física
Programa de Pós-Graduação em Física

Gardênia de Sousa Pinheiro

*Espectroscopia Vibracional em Cristais de
L-histidina*

Fortaleza – CE

Janeiro de 2009

Gardênia de Sousa Pinheiro

*Espectroscopia Vibracional em Cristais de
L-histidina*

Dissertação de Mestrado 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. Francisco Erivan de Abreu Melo

Co-orientador:

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire

MESTRADO EM FÍSICA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
CENTRO DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ.

Fortaleza – CE

Janeiro de 2009

Dissertação de Mestrado sob o título Espectroscopia Vibracional em Cristais de L-histidina, defendida por Gardênia de Sousa Pinheiro em 16 de janeiro de 2009, em Fortaleza, Ceará, pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo
Departamento de Física
Universidade Federal do Ceará
Orientador

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire
Departamento de Física
Universidade Federal do Ceará
Co-orientador

Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior
Faculdade de Filosofia Dom Aureliano Matos
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Cláudio Márcio Rocha Remédios
Departamento de Física
Universidade Federal do Pará

Dedicatória

À toda a minha família.
Em especial, ao meu pai Manoel Ribeiro Filho
(*in memoriam*).

Agradecimentos

- A Deus pelo dom da vida e por todas as conquistas nela realizada;
- À toda a minha família pelo apoio incondicional. Ao meu pai Manoel Ribeiro Filho (*in memoriam*), à minha avó Irismar Souza Ribeiro e à minha mãe Maria Gorete Pereira de Sousa que me criaram com todo amor e atenção e nunca mediram esforços pra que eu tivesse uma boa educação. Aos meus irmãos Jéssica de Sousa, Oscar de Sousa e Bruno Expedito de Sousa pela compreensão em muitos momentos em que não pude dividir as tarefas de casa;
- Ao professor Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo pela orientação, pela grande contribuição que deu a minha formação desde o início da minha graduação, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e cumplicidade. Assim gostaria de apresentar-lhe minha estima, gratidão e admiração;
- Ao professor Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire pela co-orientação, pela grande contribuição que deu à minha formação, pelos incentivos, discussões de resultados. Não poderia deixar de externar a minha admiração e gratidão;
- Ao professor Dr. Josué Mendes Filho (Chefe do Departamento de Física e líder do Grupo de Espectroscopia Vibracional) pela sua dedicação ao departamento e ao nosso grupo de pesquisa;
- Aos professores Dr. Alejandro Pedro Ayala e Dr. Antônio Gomes de Souza Filho por sempre estarem dispostos em ajudar nos experimentos realizados neste trabalho;
- Aos alunos Clenilton Costa dos Santos, Arian Paulo de Almeida e Francisco Ferreira de Sousa pela ajuda nos experimentos sempre que foi necessário e pelas valiosas discussões. Aos alunos César Vieira e Calebe Andrade pela ajuda durante a escrita deste trabalho. Em especial, ao aluno Cleânio da Luz Lima por ter acompanhado toda a parte experimental desta dissertação e pelas discussões dos resultados;
- A todos os professores das disciplinas que fiz durante o mestrado: Dr. Nilson Sena de Almeida, Dr. Murilo Pereira de Almeida e Dr. Raimundo Nogueira da Costa Filho, Dr. Antônio Gomes de Souza Filho e Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire. Tive muita

sorte em ter tido nada menos que excelentes professores durante o curso;

– Ao professor Dr. Cláudio Márcio Rocha Remédios (da UFPA) por ter me convidado a colaborar nos seus projetos no Laboratório Nacional de Luz Síncroton (LNLS), resultados estes que não foram incluídos na dissertação mas que, com certeza, trarão muitos frutos;

– Aos tios José Rocha Pereira (*in memoriam*), Lucimar Paz Pereira e Ivanilde Sousa Paz, aos primos José Rocha Pereira Filho, Cecília Shirley Paz Pereira, Francisco Aurélio Paz Pereira e Júlio César Sousa Paz por sempre torcerem por mim e transformarem os meus sonhos nos seus próprios sonhos. Ao mesmo tempo, quero pedir-lhes desculpas pelos momentos ausentes. Em especial, à Francisca Alene Paz Pereira por ter estado ao meu lado sempre que precisei, por ser minha grande fonte de incentivo e ânimo pra que seguisse em frente em busca dos meus sonhos;

– Aos meus amigos Anaxágoras Maia Girão e Antonio Themoteo Varela pela amizade durante todo esse tempo;

– Aos meus amigos Aldilene Saraiva, Eduardo Barbosa, Mauro Costa, Raffael Pinto, Roberto Lima, Roberto Vinhaes, Roberval Santos, Saulo-Davi Reis, Wanessa Melo, Zenner Pereira, pela amizade dispensada e pelos momentos de descontração;

– Ao Dr. José Alves de Lima Júnior por ter acompanhado alguns experimentos dessa dissertação e por ter aceitado a participar da banca examinadora;

– Às secretárias do Departamento e da Pós-Graduação Maria Creuza da Silva, Rejane Coelho, Ana Cleide Ferreira, Michele Ferreira, Vera Lúcia dos Santos, Luiza Barros por toda assistência dada no que foi preciso;

– A todos os colegas de pos-graduação pela convivência;

– À Coordenação de Pós-Graduação em nome de sua Vice-Coordenadora Dr. Marlúcia Freitas Santiago por toda assistência para com os seus alunos;

– Ao Laboratório de Difração de Raios-X do Departamento de Física da UFC, em nome do professor Dr. José Marcos Sasaki, pelas medidas de difração de raios-X as quais foram importantes para a composição deste trabalho;

– Ao IPDI (Instituto de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação do Ceará) pela disponibilização de parte dos equipamentos utilizados nos experimentos de análise térmica e de espectroscopia FT-Raman;

– A todos que, de alguma forma, torceram por mim ou me incentivaram;

– Finalmente, ao CNPq, pelo apoio financeiro.

“A ciência serve para nos dar uma idéia
de quão extensa é a nossa ignorância.”

Félicité Robert de Lamennais

Resumo

Neste trabalho, cristais de L-histidina ($C_6H_9N_3O_2$) são investigados através de espectroscopia Raman variando-se os parâmetros termodinâmicos como temperatura e pressão na região espectral entre 30 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} . Os experimentos de espectroscopia Raman em cristais de L-histidina foram realizados desde a temperatura de 30 K até 428 K. Dos experimentos realizados a baixas temperaturas ($30\text{ K} \leq T \leq 291\text{ K}$), observou-se que a estrutura da L-histidina sofre uma transição conformacional a 170 K, onde alguns modos relacionados às vibrações das unidades CO_2^- e NH_3^+ mudam de comportamento a essa temperatura. Nos experimentos realizados a altas temperaturas ($300\text{ K} \leq T \leq 428\text{ K}$), os números de onda dos modos Raman do cristal de L-histidina possuem comportamento predominantemente harmônico até a sua decomposição em aproximadamente 428 K. Medidas de espalhamento Raman em função da pressão hidrostática foram realizadas em dois cristais da L-histidina : L-histidina ($C_6H_9N_3O_2$) e L-histidina clorohidrato monohidratada ($C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$). Para o cristal de L-histidina, não foi observado evidência clara de transição de fase no intervalo de 0,1 GPa a 7,01 GPa. O cristal de L-histidina clorohidrato monohidratada (L-HICLM) foi investigado para valores de pressão hidrostática entre 0,7 GPa e 7,5 GPa. Os espectros Raman do material em função da pressão evidenciam uma transição de fase estrutural reversível a uma pressão de aproximadamente 2,7 GPa.

Abstract

In this work, we have investigated L-histidine ($C_6H_9N_3O_2$) crystals through Raman spectroscopy in the spectral region $30 - 3450 \text{ cm}^{-1}$ with temperature ($30 - 428 \text{ K}$) and pressure ($0,1 - 7,0 \text{ GPa}$) variations. Under low temperature conditions ($30 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$) it was observed that the L-histidine crystal undergoes a conformational phase transition at 170 K . This conclusion is based on the temperature behavior of Raman bands associated with CO_2^- and NH_3^+ vibrations. Under high temperature conditions ($300 \text{ K} \leq T \leq 428 \text{ K}$) the mode frequency of most of the peaks appearing on the Raman spectra of L-histidine present harmonic behavior up to the decomposition, at 428 K . High pressure Raman measurements were performed on two crystalline form of L-histidine: pure L-histidine and L-histidine hydrochloride monohydrated ($C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$). It was not observed any clear evidence for structural phase transition undergone by L-histidine up to $7,01 \text{ GPa}$. On the other hand, for L-histidine hydrochloride monohydrate, wich was investigated in the spectral range $0,7 - 7,5 \text{ GPa}$, we have obtained evidence that the crystal undergoes a reversible phase transition at approximately $2,7 \text{ GPa}$.

Sumário

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

1	Introdução	p. 21
2	Os Cristais de L-Histidina	p. 23
2.1	L-Histidina (L-HIS)	p. 23
2.1.1	Teoria de Grupos para o cristal de L-HIS	p. 23
2.2	L-Histidina Clorohidrato Monohidratada (L-HICLM)	p. 25
2.2.1	Teoria de Grupos para o cristal de L-HICLM	p. 26
2.2.2	Classificação dos Modos Raman da L-HICLM em Condições Ambientais	p. 27
3	Procedimentos Experimentais	p. 29
3.1	As amostras de L-Histidina	p. 29
3.2	Experimentos de Análise Térmica	p. 31
3.2.1	Análise Termogravimétrica (TGA)	p. 32
3.2.2	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	p. 32
3.3	Experimentos de Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier	p. 32
3.4	Experimentos de Espectroscopia Raman	p. 34
3.4.1	Espectroscopia Raman a baixas temperaturas	p. 36
3.4.2	Espectroscopia Raman a altas temperaturas	p. 37
3.4.3	Espectroscopia Raman a altas pressões hidrostáticas	p. 37

4	Propriedades Vibracionais do Cristal de L-HIS à Temperatura Ambiente	p. 40
4.1	Região espectral de 10 cm^{-1} a 600 cm^{-1}	p. 40
4.2	Região espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}	p. 42
4.3	Região espectral de 1200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1}	p. 44
4.4	Região espectral de 2750 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}	p. 46
4.5	Conclusões	p. 47
5	Propriedades Vibracionais da L-HIS em Função da Temperatura	p. 50
5.1	Análise Térmica do Cristal de L-HIS	p. 50
5.1.1	Análise Termogravimétrica (TGA)	p. 50
5.1.2	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	p. 54
5.1.3	Conclusões	p. 56
5.2	Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS a Baixas Temperaturas . .	p. 56
5.2.1	Região espectral de 40 cm^{-1} a 200 cm^{-1}	p. 56
5.2.2	Região espectral de 200 cm^{-1} a 600 cm^{-1}	p. 60
5.2.3	Região espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}	p. 63
5.2.4	Região espectral de 1200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1}	p. 68
5.2.5	Região espectral de 2800 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}	p. 72
5.2.6	Anarmonicidade	p. 76
5.2.7	A Transição de Fase	p. 76
5.2.8	Conclusões	p. 77
5.3	Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS a Altas Temperaturas . .	p. 77
5.3.1	Região espectral de 40 cm^{-1} a 200 cm^{-1}	p. 77
5.3.2	Região espectral de 200 cm^{-1} a 600 cm^{-1}	p. 80
5.3.3	Região espectral de 750 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}	p. 82
5.3.4	Região espectral de 1250 cm^{-1} a 1600 cm^{-1}	p. 84

5.3.5	Região espectral de 2800 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}	p. 86
5.3.6	Conclusões	p. 88
6	Propriedades Vibracionais dos Cristais de L-Histidina em Função da Pressão Hidrostática	p. 89
6.1	Cristais de Aminoácidos sob Altas Pressões	p. 89
6.2	Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática	p. 89
6.2.1	Região espectral de 80 cm^{-1} a 270 cm^{-1}	p. 90
6.2.2	Região espectral de 270 cm^{-1} a 650 cm^{-1}	p. 93
6.2.3	Região espectral de 670 cm^{-1} a 1250 cm^{-1}	p. 93
6.2.4	Região espectral de 1400 cm^{-1} a 1670 cm^{-1}	p. 97
6.2.5	Região espectral de 3100 cm^{-1} a 3450 cm^{-1}	p. 100
6.2.6	A Transição de Fase	p. 102
6.2.7	Reversibilidade	p. 103
6.2.8	Conclusões	p. 104
6.3	Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS em Função da Pressão Hidrostática	p. 104
6.3.1	Região espectral de 30 cm^{-1} a 300 cm^{-1}	p. 104
6.3.2	Região espectral de 300 cm^{-1} a 600 cm^{-1}	p. 109
6.3.3	Região espectral de 700 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}	p. 109
6.3.4	Estabilidade a Altas Pressões Hidrostáticas	p. 114
6.3.5	Conclusões	p. 114
6.4	Comparação entre a L-HIS e a L-HICLM	p. 114
	Apêndice A – Espalhamento Raman	p. 116
A.1	Teoria Clássica do Espalhamento Raman	p. 116
	Referências	p. 120

Lista de Figuras

1	(a) Estrutura planar da L-histidina; (b) Estrutura tridimensional da L-histidina; (c) Célula unitária do cristal de L-HIS.	p. 24
2	Projeção no plano (0 1 0) da estrutura do cristal de L-HICLM.	p. 26
3	(a) Pó comercial utilizado nos experimentos com cristais de L-HIS; (b) Cristal de L-HICLM obtido pelo método de evaporação lenta do solvente.	p. 30
4	Difratograma do pó da L-HIS obtido experimentalmente e o difratograma obtido utilizando o refinamento Rietveld.	p. 30
5	Difratograma do pó da L-HICLM obtido experimentalmente e o difratograma obtido utilizando o refinamento Rietveld.	p. 31
6	(a) Equipamento STA 409C da Netzsch; (b) Sistema de espectroscopia de absorção de IR com transformada de Fourier (FT-IR); (c) Equipamentos de análise térmica utilizados.	p. 33
7	Equipamento DSC 204F1 da Netzsch.	p. 33
8	Equipamentos utilizados nos experimentos de espectroscopia com transformada de Fourier: Vertex 70 e o módulo RAM II.	p. 34
9	Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento.	p. 35
10	(a) Espectrômetro T64000 da Jobin Yvon - SPEX da Division d'Instruments S.A.; (b) Sistema de micro-análise Raman; (c) Diagrama do funcionamento óptico do espectrômetro T64000.	p. 35
11	Criostato utilizado nos experimentos a baixas temperaturas.	p. 36
12	Sistema utilizado nos experimentos a altas temperaturas.	p. 37
13	Célula de pressão utilizada sobre o suporte para as medidas de espalhamento Raman.	p. 38

14	(a) Célula de pressão hidrostática utilizada nos experimentos de espectroscopia Raman; (b) Vista ampliada da gaxeta da célula de pressão.	p. 39
15	Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 10 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	p. 41
16	Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 42
17	Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1}	p. 45
18	Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 2750 cm^{-1} e 3250 cm^{-1}	p. 46
19	Análise Termogravimétrica (TGA) do cristal de L-HIS.	p. 51
20	Espectros FT-IR em função da temperatura dos gases liberados na decomposição da L-HIS.	p. 52
21	Espectro FT-IR dos gases liberados a temperatura de 550 K na decomposição do cristal de L-HIS juntamente com os espectros da H_2O , CO_2 , NH_3 e N_2H_4	p. 53
22	Análise de DSC da L-HIS na região de baixas temperaturas.	p. 54
23	Análise de DSC da L-HIS na região de altas temperaturas.	p. 55
24	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região dos modos externos (entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1}): (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 57
25	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} : (a) e (c) resfriamento; (b) e (d) aquecimento.	p. 58
26	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 61
27	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 62

28	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 65
29	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 66
30	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman anarmônicos do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a) e (c) resfriamento; (b) e (d) aquecimento.	p. 67
31	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 69
32	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 70
33	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman anarmônicos do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a), (c) e (e): resfriamento; (b), (d) e (f): aquecimento.	p. 71
34	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 32500 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 73
35	Gráficos do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.	p. 74
36	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.	p. 78
37	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1}	p. 79
38	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.	p. 80

39	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	p. 81
40	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.	p. 82
41	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 83
42	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 1250 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.	p. 84
43	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 1250 cm^{-1} e 1600 cm^{-1}	p. 85
44	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.	p. 86
45	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1}	p. 87
46	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1}	p. 91
47	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1}	p. 92
48	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1}	p. 94
49	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1}	p. 95
50	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1}	p. 96
51	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1}	p. 97
52	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1}	p. 99

53	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1}	p. 100
54	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão e temperaturas na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1}	p. 101
55	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1}	p. 102
56	Espectros Raman do cristal de L-HICLM no início dos experimentos de compressão e no fim dos experimentos de descompressão na região espectral dos modos externos.	p. 103
57	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} para a compressão.	p. 105
58	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} para a descompressão.	p. 106
59	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} durante a compressão.	p. 107
60	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} durante a descompressão.	p. 108
61	Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1} para a compressão em (a) e para a descompressão em (b).	p. 109
62	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a compressão.	p. 110
63	Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a descompressão.	p. 111
64	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a compressão.	p. 112
65	Gráfico do número de onda <i>vs.</i> pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a descompressão.	p. 113

Lista de Tabelas

1	Tabela de caracteres do grupo D_2	p. 25
2	Classificação tentativa das bandas Raman da L-HICLM (1).	p. 28
3	Dados cristalográficos da L-HIS.	p. 31
4	Dados cristalográficos da L-HICLM.	p. 31
5	Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 10 cm^{-1} a 600 cm^{-1}	p. 40
6	Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}	p. 43
7	Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 1200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1}	p. 44
8	Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 2750 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}	p. 47
9	Classificação tentativa das bandas Raman do cristal de L-HIS.	p. 48
10	Coefficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1}	p. 59
11	Coefficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	p. 60
12	Coefficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 64
13	Coefficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1}	p. 68

14	Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1}	p. 75
15	Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1}	p. 79
16	Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	p. 81
17	Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 83
18	Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 85
19	Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1}	p. 87
20	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1}	p. 92
21	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1}	p. 94
22	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1}	p. 98
23	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1}	p. 98

24	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1}	p. 102
25	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1}	p. 108
26	Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	p. 113

1 Introdução

As propriedades ópticas, vibracionais e estruturais de cristais de aminoácidos têm despertado muito interesse nos últimos anos. O conhecimento de suas propriedades físicas e químicas é fundamental na busca de aplicações tecnológicas destes materiais, que variam desde o desenvolvimento de biosensores até a utilização na indústria farmacêutica.

Na estrutura cristalina de diversos aminoácidos estão presentes forças de coesão de curto e longo alcances, principalmente ligações de hidrogênio e van der Waals que, embora sejam mais fracas que as forças Coulombianas e as ligações covalentes, são preponderantes nestes cristais. Entender os efeitos termodinâmicos (variação de temperatura e de pressão, por exemplo) nessas ligações é um passo para compreender sua estrutura e conformação molecular e, eventualmente, as interações intermoleculares e intramoleculares. A técnica de espectroscopia Raman tem sido amplamente utilizada nesse tipo de estudos.

A histidina ($C_6H_9N_3O_2$), nosso objeto de estudo, é um dos vinte aminoácidos formadores das proteínas e representa cerca de 3% dos aminoácidos das proteínas do nosso organismo. Ela pode existir em duas formas isoméricas, L-histidina e D-histidina; entre elas, somente o isômero L é bioativo. Este aminoácido desempenha papel fundamental na produção de glóbulos vermelhos e brancos, sendo usado no tratamento da anemia. É usado também no tratamento de doenças alérgicas, artrite reumatóide e úlceras digestivas. Além disso, o organismo o utiliza para fabricar histamina, que é responsável por uma vasta gama de processos fisiológicos. É do conhecimento comum que histaminas causam o inchaço e vermelhidão em muitas inflamações e reações alérgicas.

O presente trabalho tem como objetivo a realização de um estudo detalhado das propriedades vibracionais através de espectroscopia Raman em função de parâmetros termodinâmicos em dois cristais de histidina: L-histidina ($C_6H_9N_3O_2$) e L-histidina clorohidrato monohidratada ($C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$).

No capítulo 2 é apresentada a estrutura dos cristais estudados bem como a teoria de

grupos a eles relacionadas, além da classificação tentativa dos modos Raman à temperatura ambiente já existente na literatura (classificação da L-histidina clorohidrato monohidratada).

No capítulo 3 inicialmente é apresentado o método de obtenção das amostras utilizadas neste trabalho. Em seguida, é descrito o aparato experimental utilizado nos experimentos de análise térmica e de espectroscopia Raman: (i) a temperatura ambiente, (ii) a baixas temperaturas, (iii) a altas temperaturas e (iv) a altas pressões hidrostáticas.

A classificação tentativa de parte dos modos Raman conforme observado por espectroscopia FT-Raman à temperatura ambiente do cristal de L-histidina é apresentada no capítulo 4. Os resultados de análise térmica e espectroscopia Raman dependentes da temperatura do cristal de L-histidina ($C_6H_9N_3O_2$) são discutidos no capítulo 5.

No capítulo 6 são apresentados os resultados de espectroscopia Raman a altas pressões hidrostáticas para os dois cristais estudados. O capítulo 7 traz as conclusões e perspectivas futuras em relação ao estudo dos cristais estudados.

O apêndice A mostra um resumo da teoria do espalhamento Raman segundo a visão clássica.

2 Os Cristais de L-Histidina

Neste capítulo são apresentadas as características estruturais dos cristais de L-histidina estudados e a classificação dos modos Raman à temperatura ambiente proposta por Faria, J. L. B. *et. al.* (1) para um dos cristais estudados.

2.1 L-Histidina (L-HIS)

À temperatura ambiente a L-HIS possui estrutura ortorrômbica pertencendo ao grupo espacial $P2_12_12_1(D_2^4)$, com quatro moléculas de $C_6H_9N_3O_2$ por célula unitária, e parâmetros de rede $a = 5,177\text{Å}$, $b = 7,322\text{Å}$ e $c = 18,87\text{Å}$ (2).

As figuras 1a e 1b mostram as estruturas planar e tridimensional, respectivamente, onde a última encontra-se na conformação zwitteriônica. E a figura 1c mostra a célula unitária do cristal, onde podemos ver que os dois átomos de nitrogênio do anel imidazol façam pontes de hidrogênio com o grupo carboxílico e com a unidade NH_3^+ de moléculas vizinhas.

2.1.1 Teoria de Grupos para o cristal de L-HIS

A L-HIS tem 20 átomos por molécula e quatro moléculas por célula unitária, o que totaliza 80 átomos por célula unitária. Portanto, ao todo são previstos 240 modos normais de vibração. Sabendo que a L-HIS pertence ao grupo espacial D_2^4 , temos que, da tabela 6A da referência (3), os possíveis sítios de simetria ocupados por este material são:

$$D_2^4 = [aC_1(4)], \quad (2.1)$$

o que indica que todos os sítios possíveis possuem simetria local C_1 e são ocupados por quatro átomos. Da tabela 6B (3), observa-se que os quatro átomos de cada sítio C_1

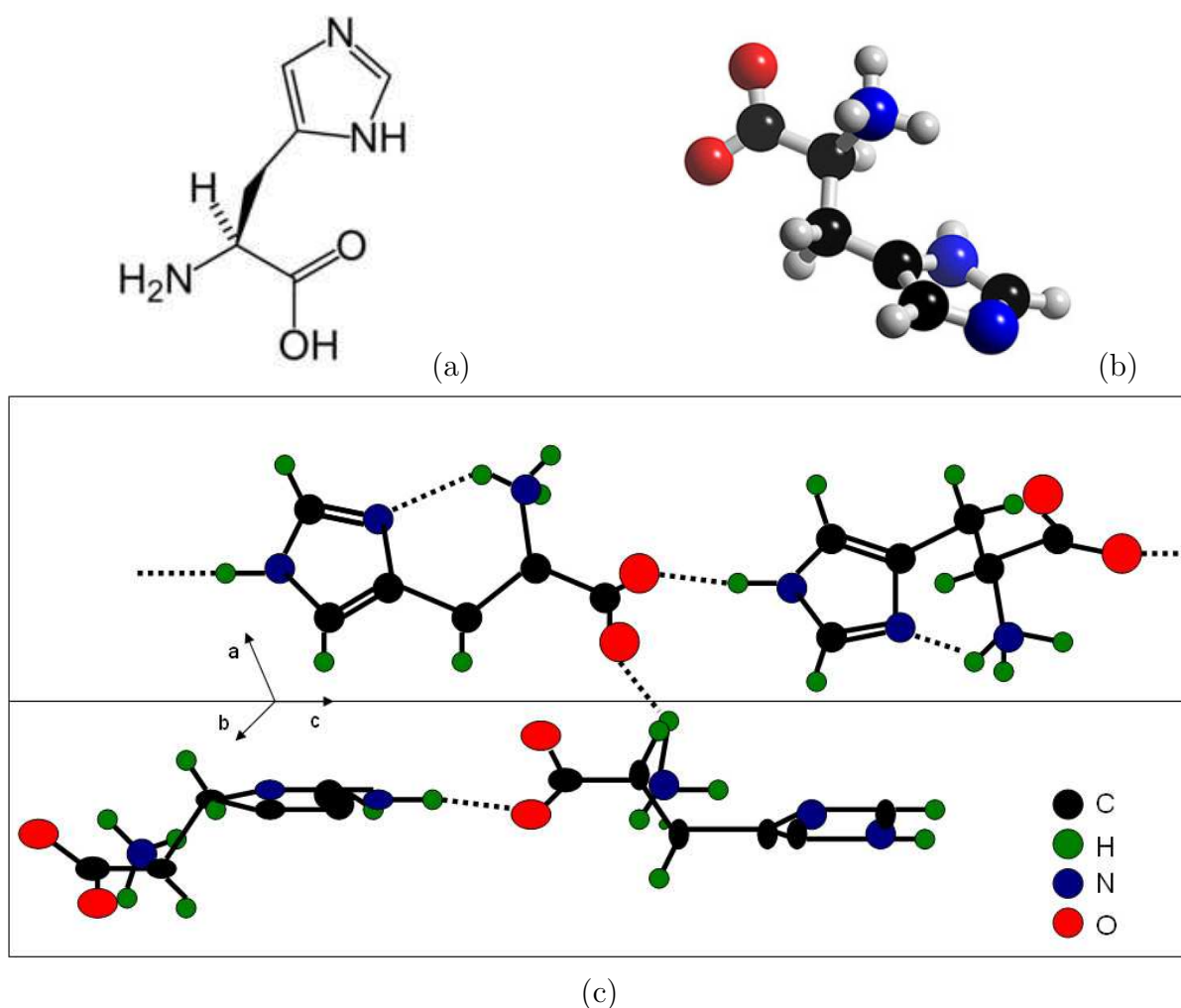


Figura 1: (a) Estrutura planar da L-histidina; (b) Estrutura tridimensional da L-histidina; (c) Célula unitária do cristal de L-HIS.

contribuem com doze modos de vibração entre as representações irredutíveis do grupo D_2^4 da seguinte forma: $3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3$. Como os 80 átomos da célula unitária ocupam 20 sítios $C_1(4)$, a representação total, Γ , dos modos de vibração da L-HIS decomposta em termos das representações irredutíveis do grupo D_2 é dada por:

$$\Gamma = 20(3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3) = 60(A + B_1 + B_2 + B_3). \quad (2.2)$$

A tabela 1 representa a tabela de caracteres do grupo D_2 . Daí, podemos afirmar que as representações B_1 , B_2 e B_3 originam um modo acústico cada, tal que:

$$\Gamma_{ac.} = B_1 + B_2 + B_3. \quad (2.3)$$

Tabela 1: Tabela de caracteres do grupo D_2 .

D_2	E	C_2^z	C_2^y	C_2^x	IR	Raman
A	1	1	1	1		x^2, y^2, z^2
B_1	1	1	-1	-1	z, R_z	xy
B_2	1	-1	1	-1	y, R_y	xz
B_3	1	-1	-1	1	x, R_x	yz

Desta forma, os modos óticos serão:

$$\begin{aligned}\Gamma_{\text{ótico}} &= \Gamma - \Gamma_{ac}. \\ \Gamma_{\text{ótico}} &= 60A + 59(B_1 + B_2 + B_3).\end{aligned}\quad (2.4)$$

A partir da equação 2.9 e da tabela 1, podemos afirmar que são previstos 237 modos óticos para a L-HIS, onde todos eles são Raman ativos e 177 deles são também infravermelho (IR) ativos. Portanto,

$$\begin{aligned}\Gamma_{Raman} &= 60A + 59(B_1 + B_2 + B_3) \\ \Gamma_{IR} &= 59(B_1 + B_2 + B_3).\end{aligned}$$

A previsão dos modos de rede para o cristal de L-HIS é dado pela soma dos modos translacionais e dos modos libracionais, onde os últimos são determinados segundo a tabela 6C da referência (3). Portanto,

$$\begin{aligned}\Gamma_{rede} &= \Gamma_{trans.} + \Gamma_{lib.} \\ \Gamma_{rede} &= 3(A + B_1 + B_2 + B_3) + (B_1 + B_2 + B_3) \\ \Gamma_{rede} &= 3A + 4(B_1 + B_2 + B_3).\end{aligned}\quad (2.5)$$

Assim, podemos afirmar que são previstos 15 modos relativos a vibrações da rede onde todos são Raman ativos.

2.2 L-Histidina Clorohidrato Monohidratada (L-HICLM)

Em condições ambientes de temperatura e pressão, o cristal de L-HICLM apresenta-se na forma zwitteriônica e possui estrutura ortorrômbica pertencendo ao grupo espacial $P2_12_12_1(D_2^4)$, com quatro moléculas de $C_6H_9N_3O_2.HCl.H_2O$ por célula unitária, e parâmetros de rede $a = 15,36\text{Å}$, $b = 8,92\text{Å}$ e $c = 6,88\text{Å}$ (1).

A figura 2 mostra a projeção da estrutura do cristal de L-HICLM, no plano (0 1 0). Podemos ver que os dois átomos de nitrogênio do anel imidazol fazem pontes de hidrogênio com o grupo carboxílico de moléculas vizinhas (4).

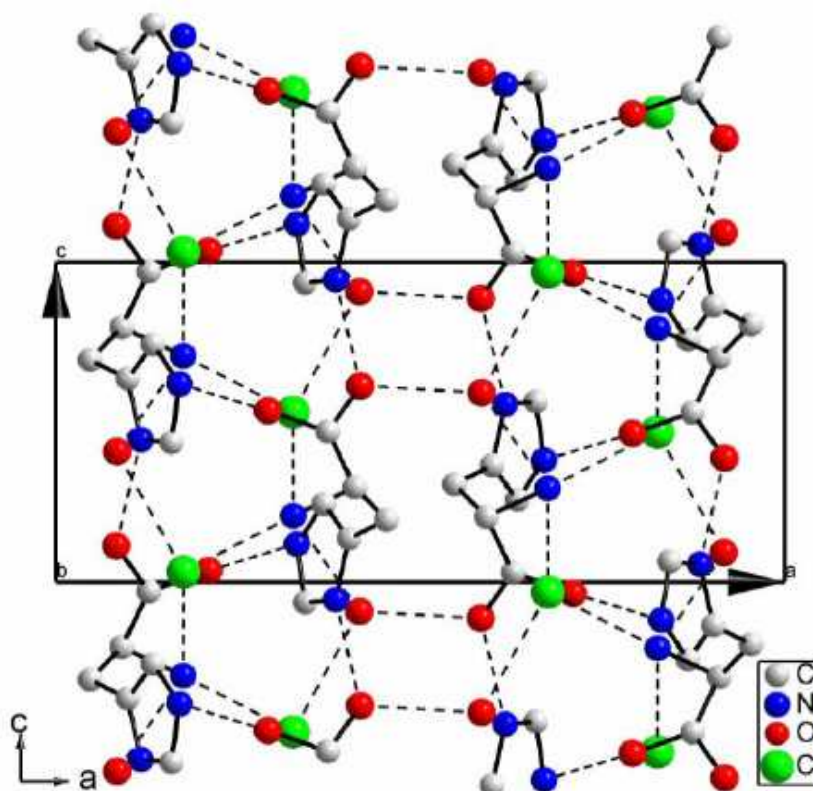


Figura 2: Projeção no plano (0 1 0) da estrutura do cristal de L-HICLM. As linhas pontilhadas representam pontes de hidrogênio (4).

2.2.1 Teoria de Grupos para o cristal de L-HICLM

A L-HICLM tem 25 átomos por molécula e quatro moléculas por célula unitária, o que totaliza 100 átomos por célula unitária. Portanto, ao todo são previstos 300 modos normais de vibração. Sabendo que a L-HICLM pertence ao grupo espacial D_2^4 , temos que, da tabela 6A da referência (3), os possíveis sítios de simetria ocupados por este material são:

$$D_2^4 = [aC_1(4)], \quad (2.6)$$

o que indica que todos os sítios possíveis possuem simetria local C_1 e são ocupados por quatro átomos. Da tabela 6B (3), observa-se que os quatro átomos de cada sítio C_1 contribuem com doze modos de vibração entre as representações irredutíveis do grupo D_2^4 da seguinte forma: $3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3$. Como os 100 átomos da célula unitária ocupam 25 sítios $C_1(4)$, a representação total, Γ , dos modos de vibração da L-HICLM decomposta

em termos das representações irredutíveis do grupo D_2 é dada por:

$$\Gamma = 25(3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3) = 75(A + B_1 + B_2 + B_3). \quad (2.7)$$

A tabela 1 representa a tabela de caracteres do grupo D_2 . Daí, podemos afirmar que as representações B_1 , B_2 e B_3 originam um modo acústico cada, tal que:

$$\Gamma_{ac.} = B_1 + B_2 + B_3. \quad (2.8)$$

Desta forma, os modos óticos serão:

$$\begin{aligned} \Gamma_{ótico} &= \Gamma - \Gamma_{ac.} \\ \Gamma_{ótico} &= 75A + 74(B_1 + B_2 + B_3). \end{aligned} \quad (2.9)$$

A partir da equação 2.9 e da tabela 1, podemos afirmar que são previstos 297 modos óticos para a L-HICLM, onde todos eles são Raman ativos e 222 deles são também infravermelho (IR) ativos. Portanto,

$$\begin{aligned} \Gamma_{Raman} &= 75A + 74(B_1 + B_2 + B_3) \\ \Gamma_{IR} &= 74(B_1 + B_2 + B_3). \end{aligned}$$

A previsão dos modos de rede para o cristal de L-HICLM é dado pela soma dos modos translacionais e dos modos libacionais, onde os últimos são determinados segundo a tabela 6C da referência (3). Portanto,

$$\begin{aligned} \Gamma_{rede} &= \Gamma_{trans.} + \Gamma_{lib.} \\ \Gamma_{rede} &= 3(A + B_1 + B_2 + B_3) + (B_1 + B_2 + B_3) \\ \Gamma_{rede} &= 3A + 4(B_1 + B_2 + B_3). \end{aligned} \quad (2.10)$$

Assim, podemos afirmar que são previstos 15 modos relativos a vibrações da rede onde todos são Raman ativos.

2.2.2 Classificação dos Modos Raman da L-HICLM em Condições Ambientais

A tabela 2 mostra a classificação tentativa das bandas Raman da L-HICLM tal como proposta por (1).

Tabela 2: Classificação tentativa das bandas Raman da L-HICLM (1).

y(xx)y cm ⁻¹	y(zx)y cm ⁻¹	y(zz)y cm ⁻¹	Classificação*	y(xx)y cm ⁻¹	y(zx)y cm ⁻¹	y(zz)y cm ⁻¹	Classificação*
52	55	55	rede	919	918		op(CH)
65		65	rede	963	962	962	
	76	76	rede	979	979	978	
98			rede		1066	1068	ip(CH)i
108	110	112	rede		1082		
125			rede		1145	1141	r(NH ₃)
137	137	137	rede	1164	1164	1161	ip(CH)i
147			rede		1191	1190	
	159	159	rede	1208	1208	1208	
		183	rede	1264	1264	1264	ip(HC)i
191			rede		1289	1289	
	218			1315	1315	1315	
269	268	268		1336		1335	
		293		1360	1365	1363	δ(CH)
		325	δ(esq.)			1415	
382	384	384	τ(NH ₃)			1433	
	434	433		1450	1450	1452	
491	493		δ(esq.)	1485	1482	1482	
	532	530	r(CO ₂)	1610	1607	1611	ν (C=O)
608	608	608			1648		ν (C=O)
641				2949	2949	2950	Est.
	652	651			2973	2973	Est.
696	695		δ(CO ₂)	3027	3025	3024	Est.
809			w(H ₂ O)	3072	3082		Est.
826			γ(CO ₂)	3111	3110	3109	Est.
872	873	875	r(CO ₂)	3160	3160	3160	Est.
				3409	3411	3409	Est.

*op(CH): deformação CH fora do plano;

ip(CH)i: deformação CH no plano do grupo imidazol;

ip(NH)i: deformação NH no plano do imidazol;

ip(HC)i: deformação HC no plano do anel imidazol;

Est.: Estiramento de CH, NH₃⁺, OH;

δ: deformação;

τ: torção;

r: *rocking*;

w: *wagging*;

γ: vibração fora do plano;

ν: estiramento.

3 Procedimentos Experimentais

Inicialmente, neste capítulo é apresentado o método de obtenção das amostras utilizadas neste trabalho. Em seguida, é descrito o aparato experimental utilizado nos experimentos de análise térmica e de espectroscopia Raman: (i) a temperatura ambiente, (ii) a baixas temperaturas, (iii) a altas temperaturas e (iv) a altas pressões hidrostáticas.

3.1 As amostras de L-Histidina

As amostras policristalinas de L-histidina (L-HIS) utilizadas neste trabalho foram originadas do pó comercial fabricado pela Vetec Química Fina Ltda (figura 3a).

As amostras de L-histidina clorohidrato monohidratada (L-HICLM) foram obtidas usando o método de evaporação lenta do solvente. Este método consiste em dissolver uma certa quantidade de soluto (L-HICLM) em água destilada, baseando-se na curva de solubilidade do reagente, garantindo que a solução fique supersaturada. Em seguida, a solução é filtrada e posta em um béquer tampado com um filme PVC onde são feitos pequenos orifícios para facilitar a evaporação do solvente. A solução preparada é posta em repouso em um ambiente com temperatura controlada a 293 K. Depois de 2 a 3 semanas, verifica-se a formação de alguns cristais. A figura 3b mostra a foto de um dos cristais obtidos.

Para confirmar a estrutura das amostras, foram realizados experimentos de difração de raios-X de pó no Laboratório de Raios-X do Departamento de Física da UFC utilizando um Difrátômetro de Raios-X (modelo DMAXB, da Rigaku) utilizando radiação monocromática de CuK com uma lâmina de grafite. Os experimentos foram feitos utilizando a configuração $\theta - 2\theta$, com 2θ variando no intervalo de 10° a 60° , a uma taxa de varredura de $0,5^\circ/\text{min}$. Em seguida, utilizou-se o método de refinamento Rietveld do programa DBWS (5, 6) para obter os dados cristalográficos das amostras medidas. As



Figura 3: (a) Pó comercial utilizado nos experimentos com cristais de L-HIS; (b) Cristal de L-HICLM obtido pelo método de evaporação lenta do solvente.

figuras 4 e 5b mostram os difratogramas dos pós da L-HIS e L-HICLM, respectivamente confirmando que as estruturas das amostras utilizadas são compatíveis com as estruturas existentes na literatura (2, 7). As tabelas 3 e 4 mostram os dados cristalográficos obtidos utilizando o refinamento Rietveld.

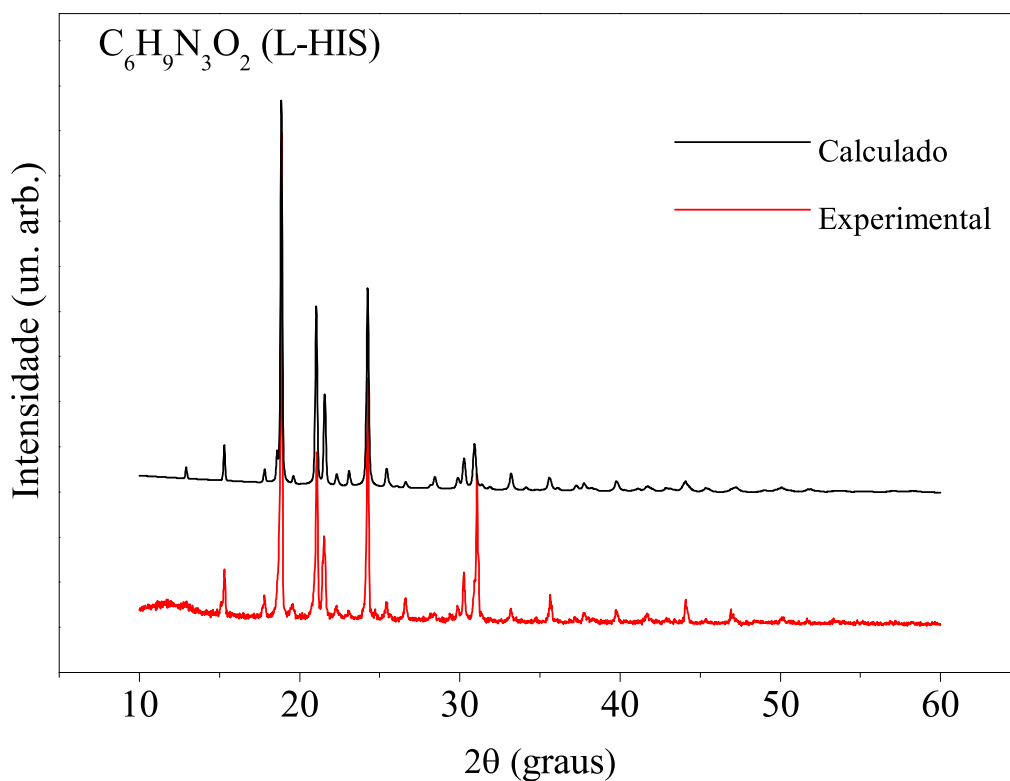
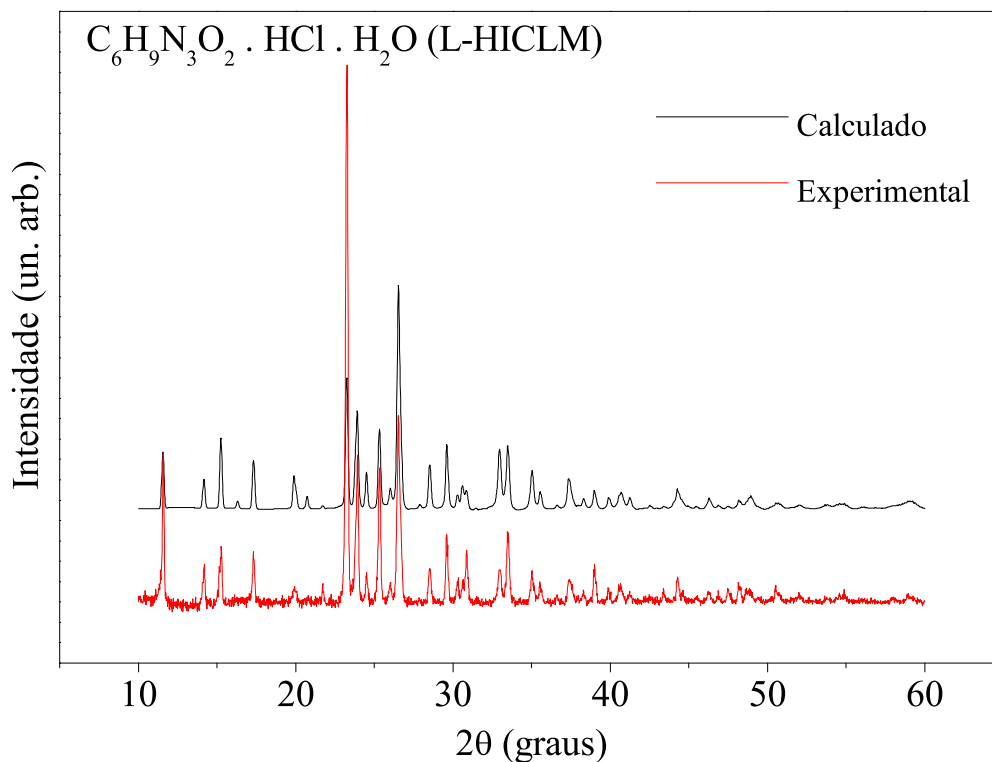


Figura 4: Difratograma do pó da L-HIS obtido experimentalmente e o difratograma obtido utilizando o refinamento Rietveld.



(b)

Figura 5: Difratograma do pó da L-HICLM obtido experimentalmente e o difratograma obtido utilizando o refinamento Rietveld.

Tabela 3: Dados cristalográficos da L-HIS.

a	5,1510 Å
b	7,3285 Å
c	18,7772 Å
$\alpha = \beta = \gamma$	90,000°
Grupo Espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (D ₂ ⁴)
Z	4

Tabela 4: Dados cristalográficos da L-HICLM.

a	15,300 Å
b	8,926 Å
c	6,848 Å
$\alpha = \beta = \gamma$	90,000°
Grupo Espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (D ₂ ⁴)
Z	4

3.2 Experimentos de Análise Térmica

A amostra de L-HIS foi caracterizada por meio de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA), com o objetivo de verificar suas proprie-

dades térmicas em função da temperatura. Estas medidas foram realizadas com o intuito de auxiliar na interpretação dos experimentos de espectroscopia Raman em função da temperatura.

3.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise TGA foi realizada utilizando-se o equipamento STA 409C (figura 6a), da Netzsch, com taxa de aquecimento de 5K/min, de 303K até 623K em atmosfera de gás nitrogênio (N_2), no qual estava acoplado um sistema de espectroscopia de absorção de IR com transformada de Fourier (FT-IR) para a saída do gás proveniente do STA. O sistema de espectroscopia de FT-IR (figura 6b) acoplado ao equipamento de medidas térmicas é composto pelo espectrômetro de FT-IR, modelo TENSOR 27 da Bruker Optics, e pelo módulo de acoplamento de TGA-IR, também da Bruker Optics, módulo este que serve para fazer a transferência dos gases da saída do STA para o espectrômetro. Estas análises foram feitas usando uma janela de ZnSe no intervalo de 650 cm^{-1} a 4500 cm^{-1} . A figura 6c mostra o sistema de análise térmica do Laboratório de Física Aplicada da Universidade Federal do Ceará.

3.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A análise de DSC foi realizada utilizando o equipamento DSC 204F1 (figura 7), da Netzsch, sendo o experimento realizado em atmosfera de nitrogênio (N_2). Nos experimentos a baixas temperaturas, utilizou-se nitrogênio líquido (N_2) para o resfriamento e utilizou-se cadinhos de alumínio (Al). A amostra, com massa em torno de 5mg, foi analisada utilizando o seguinte programa de aquecimento: de 153K a 298K a uma taxa de aquecimento de 12K/min e de 298K a 573K utilizando uma taxa de aquecimento de 2K/min.

3.3 Experimentos de Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier

Experimentos de FT-Raman foram realizados a temperatura ambiente nas amostras de L-HIS e L-HICLM.

Espectros FT-Raman foram obtidos usando o módulo RAM II (figura 8), também da Bruker Optics, acoplado ao espectrômetro descrito na seção anterior e a um detector de Ge

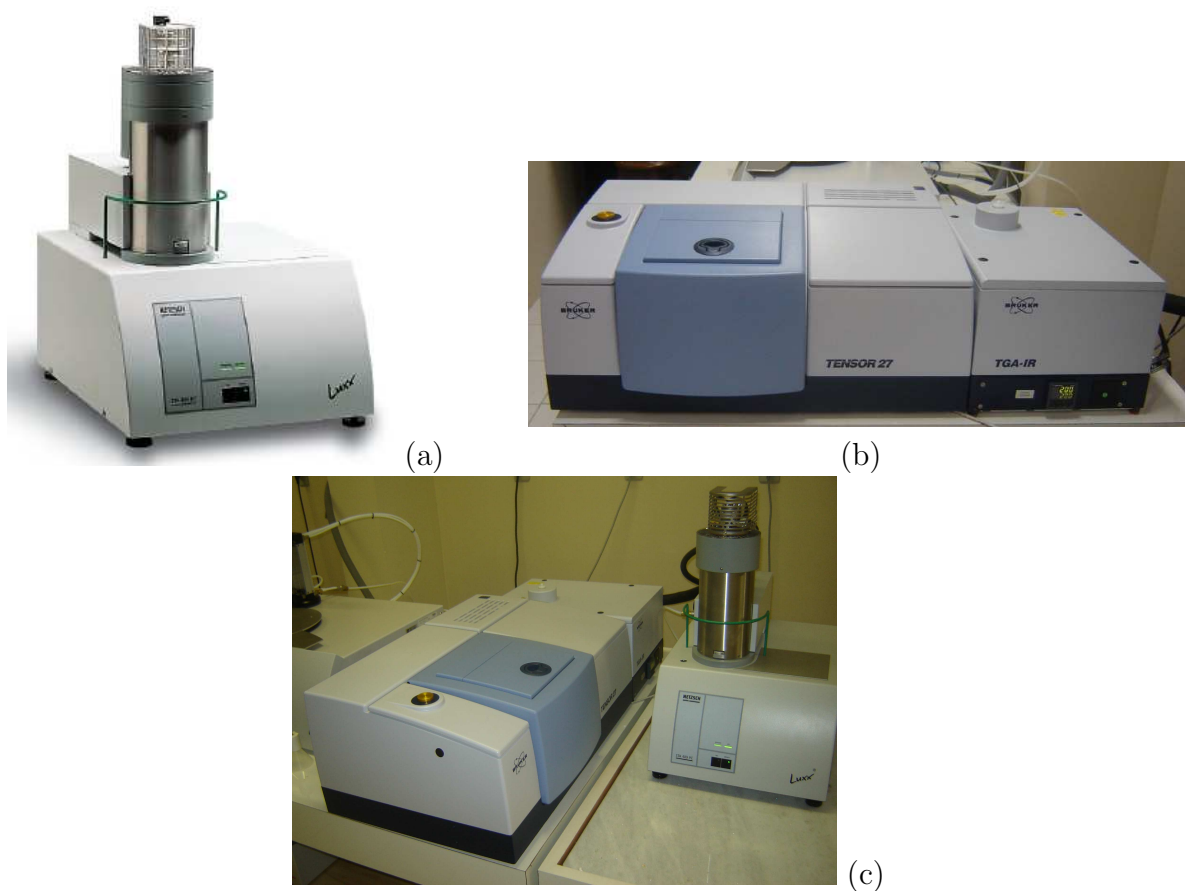


Figura 6: (a) Equipamento STA 409C da Netzsch; (b) Sistema de espectroscopia de absorção de IR com transformada de Fourier (FT-IR); (c) Equipamentos de análise térmica utilizados.



Figura 7: Equipamento DSC 204F1 da Netzsch.

resfriado a nitrogênio líquido (N_2). Foi utilizada uma fonte de excitação de Nd:YAG com potência de 200 mW e comprimento de onda de 1064 nm. Os espectros foram coletados na região de $10\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ com resolução de 4 cm^{-1} . Os experimentos foram realizados utilizando apenas o pó das amostras a serem medidas.



Figura 8: Equipamentos utilizados nos experimentos de espectroscopia com transformada de Fourier: Vertex 70 e o módulo RAM II.

3.4 Experimentos de Espectroscopia Raman

Os espectros Raman dos cristais foram obtidos utilizando um sistema de micro-Raman que utiliza uma geometria de retroespalhamento (figura 9). Essa configuração consiste na incidência de um feixe de radiação eletromagnética (\vec{E}_i) na amostra que é aproximadamente paralela à radiação espalhada (\vec{E}_e). A luz espalhada foi coletada através do sistema T64000 da Jobin Yvon - SPEX, Division d'Instruments S.A. (figura 10a), que consiste de um espectrômetro triplo, ao qual foi acoplado um sistema de micro-análise, um micro-computador e um sistema de detecção tipo CCD (*Coupled Charge Device*) resfriado a nitrogênio líquido. Os experimentos realizados utilizaram um laser de argônio (Ar), modelo Innova 70 da Coherent Inc., emitindo na linha de 514,5 nm com potências entre 200 e 300 mW. A região espectral observada nessas análises foi de 50 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} . Pelo caminho ótico foram posicionados espelhos, prismas, lentes, polarizadores, rodadores de polarização e diafragmas. O sistema de micro-análise é constituído por uma câmera de vídeo ligada a um monitor e adaptada a um microscópio confocal Olympus BX40 (figura 10b) com uma lente objetiva plano cromática com distância focal de 20 mm e abertura numérica 0,35, microscópio que tem como objetivo focalizar o feixe do laser sobre a superfície da amostra com precisão.

Na figura 10c é possível verificar a propagação da luz no sistema, desde a saída do laser, passando pela amostra e sendo, por último, analisada pelo espectrômetro. No espectrômetro, a luz retroespalhada entra pela fenda F_1 e sofre dispersão na grade de difração G_1 . Parte da luz é orientada a passar pela fenda F_2 . Esta luz agora se encontra com comprimentos de onda selecionados entre λ_1 e λ_2 . Novamente, a luz é dispersa, agora

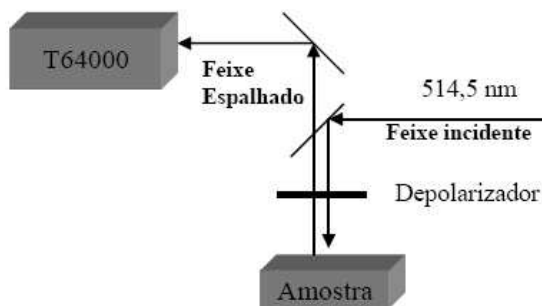
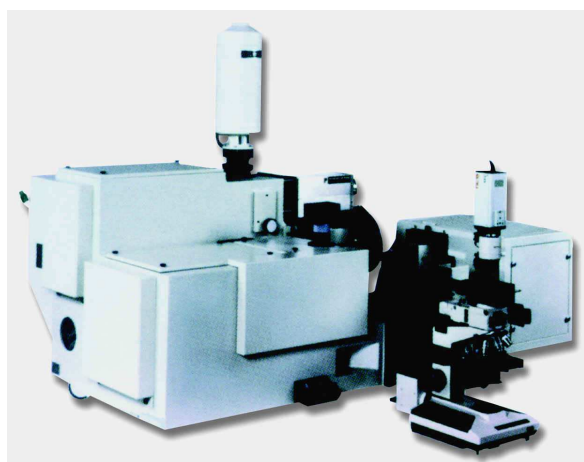
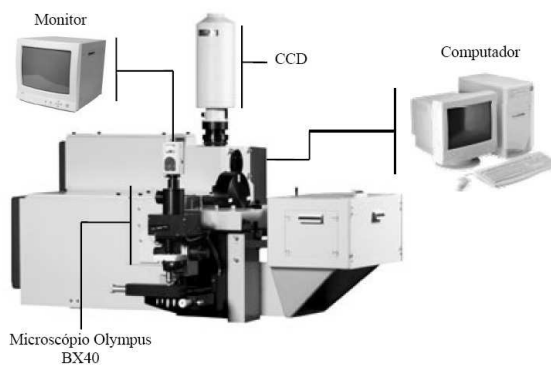


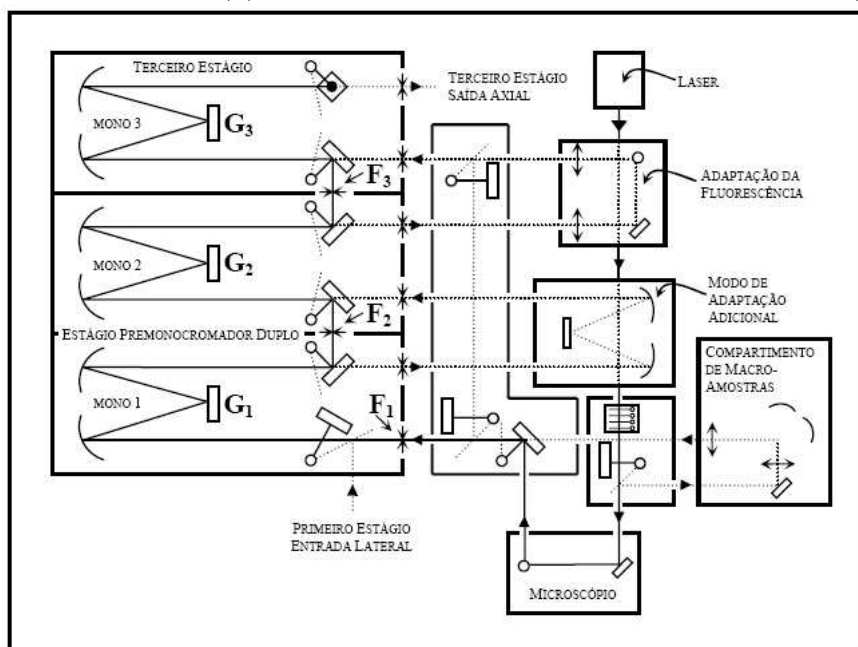
Figura 9: Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento.



(a)



(b)



(c)

Figura 10: (a) Espectrômetro T64000 da Jobin Yvon - SPEX da Division d'Instruments S.A.; (b) Sistema de micro-análise Raman; (c) Diagrama do funcionamento óptico do espectrômetro T64000.

pela grade G_2 , e uma nova faixa de comprimentos de onda é selecionada na passagem pela fenda F_3 . A luz sofre mais uma nova dispersão (em G_3) e então é detectada pelo dispositivo de cargas acopladas, cuja unidade é resfriada com nitrogênio líquido (N_2). As fendas do espectrômetro foram ajustadas de modo a fornecer uma resolução espectral da ordem de 2 cm^{-1} . O sistema é alinhado utilizando uma amostra padrão de silício usando a sua banda Raman posicionada em 521 cm^{-1} . Uma interface apropriada possibilita a transferência dos sinais coletados no espectrômetro para o computador.

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se os softwares PeakFit da SPSS Inc. e Origin da OriginLab Corporation. Os espectros foram ajustados por deconvolução dos picos, onde foi utilizada a função lorentziana + gaussiana devido a sua razão sinal/ruído. Em seguida, foram extraídos dados como posição e largura de linha das bandas Raman observadas para que fosse feita a interpretação dos dados.

3.4.1 Espectroscopia Raman a baixas temperaturas

Para os experimentos a baixas temperaturas, além dos equipamentos de espectroscopia Raman, foi utilizado um criostato modelo DE202S da Air Products and Chemicals Inc. (figura 11), no qual estava acoplado um sistema de alto vácuo modelo E2M8 da Edwards Vacuum Ltda. A refrigeração do criostato foi feita utilizando um sistema de ciclo fechado de hélio contínuo da Air Products and Chemicals Inc. modelo 0-10000HR, que bombeia o gás hélio até a extremidade do criostato onde é a amostra é colocada.

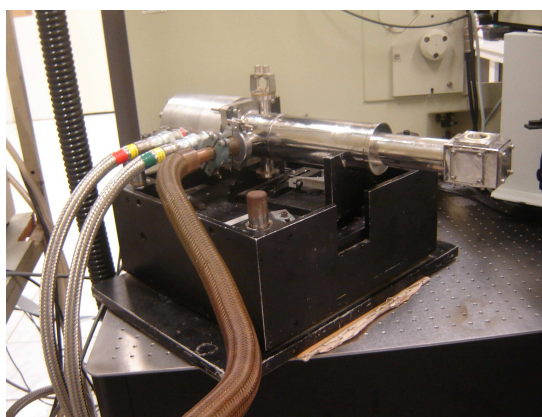


Figura 11: Criostato utilizado nos experimentos a baixas temperaturas.

Os experimentos no cristal de L-HIS foram realizados desde a temperatura ambiente (295 K) até a temperatura de 30 K . A temperatura foi medida utilizando um termopar do tipo T (Cobre/Constantan) ligado a um controlador de temperatura Lakeshore modelo 330 cuja precisão é de $\pm 0,1\text{ K}$.

3.4.2 Espectroscopia Raman a altas temperaturas

Para os experimentos a altas temperaturas foi utilizado um forno resistivo (figura 12) fabricado no nosso Departamento sob a orientação do professor Dr. Alejandro Pedro Ayala. O forno foi contruído baseado no forno modelo TS15000 da Linkam Scientific Instruments. A refrigeração do forno foi feita com água e o controle de temperatura foi realizado utilizando um termopar tipo S (Platina/Ródio-Platina) e um controlador modelo HW4200 da Coel Controles Elétricos Ltda.

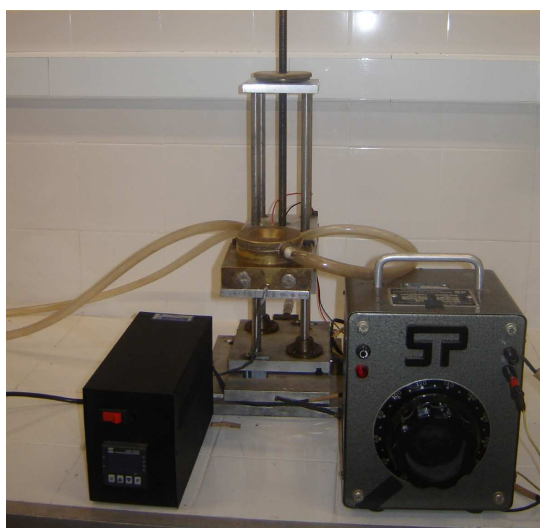


Figura 12: Sistema utilizado nos experimentos a altas temperaturas.

Os experimentos no cristal de L-HIS foram realizados desde a temperatura ambiente (295 K) até a temperatura de 450 K.

3.4.3 Espectroscopia Raman a altas pressões hidrostáticas

A célula utilizada nos experimentos de altas pressões hidrostáticas (figura 13) era do tipo bigorna com diamantes (DAC - *Diamond Anvil Cell*), confeccionada em Campinas/SP sob a orientação da professora Dra. Vólia Lemos Crivellenti. A célula possuía limites de operação no intervalo de pressão de 0-10 GPa. O funcionamento da célula consistia em colocar uma amostra de rubi e a amostra a ser medida imersas em um fluido transmissor de pressão dentro de uma gaxeta entre dois extremos de diamantes, através da aplicação de uma força externa.

A figura 14 mostra o esquemate de funcionamento da célula de pressão. Este equipamento é constituído basicamente dos seguintes elementos:

1. Parafuso principal;



Figura 13: Célula de pressão utilizada sobre o suporte para as medidas de espalhamento Raman.

2. Alavanca;
3. Pistão móvel;
4. Gaxeta metálica;
5. Diamante superior;
6. Diamante inferior;
7. Cavidade (interior da gaxeta).

A força externa é produzida pela rotação do parafuso principal (1) e é transmitida ao diamante montado sobre o pistão móvel (3) por meio da alavanca (2). Desta forma, a gaxeta (4) onde está localizada a amostra é pressionada contra o diamante fixo (5). A montagem da célula de pressão é um processo em que se deve ter muito cuidado, pois caso os diamantes estejam descentralizados, os mesmos poderão quebrar durante o experimento. A montagem é feita com o auxílio de um microscópio para que se possa obter o paralelismo dos diamantes. Para isso é necessário movimentar-se as mesas que apoiam os diamantes de forma a obter a menor quantidade de franjas de interferência sob luz branca.

As gaxetas utilizadas nos experimentos eram lâminas de uma liga metálica especial, Aço Inox 301, com espessura de $150 \mu\text{m}$. O furo das gaxetas têm diâmetros da ordem de $200 \mu\text{m}$, furo este feito a laser. Depois de furadas as gaxetas, as mesmas são lixadas a fim de eliminar rebarbas na borda do furo. Em seguida, a gaxeta é colocada sobre o diamante fixo para que possam ser colocadas a amostra de rubi ($\text{Al}_2\text{O}_3:\text{Cr}^{3+}$) e a amostra a ser medida. O furo é então preenchido com um fluido transmissor de pressão e a célula

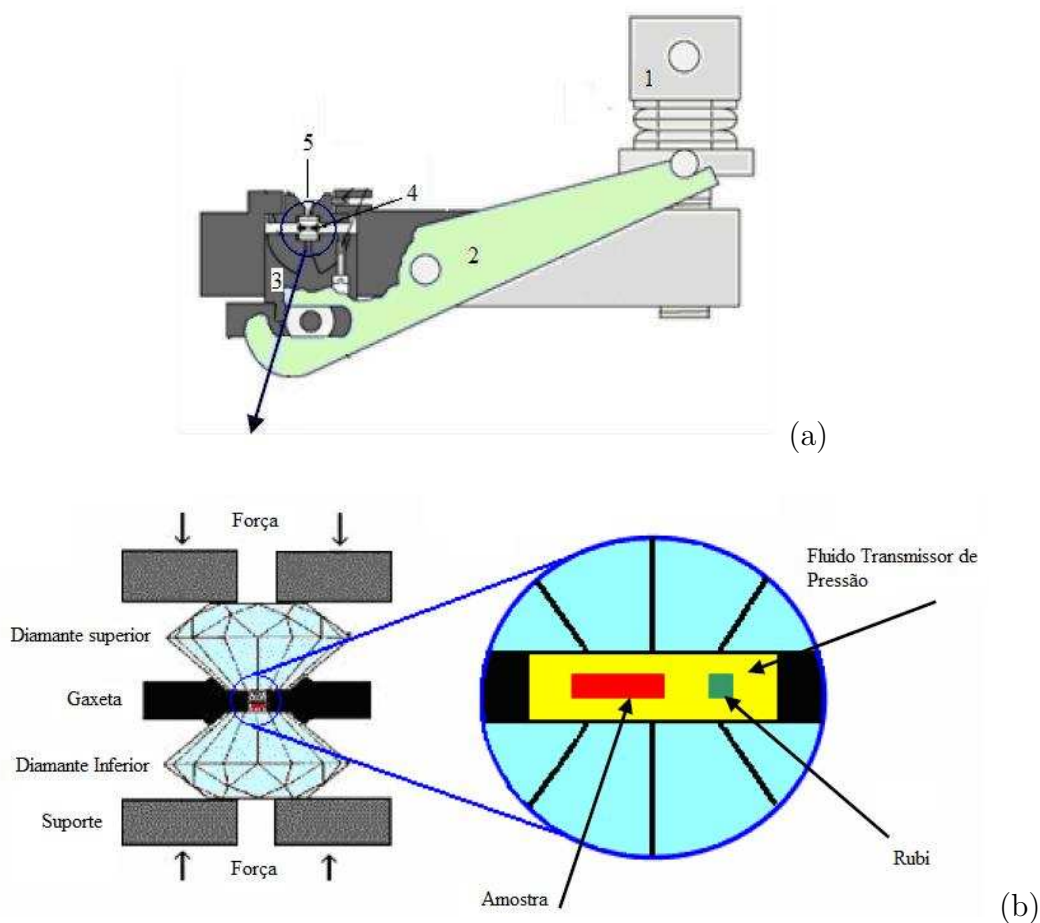


Figura 14: (a) Célula de pressão hidrostática utilizada nos experimentos de espectroscopia Raman; (b) Vista ampliada da gaxeta da célula de pressão.

é fechada com o diamante móvel sobre a gaxeta. O fluido transmissor utilizado nos experimentos foi o óleo mineral Nujol, escolha baseada na não-reatividade do óleo com a amostra estudada e no fato de que o mesmo mantém sua hidrostaticidade no intervalo de pressão desejado.

A calibração da pressão no interior da célula foi feita através de técnica de luminescência do rubi (8). Sabe-se que as duas linhas de luminescência do rubi ($\text{Al}_2\text{O}_3:\text{Cr}^{3+}$), 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 encontrada usando a expressão:

$$P(\text{GPa}) = \frac{\omega_{R_i} - \omega_{R_i}^0}{7,535}, \quad (3.1)$$

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

4 Propriedades Vibracionais do Cristal de L-HIS à Temperatura Ambiente

Experimentos de espectroscopia Raman por transformada de Fourier (FT-Raman) na região espectral entre 10 cm^{-1} e 3400 cm^{-1} foram realizados a temperatura ambiente com o objetivo de classificar as bandas Raman observadas.

A tentativa de classificação das bandas foi feita por comparação com bandas classificadas previamente em outros cristais orgânicos, dando-se ênfase a cristais de aminoácidos.

4.1 Região espectral de 10 cm^{-1} a 600 cm^{-1}

A figura 15 apresenta o espectro Raman do cristal de L-HIS no intervalo espectral de 10 cm^{-1} a 600 cm^{-1} . Nesta região foram observados 17 modos que estão listados na tabela 5.

Tabela 5: Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 10 cm^{-1} a 600 cm^{-1} .

Modo	Número de onda (cm^{-1})	Modo	Número de onda (cm^{-1})
1	71	10	241
2	79	11	307
3	91	12	317
4	104	13	339
5	117	14	362
6	136	15	404
7	153	16	419
8	171	17	539
9	215		

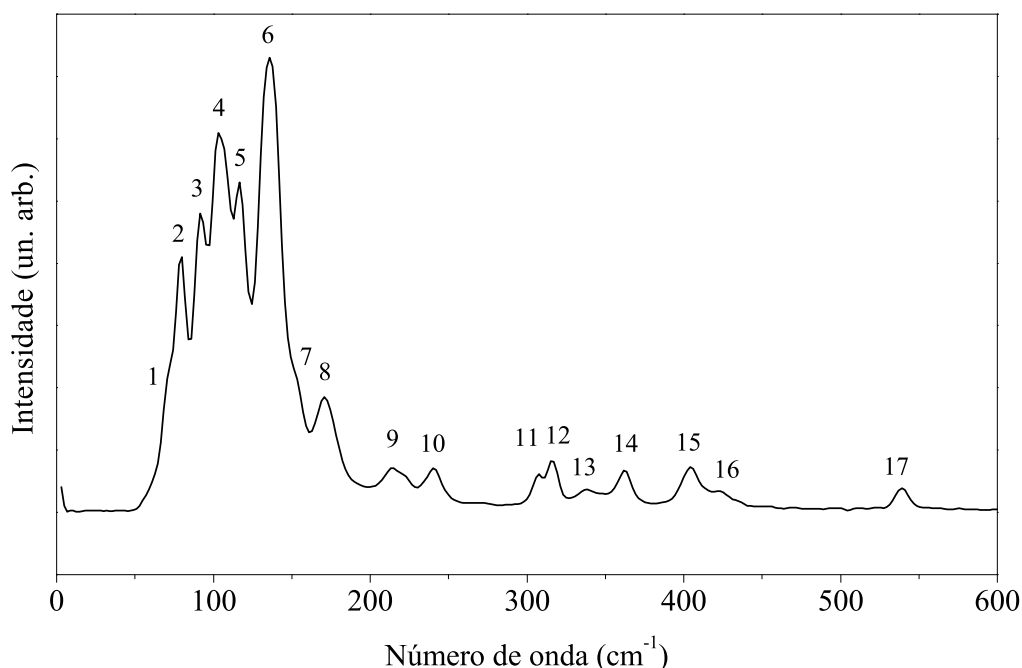


Figura 15: Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 10 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Na região de 10 cm^{-1} a 200 cm^{-1} se espera observar os modos externos de vibração do cristal (modos da rede) e vibrações internas de baixas energias, que são fundamentais para um correto entendimento da estabilidade estrutural do material. Na verdade, existe uma certa dificuldade em se estabelecer um número de onda que represente o limite para os modos externos. Na literatura vem sendo classificados como modos externos os modos com número de onda inferior a 200 cm^{-1} . No entanto, a banda posicionada em 171 cm^{-1} é atribuída a uma torção da unidade CO_2^- , $\tau(\text{CO}_2^-)$. A mesma vibração foi observada em 175 cm^{-1} na L-leucina (9) e em 171 cm^{-1} na L-isoleucina (10). Portanto, com exceção da banda posicionada em 171 cm^{-1} , todos os modos com número de onda inferior a 200 cm^{-1} foram classificados como modos da rede.

A banda posicionada em 215 cm^{-1} foi identificada como uma torção do CH, $\tau(\text{CH})$, em virtude desta banda aparecer na L-valina em 213 cm^{-1} (11) e na L-leucina em 205 cm^{-1} (9). A banda encontrada em 241 cm^{-1} foi identificada como uma vibração fora do plano do CH, $\gamma(\text{CH})$. Esta banda foi observada na L-leucina em 245 cm^{-1} (9). As bandas localizadas em 317 cm^{-1} , 362 cm^{-1} e 419 cm^{-1} foram classificadas como deformações do esqueleto da molécula de L-HIS, $\delta(\text{esq.})$ Na L-histidina sulfatada (12) estas vibrações foram encontradas em 310 cm^{-1} e 423 cm^{-1} . Na L-asparagina monohidratada (13) e na

L-valina (11) deformações desse tipo também foram observadas em 353 cm^{-1} e em 358 cm^{-1} , respectivamente.

O modo encontrado em 539 cm^{-1} foi identificado como uma vibração do tipo *rocking* da unidade CO_2^- , $r(\text{CO}_2^-)$. A mesma vibração foi observada na L-histidina clorohidrato monohidratada em 532 cm^{-1} (14) e na L-valina em 541 cm^{-1} (11).

4.2 Região espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}

A figura 16 apresenta o espectro Raman do cristal de L-HIS na região espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} . Nesta região foram observados 17 modos que estão listados na tabela 6.

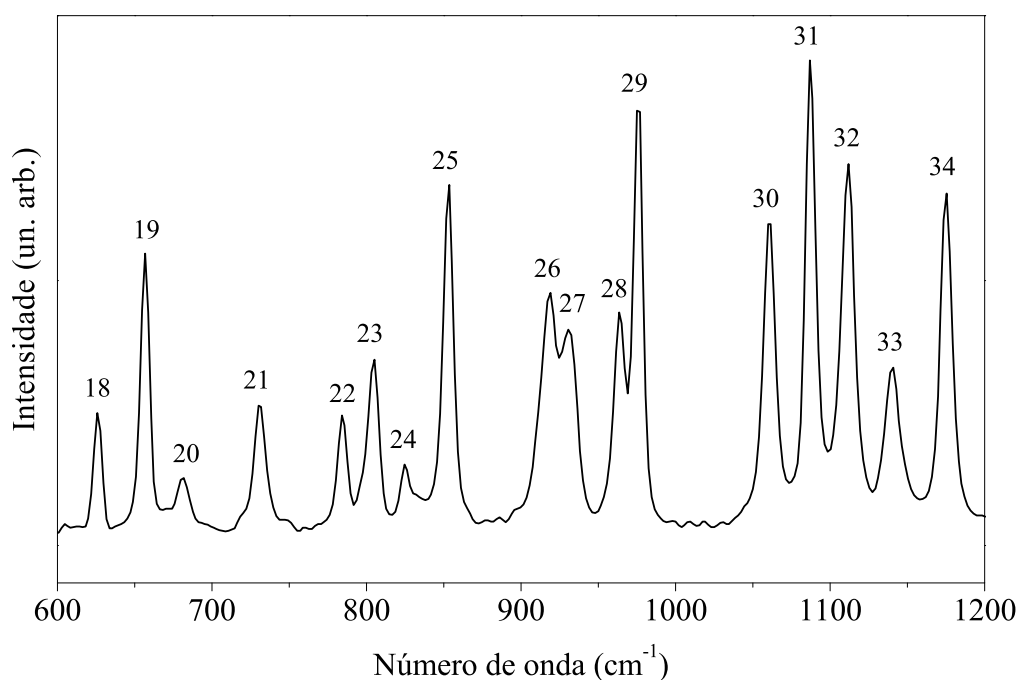


Figura 16: Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

A banda posicionada em 657 cm^{-1} foi identificada como uma deformação do anel imidazol juntamente com uma deformação fora do plano do NH, $\delta_{anel} + \delta_{op}(\text{NH})$, pois a mesma vibração foi identificada por espectroscopia Raman em 643 cm^{-1} e por espectroscopia IR em 653 cm^{-1} na L-histidina sulfatada (12).

Tabela 6: Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 600 cm⁻¹ a 1200cm⁻¹.

Modo	Número de onda (cm ⁻¹)	Modo	Número de onda (cm ⁻¹)
18	626	27	932
19	657	28	964
20	681	29	976
21	731	30	1061
22	785	31	1087
23	804	32	1112
24	826	33	1141
25	853	34	1175
26	918		

O modo observado em 681 cm⁻¹ pode ser identificado como vibrações do tipo *scissoring* da unidade CO₂⁻, sci(CO₂⁻), já que Rajkumar *et. al.* (12) observaram esta vibração em 684 cm⁻¹ na L-histidina sulfatada. O modo posicionado em 731 cm⁻¹ foi identificado como uma vibração do tipo *rocking* da unidade CH₂, r(CH₂), pois a mesma vibração foi observada em 736 cm⁻¹ na taurina (15).

Identificamos a banda posicionada em 785 cm⁻¹ como uma deformação da unidade CO₂⁻, δ(CO₂⁻), devido ao fato de que essa banda está próxima aos valores encontrados na L-leucina (9). A banda posicionada em 804 cm⁻¹ foi identificada como uma vibração do tipo *rocking* da unidade CH₂, r(CH₂), essa vibração foi encontrada na L-asparagina monohidratada em 802 cm⁻¹ (13).

O modo em 826 cm⁻¹ pode ser atribuído a uma vibração do tipo *wagging* da unidade CO₂⁻, w(CO₂⁻), baseando-se no fato de que esta vibração foi observada em 826 cm⁻¹ na L-asparagina monohidratada (13) e na L-iso-leucina (10). É interessante destacar que para alguns outros cristais de aminoácidos esta vibração é observada em menores números de onda, como na L-leucina, que é observada em 671 cm⁻¹ (9).

A banda localizada em 853 cm⁻¹ pode ser classificada como uma vibração dos átomos de hidrogênio contidos no anel imidazol, δ_{anel} (16). As bandas localizadas em 918 cm⁻¹ e em 964 cm⁻¹ foram identificadas como estiramentos C-C, ν(CC), pois as mesmas vibrações foram observadas na L-valina em 925 cm⁻¹ e em 966 cm⁻¹ (11) e na L-leucina em 919 cm⁻¹ e em 965 cm⁻¹ (9).

Wolpert *et. al.* (16), ao estudar a L-histidina em soluções com baixo pH, encontraram que uma vibração posicionada em 1067 cm⁻¹ é encontrada no imidazol e pode ser atribuída principalmente a deformações CH, δ_{anel}(CH). Faria *et. al.* (14), ao estudar a L-histidina

clorohidrato monohidratada, classificaram uma banda posicionada em 1066 cm⁻¹ como deformações das unidades CH presentes no anel imidazol, $\delta_{anel}(\text{CH})$. Desta forma, a banda posicionada em 1061 cm⁻¹ foi classificada da mesma forma, $\delta_{anel}(\text{CH})$.

A banda posicionada em 1087 cm⁻¹ foi identificada como um estiramento simétrico do C-N, $\nu_s(\text{CN})$, devido ao fato dessa banda ter sido observada em 1083 cm⁻¹ na L-leucina (9) e em 1087 cm⁻¹ na L-isoleucina (10).

As bandas observadas em 1112 cm⁻¹, em 1141 cm⁻¹ e em 1175 cm⁻¹ correspondem a vibrações do tipo *rocking* da unidade NH₃⁺, $r(\text{NH}_3^+)$. As duas primeiras bandas foram observadas na L-asparagina monohidratada em 1109 cm⁻¹ e em 1141 cm⁻¹ (13), respectivamente. A segunda banda também foi observada na L-histidina clorohidrato monohidratada em 1141 cm⁻¹ (13) e na L-valina em 1147 cm⁻¹ (11). A terceira banda foi observada em 1175 cm⁻¹ na L-leucina (9) e em 1179 cm⁻¹ na taurina (15).

4.3 Região espectral de 1200 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹

A figura 17 apresenta o espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente no intervalo espectral de 1200 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹. Esta região contém bandas associadas a deformações das unidades CH e CH₂, estiramentos da unidade CO₂⁻, entre outros. Nesta região foram observados 13 modos que estão listados na tabela 7.

Tabela 7: Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 1200 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹.

Modo	Número de onda (cm ⁻¹)	Modo	Número de onda (cm ⁻¹)
35	1224	42	1430
36	1251	43	1475
37	1271	44	1498
38	1318	45	1536
39	1336	46	1570
40	1347	47	1640
41	1407		

O modo observado em 1224 cm⁻¹ pode ser identificado como vibrações do tipo *twisting* da unidade CH₂, $\text{tw}(\text{CH}_2)$, já que Rajkumar *et. al.* (12) observaram esta vibração em 1234 cm⁻¹ na DL-histidina nitrada.

A banda localizada em 1347 cm⁻¹ foi identificada como uma deformação do C-H, $\delta(\text{CH})$, pois a mesma foi observada em 1346 cm⁻¹ na L-leucina (9) e em 1352 cm⁻¹ na

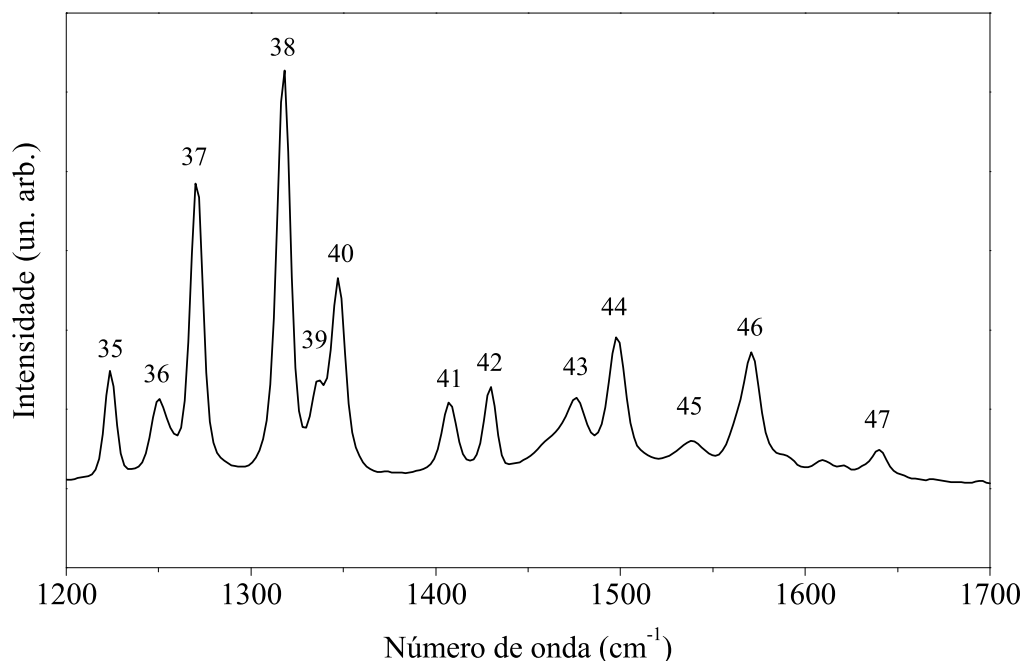


Figura 17: Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} .

L-isoleucina (10).

A banda posicionada em 1407 cm^{-1} foi classificada como um estiramento simétrico da unidade CO_2^- , $\nu_s(\text{CO}_2^-)$, em analogia aos valores observados na L-histidina sulfatada, onde foi encontrada em 1406 cm^{-1} utilizando espectroscopia Raman e em 1414 cm^{-1} utilizando espectroscopia IR (12). Essa mesma banda também foi observada por Deplazes *et. al.* que ao estudar a L-histidina na forma zwitteriônica encontraram a mesma vibração em 1409 cm^{-1} (17).

Rajkumar *et. al.* (12), ao estudar a L-histidina sulfatada, observaram uma vibração em 1429 cm^{-1} quando se utilizou espectroscopia Raman e em 1433 cm^{-1} quando se utilizou espectroscopia IR atribuindo às mesmas a deformações da unidade CH_2 , $\delta(\text{CH}_2)$. Portanto, concluímos que a banda encontrada em 1430 cm^{-1} também é oriunda de deformações desse tipo. Na mesma referência, encontramos que na L-histidina sulfatada, foi observada uma vibração do tipo estiramento assimétrico do CO_2^- , $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$, em 1500 cm^{-1} por espectroscopia IR e em 1506 cm^{-1} por espectroscopia Raman. Desta forma, atribuímos a banda encontrada em 1498 cm^{-1} a deformações do tipo $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$.

A banda localizada em 1475 cm^{-1} foi identificada como deformações da unidade CH_3 , $\delta(\text{CH}_3)$, pois as mesmas vibrações foram observadas na L-leucina e na L-isoleucina, ambas

em 1475 cm⁻¹ (9, 10). Lima Jr. *et. al.*, ao estudar a L-valina, atribuíram uma banda posicionada em 1567 cm⁻¹ a um estiramento assimétrico da unidade CO₂⁻, $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$. Assim, concluímos que a banda posicionada em 1570 cm⁻¹ é devida ao estiramento acima citado, $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$.

A banda posicionada em 1640 cm⁻¹ pode ser atribuída a uma deformação da unidade NH₃⁺, $\delta(\text{NH}_3^+)$, em concordância com os valores observados por Lima Jr. *et. al.* (11) e por Façanha Filho *et. al.* (9) que observaram esta vibração na L-valina em 1639 cm⁻¹ e na L-isoleucina em 1642 cm⁻¹.

4.4 Região espectral de 2750 cm⁻¹ a 3250 cm⁻¹

A figura 18 apresenta o espectro Raman do cristal de L-HIS no intervalo espectral de 2750 cm⁻¹ a 3250 cm⁻¹. Esta região é característica de modos de estiramento das unidades CH, CH₂, CH₃, NH₃ etc. Nos nossos espectros foram observados 6 modos que estão listados na tabela 8.

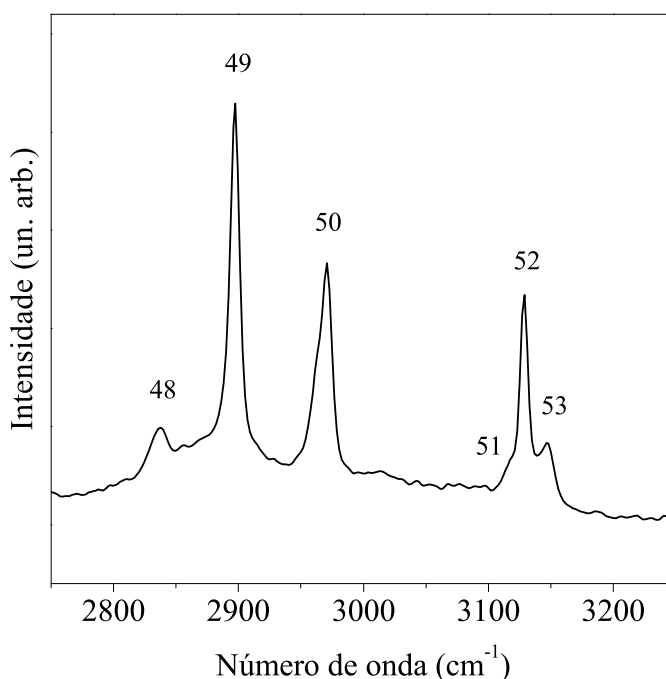


Figura 18: Espectro Raman do cristal de L-HIS à temperatura ambiente na região espectral entre 2750 cm⁻¹ e 3250 cm⁻¹.

Façanha Filho *et. al.* (9), ao estudar a L-leucina, observaram uma vibração em 2906 cm⁻¹ atribuindo-a a um estiramento simétrico da unidade CH₂, $\nu_s(\text{CH}_2)$. Portanto,

Tabela 8: Modos Raman do cristal de L-HIS observados no intervalo espectral de 2750 cm^{-1} a 3250 cm^{-1} .

Modo	Número de onda (cm^{-1})	Modo	Número de onda (cm^{-1})
48	2836	51	3117
49	2897	52	3129
50	2969	53	3146

concluiu-se que a banda encontrada em 2897 cm^{-1} também é oriunda de estiramentos desse tipo.

A banda posicionada em 2969 cm^{-1} pode ser atribuída a um estiramento assimétrico ν_{as} de uma das seguintes unidades: CH, CH₂ ou CH₃. Neste caso, não foi possível estabelecer um limite para a região de cada uma dessas vibrações conforme resultados anteriores apresentados nas referências (10, 12, 13, 18).

O modo observado em 3129 cm^{-1} pode ser identificado como deformações do anel imidazol juntamente com estiramentos C-H, $\delta_{anel} + \nu(\text{CH})$, em concordância com Rajkumar *et. al.* (12) que observaram esta vibração em 3146 cm^{-1} na L-histidina sulfatada.

4.5 Conclusões

Experimentos de espectroscopia Raman por transformada de Fourier (FT-Raman) à temperatura ambiente foram realizados em uma amostra de L-HIS na região espectral de 10 cm^{-1} a 3400 cm^{-1} . Foram observados 53 modos normais de vibração e parte deles foi classificado, tentativamente, a partir de trabalhos de espectroscopia vibracional em outros cristais de aminoácidos.

A tabela 9 mostra a classificação tentativa das bandas Raman da L-HIS conforme apresentados neste capítulo.

Tabela 9: Classificação tentativa das bandas Raman do cristal de L-HIS.

Número de onda (cm^{-1})	Classificação tentativa
71	rede
79	rede
91	rede
104	rede
117	rede
136	rede
153	rede
171	$\tau(\text{CO}_2^-)$
215	$\tau(\text{CH})$
241	$\gamma(\text{CH})$
307	
317	$\delta(\text{esq.})$
339	
362	$\delta(\text{esq.})$
404	
419	$\delta(\text{esq.})$
539	$r(\text{CO}_2^-)$
626	
657	$\delta_{anel} + \delta_{op}(\text{NH})$
681	$\text{sci}(\text{CO}_2^-)$
731	$r(\text{CH}_2)$
785	$\delta(\text{CO}_2^-)$
804	$r(\text{CH}_2)$
826	$w(\text{CO}_2^-)$
853	δ_{anel}
918	$\nu(\text{CC})$
932	
964	$\nu(\text{CC})$
976	
1061	$\delta_{anel}(\text{CH})$
1087	$\nu_s(\text{CN})$

Tabela 9: Classificação tentativa das bandas Raman da L-HIS (continuação).

Número de onda (cm^{-1})	Classificação tentativa
1112	r(NH ₃ ⁺)
1141	r(NH ₃ ⁺)
1175	r(NH ₃ ⁺)
1224	tw(CH ₂)
1251	
1271	
1318	
1336	
1347	δ (CH)
1407	ν_s (CO ₂ ⁻)
1430	δ (CH ₂)
1475	δ (CH ₃)
1498	ν_{as} (CO ₂ ⁻)
1536	
1570	ν_{as} (CO ₂ ⁻)
1640	δ (NH ₃ ⁺)
2836	
2897	
2969	ν_{as} (CH)/ ν_{as} (CH ₂)/ ν_{as} (CH ₃)
3117	
3129	$\delta_{anel} + \nu$ (CH)
3146	

* δ : deformação;

τ : torção;

r: *rocking*;

w: *wagging*;

tw: *twisting*;

ν : estiramento.

5 Propriedades Vibracionais da L-HIS em Função da Temperatura

Os resultados de análise térmica e espectroscopia Raman dependentes da temperatura do cristal de L-histidina ($C_6H_9N_3O_2$) são discutidos neste capítulo. Inicialmente são apresentados os resultados de análise térmica, em seguida os resultados a baixas temperaturas e por fim os resultados a altas temperaturas são apresentados e discutidos.

5.1 Análise Térmica do Cristal de L-HIS

O cristal de L-HIS foi investigado utilizando técnicas de análise térmica, que possibilitam obter informações sobre as propriedades térmicas do material sob variação de temperatura.

Nesta seção são apresentadas medidas de TGA e DSC realizadas em amostras policristalinas de L-HIS em um amplo intervalo de temperatura, tendo como preocupação inicial a descoberta de transições de fase do material.

5.1.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

Os resultados da análise termogravimétrica (TGA) são mostrados na figura 19, onde os gráficos TGA e DSC são mostrados simultaneamente.

O gráfico DSC indica um evento endotérmico à temperatura de 550 K, que foi atribuído à decomposição da L-HIS, enquanto o gráfico de TGA registra uma perda de massa (20%) à mesma temperatura, indicando a liberação de gases durante o evento. Os gases liberados na decomposição da L-HIS foram analisados por espectroscopia FT-IR e seus espectros em função da temperatura são mostrados na figura 20. Nele observa-se a presença de espectros da água (H_2O) e do dióxido de carbono (CO_2) para todos os valores de temperatura.

Isto ocorre devido a presença dessas substâncias na atmosfera, ou seja, não é oriundo da amostra. Na figura 20 observa-se a saída de gases a uma temperatura de aproximadamente 550 K cujo espectro FT-IR é dado na figura 21. Comparando com os espectros existentes na literatura (figura 21), chega-se à conclusão de que se tratam de hidrazina (N_2H_4) e amônia (NH_3). Neste espectro, CO_2 e H_2O também foram observados, mas nada se pode afirmar quanto à liberação dessas substâncias durante a decomposição da L-HIS.

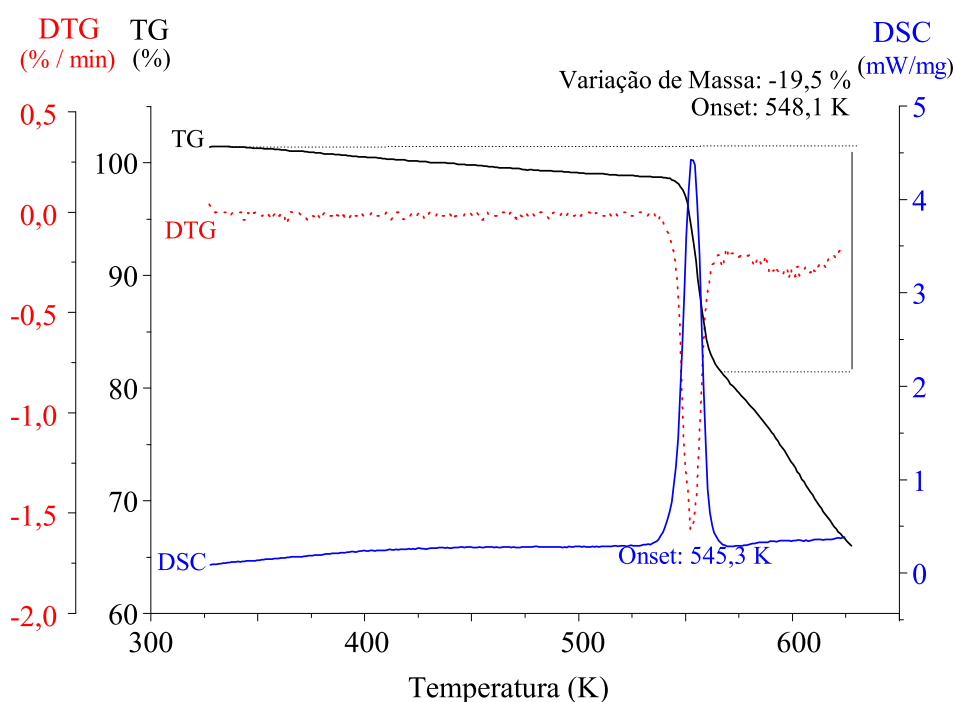


Figura 19: Análise Termogravimétrica (TGA) do cristal de L-HIS.

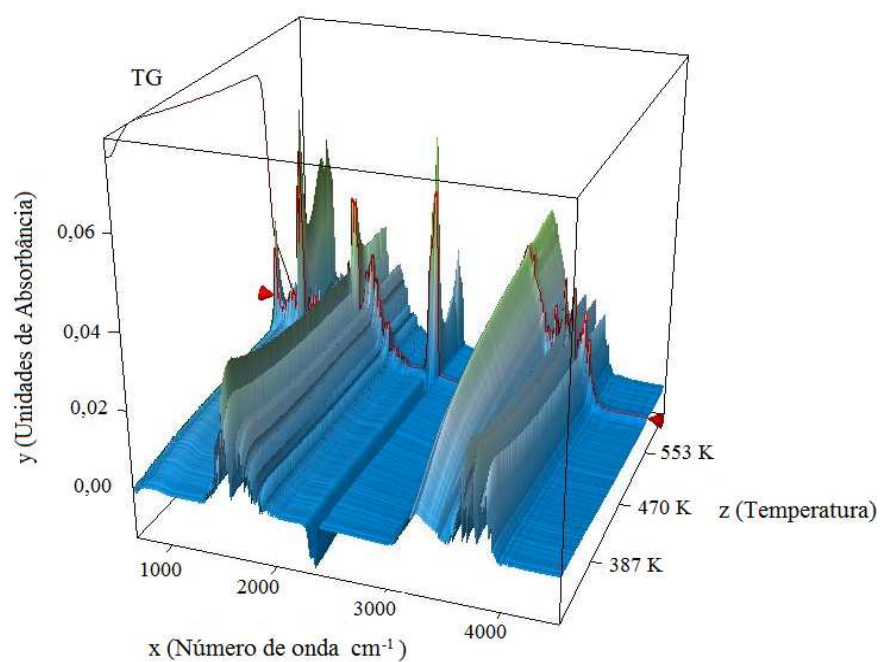


Figura 20: Espectros FT-IR em função da temperatura dos gases liberados na decomposição da L-HIS.

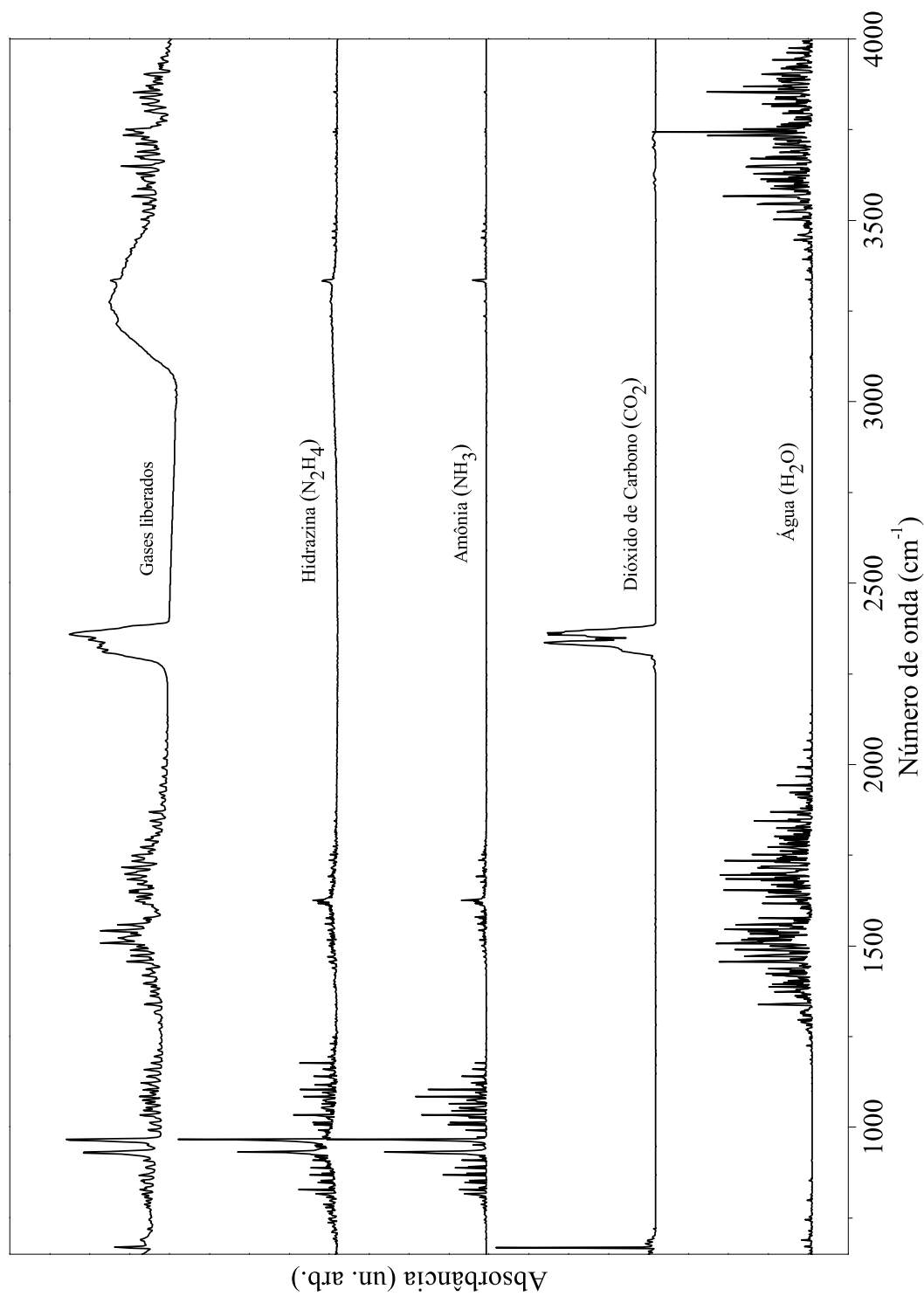


Figura 21: Espectro FT-IR dos gases liberados a temperatura de 550 K na decomposição do cristal de L-HIS juntamente com os espectros da H₂O, CO₂, NH₃ e N₂H₄.

5.1.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A análise de DSC foi realizada a uma taxa de aquecimento de 12 K/min, na região de baixas temperaturas entre 153 K e 298 K. Os resultados da análise são mostrados na figura 22. O gráfico indica um evento exotérmico em torno de 170 K, que pode ser atribuído a uma transição de fase conformacional ou estrutural de segunda ordem. Essa transição será investigada mais adiante por espectroscopia Raman com o intuito de identificarmos o tipo da transição observada.

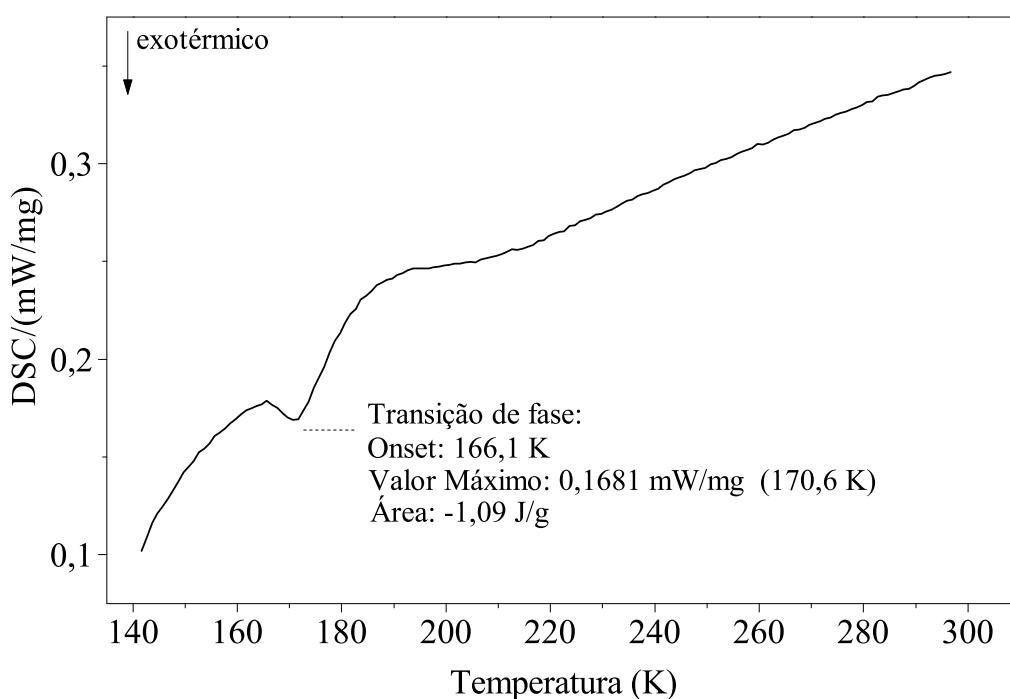


Figura 22: Análise de DSC da L-HIS na região de baixas temperaturas.

Experimentos na região de altas temperaturas foram realizados a uma taxa de aquecimento de 2 K/min, para o intervalo de temperatura entre 298 K e 573 K. Os resultados da análise são mostrados na figura 23. O gráfico indica um evento endotérmico em torno de 540 K, que foi atribuído a decomposição do cristal de L-HIS. Este evento também foi observado no experimento de TGA da subseção anterior, onde foi observada uma variação de massa da amostra, o que confirma o evento de decomposição do material.

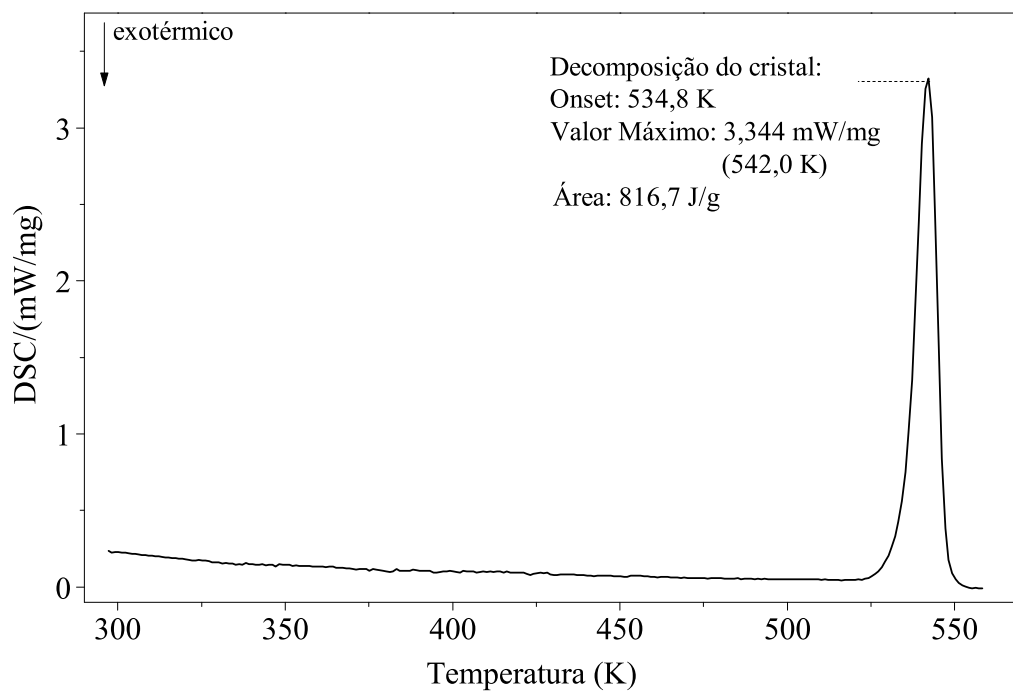


Figura 23: Análise de DSC da L-HIS na região de altas temperaturas.

5.1.3 Conclusões

A análise de DSC foi realizada para o intervalo de temperatura entre 153 K e 573 K. Os resultados desta análise indicam duas modificações no cristal de L-HIS. Uma atribuída à decomposição do material (540 K) e a segunda, uma transição de fase (170 K), podendo ser conformacional ou estrutural de segunda ordem. Esta segunda transição de fase será investigada na próxima seção por espectroscopia Raman. A decomposição do cristal de L-HIS ocorre a 540 K, sendo liberados hidrazina (N_2H_4) e amônia (NH_3) na forma de gases.

5.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS a Baixas Temperaturas

Foram realizadas medidas de espalhamento Raman na região espectral entre 30 cm^{-1} a 3400 cm^{-1} no intervalo de temperatura entre 30 K e 300 K, a qual foi denominada região de baixas temperaturas. Os espectros Raman foram registrados em 21 diferentes valores de temperatura. O procedimento de medida consistiu em partir da temperatura ambiente e diminuir diminuindo a temperatura até atingir os valores desejados. Para cada valor de temperatura esperou-se um tempo de 20 minutos com o objetivo de que a amostra atingisse o equilíbrio térmico. Utilizando os mesmos procedimentos, foram realizados 9 experimentos com o fim de verificar a histerese térmica no material. Os resultados das medidas de espalhamento Raman no cristal de L-HIS submetido a baixas temperaturas são apresentados nesta seção. Além disso, o comportamento dos modos vibracionais com a temperatura é discutido e os coeficientes dos ajustes lineares do número de onda em função deste parâmetro termodinâmico são apresentados.

5.2.1 Região espectral de 40 cm^{-1} a 200 cm^{-1}

As figuras 24a e 24b apresentam os espectros Raman da L-HIS em várias temperaturas na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} , nos processos de aquecimento e de resfriamento, respectivamente. Esta região é característica dos modos relacionados a vibrações intermoleculares do cristal. Portanto, é de se esperar que grandes mudanças ocorram nesta região caso haja alguma transição de fase estrutural no material.

Entre 100 cm^{-1} e 150 cm^{-1} são observadas duas bandas assimétricas, à temperatura ambiente, as quais foram ajustadas com três picos. A temperatura de 30 K essas três

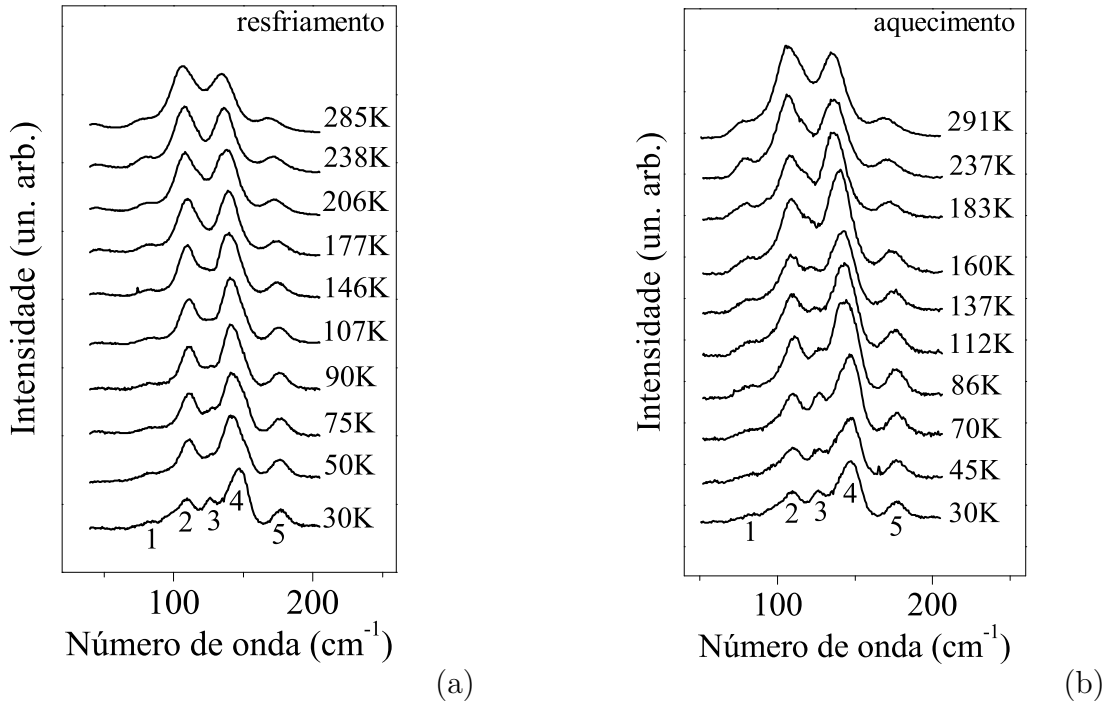


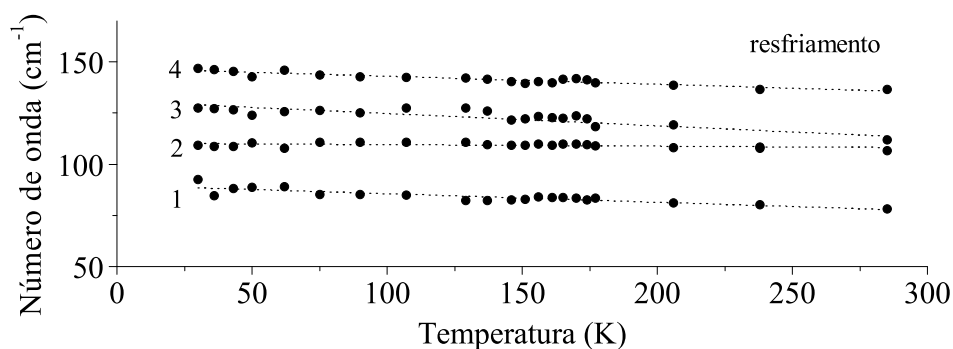
Figura 24: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região dos modos externos (entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1}): (a) resfriamento; (b) aquecimento.

bandas estão completamente separadas e mais estreitas do que as bandas observadas à temperatura ambiente. As figuras 25a-25d mostram a evolução dos modos Raman com a temperatura na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} nos processos de aquecimento e de resfriamento, respectivamente.

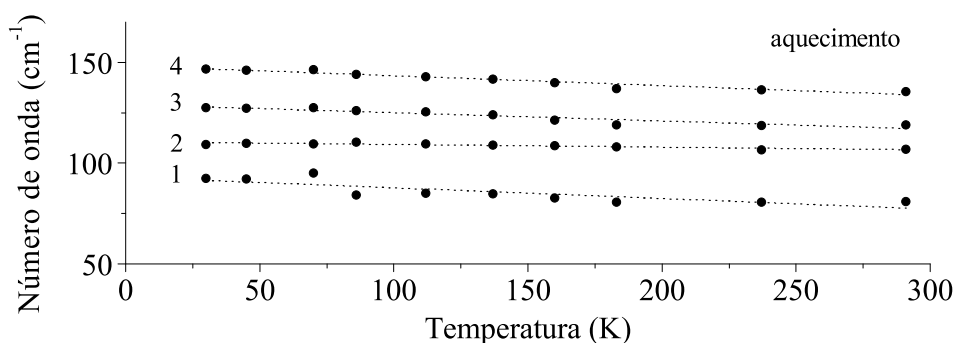
Os modos desta região, com exceção do modo de número 5, podem ser ajustados segundo uma reta cujo parâmetro é a temperatura, indicando que o material tem comportamento predominantemente harmônico. O modo de número 5, que é atribuído a uma $\tau(\text{CO}_2^-)$, possui uma pequena mudança de comportamento para temperaturas menores que 165 K. Este modo apresenta dois comportamentos distintos: para temperaturas entre 30 K e 161 K o modo possui um comportamento exponencial com a temperatura (descrito pela equação 5.1) e para temperaturas entre 165 K e 285 K, o modo se comporta linearmente ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$). A equação 5.1 foi deduzida por Balkanski (19) ao introduzir termos de terceira e quarta ordem na energia potencial cristalina. Os coeficientes dos ajustes lineares e exponenciais dos modos desta região são apresentados na tabela 10.

$$\omega = \omega_0 + \alpha \left[1 + \frac{2}{e^x - 1} \right] + \beta \left[1 + \frac{3}{e^y - 1} + \frac{3}{(e^y - 1)^2} \right] \quad (5.1)$$

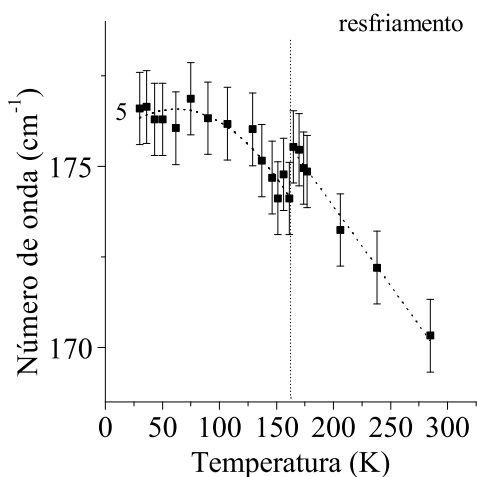
onde $x = \frac{\hbar\omega_0}{2K_B T}$ e $y = \frac{\hbar\omega_0}{3K_B T}$.



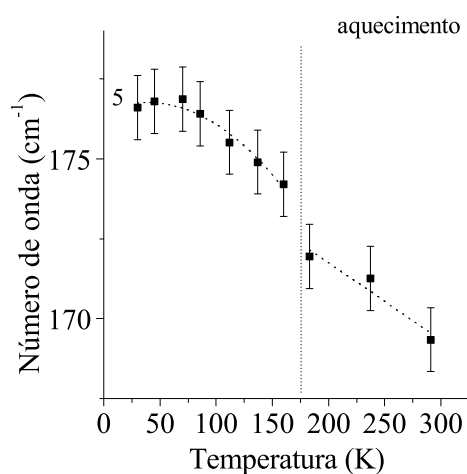
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 25: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} : (a) e (c) resfriamento; (b) e (d) aquecimento.

Nenhuma mudança nesta região foi verificada além do estreitamento das bandas. Como o intervalo até 200 cm^{-1} está relacionado com as vibrações que envolvem as ligações de hidrogênio do cristal, bem como as vibrações de rede, podemos afirmar que o material

Tabela 10: Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} .

Processo	Modo	Fase 1		Fase 2		
		ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	β ($\text{cm}^{-1}/\text{K}^2$)
Resfriamento	1	89,75	-0,042	175,0708	0,31116	-0,01463
	2	110,29	-0,007			
	3	130,80	-0,060			
	4	146,84	-0,039			
	5*	182,62	-0,044			
Aquecimento	1	93,08	-0,053	176,46764	0,1479	-0,01107
	2	110,62	-0,013			
	3	129,11	-0,041			
	4	148,28	-0,049			
	5**	176,57	-0,024			

*: Fase 1: $165 \text{ K} \leq T \leq 285 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 161 \text{ K}$.

** : Fase 1: $183 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 160 \text{ K}$.

não sofre nenhuma transição de fase estrutural clara para o intervalo de temperatura estudado. Este comportamento é o que acontece, por exemplo, na L-isoleucina (10), quando submetida a condições de baixas temperaturas. O espectro Raman do cristal de L-isoleucina, em particular na região de baixos números de onda, não mostra qualquer evidência de transição de fase estrutural sofrida pelo cristal.

5.2.2 Região espectral de 200 cm^{-1} a 600 cm^{-1}

As figuras 26a e 26b apresentam os espectros Raman da L-HIS em várias temperaturas na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} , nos processos de aquecimento e de resfriamento, respectivamente, e as figuras 27a e 27b mostram a evolução dos modos vibracionais com a temperatura na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} em ambos os processos.

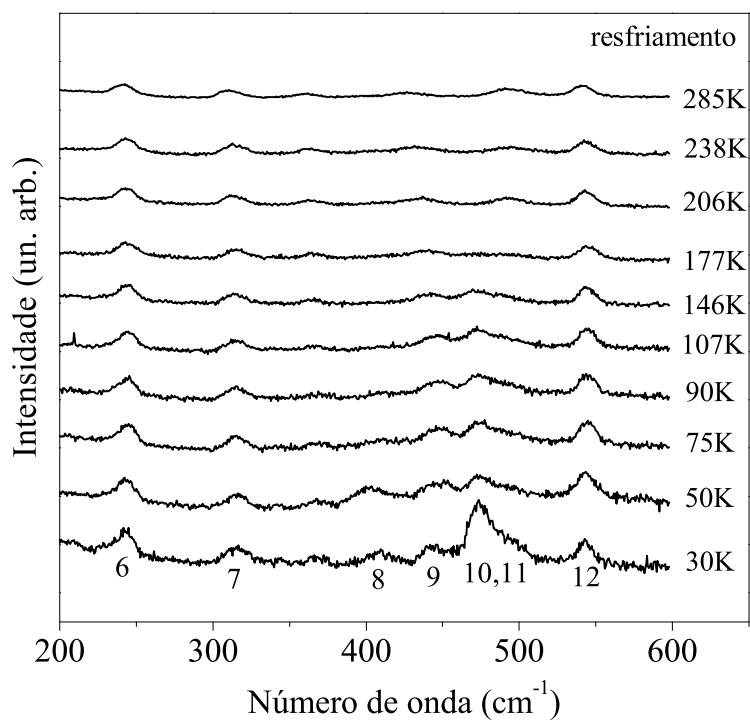
Em $T = 285 \text{ K}$ é observada uma banda assimétrica entre 450 cm^{-1} e 500 cm^{-1} que foi ajustada com dois modos. A temperaturas mais baixas, verifica-se claramente a sua assimetria.

Os números de onda dos modos desta região podem ser ajustados segundo uma reta cujo parâmetro é a temperatura, indicando que o material tem, nesta região, comportamento predominantemente harmônico. Destaca-se que para valores de temperatura acima de 150 K o número de onda da banda 8 não está graficado. Isto não significa que tenha ocorrido o desaparecimento daquela banda. Na verdade, por ser de baixa intensidade a mais altas temperaturas, o seu número de onda não pode ser determinado precisamente. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos desta região são apresentados na tabela 11.

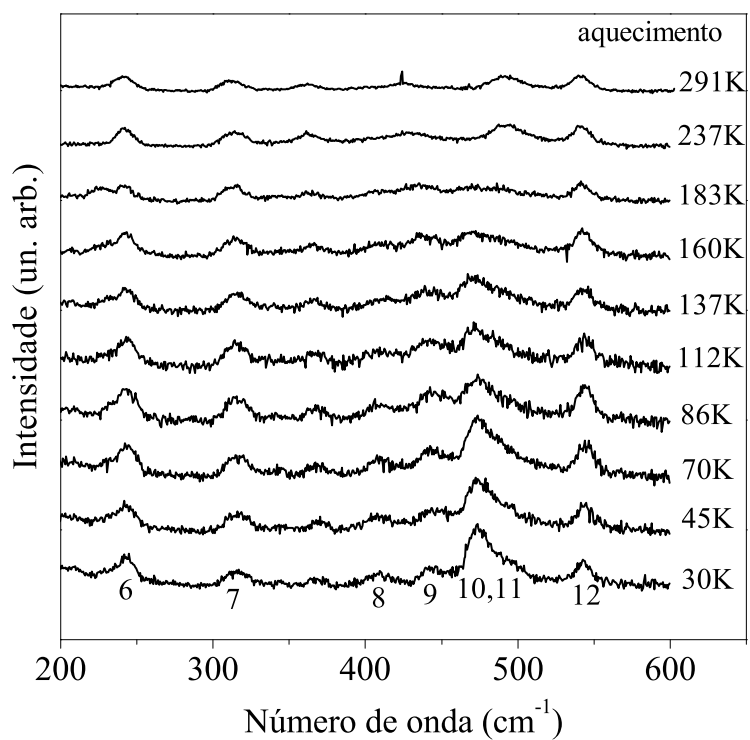
Tabela 11: Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Processo	Modo	Fase 1*	
		ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
Resfriamento	6	243,97	0,001
	7	316,24	-0,008
	8	400,73	0,172
	9	448,30	-0,060
	10	474,30	-0,018
	11	488,34	0,014
	12	543,99	0
Aquecimento	6	244,28	-0,010
	7	317,12	-0,015
	8	409,18	0,003
	9	448,30	-0,060
	10	474,30	-0,018
	11	488,34	0,014
	12	543,99	0

*: $30 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$.

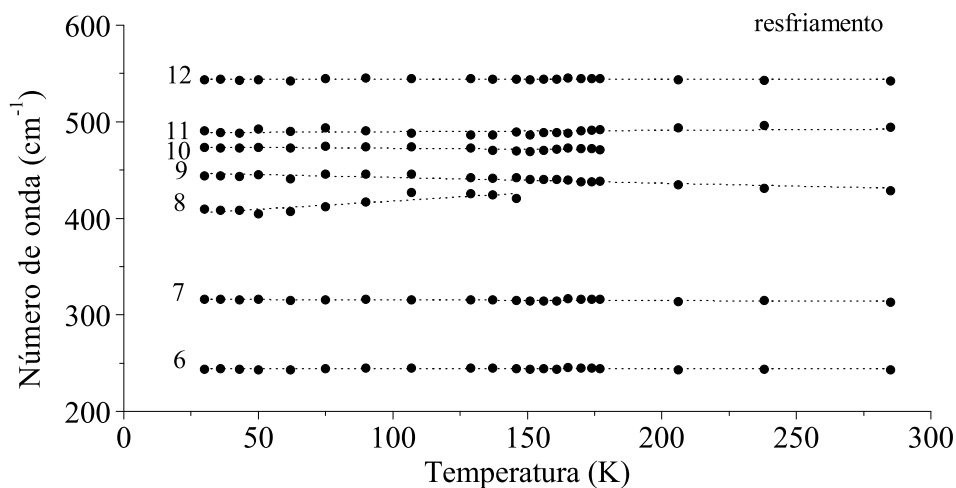


(a)

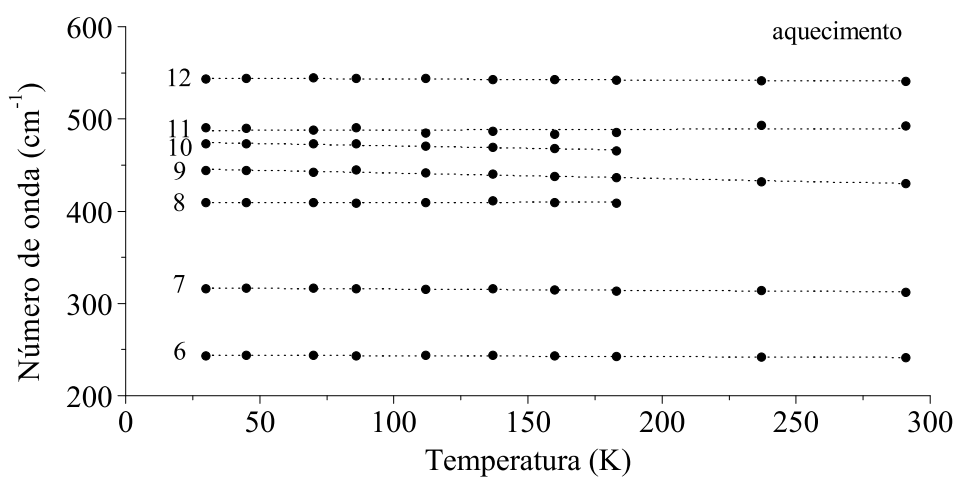


(b)

Figura 26: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.



(a)



(b)

Figura 27: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 200 cm⁻¹ e 600 cm⁻¹: (a) resfriamento; (b) aquecimento.

5.2.3 Região espectral de 600 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}

As figuras 28a e 28b apresentam os espectros Raman da L-HIS em várias temperaturas na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} , nos processos de aquecimento e de resfriamento, respectivamente. As figuras 29a, 29b, 30a-30d mostram a evolução dos modos vibracionais com a temperatura na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} em ambos os processos. Os modos desta região, exceto os modos de números 24 e 26, possuem comportamentos semelhantes ao modo de número 5, discutido na seção 5.2.1. É importante destacar que, assim como o modo de número 5, os modos 24 e 26 também estão relacionados com as pontes de hidrogênio do cristal de L-HIS. Os modos 24 e 26 foram atribuídos a vibrações do tipo *rocking* da unidade NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$, o que nos leva a concluir que as mudanças que ocorrem no cristal a temperatura de 165 K estão relacionadas com conformações das moléculas induzidas por modificações nas pontes de hidrogênio no cristal de L-HIS. Os coeficientes dos ajustes lineares e exponenciais dos modos desta região são apresentados na tabela 12.

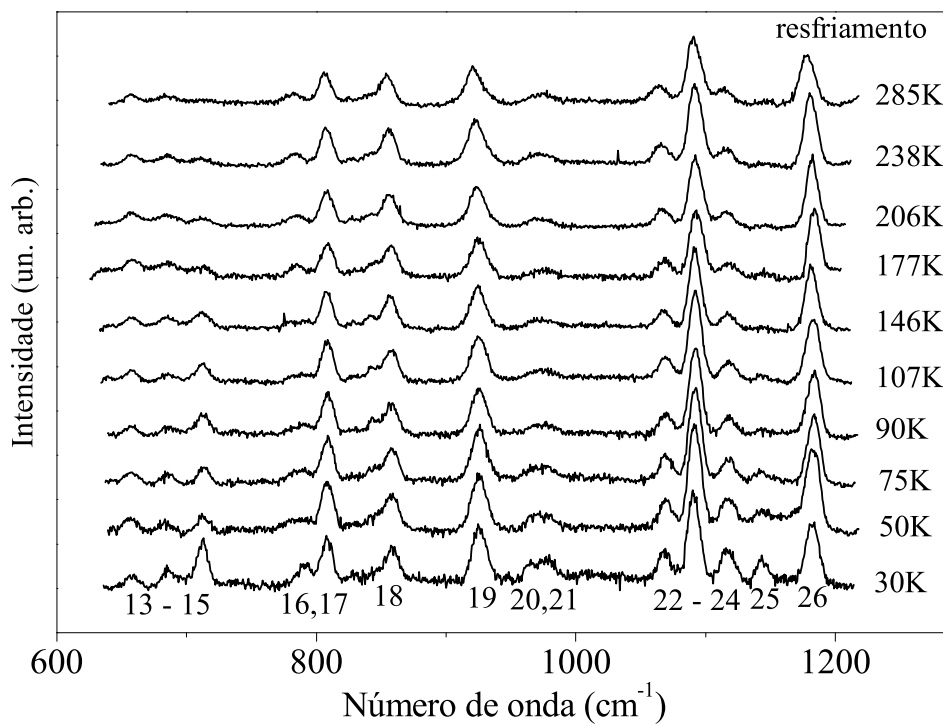
Os espectros das figuras 28a e 28b mostram que as intensidades relativas de algumas bandas são fortemente dependentes da temperatura, em particular as bandas de números 15, 19, 23 e 26. À medida em que se diminui a temperatura, estes modos tornam-se mais estreitos e mais intensos.

Tabela 12: Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

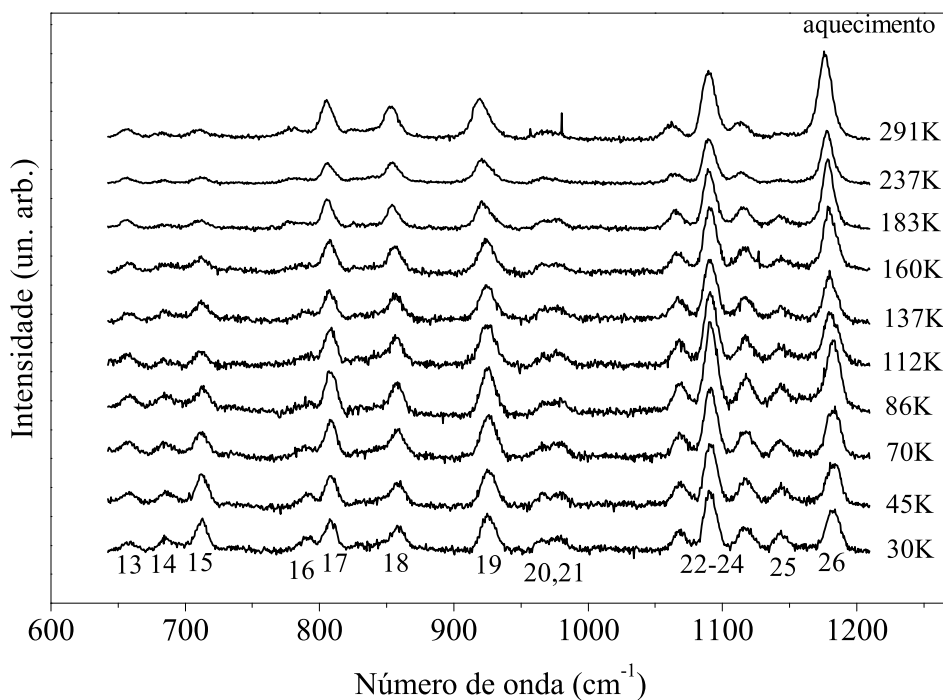
Processo	Modo	Fase 1		Fase 2		
		ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	β ($\text{cm}^{-1}/\text{K}^2$)
Resfriamento	13	656,75	0,007			
	14	685,29	0,002			
	15	712,01	0			
	16	791,76	-0,031			
	17	808,71	-0,004			
	18	858,87	-0,012			
	19	926,39	-0,012			
	20	964,48	0,017			
	21	977,29	-0,001			
	22	1070,07	-0,015			
	23	1091,35	0,004			
	24*	1123,22	-0,035	1112,067	5,6543	-0,90568
	25	1143,99	-0,014			
26*	1190,18	-0,038	1172,379	12,1899	-2,16413	
Aquecimento	13	657,51	-0,004			
	14	687,06	-0,014			
	15	712,54	-0,006			
	16	794,46	-0,048			
	17	809,12	-0,013			
	18	859,60	-0,022			
	19	927,31	-0,024			
	20	965,58	-0,001			
	21	978,58	-0,009			
	22	1070,12	-0,024			
	23	1091,65	-0,006			
	24**	1120,11	-0,026	1115,037	2,5204	-0,44801
	25	1143,76	0			
26**	1182,49	-0,020	1182,315	0,9215	-0,48839	

*: Fase 1: $165 \text{ K} \leq T \leq 285 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 161 \text{ K}$.

** : Fase 1: $183 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 160 \text{ K}$.

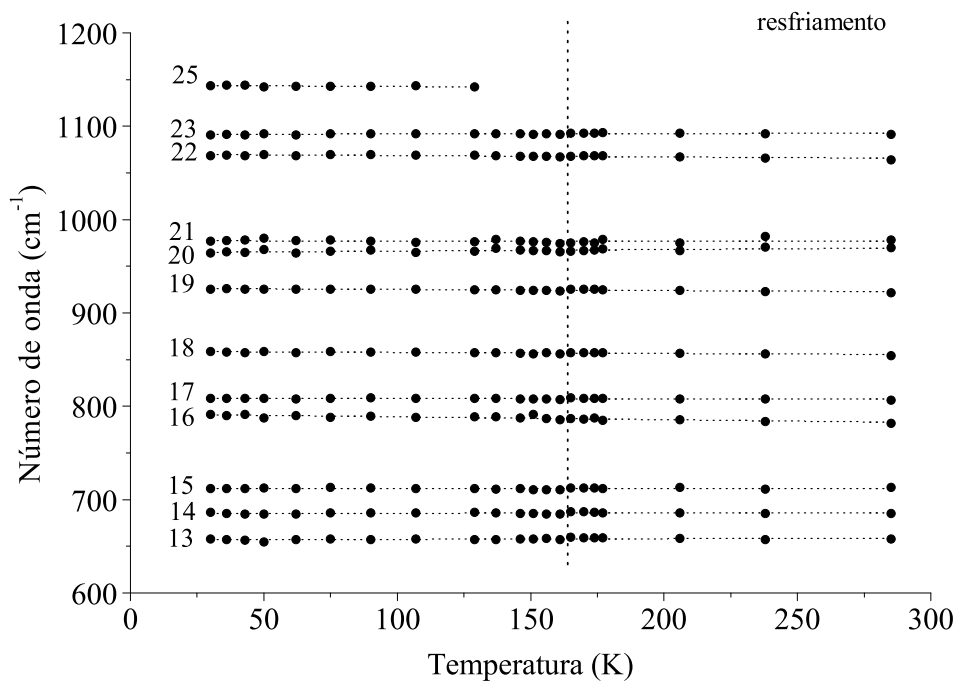


(a)

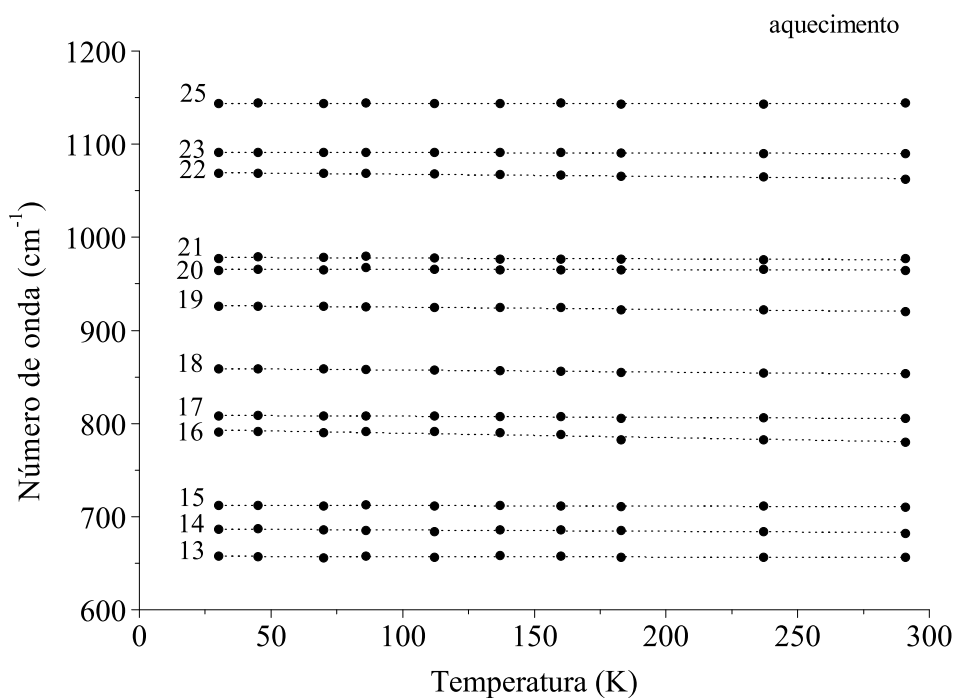


(b)

Figura 28: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.

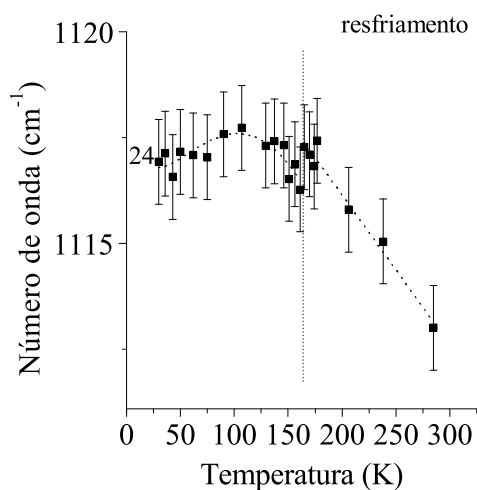


(a)

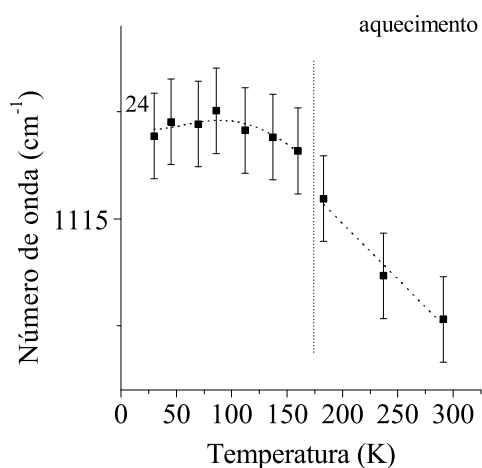


(b)

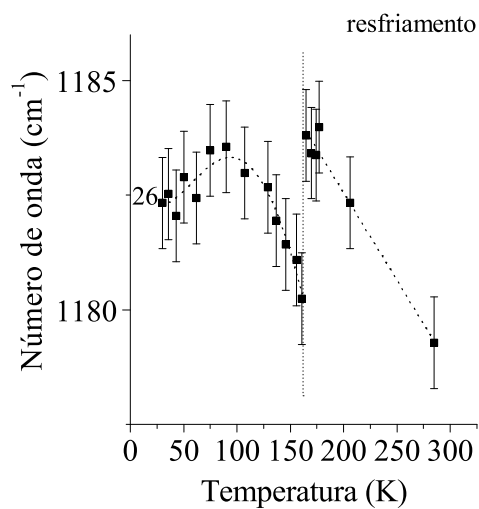
Figura 29: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm⁻¹ e 1200 cm⁻¹: (a) resfriamento; (b) aquecimento.



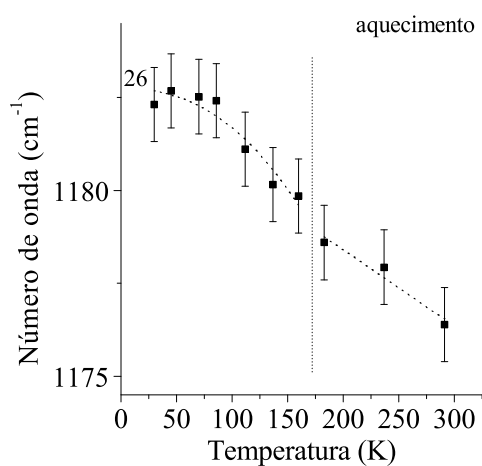
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 30: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman anarmônicos do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a) e (c) resfriamento; (b) e (d) aquecimento.

5.2.4 Região espectral de 1200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1}

As figuras 31a e 31b apresentam os espectros Raman da L-HIS em várias temperaturas na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} , nos processos de aquecimento e de resfriamento, respectivamente. Nesta região são observados 10 modos em todas as temperaturas. Ainda para os dois processos, as figuras 32a, 32b, 33a-33d mostram a evolução do número de onda de alguns modos vibracionais com a temperatura na região espectral entre 1200 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} .

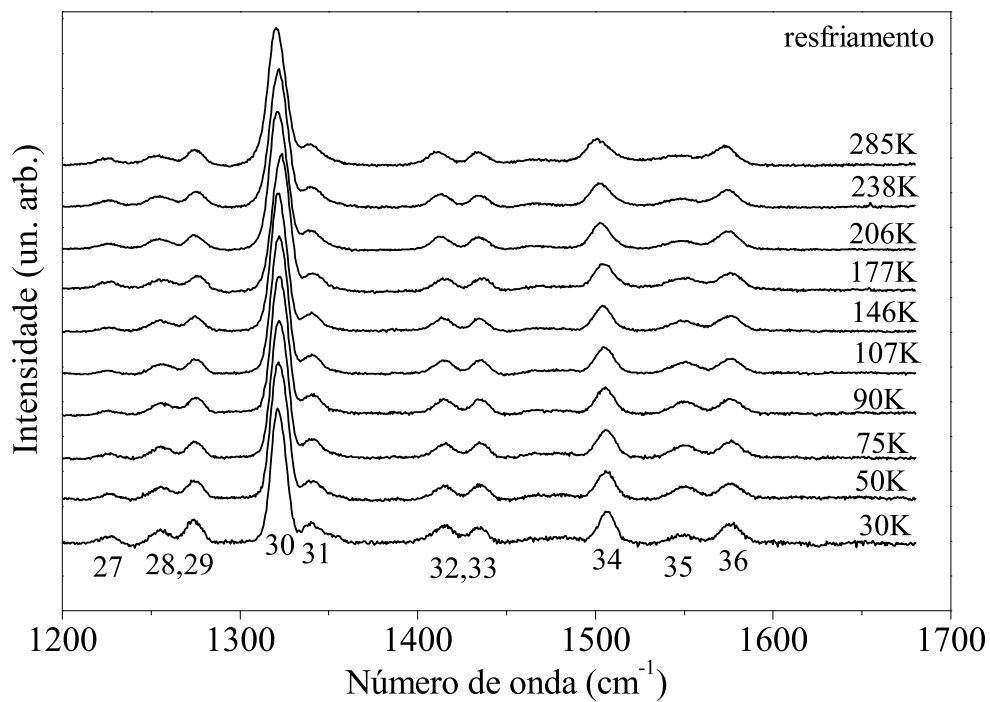
Parte dos modos desta região podem ser ajustados segundo uma reta, indicando também que o material tem comportamento predominantemente harmônico. Os modos de números 32, 34 e 36 têm comportamento exponencial com a temperatura em uma parte do intervalo estudado ($160 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$). Os coeficientes dos ajustes lineares e exponenciais dos modos vibracionais desta região são apresentados na tabela 13.

Tabela 13: Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) e exponenciais (equação 5.1) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} .

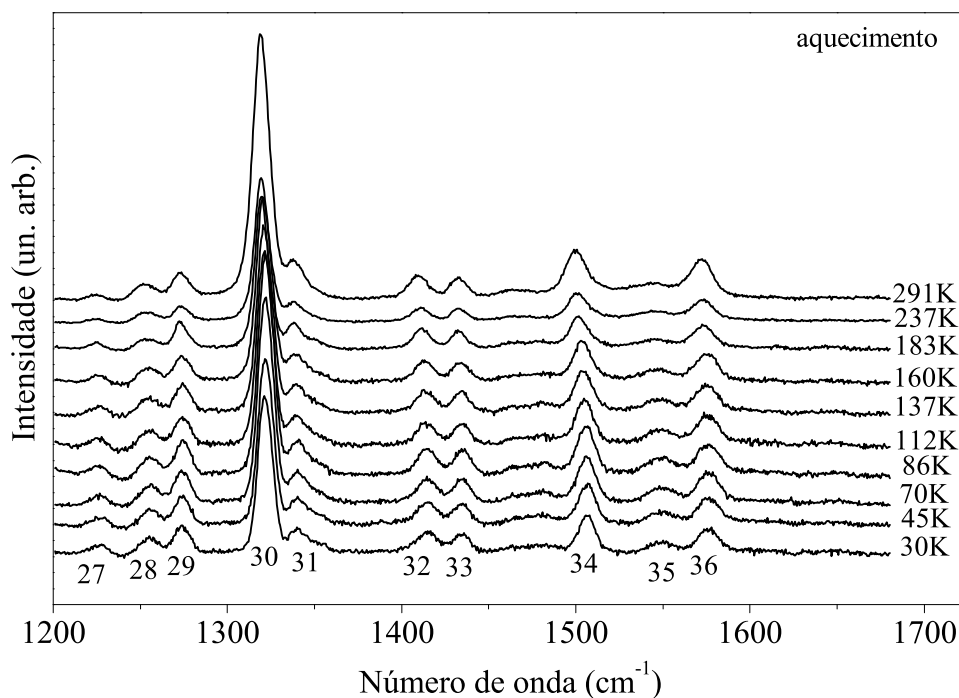
Processo	Modo	Fase 1		Fase 2		
		ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	β ($\text{cm}^{-1}/\text{K}^2$)
Resfriamento	27	1226,11	-0,001			
	28	1256,25	-0,008			
	29	1273,87	0,008			
	30	1321,99	0			
	31	1340,52	0,004			
	32*	1420,18	-0,032	1408,543	7,93012	-1,58652
	33	1434,74	0,001			
	34*	1509,52	-0,028	1506,974	-0,36429	-0,35894
	35	1549,50	-0,002			
	36*	1580,48	-0,025	1570,132	7,35469	-1,49406
Aquecimento	27	1226,69	-0,007			
	28	1256,48	-0,011			
	29	1274,35	-0,004			
	30	1322,52	-0,012			
	31	1341,42	-0,011			
	32**	1414,93	-0,018	1414,345	1,07719	-0,48107
	33	1435,31	-0,010			
	34**	1504,93	-0,017	1509,168	-2,4395	-0,06904
	35	1548,74	-0,010			
	36**	1574,39	-0,006	1575,669	0,9479	-0,39403

*: Fase 1: $165 \text{ K} \leq T \leq 285 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 161 \text{ K}$.

** : Fase 1: $183 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$; Fase 2: $30 \text{ K} \leq T \leq 160 \text{ K}$.

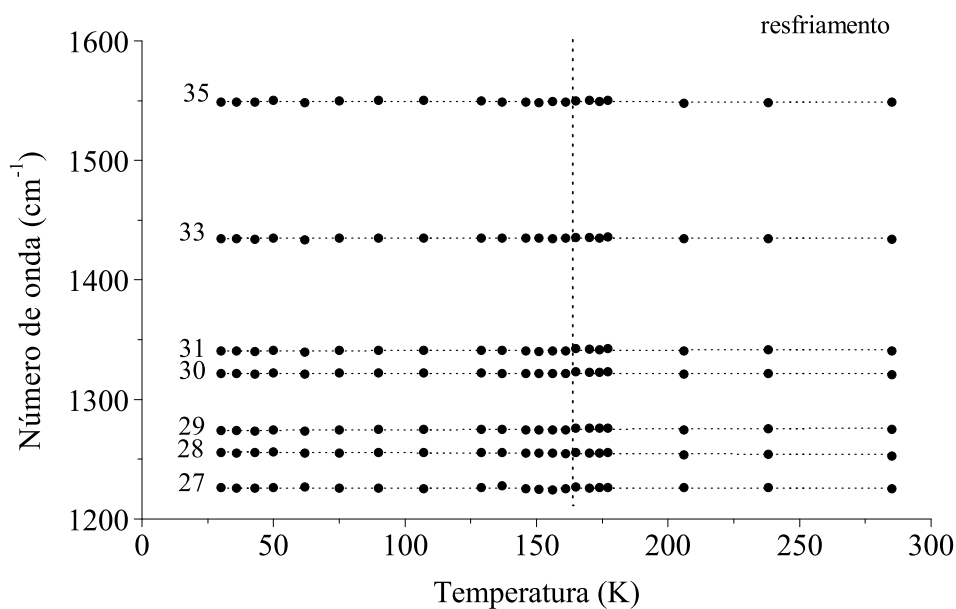


(a)

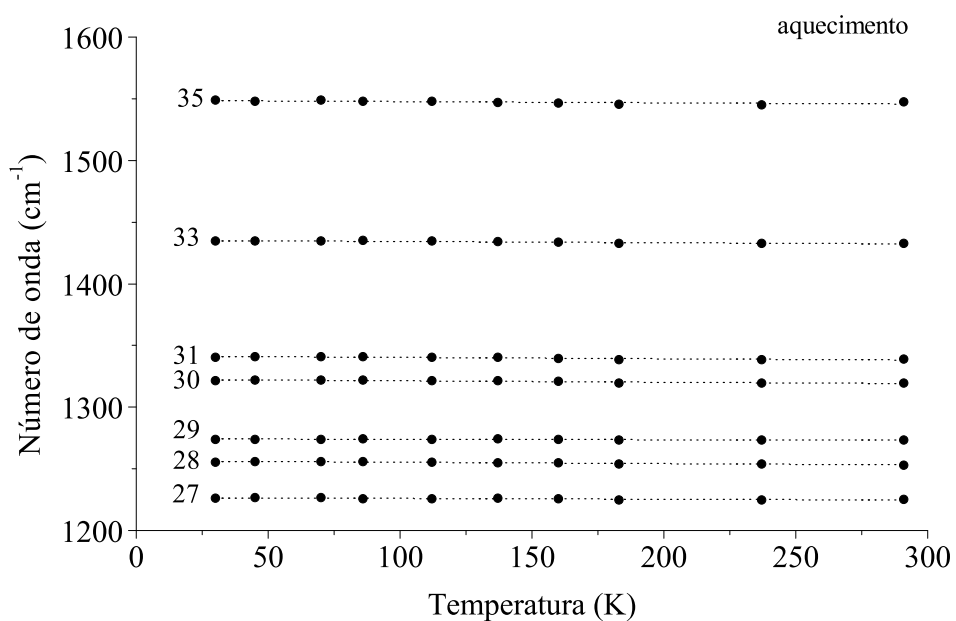


(b)

Figura 31: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.

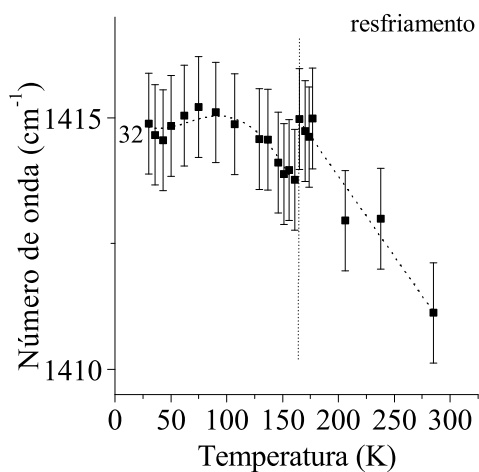


(a)

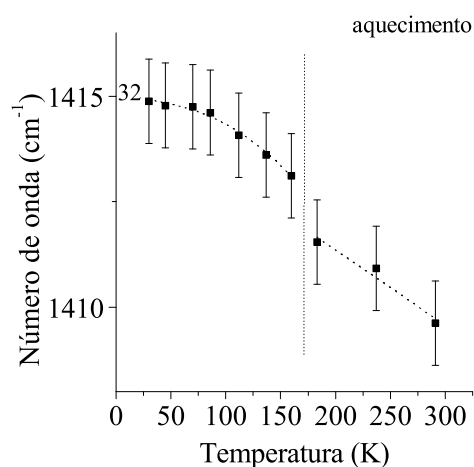


(b)

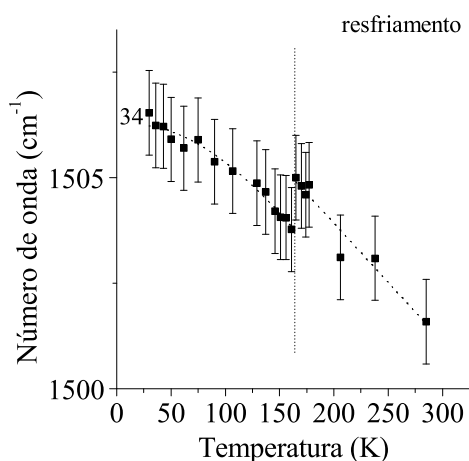
Figura 32: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 1200 cm⁻¹ e 1700 cm⁻¹: (a) resfriamento; (b) aquecimento.



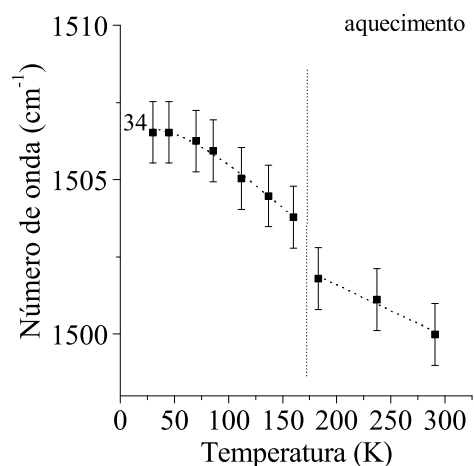
(a)



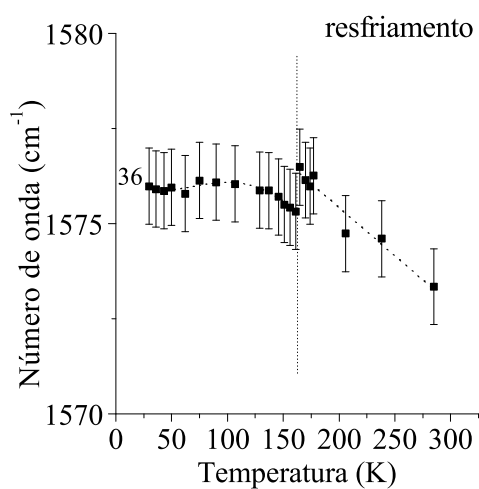
(b)



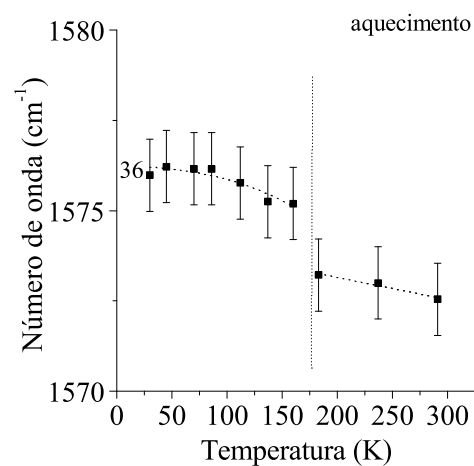
(c)



(d)



(e)



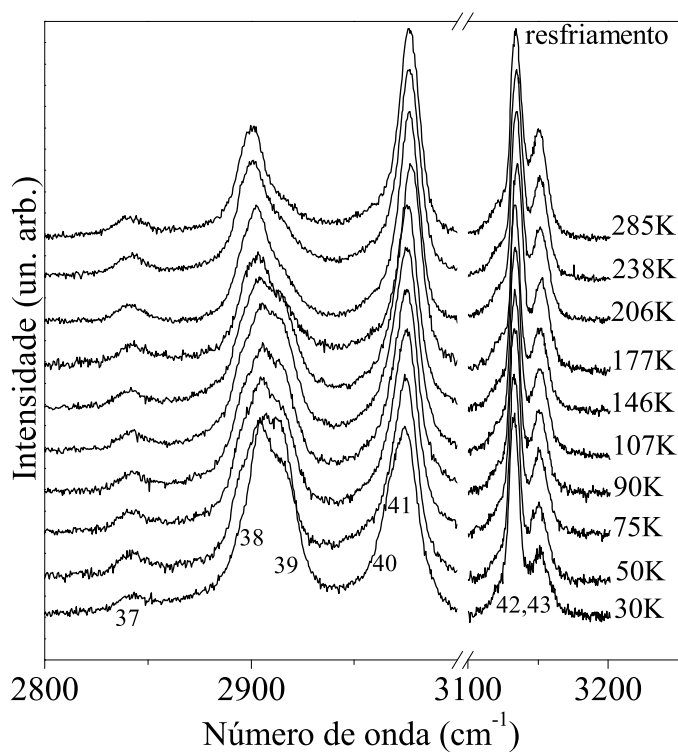
(f)

Figura 33: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman anarmônicos do cristal de L-HIS na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} : (a), (c) e (e): resfriamento; (b), (d) e (f): aquecimento.

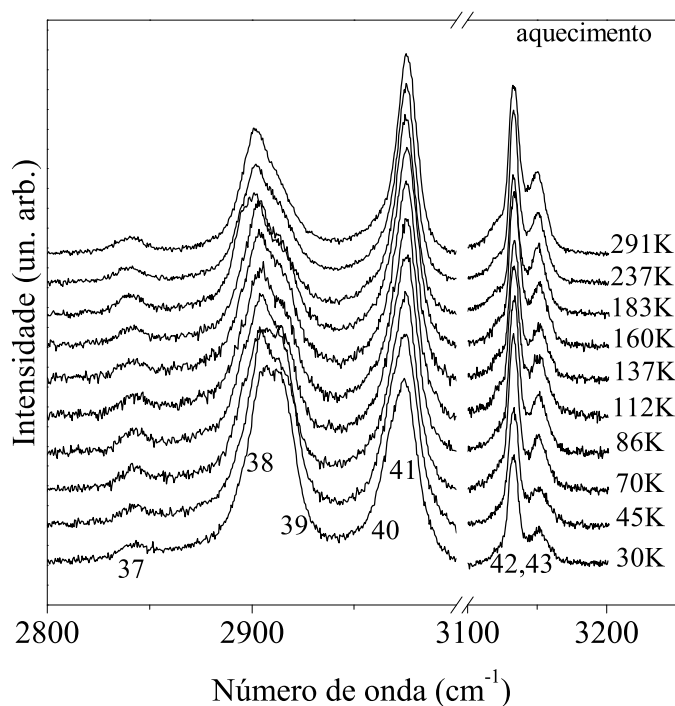
5.2.5 Região espectral de 2800 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}

As figuras 34a e 34b apresentam os espectros Raman da L-HIS em várias temperaturas na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} , nos processos de aquecimento e de resfriamento da amostra, respectivamente, enquanto que as figuras 35a e 35b mostram a evolução dos números de onda dos modos vibracionais com a temperatura na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} nos dois processos.

Os modos desta região podem ser ajustados através de uma reta, indicando, também nesta região, que o material tem comportamento predominantemente harmônico. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos desta região são apresentados na tabela 14. É interessante destacar que nesta região de altos números de onda as relações de intensidade permanecem aproximadamente constantes. Este comportamento é diferente do que acontece, por exemplo, na L-metionina (18) e na L-leucina (20) submetidas a condições de altas pressões. Nestes dois últimos casos, além de haver uma variação na intensidade relativa de várias bandas da região de alto número de onda, observou-se também o aparecimento ou desaparecimento de outras bandas. Isto foi interpretado como sendo devido a uma grande mudança de conformação das moléculas na célula unitária quando os cristais foram submetidos a condições extremas de pressão. Baseado nesta comparação pode-se afirmar que, sob condições de baixas temperaturas, a L-HIS não muda significativamente a sua conformação na célula unitária da estrutura cristalina original.

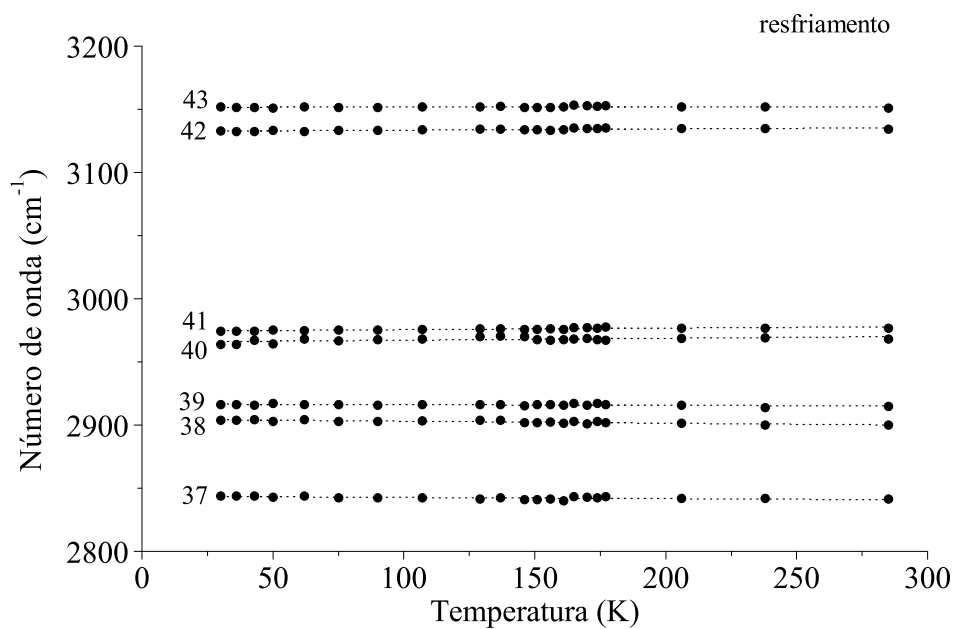


(a)

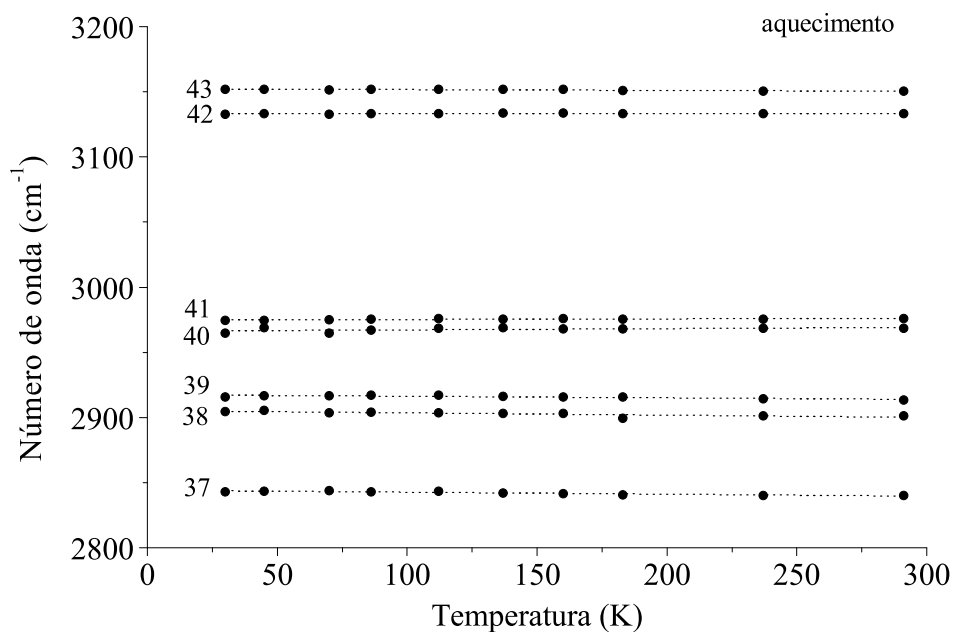


(b)

Figura 34: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 32500 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.



(a)



(b)

Figura 35: Gráficos do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} : (a) resfriamento; (b) aquecimento.

Tabela 14: Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} .

Processo	Modo	Fase 1*	
		ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
Resfriamento	37	2843,68	-0,010
	38	2904,63	-0,016
	39	2916,62	-0,005
	40	2965,66	0,015
	41	2974,26	0,012
	42	3132,54	0,010
	43	3151,57	0,002
Aquecimento	37	2844,17	-0,015
	38	2905,27	-0,017
	39	2917,48	-0,012
	40	2966,26	0,010
	41	2974,73	0,005
	42	3133,09	0,001
	43	3152,36	-0,007

*: $30 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$.

5.2.6 Anarmonicidade

O cristal de L-HIS apresentou um comportamento não linear do número de onda com a temperatura para parte do intervalo de temperatura estudado ($30 \text{ K} \leq T \leq 291 \text{ K}$). Para ajustar o número de onda dos modos, neste intervalo de temperatura, foi usada uma função exponencial da temperatura (equação 5.1), que concordou bem com os dados obtidos experimentalmente. Para temperaturas entre 160 K e 291 K, os modos foram ajustados utilizando uma função linear da temperatura ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$). As bandas que apresentaram comportamento anarmônico possuíam vibrações associadas à torção da unidade CO_2^- , aos estiramentos da unidade CO_2^- e ao *rocking* da unidade NH_3^+ . Este comportamento é semelhante ao que acontece, por exemplo, na L-asparagina clorohidrato monohidratada (21) e na DL-alanina (22), sob condições de baixas temperaturas. No primeiro caso, foi observado que os modos referentes às torções das unidades CO_2^- e NH_3^+ apresentam caráter anarmônico. No cristal de DL-alanina as bandas que apresentam comportamento anarmônico estão associadas a modos da rede, a vibrações do tipo *rocking* das unidades CH_3 , NH_3^+ e CO_2^- e a deformações destas unidades. Baseado nesta comparação, pode-se afirmar que as vibrações que apresentam grande anarmonicidade são associadas às ligações de hidrogênio do cristal.

5.2.7 A Transição de Fase

Os modos que apresentaram anarmonicidade possuem uma mudança de comportamento: para temperaturas entre 30 K e 160 K, os modos dependem exponencialmente da temperatura e para temperaturas entre 160 K e 291 K, os modos evoluem linearmente com a temperatura. É de se esperar que, com a diminuição da temperatura, os efeitos anarmônicos sejam reduzidos. No entanto, não é o que acontece com o cristal de L-HIS; com a diminuição da temperatura, o comportamento anarmônico dos modos relacionados com as ligações de hidrogênio fica mais evidente. Esses modos possuem uma descontinuidade dos seus números de onda em torno de 160 K, temperatura na qual ocorre a mudança de comportamento dos mesmos. Na seção 5.1, no gráfico de DSC do cristal de L-HIS a baixas temperaturas (figura 22), foi verificado um evento exotérmico a 170 K, que podia ser atribuído a uma transição de fase conformacional ou estrutural de segunda ordem. Na seção 5.2.1, foi visto que o cristal de L-HIS não sofre transição estrutural para o intervalo de temperatura estudado. Assim, pode-se afirmar que a mudança de comportamento dos modos anarmônicos sugere uma mudança conformacional relacionada às ligações de hidrogênio do cristal de L-HIS.

5.2.8 Conclusões

Experimentos de espalhamento Raman foram realizados no cristal de L-HIS na região espectral entre 40 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} no intervalo de temperatura entre 30 K e 285 K. Com a redução da temperatura as bandas tornaram-se mais estreitas, efeito já esperado pela diminuição da temperatura. A região espectral dos modos externos (40 cm^{-1} a 200 cm^{-1}) não forneceu nenhum indício de que o cristal de L-HIS sofra uma transição de fase conformacional no intervalo de temperatura estudado. Parte dos modos relacionados às unidades CO_2^- e NH_3^+ exibem dois comportamentos distintos: (i) linear, para temperaturas entre 160 K e 285 K; (ii) exponencial, para temperaturas entre 30 K e 160 K. A mudança no comportamento dos modos relacionados às ligações de hidrogênio sugere uma mudança na conformação das moléculas de L-HIS na célula unitária em torno da temperatura de 160 K.

5.3 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS a Altas Temperaturas

Os resultados dos experimentos de espalhamento Raman não-polarizado no cristal de L-HIS variando-se a temperatura entre 294 K e 428 K são apresentados nesta seção. O comportamento dos modos com a temperatura é discutido, bem como os coeficientes dos ajustes lineares do número de onda em função da temperatura são apresentados.

No fim do experimento, à temperatura de 428 K, o cristal começou a se decompor, temperatura esta inferior aquela prevista pela medida de DSC (534 K). A interação da luz com a matéria deve provocar uma instabilidade no material a altas temperaturas, antecipando a decomposição do material.

Para facilitar a discussão, o espectro Raman foi dividido em cinco regiões que são mostradas a seguir.

5.3.1 Região espectral de 40 cm^{-1} a 200 cm^{-1}

A figura 36 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-HIS no intervalo espectral de 40 cm^{-1} a 200 cm^{-1} para seis diferentes temperaturas em um experimento aumentando-se a temperatura.

Uma banda posicionada em torno de 135 cm^{-1} , à temperatura ambiente, foi ajus-

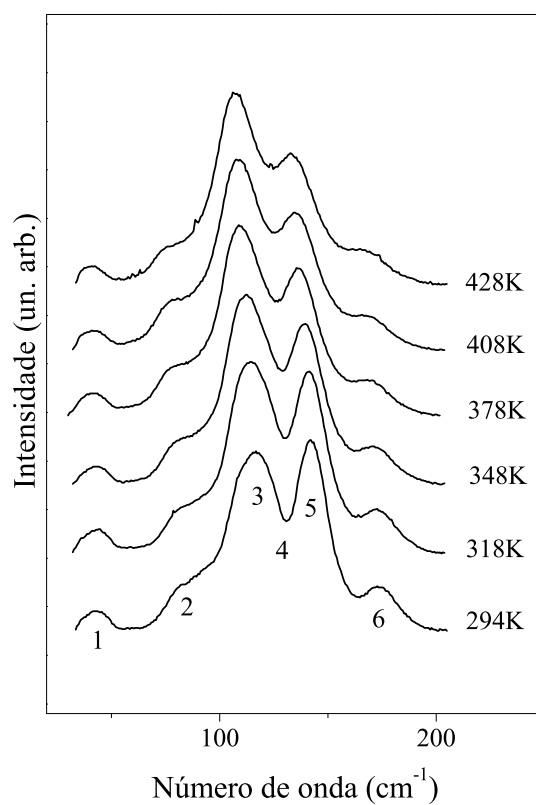


Figura 36: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.

tada com dois picos de números 3 e 4. É importante destacar que a segunda banda foi observada no experimento de FT-Raman e que no experimento a baixas temperaturas a existência das duas bandas é clara. Uma inspeção cuidadosa dos espectros mostra que as intensidades relativas de algumas bandas são fracamente dependentes da temperatura e nenhuma mudança significativa é observada.

A figura 37 apresenta o gráfico do número de onda *vs.* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos desta região. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na tabela 15. De acordo com esta tabela, todos os modos sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*) com o aumento da temperatura.

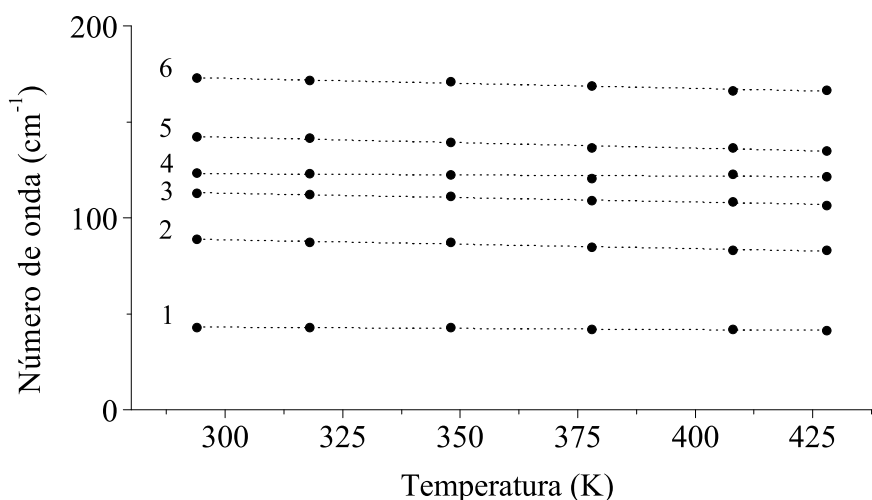


Figura 37: Gráfico do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} .

Tabela 15: Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura na região espectral entre 40 cm^{-1} e 200 cm^{-1} .

Modo	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
1	46,88	-0,013
2	102,37	-0,046
3	126,53	-0,045
4	126,61	-0,012
5	158,97	-0,057
6	188,35	-0,052

Nesta região encontram-se os modos de vibração externos. No caso de ocorrência de transições de fase, é de se esperar que as maiores mudanças observadas sejam verificadas nessa região, pois ela está intrinsecamente relacionada com a estabilidade do material. Mas como acontece com os modos externos do cristal de L-HIS a baixas temperaturas aqui não são observadas mudanças significativas, o que nos permite descartar qualquer ocorrência relacionada à transição de fase.

5.3.2 Região espectral de 200 cm^{-1} a 600 cm^{-1}

A figura 38 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-HIS no intervalo espectral de 200 cm^{-1} a 600 cm^{-1} para seis diferentes temperaturas em um experimento aumentando-se a temperatura. A figura 39 apresenta o gráfico de número de onda *vs.* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos desta região. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na tabela 16.

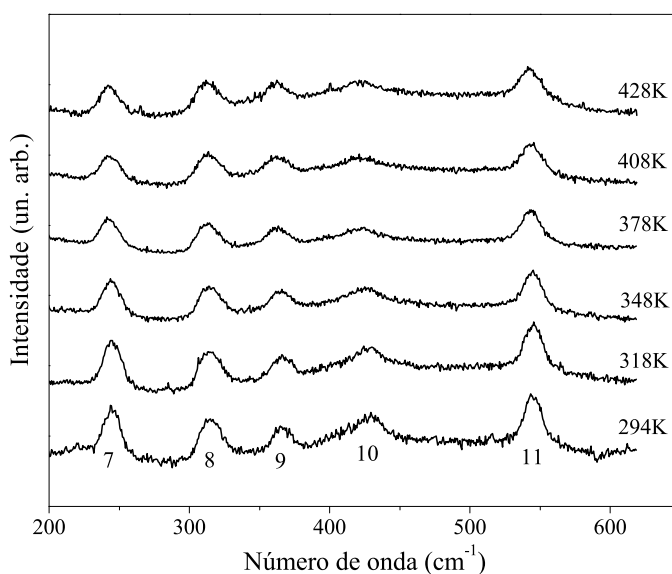


Figura 38: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.

Nesta região encontram-se os modos de deformação do esqueleto da molécula. De acordo com a tabela 16, todos os modos sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*).

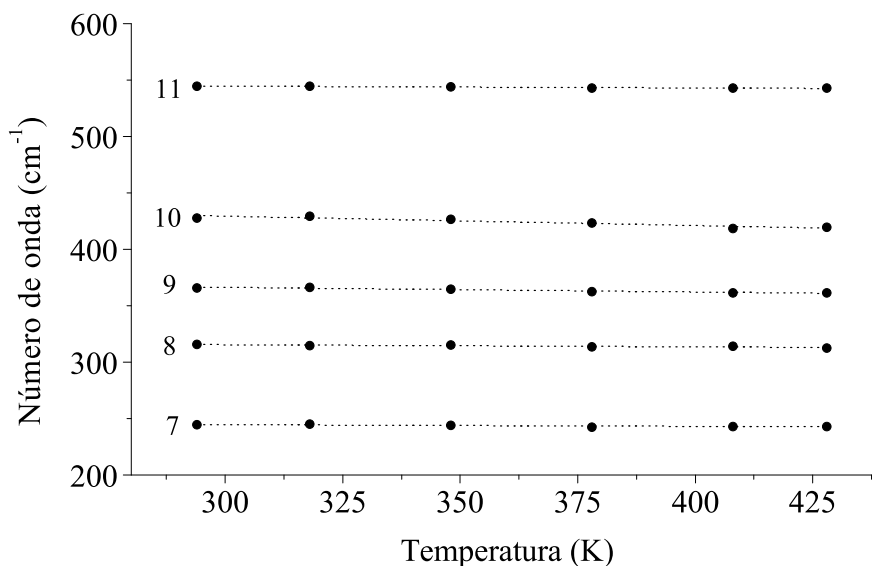


Figura 39: Gráfico do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Tabela 16: Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 200 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Modo	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
7	249,09	-0,015
8	321,05	-0,019
9	378,55	-0,041
10	454,13	-0,082
11	549,34	-0,016

5.3.3 Região espectral de 750 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}

A figura 40 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-HIS com a temperatura no intervalo espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

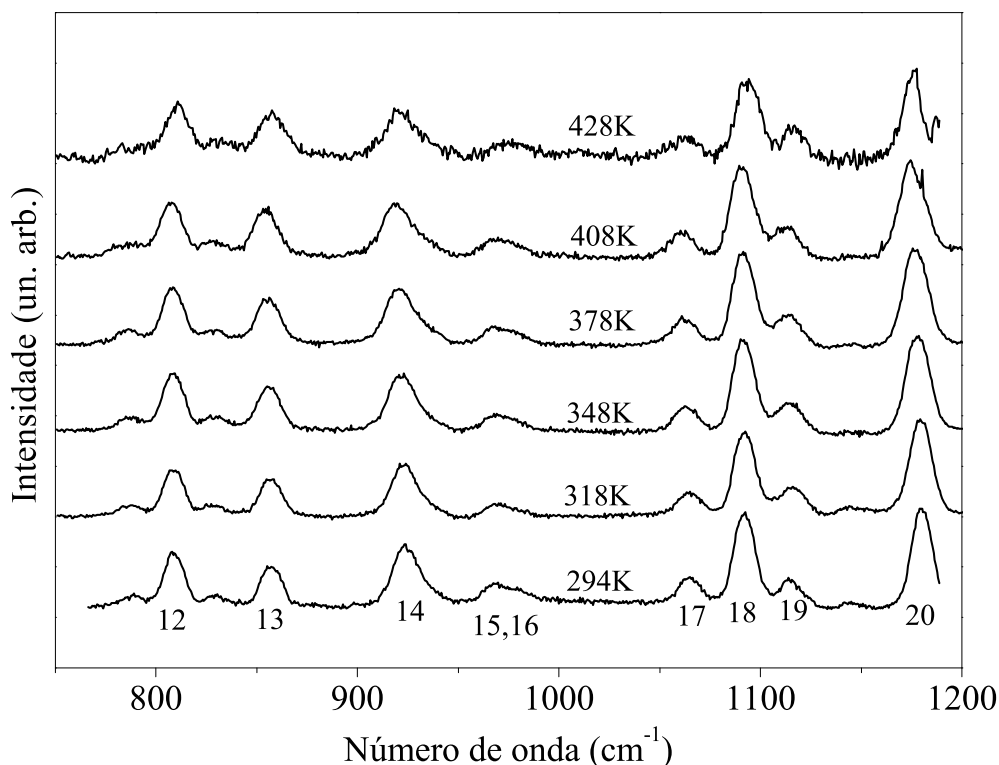


Figura 40: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.

Inicialmente, nesta região, pode-se observar claramente a existência de 12 bandas a 294 K. Porém, os modos posicionados em 788 cm^{-1} e 828 cm^{-1} perdem intensidade com o aumento da temperatura, e não foi possível observar claramente os mesmos para temperaturas superiores a 378 K. Os espectros mostram um leve alargamento das bandas observadas e diminuição de intensidade dos modos, efeitos resultantes do aumento de temperatura.

A figura 41 apresenta o gráfico de número de onda *vs.* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos ativos no Raman nesta região. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na tabela 17.

Observando a tabela 17, chegamos à conclusão de que todos os modos, com exceção

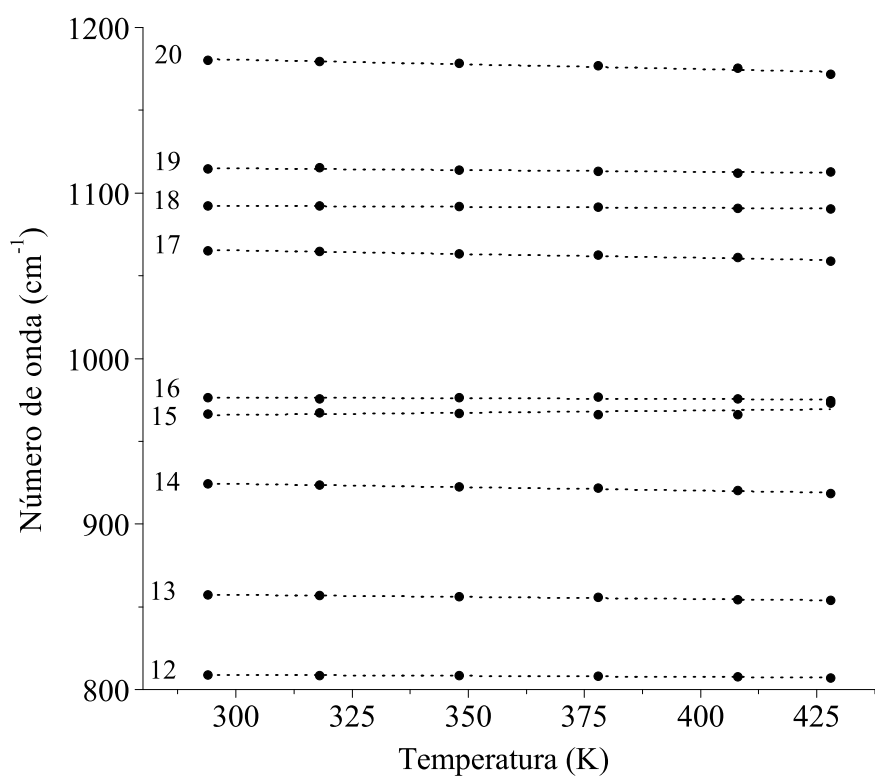


Figura 41: Gráfico do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Tabela 17: Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Modo	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
12	812,75	-0,013
13	864,86	-0,025
14	936,49	-0,041
15	958,06	0,026
16	979,31	-0,009
17	1078,70	-0,045
18	1096,05	-0,013
19	1121,07	-0,021
20	1197,63	-0,057

do modo 15, sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*). Assim como na seção anterior, o modo que tinha comportamento diferente dos demais está relacionado com deformações do esqueleto da molécula.

5.3.4 Região espectral de 1250 cm^{-1} a 1600 cm^{-1}

A figura 42 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-HIS como função da temperatura na região de 1250 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} .

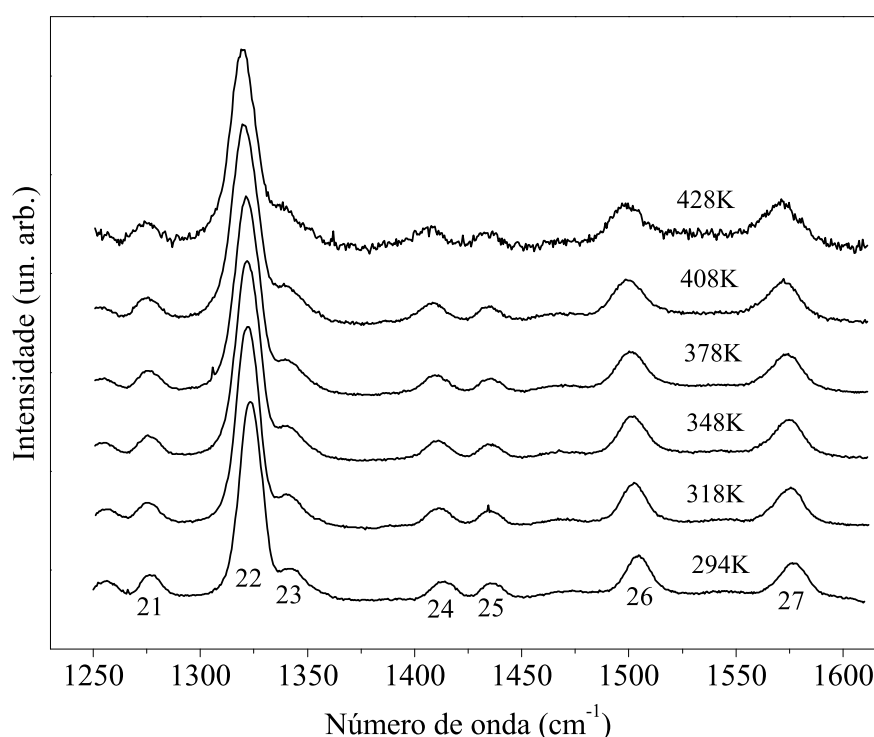


Figura 42: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 1250 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.

Esta região contém bandas associadas a deformações do tipo *bending* das unidades CH e CH₂ e estiramentos da unidade CO₂⁻, além de outros modos conforme já discutido. Os espectros mostram uma perda de definição dos picos, o que nos leva a concluir que as bandas, em geral, estão perdendo intensidade. Embora aparentemente as bandas na figura 42 estejam com a mesma intensidade, na verdade os espectros estão normalizados para facilitar a visualização.

A figura 43 apresenta o gráfico de número de onda *vs.* temperatura e o ajuste linear dos pontos experimentais para os modos vibracionais do cristal de L-HIS nesta região. Os

coeficientes dos ajustes lineares estão listados na tabela 18.

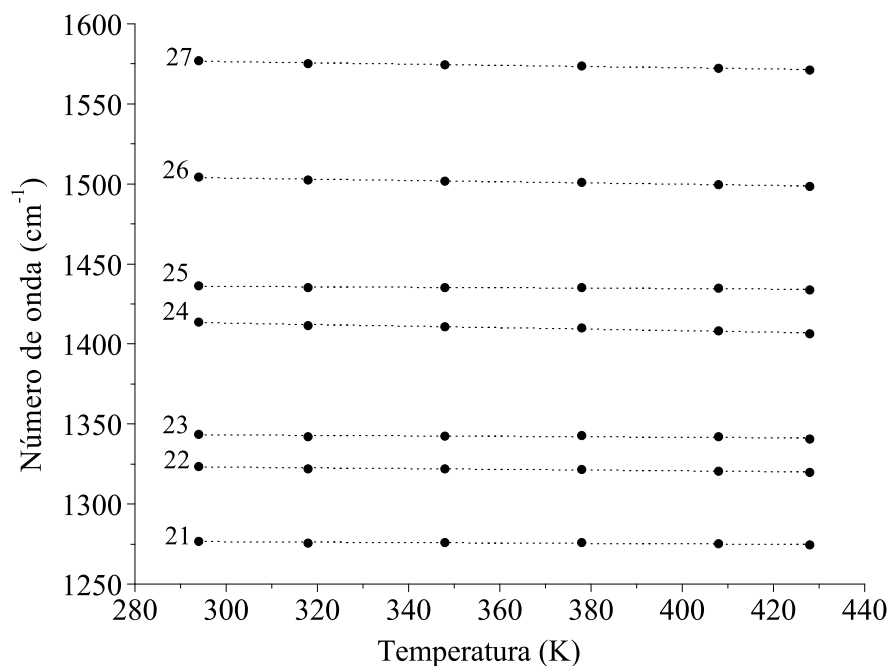


Figura 43: Gráfico do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 1250 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} .

Tabela 18: Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 750 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Modo	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
21	1280,51	-0,014
22	1330,00	-0,023
23	1347,54	-0,015
24	1427,30	-0,048
25	1440,17	-0,014
26	1515,31	-0,039
27	1587,84	-0,038

Na tabela 18, temos que todos os modos sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*) com o aumento da temperatura, como é de fato esperado.

5.3.5 Região espectral de 2800 cm^{-1} a 3250 cm^{-1}

A figura 44 apresenta a evolução dos espectros Raman da L-HIS como função da temperatura para esta região espectral.

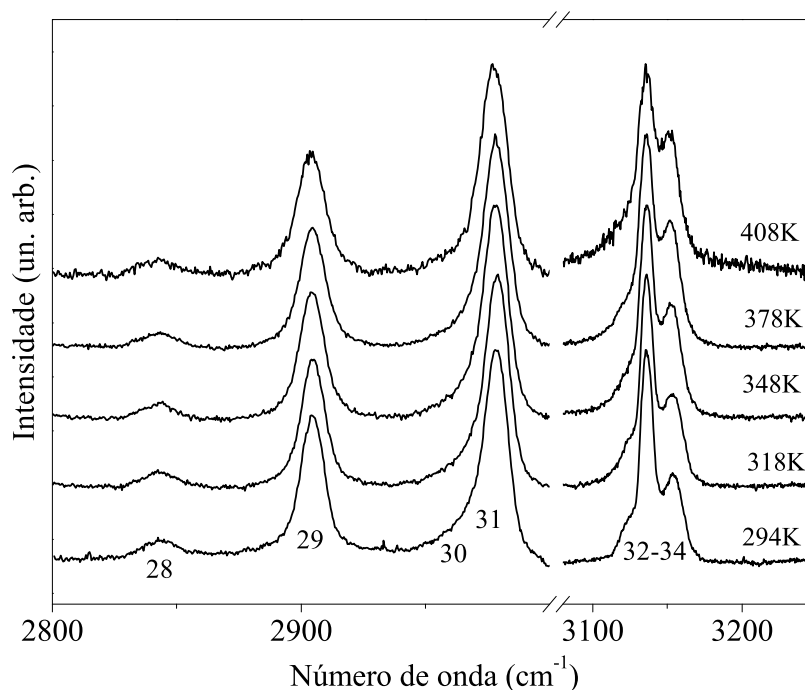


Figura 44: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversas temperaturas acima da ambiente na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} em um experimento de aquecimento da amostra.

Os espectros mostram uma diminuição da relação sinal/ruído quando comparado com o sinal da amostra à temperatura ambiente, o que nos leva a concluir que os modos, em geral, estão perdendo intensidade. Os números de onda para esta região foram plotados em função da temperatura e seus resultados são mostrados na figura 45. O ajuste linear para cada modo de vibração foi feito como função da temperatura, e os coeficientes dos modos desta região são apresentados na tabela 19.

Esta região, entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} , é caracterizada pelas vibrações de estiramento do NH, CH, CH₂ e CH₃ como mencionado anteriormente. A tabela 19 mostra que todos os modos, com exceção do modo 30, sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*). É interessante destacar que para altas temperaturas, assim como foi observado para temperaturas inferiores à ambiente, não ocorrem grandes

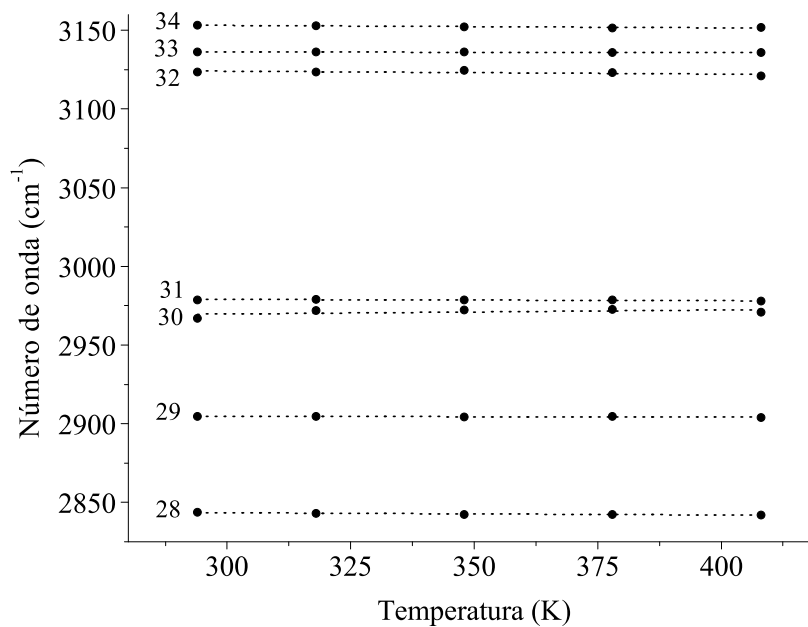


Figura 45: Gráfico do número de onda *vs.* temperatura dos modos Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} .

Tabela 19: Coeficientes dos ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da temperatura para a região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3250 cm^{-1} .

Modo	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
28	2847,56	-0,014
29	2906,20	-0,005
30	2962,10	0,026
31	2981,50	-0,008
32	3129,68	-0,019
33	3137,58	-0,004
34	3157,69	-0,015

variações nas intensidades relativas das bandas. Este dado é bastante curioso, como anteriormente destacado. De fato, em um estudo realizado com a L-metionina, mostrou-se através de cálculos de primeiros princípios (Hartree-Fock e teoria do funcional de densidade) que existem (para a molécula de L-metionina) sete diferentes conformações (23). A cada uma destas conformações corresponde uma determinada relação de intensidade que pode ser, a princípio, detectada por experimentos de absorção de infra-vermelho ou espalhamento Raman. Admitindo que isto seja verdadeiro para todos os aminoácidos, os nossos resultados apontam para o fato de que a conformação da molécula de L-HIS permanece praticamente a mesma em todo o intervalo de temperatura investigado. Tal fato coloca a L-HIS na mesma classe de comportamento, quanto à invariância de intensidades relativas das bandas de alta energia em um largo intervalo de temperatura, do cristal de L-treonina (24). De fato, neste último material uma investigação realizada entre 22 K e 423 K não mostrou mudanças relevantes nas intensidades relativas. E similarmente ao que ocorre com a L-HIS, a L-treonina também apresentou um comportamento harmônico para a maioria dos modos vibracionais.

5.3.6 Conclusões

A evolução dos espectros Raman com o aumento da temperatura é contínua, no sentido de que não são observadas grandes modificações, apenas um alargamento sutil das bandas observadas e uma diminuição de intensidade das mesmas. Os modos, com exceção de 2 modos relacionados com deformações no esqueleto da molécula, sofrem um deslocamento para a região de menor número de onda (*red shift*). Com o aumento da temperatura, espera-se que os efeitos anarmônicos sejam mais evidentes. No entanto, todos os modos apresentaram comportamento harmônico no intervalo de temperatura estudado (294 K a 428 K). Além disto, a análise das intensidades relativas das bandas, em particular na região de altos números de onda, indica que, apesar de estar havendo pequenas mudanças no tamanho da célula unitária do cristal, as moléculas de L-HIS estão mantendo suas conformações sem grandes modificações.

Finalmente, o cristal de L-HIS, sob a luz do laser, começou se decompor a 428 K, muito antes do previsto pela análise térmica (534 K). Este fato nos leva a concluir que a interação da luz com o cristal provoca uma instabilidade no material a altas temperaturas, antecipando a sua decomposição.

6 Propriedades Vibracionais dos Cristais de L-Histidina em Função da Pressão Hidrostática

6.1 Cristais de Aminoácidos sob Altas Pressões

Os primeiros trabalhos sobre a estabilidade de cristais de aminoácidos sob pressão apareceram no final da década de 90 (21, 24–26) como resultados de pesquisas realizadas no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará (UFC). Agora, vários outros laboratórios, notadamente na Rússia (27–29) e na Índia (30, 31) também se dedicam ao assunto. Desses estudos observou-se que com exceção da α -glicina, que parece ser estável até pressões da ordem de 23 GPa (30), todos os outros cristais investigados apresentam no mínimo um tipo de modificação que pode ou ser associado à mudança conformacional ou à transição de fase (20). Conforme veremos nas próximas seções esta regra mais geral se aplica perfeitamente ao caso do cristal de L-HICLM mas, surpreendentemente, o cristal de L-HIS apresenta um comportamento similar ao de α -glicina, constituindo-se portanto, em uma segunda exceção.

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática

Os resultados dos experimentos de espalhamento Raman no cristal de L-HICLM submetido a altas pressões hidrostáticas são apresentados nesta seção. Os experimentos foram realizados na região espectral entre 30 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} e no intervalo de pressão hidrostática entre 0,40 GPa e 7,45 GPa. O comportamento dos modos Raman do cristal de L-HICLM com a pressão hidrostática é discutido, assim como os coeficientes dos ajustes lineares do número de onda em função deste parâmetro termodinâmico são apresentados.

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática 90

Os espectros obtidos indicam fortes mudanças no número de bandas, bem como descontinuidades do gráfico de número de onda *vs.* pressão hidrostática entre 2,68 GPa e 3,05 GPa, que pode ser associado a uma transição de fase estrutural sofrida pelo cristal.

Para facilitar a discussão, o espectro Raman foi dividido em cinco regiões que são mostradas a seguir.

6.2.1 Região espectral de 80 cm⁻¹ a 270 cm⁻¹

A figura 46 mostra os espectros Raman do cristal de L-HICLM na região espectral entre 80 cm⁻¹ a 270 cm⁻¹, para 13 diferentes valores de pressão hidrostática em um experimento aumentando-se a pressão. Daqui por diante, a pressão hidrostática será citada apenas como pressão.

Entre as modificações mais perceptíveis podemos destacar a separação da banda de número 6, em duas outras bandas que foram numeradas de 8 e 9. A banda de número 5 não está graficada, o que não significa que tenha ocorrido o desaparecimento desta banda. Na verdade, devido a sua baixa intensidade, o seu número de onda não pode ser determinado precisamente para valores de pressão superiores a 2,68 GPa. Quanto a intensidade dos modos nesta região, na figura 46, verifica-se que as relações de intensidade dos espectros permanecem aproximadamente constantes.

A figura 47 mostra a evolução dos modos Raman com a pressão na região espectral entre 80 cm⁻¹ e 270 cm⁻¹ bem como o ajuste linear do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$ dos pontos experimentais para esta região. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman desta região são apresentados na tabela 20. Na tabela 20, chamamos de Fase 1 a fase ortorrômbica e de Fase 2 a fase de altas pressões.

Observando a tabela 20, verifica-se que os modos graficados com número de onda menor do que 150 cm⁻¹ são ligeiramente dependentes do valor da pressão, enquanto os outros modos da mesma região possuem números de onda fortemente dependentes da pressão aplicada. De acordo com a mesma tabela, observa-se que os modos desta região, com exceção do modo de número 1, sofrem um deslocamento para a região de maior número de onda (*blue shift*) com o aumento da pressão. De fato, o aumento da pressão diminui a distância entre os átomos, resultando em ligações mais energéticas como consequência de uma maior superposição dos orbitais eletrônicos para as ligações intramoleculares (25).

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática91

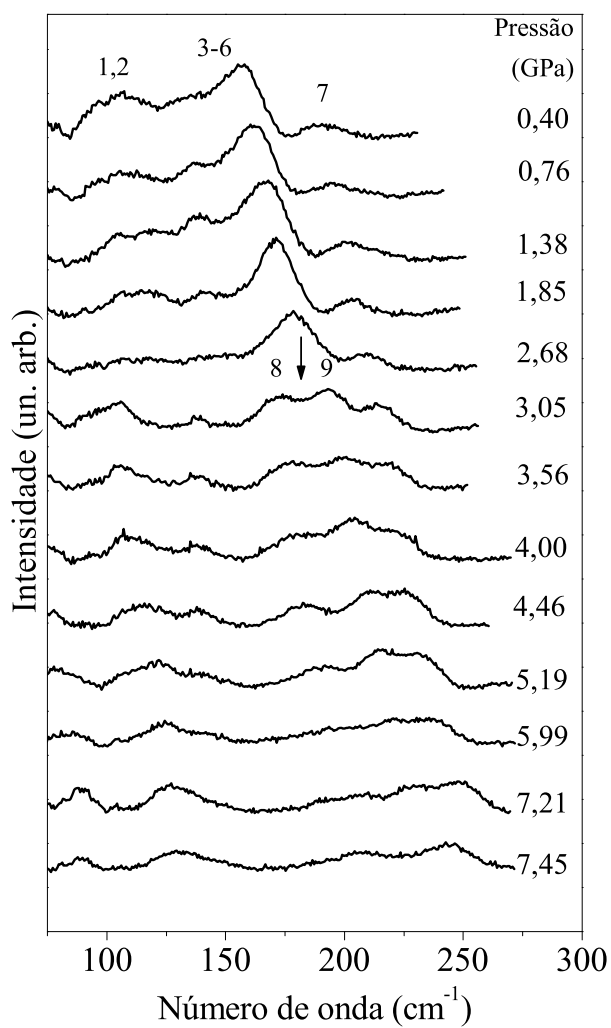


Figura 46: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1} .

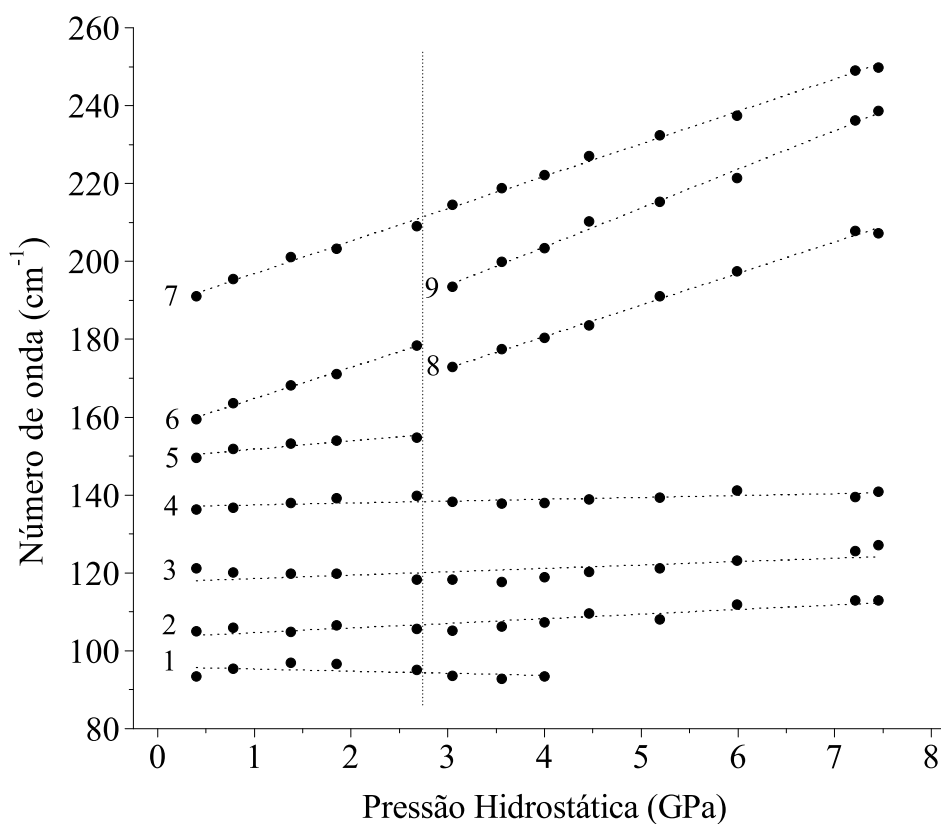


Figura 47: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1} .

Tabela 20: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 80 cm^{-1} e 270 cm^{-1} .

Modo	Fase 1		Fase 2	
	$0,40 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 2,68 \text{ GPa}$		$3,05 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 7,45 \text{ GPa}$	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
1	95,88	-0,549	95,88	-0,549
2	103,49	1,186	103,49	1,186
3	117,68	0,870	117,68	0,870
4	137,00	0,478	137,00	0,478
5	149,65	2,128		
6	156,76	8,033		
7	188,55	8,330	188,55	8,330
8			148,28	8,105
9			163,89	9,960

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática 93

O desdobramento de um modo interno quando um cristal é submetido a pressão pode ser interpretado de duas formas: (a) indução de uma transição de fase pelos efeitos do aumento do campo cristalino ou (b) aumento do comprimento das ligações intermoleculares devido a diminuição dos parâmetros de rede (15). A divisão da banda 6 em duas outras bandas é uma evidência de que o cristal de L-HICLM tenha sofrido uma transição de fase estrutural induzida por pressão entre 2,68 GPa e 3,05 GPa. Tal suposição é reforçada pelos resultados de espectroscopia Raman na região dos modos internos, apresentados mais adiante.

6.2.2 Região espectral de 270 cm^{-1} a 650 cm^{-1}

A figura 48 mostra os espectros Raman do cristal de L-HICLM na região espectral entre 270 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , para diversos valores de pressão. Nesta região, à pressão ambiente, pode-se observar 7 bandas. Devido à baixa relação sinal/ruído, o modo 15 não pode ser localizado para pressões acima de 2,7 GPa. A primeira modificação observada ocorre com um modo associado à deformação do esqueleto da molécula de L-HIS (modo 14), $\delta(\text{esq.})$, que para valores de pressão acima de 2,7 GPa não é mais observado. Para valores de pressão acima de 2,7 GPa, verifica-se também o aparecimento da banda 17 e o desaparecimento da banda 14.

A figura 49 mostra a evolução dos modos Raman com a pressão na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1} e o ajuste linear do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$ dos pontos experimentais para esta região. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos desta região são apresentados na tabela 21. De acordo com o gráfico 49, o modo 11 apresenta uma leve descontinuidade para valores de pressão entre 2,68 GPa e 3,05 GPa.

De acordo com a tabela 21, o aumento da pressão provoca um aumento no número de onda (*blue shift*) da banda 12. Segundo Faria *et. al.* (14), a banda 12 está relacionada com a torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$. Este comportamento é semelhante ao que acontece, por exemplo, na L-treonina e na taurina (32). Baseado nesta comparação, pode-se afirmar que o efeito da pressão diminui o tamanho das ligações de hidrogênio, aumentando o número de onda relativo à torção da unidade (NH_3^+) , $\tau(\text{NH}_3^+)$.

6.2.3 Região espectral de 670 cm^{-1} a 1250 cm^{-1}

A figura 50 mostra os espectros Raman do cristal de L-HICLM na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1} , para diversos valores de pressão em um experimento no qual

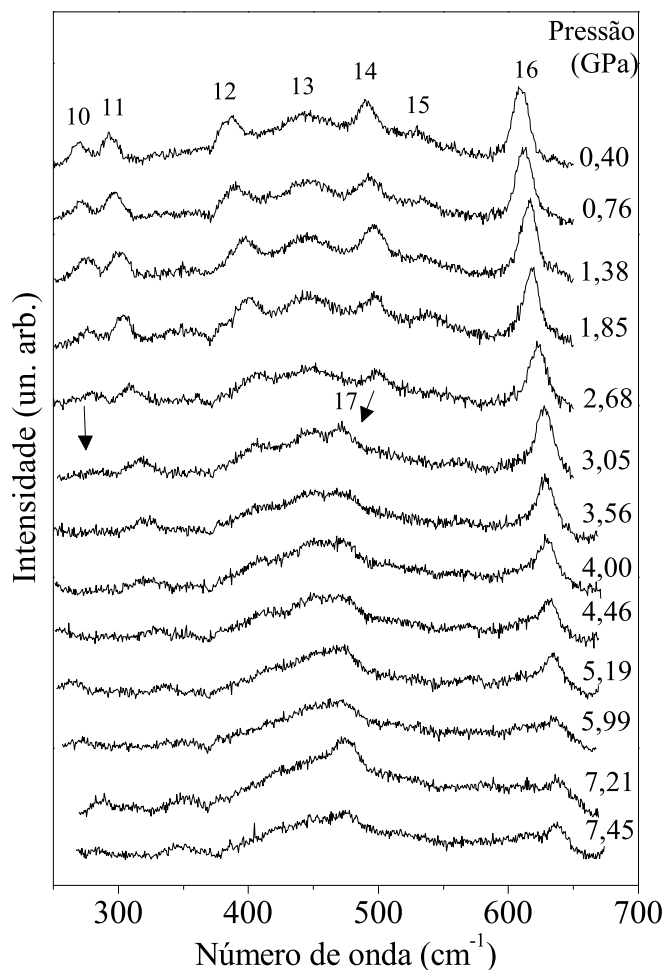


Figura 48: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1} .

Tabela 21: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1} .

Modo	Fase 1		Fase 2	
	$0,40 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 2,68 \text{ GPa}$		$3,05 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 7,45 \text{ GPa}$	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
10	269,74	3,093		
11	291,75	6,118	294,46	7,683
12	391,06	3,557	391,06	3,557
13	442,00	1,501	442,00	1,501
14	490,45	3,319		
15	530,40	4,335		
16	610,94	8,330	610,94	8,330
17			470,66	0,785

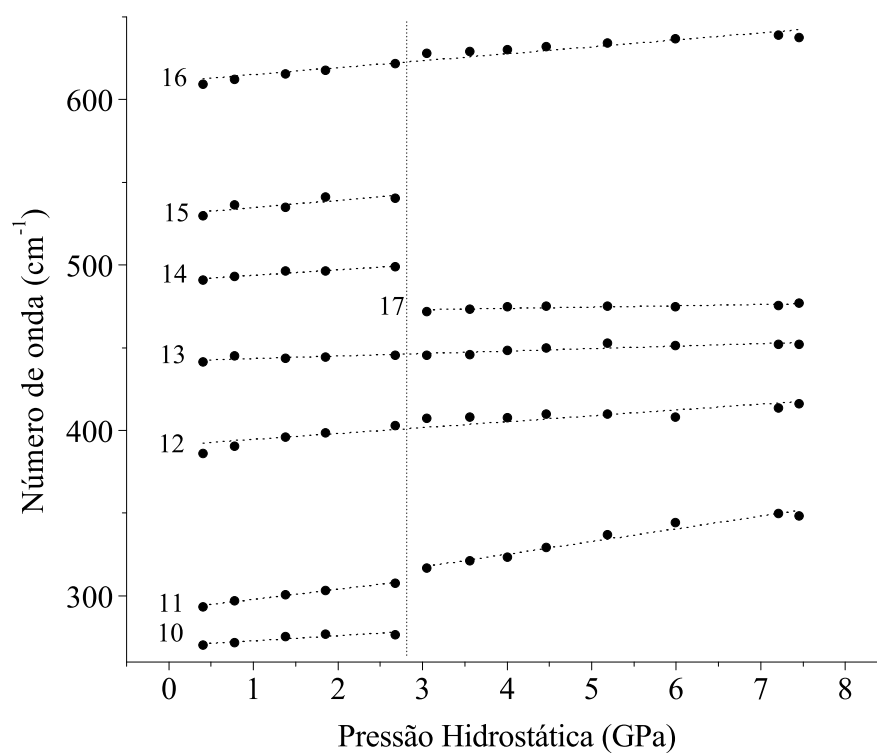


Figura 49: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 270 cm^{-1} e 650 cm^{-1} .

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática 96

este parâmetro termodinâmico era aumentado.

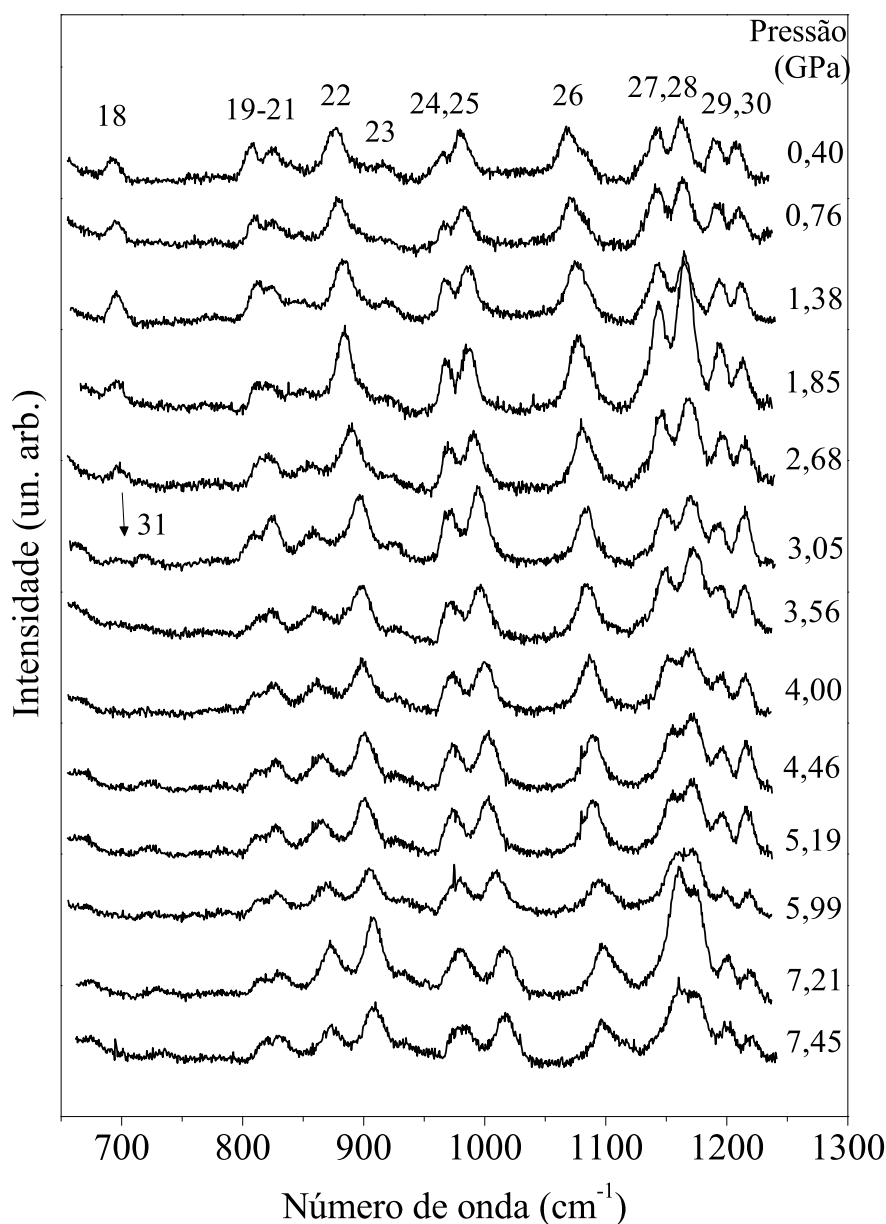


Figura 50: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1} .

Entre as modificações mais significativas está o desaparecimento da banda de número 18 e o aparecimento da banda de número 31 para valores de pressão acima de 2,7 GPa. É importante destacar que a banda 18 está associada a uma deformação da unidade CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$ (14), indicando que as modificações também estão associadas a mudanças nas ligações de hidrogênio.

A figura 51 mostra a evolução dos modos Raman com a pressão nesta região e o ajuste

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática 97

linear dos pontos experimentais. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman desta região são apresentados na tabela 22. De acordo com a figura 51, pode-se concluir que, com exceção do modo 18, os modos desta região são bem comportados no sentido de que não há descontinuidades no gráfico da número de onda *vs.* pressão hidrostática. Segundo a tabela 22, podemos afirmar que todos os modos sofrem um deslocamento para a região de maior número de onda (*blue shift*) com o aumento da pressão.

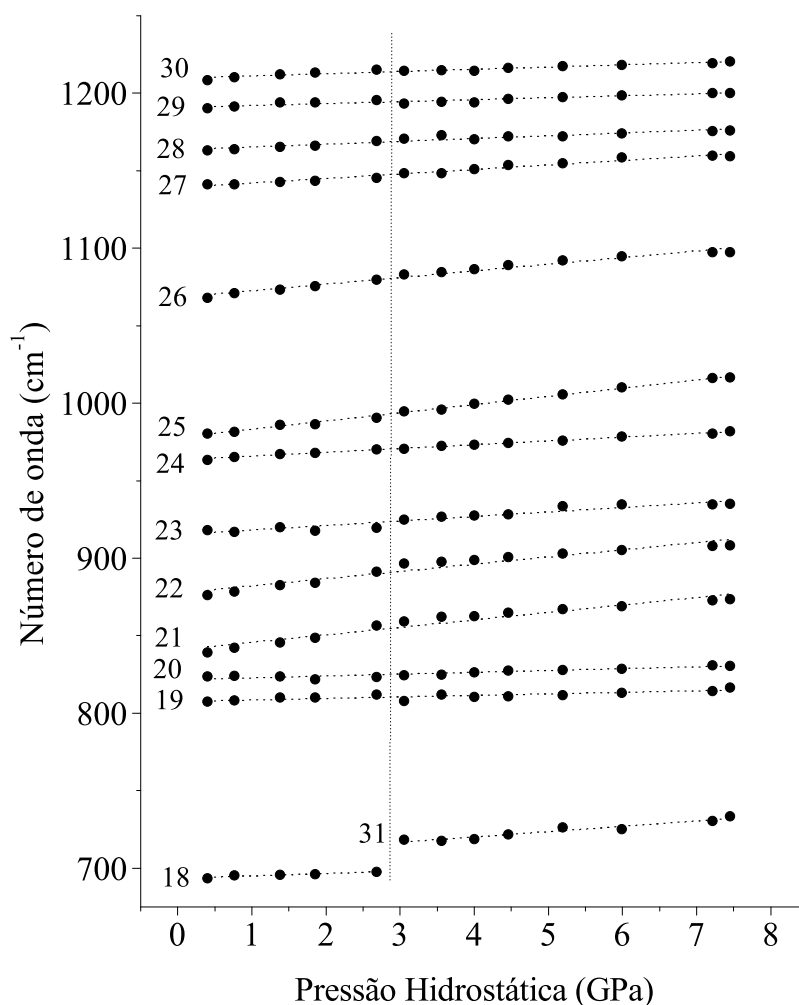


Figura 51: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1} .

6.2.4 Região espectral de 1400 cm^{-1} a 1670 cm^{-1}

A figura 52 mostra os espectros Raman do cristal de L-HICLM na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} , para diversos valores de pressão em um experimento

6.2 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HICLM em Função da Pressão Hidrostática 98

Tabela 22: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 670 cm^{-1} e 1250 cm^{-1} .

Modo	Fase 1		Fase 2	
	$0,40 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 2,68 \text{ GPa}$		$3,05 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 7,45 \text{ GPa}$	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
18	693,54	1,529	693,54	1,529
19	807,54	0,990	807,54	0,990
20	821,66	1,182	821,66	1,182
21	840,90	4,825	840,90	4,825
22	877,53	4,655	877,53	4,655
23	915,30	2,910	915,30	2,910
24	963,46	2,447	963,46	2,447
25	977,76	5,346	977,76	5,346
26	1068,24	4,289	1068,24	4,289
27	1139,22	2,905	1139,22	2,905
28	1163,55	1,806	1163,55	1,806
29	1190,88	1,247	1190,88	1,247
30	1209,76	1,433	1209,76	1,433
31			706,36	3,449

aumentando-se a pressão. Nesta região foram observadas mudanças significativas nos espectros. Entre as modificações mais perceptíveis podemos destacar o aparecimento da banda 37 para valores de pressão acima de 2,7 GPa.

A figura 47 mostra a evolução dos modos Raman com a pressão na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} bem como o ajuste linear do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$ dos pontos experimentais para esta região e a tabela 20 apresenta os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman desta região.

Tabela 23: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} .

Modo	Fase 1		Fase 2	
	$0,40 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 2,68 \text{ GPa}$		$3,05 \text{ GPa} \leq \text{Pressão} \leq 7,45 \text{ GPa}$	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
32	1434,50	1,316	1438,24	0,846
33	1448,13	3,059	1455,36	1,677
34	1462,10	4,415	1476,04	0,778
35	1481,29	4,238	1497,03	-0,619
36	1609,33	2,739	1616,56	-0,374
37			1624,92	2,736

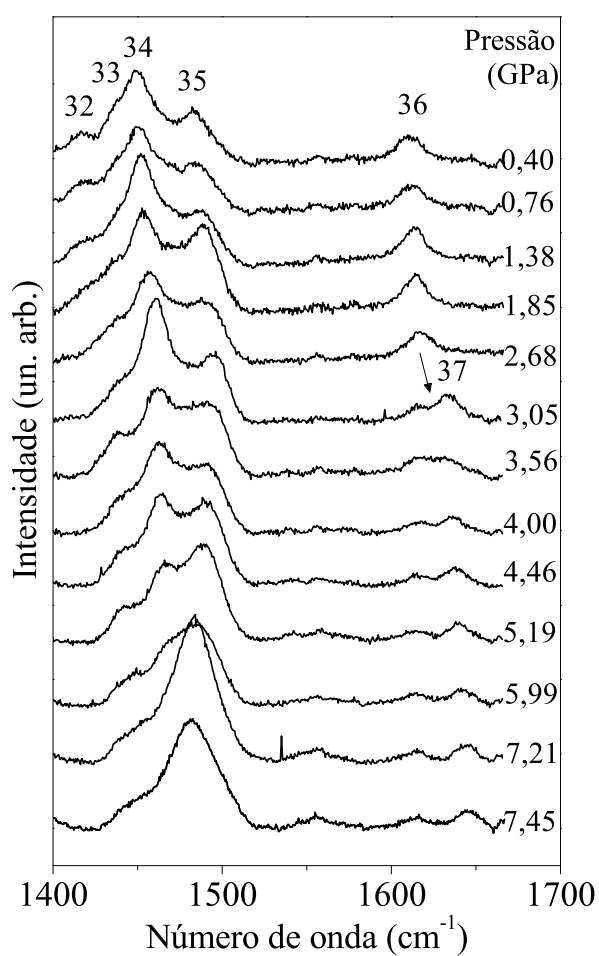


Figura 52: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} .

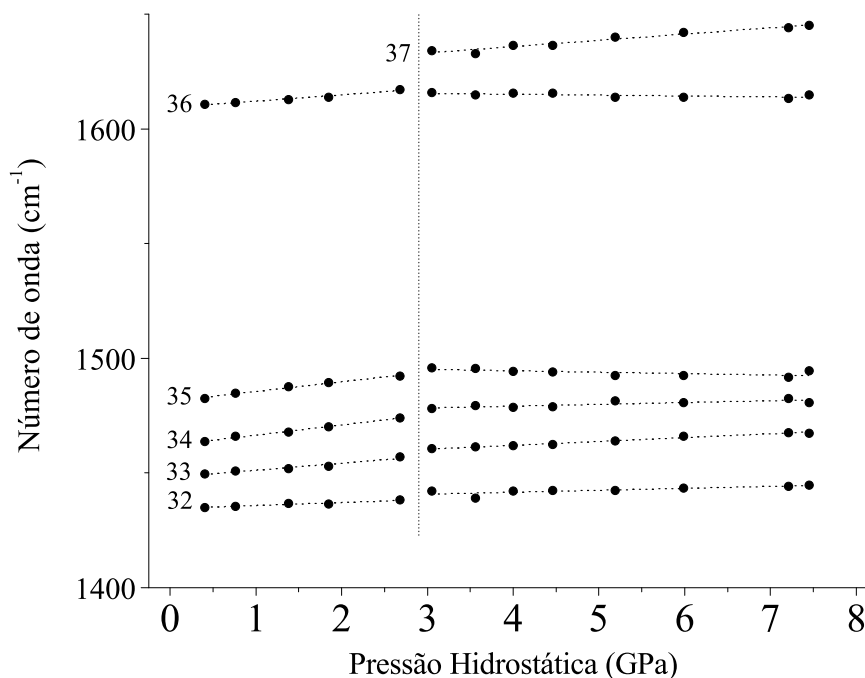


Figura 53: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1670 cm^{-1} .

De acordo com a figura 53, os modos 32-36 apresentam uma pequena descontinuidade no gráfico de número de onda *vs.* pressão no intervalo entre 2,68 GPa e 3,05 GPa.

6.2.5 Região espectral de 3100 cm^{-1} a 3450 cm^{-1}

A figura 54 mostra os espectros Raman do cristal de L-HICLM na região espectral entre 3100 cm^{-1} a 3450 cm^{-1} , para diversos valores de pressão hidrostática em um experimento aumentando-se a pressão.

Nesta região são encontrados os modos associados aos estiramentos das unidades CH, CH₂, CH₃, NH₃⁺ e OH⁻, onde essas duas últimas vibrações são oriundas de unidades que participam diretamente das ligações de hidrogênio do cristal. Nesta região, são observadas interessantes mudanças: o desaparecimento das bandas 41 e 42 para valores de pressão acima de 2,7 GPa e uma ligeira descontinuidade no gráfico do número de onda *vs.* pressão. Para valores acima de 4,0 GPa, observou-se o aparecimento da banda 43.

A figura 55 mostra a evolução dos modos vibracionais com a pressão na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} bem como o ajuste linear do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$ dos pontos experimentais para esta região. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman

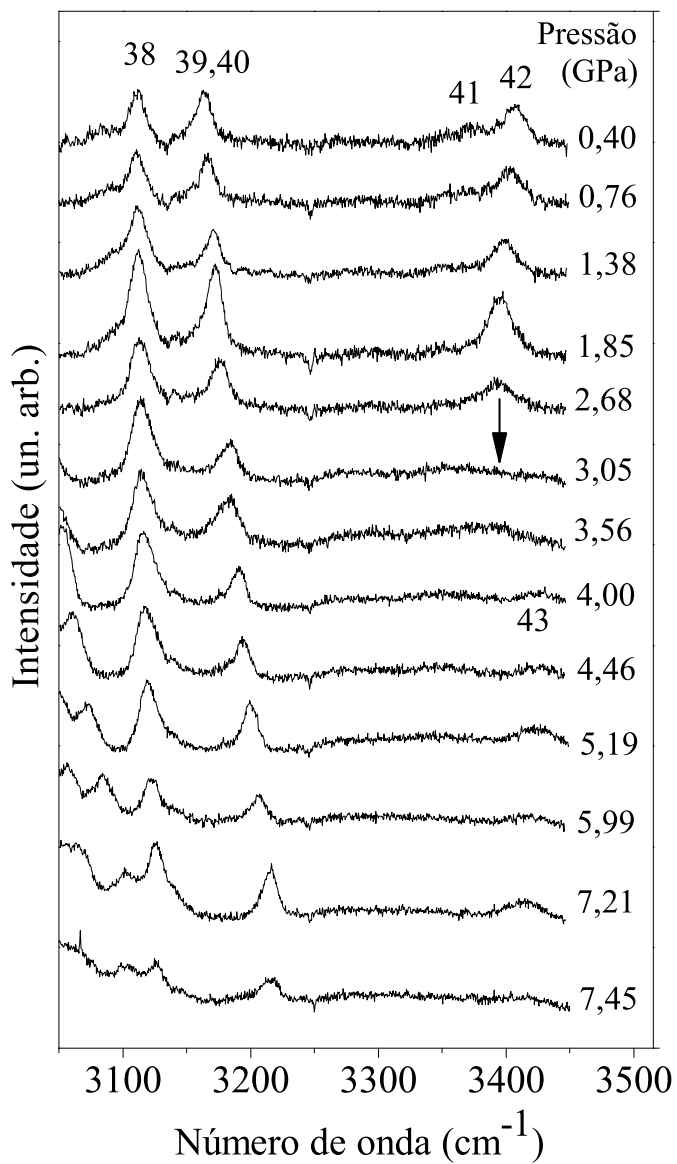


Figura 54: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão e temperaturas na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} .

desta região são apresentados na tabela 24.

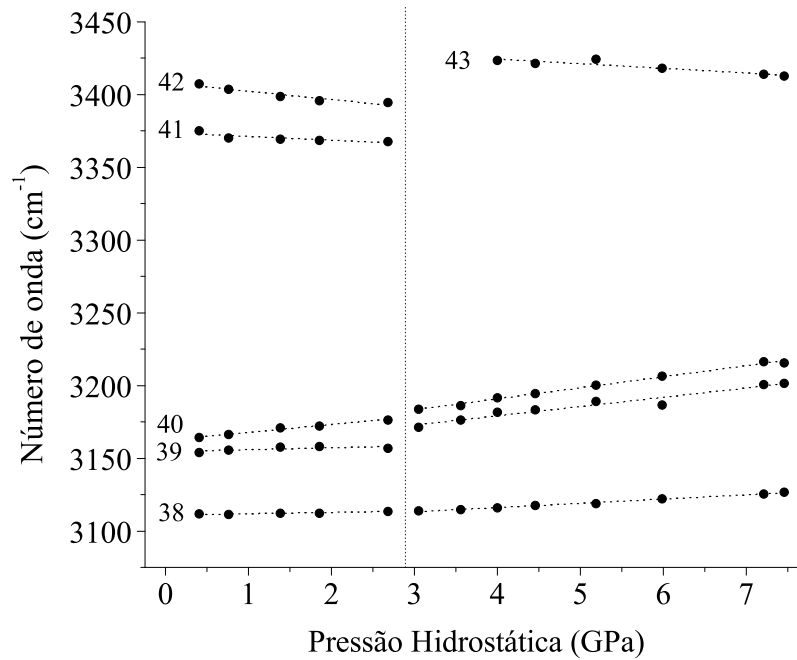


Figura 55: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} .

Tabela 24: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HICLM em função da pressão hidrostática na região espectral entre 3100 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} .

Modo	Fase 1		Fase 2	
	0,40 GPa \leq Pressão \leq 2,68 GPa		3,05 GPa \leq Pressão \leq 7,45 GPa	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
38	3110,96	0,919	3104,48	2,914
39	3154,62	1,287	3153,68	6,380
40	3162,58	5,305	3160,58	7,584
41	3373,91	-2,638		
42	3408,12	-5,745		
43			3437,12	-3,169

6.2.6 A Transição de Fase

Como foi discutido nas seções anteriores foram observadas várias mudanças nos espectros Raman do cristal de L-HICLM, tanto na região dos modos internos quanto na região

dos modos externos. A mudança mais significativa foi observada na região de modos externos, em que a banda 6 desdobrou-se em duas outras bandas (8 e 9), entre 2,68 GPa e 3,05 GPa. Acredita-se que modificações na região dos modos externos estão relacionadas com uma transição de fase estrutural sofrida pelo cristal de L-HICLM. É interessante destacar que mudanças semelhantes na região dos modos externos também foram observadas para o mesmo cristal, quando submetido a baixas temperaturas. No entanto, na transição a baixas temperaturas, os espectros Raman para a região dos modos internos não sofrem grandes mudanças (33). Comportamento semelhante foi observado na L-asparagina monohidratada, que apresenta o desdobramento de um modo externo quando submetido a altas pressões hidrostáticas (primeira transição sofrida com a variação deste parâmetro termodinâmico) ou a baixas temperaturas. Assim como na L-HICLM, a L-asparagina monohidratada apresenta mudanças na região dos modos internos apenas na transição a altas pressões, e nenhuma mudança significativa na região de modos internos foi observada na transição de fase a baixas temperaturas (13, 25).

6.2.7 Reversibilidade

Experimentos realizados no cristal de L-HICLM após a descompressão do material indicam que a transição de fase é reversível para o intervalo de pressão estudado. Como a maior evidência da transição de fase ocorrida era localizada na região dos modos externos, a figura 56 mostra essa região no início dos experimentos de compressão e no fim dos experimentos de descompressão.

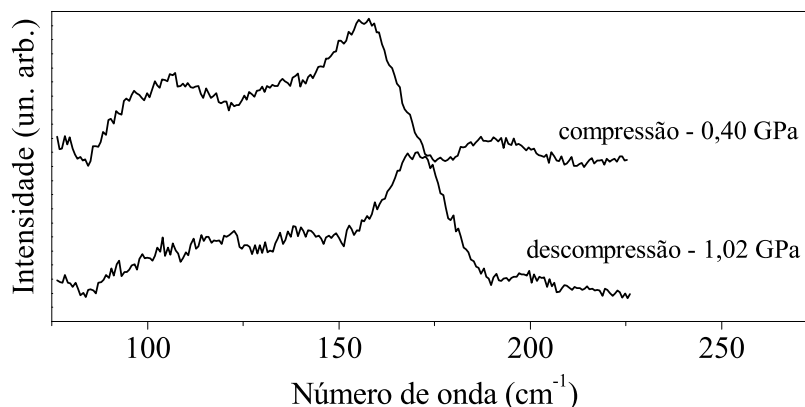


Figura 56: Espectros Raman do cristal de L-HICLM no início dos experimentos de compressão e no fim dos experimentos de descompressão na região espectral dos modos externos.

A figura 56 mostra que os espectros são semelhantes e não exibem a banda de número 6 (ver seção 6.2.1) desdobrada, principal modificação após a transição de fase observada. Desta forma, podemos afirmar que a transição de fase sofrida pelo cristal de L-HICLM é completamente reversível.

6.2.8 Conclusões

Medidas de espalhamento Raman em função da pressão hidrostática foram realizadas no cristal de L-HICLM. Os experimentos foram feitos no intervalo espectral entre 30 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} e no intervalo de pressão hidrostática entre 0,40 GPa e 7,45 GPa. Mudanças observadas em várias bandas Raman, em diferentes regiões do espectro, evidenciam uma transição de fase sofrida pelo cristal de L-HICLM entre 2,68 GPa e 3,05 GPa. Os resultados obtidos após a descompressão indicam que a transição é reversível.

6.3 Espectroscopia Raman em Cristais de L-HIS em Função da Pressão Hidrostática

Os resultados das medidas de espalhamento Raman na amostra policristalina de L-HIS submetido a altas pressões hidrostáticas são apresentados nesta seção. Os experimentos foram realizados na região espectral entre 30 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} e no intervalo de pressão hidrostática entre 0,1 GPa e 7,01 GPa. Devido à luminescência do meio hidrostático utilizado (óleo mineral Nujol), apenas a região entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} pode ser analisada com mais cuidado. O comportamento dos modos Raman do cristal de L-HIS com a pressão hidrostática é discutido para compressão assim como para a descompressão. Os coeficientes dos ajustes lineares do número de onda em função da pressão são apresentados. Os espectros obtidos não fornecem nenhum indício claro de que o cristal de L-HIS sofra transição de fase no intervalo de pressão estudado.

O espectro Raman foi dividido em três regiões que são mostradas a seguir.

6.3.1 Região espectral de 30 cm^{-1} a 300 cm^{-1}

As figuras 57 e 58 mostram os espectros Raman do cristal de L-HIS para diferentes valores de pressão durante a compressão e a descompressão, respectivamente, na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} . Os espectros apresentam diminuição da relação sinal/ruído, alargamento das bandas Raman e diminuição de intensidade.

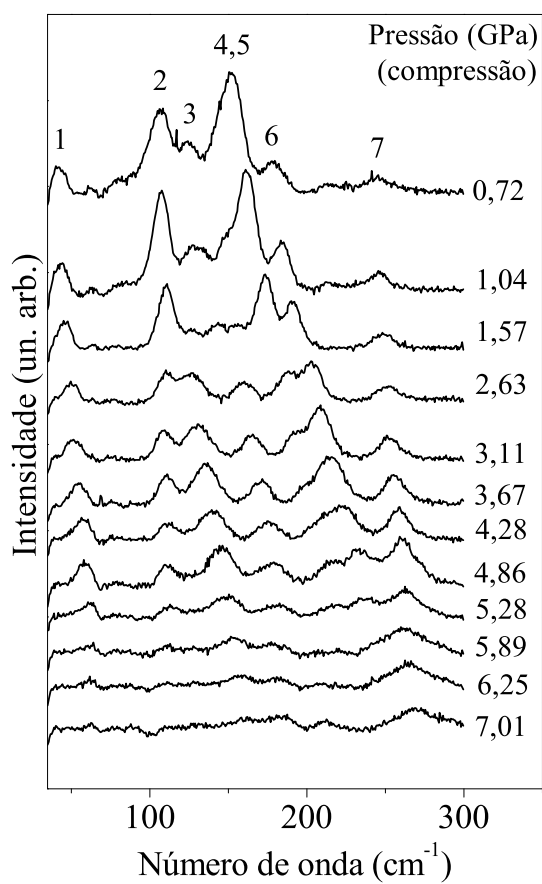


Figura 57: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} para a compressão.

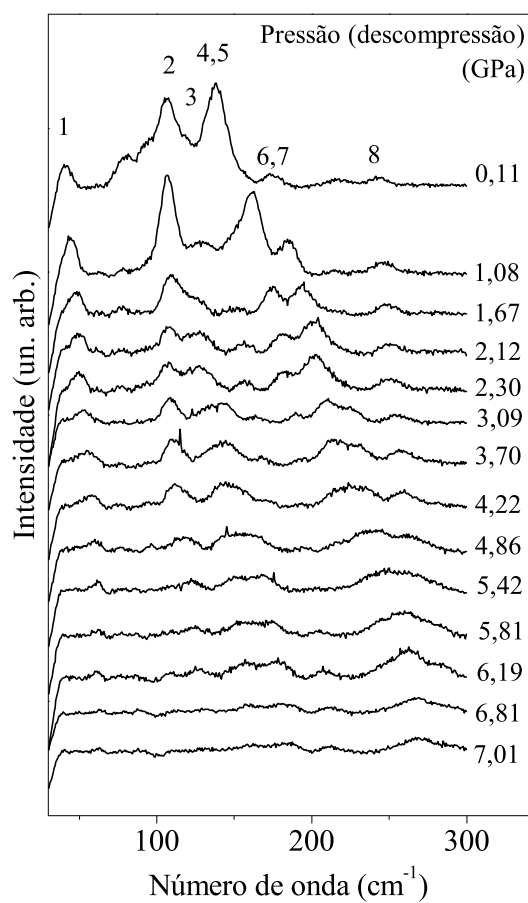


Figura 58: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 30 cm⁻¹ e 300 cm⁻¹ para a descompressão.

As figuras 59 e 60 mostram a evolução dos modos Raman com a pressão na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} para a compressão e para a descompressão, respectivamente. Para os mais altos valores de pressão aplicados, não foi possível determinar o número de onda de alguns modos com precisão devido à sua baixa intensidade e ao alargamento de outras bandas. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman desta região são apresentados na tabela 25.

Na tabela 25 verifica-se que os modos 5 e 6 possuem número de onda fortemente dependentes do valor da pressão aplicada. De acordo com a mesma tabela, todos os modos sofrem um deslocamento para a região de maior número de onda (*blue shift*) com o aumento da pressão.

Assim como acontece com o cristal de L-HIS a baixas temperaturas (seção 5.2), mudanças significativas na região dos modos externos ($\omega \leq 200\text{ cm}^{-1}$) não foram observadas, o que nos leva a concluir que o material não sofre transição de fase para o intervalo de pressão estudado.

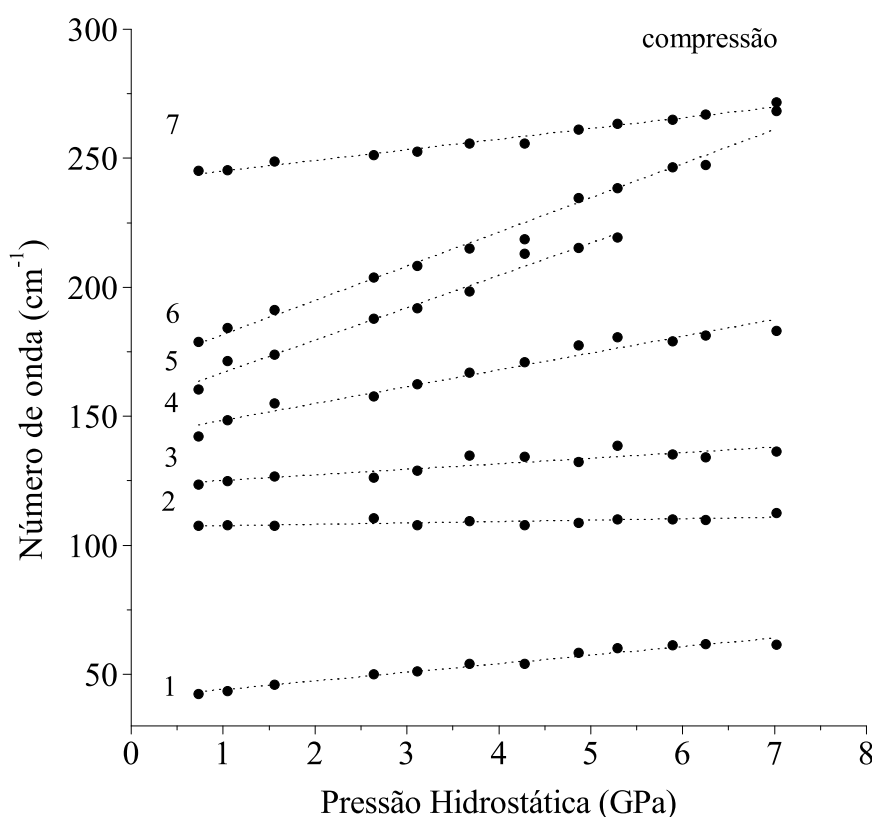


Figura 59: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} durante a compressão.

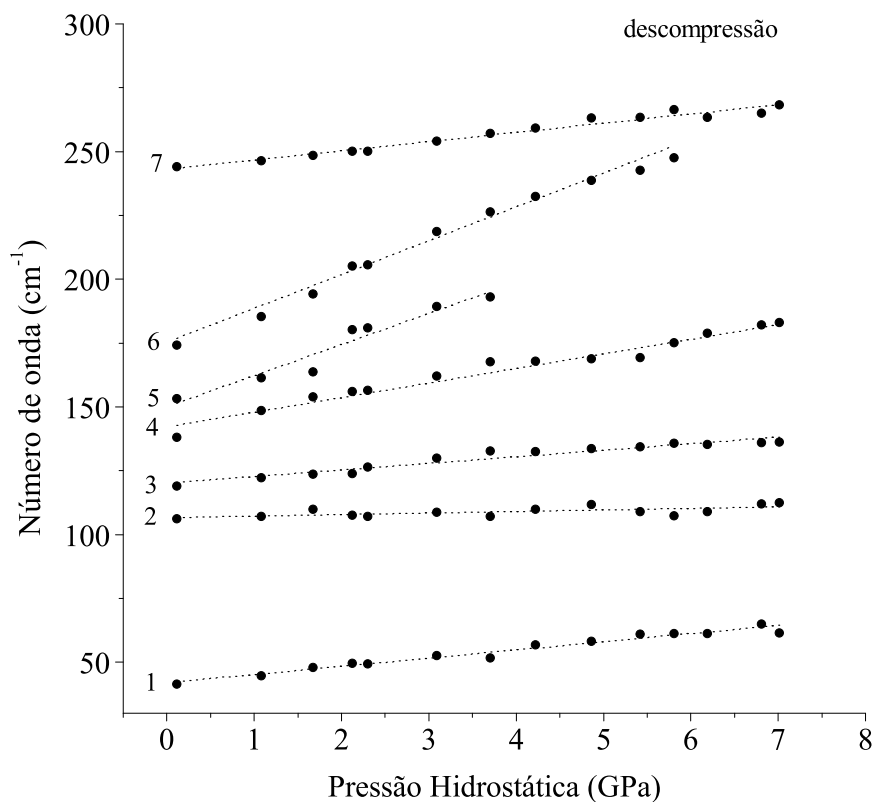


Figura 60: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} durante a descompressão.

Tabela 25: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da pressão hidrostática na região espectral entre 30 cm^{-1} e 300 cm^{-1} .

Modo	Compressão		Descompressão	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
1	40,79	3,331	41,96	3,210
2	107,04	0,544	106,60	0,605
3	123,02	2,147	120,17	2,570
4	141,91	6,517	142,19	5,710
5	154,42	12,547	150,04	12,187
6	168,44	13,244	175,36	13,242
7	240,93	4,125	243,08	3,610

6.3.2 Região espectral de 300 cm^{-1} a 600 cm^{-1}

As figuras 61a e 61b mostram os espectros Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 300 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , para diversos valores de pressão para a compressão e para a descompressão, respectivamente. Devido a baixa intensidade dos modos desta região o gráfico número de onda vs. pressão não pode ser feito. Mas os espectros não mostram nenhuma forte evidência de mudanças nesta região.

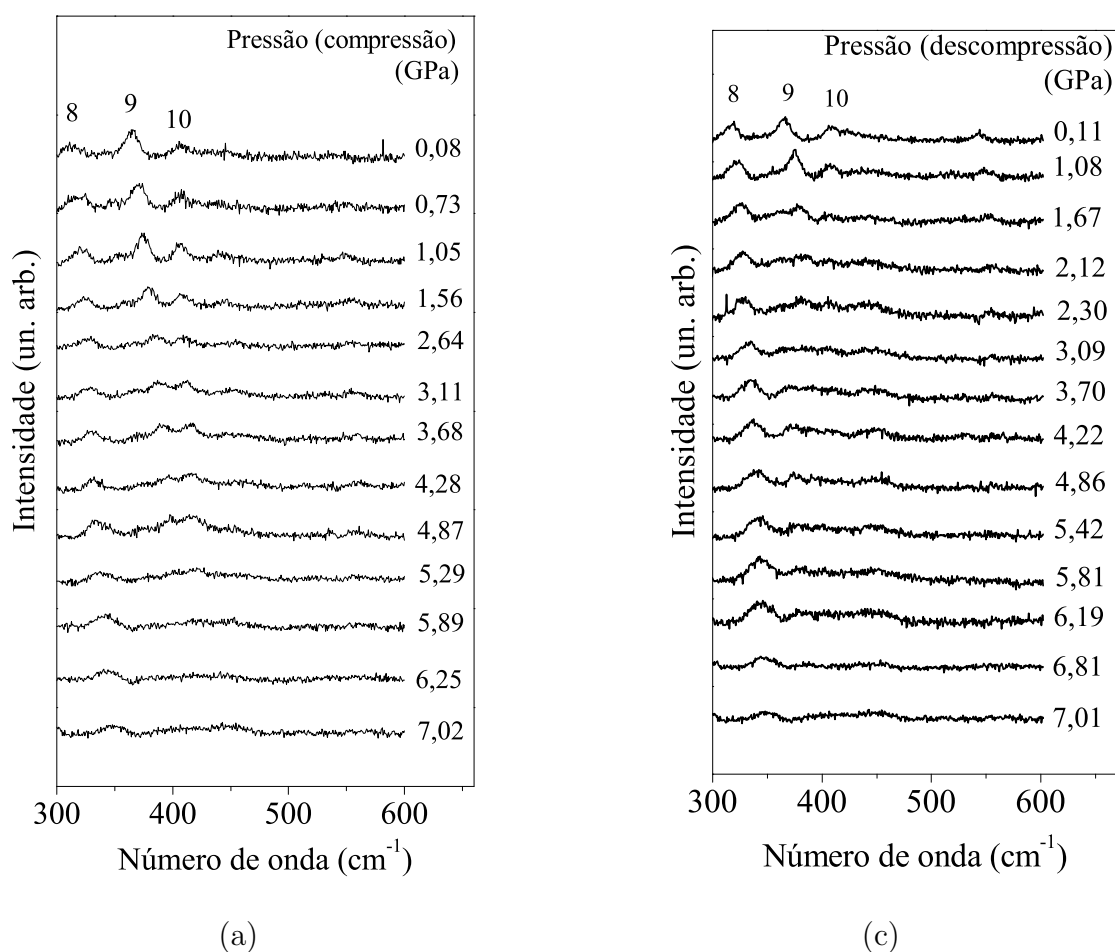


Figura 61: Espectros Raman do cristal de L-HIS para diversos valores de pressão na região espectral entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1} para a compressão em (a) e para a descompressão em (b).

6.3.3 Região espectral de 700 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}

As figuras 62 e 63 mostram os espectros Raman do cristal de L-HIS na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} , para diversos valores de pressão para a compressão e descompressão, respectivamente. Nenhuma modificação significativa nesta região foi observada, confirmando a ausência de transição de fase para o intervalo estudado.

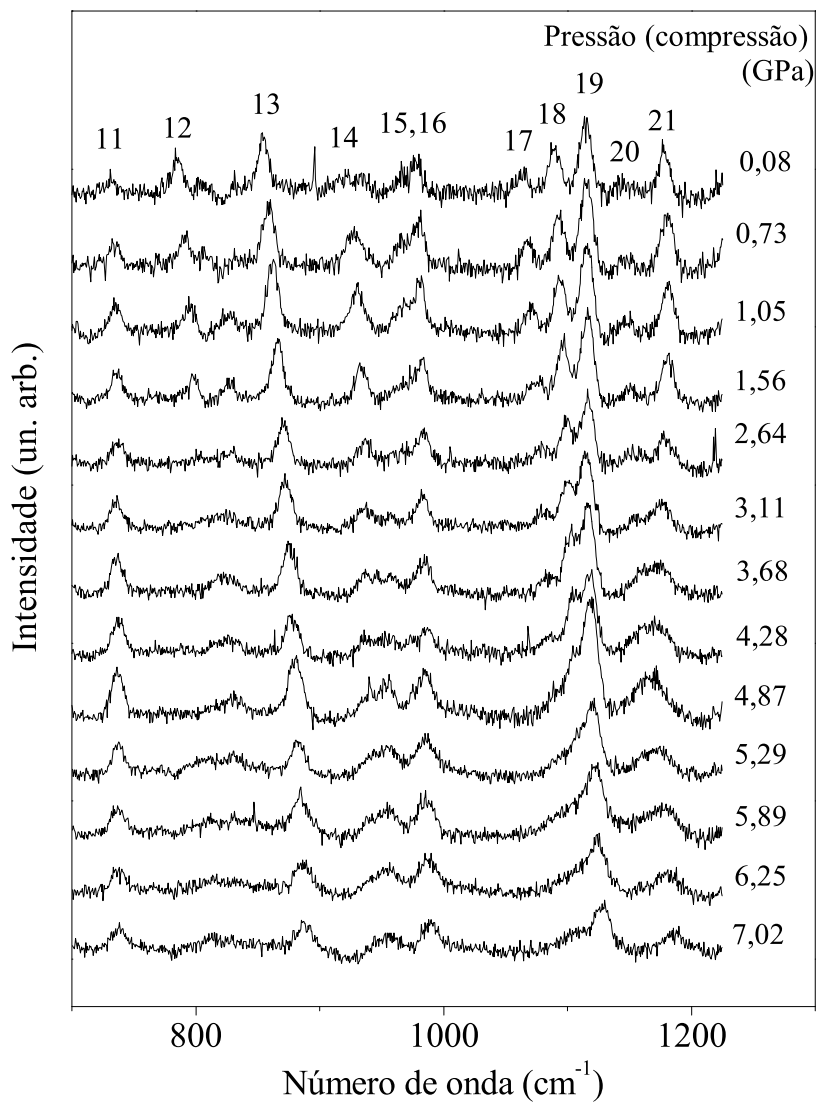


Figura 62: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a compressão.

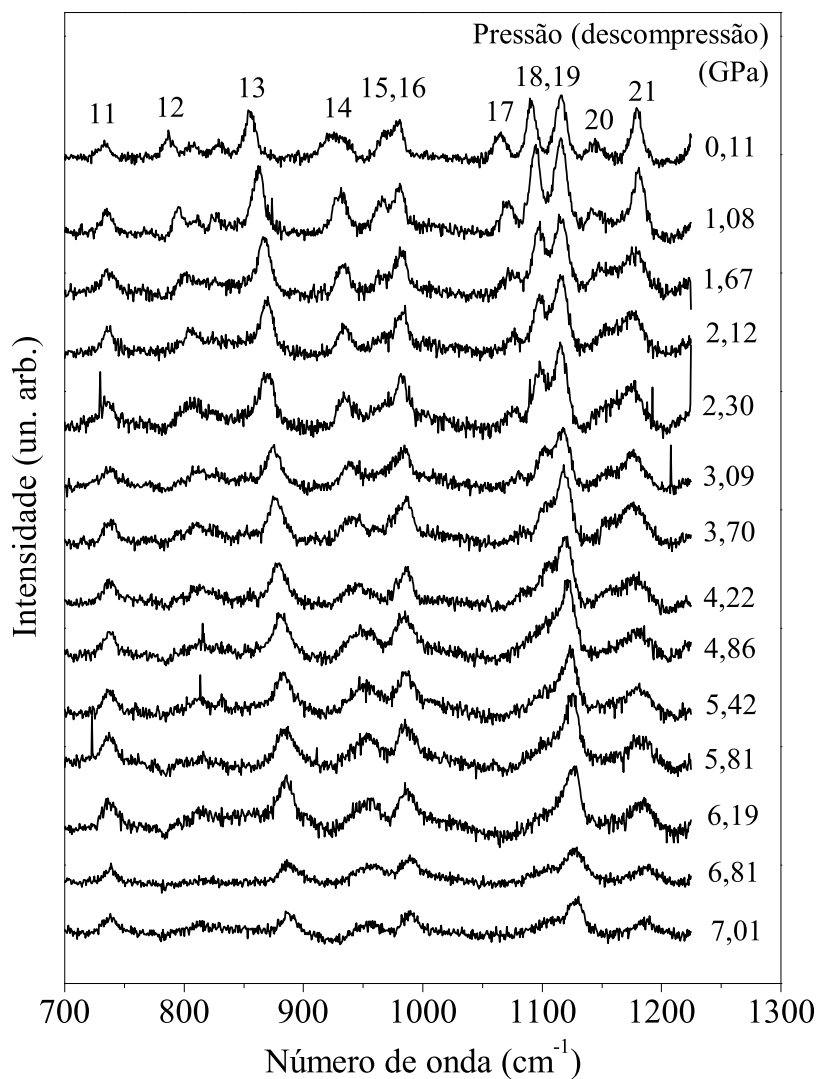


Figura 63: Espectros Raman do cristal de L-HICLM para diversos valores de pressão na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a decompressão.

As figuras 64 e 65 mostram a evolução dos modos Raman com a pressão nesta região e o ajuste linear dos pontos experimentais. Os coeficientes dos ajustes lineares dos modos Raman desta região são apresentados na tabela 26. De acordo com as figuras 64 e 65, pode-se concluir que os modos desta região são bem comportados no sentido de que não há descontinuidades no gráfico da número de onda *vs.* pressão hidrostática. Segundo a tabela 26, podemos afirmar que todos os modos, com exceção do modo 15, sofrem um deslocamento para a região de maior número de onda (*blue shift*) com o aumento da pressão, onde o modo de número 12, que é atribuído a uma vibração oriunda da deformação da unidade CO_2^- , possui uma maior dependência do valor da pressão.

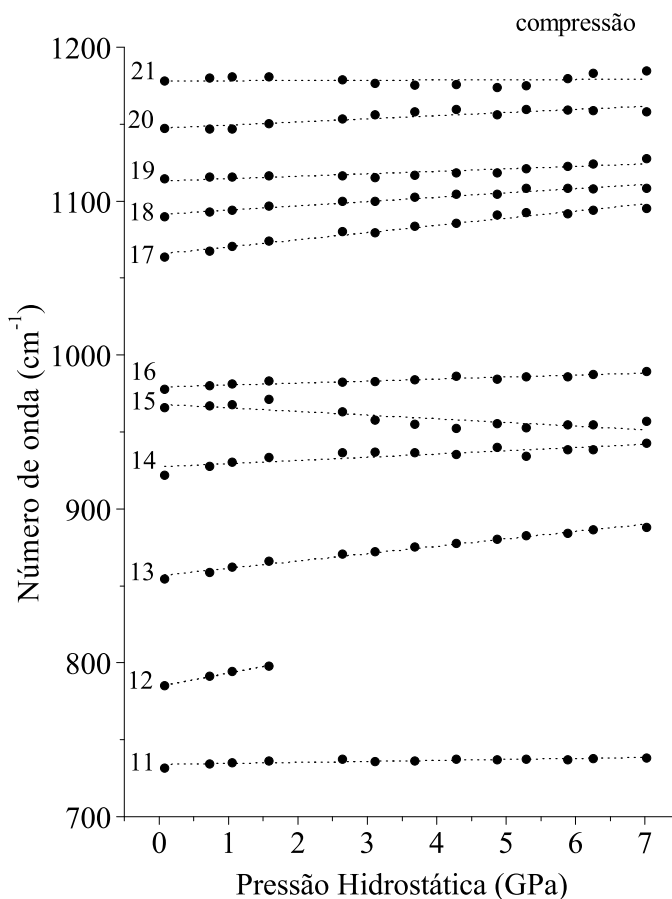


Figura 64: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a compressão.

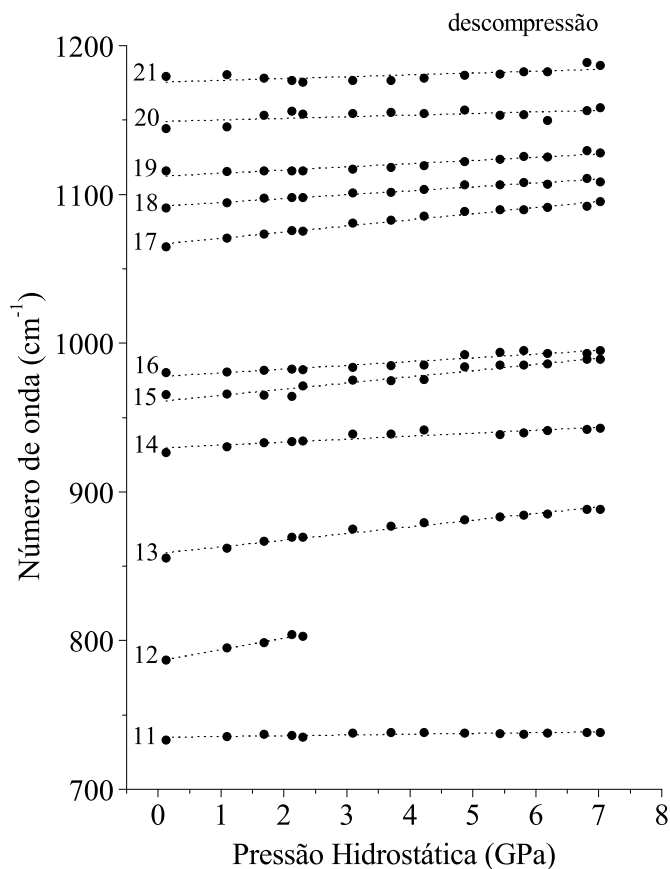


Figura 65: Gráfico do número de onda *vs.* pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} para a descompressão.

Tabela 26: Coeficientes do ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha \cdot P$) para os modos Raman do cristal de L-HIS em função da pressão hidrostática na região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Modo	Compressão		Descompressão	
	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)	ω_0 (cm^{-1})	α ($\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$)
11	733,96	0,651	734,98	0,521
12	784,81	8,572	786,27	7,701
13	856,61	4,788	858,56	4,488
14	927,30	2,097	929,44	1,997
15	968,04	-2,374	960,73	4,161
16	979,15	1,304	977,48	2,526
17	1065,60	4,662	1066,40	4,132
18	1091,32	2,796	1091,97	2,622
19	1112,96	1,601	1112,11	2,143
20	1147,37	2,032	1148,98	1,084
21	1178,04	0,162	1175,46	2,526

6.3.4 Estabilidade a Altas Pressões Hidrostáticas

Assim como a α -glicina que mostrou ser estável até pressões da ordem de 23 GPa (30), a L-HIS mostrou-se estável até pressões da ordem de 7 GPa. Este comportamento é diferente de todos os outros cristais de aminoácidos investigados, que apresentam no mínimo um tipo de modificação que pode ou ser associado à mudança conformacional ou à transição de fase (20).

6.3.5 Conclusões

Medidas de espalhamento Raman em função da pressão hidrostática foram realizadas no cristal de L-HIS. Os experimentos foram feitos no intervalo espectral entre 30 cm^{-1} e 3450 cm^{-1} e no intervalo de pressão hidrostática entre 0,1 GPa e 7,1 GPa. Os espectros obtidos não evidenciam qualquer transição de fase sofrida pelo cristal de L-HIS para o intervalo de pressão estudado.

6.4 Comparação entre a L-HIS e a L-HICLM

Os resultados apresentados neste capítulo mostram que enquanto o cristal de L-HICLM apresenta claramente uma transição de fase induzida por pressão, o mesmo não ocorre com o cristal de L-HIS. Duas observações gerais podem ser feitas a esse respeito.

A primeira é que sistemas com um grande número de pontes de hidrogênio, como a L-HICLM, parecem ser mais fáceis de terem suas estruturas modificadas. A L-HICLM possui uma complexa estrutura de pontes de hidrogênio envolvendo além da própria molécula de histidina, também as moléculas de H_2O e unidades HCl. Isto explicaria a menor estabilidade da estrutura quando comparada à estrutura de L-HIS.

Por outro lado observa-se que a estrutura de L-HICLM é mais estável de que a estrutura de um outro cristal de aminoácido contendo água, a L-asparagina monohidratada. Resultados de espalhamento Raman mostraram que entre 0 e 1,5 GPa, a L-asparagina monohidratada apresenta três diferentes transições de fase (21, 25), enquanto que no mesmo intervalo a L-HICLM não apresenta nenhuma mudança. O porquê desta diferença não é fácil de ser respondido e fica como uma das perspectivas de investigação futura. De qualquer forma é interessante destacar que mesmo para diferentes polimorfos de uma *mesma* substância, o comportamento sob diversos parâmetros termodinâmicos, como temperatura ou pressão, parecem ser bem diferentes. Por exemplo, sabe-se que no intervalo entre

5 K e 500 K a α -glicina não apresenta nenhuma transformação estrutural, enquanto que a forma β -glicina apresenta no mínimo uma mudança (34). Sob pressão hidrostática a α -glicina parece ser estável até pressões de 23 GPa (30), enquanto que a β -glicina apresenta uma transição de fase em 0,76 GPa (35).

Este último comentário nos leva à segunda observação geral sobre o estudo de altas pressões nos cristais de L-HICLM e L-HIS. Juntamente com a α -glicina, a L-HIS é o único cristal de aminoácido estudado até o momento no qual a pressão não induz nenhuma transição de fase. β -glicina, γ -glicina, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-treonina, L-serina, L-cisteína e L-metionina, todos eles, apresentam no mínimo uma mudança de fase a altas pressões. Fica como desafio futuro investigar a L-HIS a mais altas pressões (acima de 10 GPa) e, confirmando-se a sua estabilidade, estabelecer paralelos com a α -glicina e se tentar dar uma explicação para este fenômeno.

APÊNDICE A – Espalhamento Raman

Quando um feixe de luz monocromática de número de onda ν_0 é incidido sobre um líquido transparente, um gás ou um cristal, a maior parte da luz incidente é transmitida sem alterações, enquanto que uma pequena parte é dispersa em todo o ângulo sólido. O termo espalhamento será usado para situações em que a luz é desviada da direção da luz incidente. Uma análise espectral da luz dispersa mostra que, além do número de onda da luz incidente ν_0 (espalhamento Rayleigh), são observados componentes discretos de números de onda diferentes de ν_0 . Em geral, foi observado a existência de pares de linhas novas que aparecem no espectro de números de onda simetricamente em relação à linha do espalhamento Rayleigh, ou seja, $\nu' = \nu_0 \pm \nu_M$, onde os números de onda ν_M correspondem às transições entre níveis de energia rotacionais ou vibracionais (raramente eletrônicos) dos sistemas moleculares. O aparecimento dos números de onda diferentes em luz espalhada é chamado de efeito Raman ou espalhamento Raman.

O espalhamento Raman é um efeito de intensidade muito baixa e é sempre acompanhado do espalhamento Rayleigh com uma intensidade habitualmente 3 a 5 ordens de grandeza maior. No entanto, o espalhamento Rayleigh em si é apenas cerca de 10^{-4} - 10^{-3} da intensidade da radiação incidente. As novas componentes que aparecem no espectro da radiação espalhada são chamadas de bandas Raman, e coletivamente eles são referidos como o espectro Raman. As bandas Raman com números de onda menores do que o da luz incidente ($\nu' < \nu_0$) são denominadas de linhas Stokes, caso contrário são linhas anti-Stokes.

A.1 Teoria Clássica do Espalhamento Raman

A teoria clássica do espalhamento Raman é baseada no fato de que a luz espalhada é gerada por dipolos elétricos oscilantes induzidos pelo campo elétrico da radiação incidente. A relação entre o vetor momento de dipolo induzido $\boldsymbol{\mu}'$ e o vetor campo elétrico \mathbf{E} pode ser escrito na forma de uma série potências:

$$\boldsymbol{\mu}' = \alpha \mathbf{E} + \frac{1}{2} \beta \mathbf{E}\mathbf{E} + \frac{1}{6} \gamma \mathbf{E}\mathbf{E}\mathbf{E} + \dots \quad (\text{A.1})$$

onde α é a polarizabilidade, β é a hiper-polarizabilidade e γ é hiper-polarizabilidade de segunda ordem da molécula. Polarizabilidades α , β e γ são tensores de ordem 2, 3 e 4, respectivamente. β é hiper-polarizabilidade de segunda ordem da molécula. Os termos não-lineares na equação A.1, são geralmente muito pequenos em comparação com o termo linear. Se considerarmos somente o termo linear da equação A.1, ou seja,

$$\boldsymbol{\mu}' = \alpha \mathbf{E} \quad (\text{A.2})$$

então esta equação pode ser reescrita na forma de três equações lineares,

$$\begin{aligned} \mu'_x &= \alpha_{xx} E_x + \alpha_{xy} E_y + \alpha_{xz} E_z \\ \mu'_y &= \alpha_{yx} E_x + \alpha_{yy} E_y + \alpha_{yz} E_z \\ \mu'_z &= \alpha_{zx} E_x + \alpha_{zy} E_y + \alpha_{zz} E_z \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

correspondente a seguinte multiplicação de matrizes

$$\begin{pmatrix} \mu'_x \\ \mu'_y \\ \mu'_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix}$$

onde os nove coeficientes α_{ij} são as componentes do tensor polarizabilidade α . O tensor polarizabilidade pode ser descrito por uma matrix real e simétrica, onde $\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$, assim temos 6 componentes independentes. Essa matriz só deve ser simétrica no caso de espalhamento Raman não-ressonante.

A dependência temporal do momento de dipolo induzido definido pela equação A.1 em uma molécula vibrando será agora considerado, onde o tensor polarizabilidade deve ser modulado pelas vibrações normais. A dependência da polarizabilidade molecular no em relação as coordenadas normais pode ser expressa na forma de uma série de Taylor

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_0 + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k + \frac{1}{2} \sum_{k,l} \left(\frac{\partial^2 \alpha_{ij}}{\partial Q_k \partial Q_l} \right)_0 Q_k Q_l + \dots \quad (\text{A.4})$$

onde α_{ij} é uma componente do tensor polarizabilidade, com $(\alpha_{ij})_0$ sendo o seu valor na configuração de equilíbrio, Q_k é a coordenada normal associada com a vibração de número de onda ν_k , o subscrito 0 se refere a derivada tomada na configuração de equilíbrio. Para simplificar o tratamento, a aproximação harmônica é adotada, desta forma negligenciamos

as anarmonicidades mecânicas e elétricas. E na equação A.4 a dependência linear da polarizabilidade em relação a coordenada vibracional é assumida, ou seja,

$$\alpha_k = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k \quad (\text{A.5})$$

Por outro lado, as vibrações normais são tratadas como harmônicas, isto é,

$$Q_k = Q_{k0} \cos(2\pi c \nu_k t) \quad (\text{A.6})$$

Vamos considerar agora a dependência do momento de dipolo elétrico induzido μ_0 devido a interação com o campo elétrico da radiação incidente de número de onda ν_0 em uma molécula vibrando. A variação do campo elétrico com o tempo é dado por

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi c \nu_0 t) \quad (\text{A.7})$$

Substituindo as equações A.5, A.6 e A.7 na equação A.1, obtemos:

$$\begin{aligned} \boldsymbol{\mu}' &= \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi c \nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_k} \right)_0 Q_{k0} \mathbf{E}_0 \cos(2\pi c \nu_0 t) \cdot \cos(2\pi c \nu_k t) \\ &= \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi c \nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_k} \right)_0 Q_{k0} \mathbf{E}_0 \{ \cos[2\pi c(\nu_0 - \nu_k)t] + \cos[2\pi c(\nu_0 + \nu_k)t] \} \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Os três termos da equação A.8 indica que o dipolo induzido oscila com três frequências diferentes. O primeiro termo é referente ao espalhamento Rayleigh, enquanto o segundo e o terceiro termos são referentes ao espalhamento Raman Stokes e anti-Stokes, respectivamente.

Pode-se concluir que a teoria clássica descreve com sucesso as relações de frequência vibracional do espalhamento Raman. Ela mostra que o deslocamento Raman é independente da frequência da radiação incidente. Assim, qualquer que seja a frequência da luz incidente, o mesmo espectro Raman (mas não necessariamente as mesmas intensidades relativas) com os deslocamentos Raman característicos das vibrações moleculares.

De acordo com a equação A.8, a amplitude de oscilação do momento de dipolo induzido é diretamente proporcional a amplitude do campo elétrico da radiação incidente \mathbf{E}_0 . A intensidade do espalhamento Rayleigh depende da polarizabilidade da molécula α_0 , enquanto que o espalhamento Raman (Stokes e anti-Stokes) é dependente da derivada do tensor polarizabilidade, α'_k :

$$\alpha'_k = \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_k} \right)_0 \quad (\text{A.9})$$

As intensidade relativas e as propriedades das linhas espectrais da radiação espalhada depende de diferentes fatores, como a geometria de espalhamento, a orientação da molécula em relação a luz incidente e a polarização da luz incidente. A determinação do estado de polarização da radiação espalhada é de grande importância porque pode estar correlacionada com a simetria dos modos vibracionais individuais.

A derivada do tensor de polarizabilidade apresenta diferentes padrões para diferentes espécies de simetria; assim, se esses padrões podem ser determinados, os modos Raman ativos podem ser distinguidos uns dos outros. Isso pode ser feito através de medidas Raman utilizando luz polarizada em cristais. Neste caso, a derivada de todas as componentes do tensor polarizabilidade pode ser determinada para cada banda Raman através da medição direta utilizando uma orientação do cristal adequada e polarizações bem definidas. Em experimentos Raman em cristais é mais conveniente usar um sistema de eixos de referência vinculados aos eixos cristalinos. Neste caso, a nomenclatura utilizada envolve quatro símbolos, $a(bc)d$ em geral, onde a representa a direção de propagação da radiação incidente, b a orientação do campo elétrico da radiação incidente, c a orientação do campo elétrico da luz espalhada (por exemplo, a fixação do polarizador) e d a direção de propagação da luz espalhada. A informação mais significativa da notação é os dois símbolos entre parênteses, porque eles definem a componente do tensor que está sendo medida. Decorre da definição que a maior parte essencial da notação é a dois símbolos fechados, na mesa redonda entre parênteses, porque elas definem a componente do tensor que está sendo medida.

Referências

- 1 FARIA, J. L. B. et al. Raman spectra of L-histidine hydrochloride monohydrate crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 35, n. 3, p. 242–248, 2004.
- 2 MADDI, J. J.; EDWARD, L. M.; SEEMAN, N. C. The Crystal Structure of the Orthorhombic Form of L-(+)-Histidine. *Acta Crystallographica B*, B28, p. 2377 – 2382, 1972.
- 3 ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P.; PORTO, S. P. S. Normal mode determination in crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 10, n. 1, p. S253–S290, 1981.
- 4 MENEZES, A. S. *Difração Múltipla de Raios-X no estudo das propriedades estruturais da L-histidina hidrocloreídrica monohidratada*. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade de Campinas, Campinas, 2006.
- 5 RIETVELD, H. M. Line Profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. *Acta Crystallography*, v. 22, n. 1, p. 151–152, 1967.
- 6 WILES, D.; YOUNG, R. A. A new computer program for Rietveld analysis of x-ray powder diffraction patterns. *Journal of Applied Crystallography*, v. 14, n. 2, p. 149–151, 1981.
- 7 ODA, K.; KOYAMAN, H. A Refinement of the Crystal Structure of Histidine Hydrochloride Monohydrate. *Acta Crystallographica B*, B28, p. 639 – 642, 1972.
- 8 JAYARAMAN, A. Diamond Anvil Cell and High-Pressure Physical Investigations. *Reviews of Modern Physics*, v. 55, n. 1, p. 65–108, 1983.
- 9 FILHO, P. F. F. et al. High temperature raman spectra of l-leucine crystals. *Brazilian Journal of Physics*, v. 38, n. 1, p. 131–137, 2008.
- 10 ALMEIDA, F. M. et al. Raman spectra of L-isoleucine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 37, n. 11, p. 1296–1301, 2006.
- 11 LIMA, J. A. et al. Raman scattering of L-valine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 36, n. 11, p. 1076–1081, 2005.
- 12 RAJKUMAR, B. J. M.; RAMAKRISHNAN, V.; BAHADUR, S. A. Infrared and Raman Spectra of DL-Histidinium Dinitrate and L-Histidinium Sulphamate. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 30, n. 7, p. 589–594, 1999.
- 13 MORENO, A. J. D. et al. Low-temperature Raman spectra of monohydrated L-asparagine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 35, n. 3, p. 236–241, 2004.
- 14 FARIA, J. L. B. et al. Raman spectra of L-histidine hydrochloride monohydrate crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 35, p. 242–248, 2004.

- 15 LIMA, R. J. C. et al. High-pressure Raman study of taurine crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 32, p. 27–32, 2001.
- 16 WOLPERT, M.; HELLWIG, P. Infrared spectra and molar absorption coefficients of the 20 alpha amino acids in aqueous solutions in the spectral range from 1800 to 500 cm^{-1} . *Spectrochimica Acta Part A*, v. 64, n. 4, p. 987–1001, 2006.
- 17 DEPLAZES, E. et al. A combined theoretical and experimental study of the structure and vibrational absorption, vibrational circular dichroism, Raman and Raman optical activity spectra of the L -histidine zwitterion. *Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta)*, v. 119, n. 1–3, p. 155–176, 2008.
- 18 LIMA, J. A. et al. High-pressure Raman spectra of L-methionine crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 39, n. 10, p. 1356 – 1363, 2008.
- 19 BALKANSKI, M.; WALLIS, R.; HARO, E. Anharmonic effects in light scattering due to optical phonons in silicon. *Physical Review B*, v. 28, p. 1928 – 1934, 1983.
- 20 FILHO, P. F. F. et al. Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 40, n. 1, p. 46 – 51, 2009.
- 21 MORENO, A. J. D. *Estudos de Transições de Fase por Espectroscopia Raman em Monocristais de L-Asparagina Monohidratada*. Tese (Tese de Doutorado) — Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1996.
- 22 JR., J. A. L. *Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*. Tese (Tese de Doutorado) — Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- 23 CAO, X.; FISHER, G. Conformational and infrared spectral studies of L-methionine and its N-deuterated isotopomer as isolated zwitterions. *Journal of physical chemistry A*, v. 106, n. 1, p. 41–50, 2002.
- 24 SILVA, B. L. *Estudo por meio de espalhamento Raman de cristais de L-treonina com temperatura e pressão hidrostática*. Tese (Tese de Doutorado) — Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.
- 25 MORENO, A. J. D. et al. Pressure-Induced Phase Transitions in Monohydrated L-Asparagine Aminoacid Crystals. *Solid State Communications*, v. 103, n. 2, p. 655 – 658, 1997.
- 26 TEIXEIRA, A. M. R. et al. High-pressure Raman study of L-alanine crystal . *Solid State Communications*, v. 116, n. 7, p. 405 – 409, 2000.
- 27 BOLDYREVA, E. V. *Crystalline Amino Acids - A link between chemistry, materials science and biology in Models, Mysteries and Magic of Molecules*. [S.l.]: Springer Netherlands, 2007.
- 28 BOLDYREVA, E. V. et al. Effect of High Pressure on Crystalline Glycine: A New High-Pressure Polymorph. *Doklady Physical Chemistry*, v. 396, n. 1-3, p. 111 – 114, 2004.

- 29 GORYAINOVA, S. V.; BOLDYREVA, E. V.; KOLESNIKA, E. N. Raman observation of a new (ξ) polymorph of glycine? *Chemical Physics Letters*, v. 419, n. 4-6, p. 496 – 500, 2006.
- 30 MURLI, C. et al. α -Glycine under high pressures: a Raman scattering study. *Physica B*, v. 339, n. 1, p. 23 – 30, 2003.
- 31 MURLI, C.; VASANTHI, R.; SHARMA, S. M. Raman spectroscopic investigations of DL-serine and DL-valine under pressure. *Chemical Physics*, v. 331, n. 1, p. 77 – 84, 2006.
- 32 FREIRE, P. T. C. et al. The behavior of NH_3 torsional vibration of l-alanine, l-threonine and taurine crystals under high pressure: A Raman spectroscopic study. *Vibrational Spectroscopy*, v. 45, n. 2, p. 99 – 102, 2007.
- 33 FARIA, J. L. B. *Propriedades Vibracionais de cristais de L-arginina·HCl·H₂O e de L-histidina·HCl·H₂O por espectroscopias Raman e Brillouin e cálculos de primeiros princípios*. Tese (Tese de Doutorado) — Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.
- 34 BORDALLO, H. N. et al. Structure-Property Relationships in the Crystals of the Smallest Amino Acid: An Incoherent Inelastic Neutron Scattering Study of the Glycine Polymorphs. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 112, n. 29, p. 8748 – 8759, 2008.
- 35 GORYAINOV, S. V.; KOLESNIK, E. N.; BOLDYREVA, E. V. A reversible pressure-induced phase transition in β -glycine at 0.76 GPa. *Physica B: Condensed Matter*, v. 357, n. 3 - 4, p. 340 – 347, 2005.