

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

**ESTUDO DOS MODOS NORMAIS DE VIBRAÇÃO DE CRISTAIS
DE DL-LEUCINA POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN**

José Gláucio da Silva

Fortaleza - CE
Janeiro de 2011

José Gláucio da Silva

**ESTUDO DOS MODOS NORMAIS DE VIBRAÇÃO DE CRISTAIS
DE DL-LEUCINA POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN**

Dissertação apresentada à coordenação do Curso de
Pós - Graduação em Física da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Física.

Orientador:

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.

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

**Fortaleza - CE
Janeiro de 2011**

Dedicatória

Dedico este trabalho à Deus.

Agradecimentos

A Deus pela sua presença constante em minha vida, e por todas as realizações.

Ao professor Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, pela sua orientação dispensada em mim, sua imensa paciência, dedicação apoio e por acreditar no meu potencial. Não poderia deixar de externar a minha estima, gratidão e admiração.

A todos os professores do departamento de Física. Tive muita sorte, em ter tido excelentes professores no decorrer do curso.

Ao professor Dr. Josué Mendes Filho, pela preocupação que tem com todos os alunos do departamento de Física, sempre disposto a nos ajudar.

A todos os meus familiares pelo o apoio incondicional. A minha avó Francisca das chagas dos santos (in memoriam). A minha mãe que nunca mediu esforços para que eu tivesse uma educação de qualidade. Aos meus irmãos, José Eudes e Maria Neuda Paulino que me ensinaram o verdadeiro valor da vida.

A minha esposa e eterna companheira, pela sua compreensão, pelo seu amor, graças a sua presença foi mais fácil transpor os dias de desânimo e cansaço em toda essa jornada.

A todos os colegas com quem tive o prazer de compartilhar disciplinas e convivência acadêmica.

Aos meus amigos Marcelo Nunes e Bruno Tavares, pela sua ajuda e generosidade em muitos momento, em especial ao Bruno Tavares por ter me ajudado com o crescimento dos cristais, por ter me acompanhado toda parte experimental desse trabalho e pelos os momentos de discussões.

Aos funcionários da biblioteca da Física, as secretárias da Pós - Graduação, Rejane Coelho e Ana Cleide, pela paciência e forma gentil e aos demais funcionários do departamento de Física.

A todos aqueles, que deram uma parcela de contribuição nesse trabalho.

A secretaria de educação do estado do Ceará, em especial a Izolda Cela, que exerce com maestria a função de secretária de educação, e por acreditar que a educação se constrói com professores capacitados.

Finalmente, ao CNPq pelo o apoio financeiro.

“Os conceitos e princípios fundamentais da ciência são invenções livres do espírito humano.”

(Albert Einstein)

Resumo

Foram realizadas medidas de espalhamento Raman em cristais de DL-leucina à temperatura ambiente com o objetivo de classificar os modos normais de vibração, baseado no estudo de teoria de grupo, bem como a classificação dos modos normais de outros cristais de aminoácidos. Um estudo do comportamento dos modos normais da DL-leucina com a temperatura, entre 16 e 296 K, mostra que não ocorrem grandes mudanças nos espectros Raman. Isto significa que a estrutura do cristal é estável no intervalo de temperatura considerado, em analogia com que foi observado em outros cristais de aminoácidos como a L-alanina, a L-isoleucina, e a glicina; entretanto esta estabilidade é diferente no que foi observado no cristal de L-leucina, que apresenta mudança estrutural a baixa temperatura.

Abstract

Measures of Raman scattering were made on DL-leucine crystals at room temperature aiming to classify the normal vibration modes, based on group theory studies, as well as the classification of normal modes of other amino acid crystals. A study on the behavior of the DL-leucine normal modes with the temperature between 16 and 296K shows that there aren't considerable changes on the Raman specters. This means the crystal structure is stable at the considered temperature interval, similarly to what was observed on other amino acid crystals such as L-alanine, L-isoleucine and glycine; however this stability is different than what was observed on the L-leucine crystal, which shows structural change at low temperature.

Lista de Figuras

Figura 1.1. Esquema dos mecanismos de espalhamento Raman.....	2
Figura 1.2. Modos de vibração (Stretching) simétrico e assimétrico.....	3
Figura 1.3. Modos de vibração bending e suas ramificações , os símbolos (–) e (⊗) , representam os átomos para fora e dentro do plano, respectivamente.....	4
Figura 1.4. Estrutura de um (α)-aminoácido na forma de íon dipolar	7
Figura 1.5. Os dois enantiômeros de um aminoácido geral.....	14
Figura 2.1. Difusão a vapor, método utilizado para obtenção dos cristais da DL-leucina.....	16
Figura 2.2. Cristal da DL-leucina, obtido pelo método de difusão a vapor.....	16
Figura 2.3. Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retro-espalhamento.....	17
Figura 2.4. Esquema utilizado nas medidas de micro-Raman à temperatura ambiente.....	18
Figura 2.5. Criostato utilizado no experimento de baixa temperatura.....	18
Figura 2.6. Esquema do criostato utilizado nas medida de baixas temperaturas.....	19
Figura 3.1a . (a) Forma molecular da Leucina.....	20
Figura 3.1b. Pacote molecular da DL-leucina ortogonal ao plano ac [1].....	20
Figura 3.2. Evolução dos modos Raman da DL-leucina, a baixas temperaturas, variando desde a temperatura ambiente até 16 K.....	32
Figura 3.3. Evolução dos valores de número de onda, com a Temperatura para o cristal da DL-leucina entre 20 e 600 cm^{-1}	32
Figura 3.4. Evolução dos modos Raman da DL-leucina, a baixas temperaturas, variando desde a temperatura ambiente até 16 K.....	33
Figura 3.5. Evolução dos valores de número de onda, com a Temperatura para o cristal da DL-leucina entre 600 e 1100 cm^{-1}	34
Figura 3.6. Espectros Raman do cristal da DL-leucina no intervalo de 1100 e 1550 cm^{-1} para temperaturas entre 16 K e 296 K.....	35
Figura 3.7. Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 1100 e 1550 cm^{-1}	36

Figura 3.8. Espectros Raman do cristal da DL-leucina no intervalo de 1550 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} , para temperaturas entre 16 K e 296 K.....	37
Figura 3.9. Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 1550 e 1700 cm^{-1}	38
Figura 3.10. Espectros Raman do cristal da DL-leucina no intervalo de 2850 e 3000 cm^{-1} para temperaturas entre 16 K e 296 K.....	39
Figura 3.11. Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 2850 cm^{-1} e 3000 cm^{-1}	40

Lista de tabelas

Tabela 1.1. Os aminoácidos apolares na sua forma bidimensional e tridimensional.....	09
Tabela 1.2. Os aminoácidos polares e neutros na sua forma bidimensional e tridimensional.....	10
Tabela 1.3. Os aminoácidos ácidos na sua forma bidimensional e tridimensional.....	11
Tabela 1.4. Os aminoácidos básicos na sua forma bidimensional e tridimensional.....	12
Tabela 3.1. (a) Lista das coordenadas atômicas finais e fatores térmicos da DL-leucina [1].....	21
Tabela 3.1. (b) Parâmetros finais dos átomos de hidrogênio da DL-leucina[1].....	21
Tabela 3.1. (c) As distâncias e os ângulos ($^{\circ}$) de ligações (A°) [1].....	22
Tabela 3.2. Representação irreduzíveis para o grupo C_i	23
Tabela 3.3. Identificação dos modos normais de vibração da DL-leucina à temperatura ambiente..	27
Tabela 3.4. Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha T$) , para os modos Raman do cristal da DL-Leucina em função da temperatura. os valores das frequência (ω) são dados em cm^{-1} e dos coeficientes (α) em cm^{-1}/K	40

Sumário

Dedicatória.....	iii
Agradecimento.....	iv
Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	x
Sumario.....	xi
Introdução.....	xiii

1 Aspectos teóricos

1.1. Espectroscopia Vibracional.....	01
1.2. Aminoácidos.....	07
1.2.1. Aminoácidos apolares.....	08
1.2.2. Aminoácidos polares neutros.....	10
1.2.3. Aminoácidos ácidos.....	11
1.2.4. Aminoácidos básicos.....	12
1.2.5. Características Físicas dos aminoácidos.....	13

2 Procedimento Experimental

2.1 Crescimento do cristal da DL-leucina.....	15
2.2 Medidas de espalhamento Raman.....	17
2.3 Medidas de espalhamento Raman a baixas temperaturas da DL-leucina.....	18

3 DL-leucina a baixas temperaturas

3.1 Estrutura da DL-leucina.....	20
3.2 Teoria de grupo para DL-leucina.....	22
3.3 Espectros Raman da DL-leucina a temperatura ambiente.....	24
3.3.1 Região espectral entre 20 à 600 cm^{-1}	24
3.3.2 Região espectral entre 600 à 1100 cm^{-1}	25
3.3.3 Região espectral entre 1100 à 1560 cm^{-1}	26

3.3.4 Região espectral entre 2850 à 3000 cm^{-1}	27
3.4 Espalhamento Raman da DL-leucina a Baixas Temperaturas	
3.4.1 Região espectral entre 20 e 600 cm^{-1}	30
3.4.2 Região espectral entre 600 e 1100 cm^{-1}	33
3.4.3 Região espectral entre 1100 e 1550 cm^{-1}	35
3.4.4 Região espectral entre 1550 e 1700 cm^{-1}	36
3.4.5 Região espectral entre 2850 e 3000 cm^{-1}	38
4. Conclusão e perspectivas	43
Referências Bibliográficas.	44

Introdução

O trabalho pioneiro de Watson e Crick [1], que neste ano completa 58 anos de publicação, abriu um novo horizonte de aplicação de técnicas físicas no estudo e no entendimento de sistemas biológicos. De fato, o trabalho da Ref. [1] constituiu-se numa brilhante aplicação da difração de raios-X para se entender a topologia da molécula do ácido desoxirribonucléico, ou DNA.

Um outro aspecto importante complementar aquele dos ácidos DNA e RNA, diz respeito às proteínas e às suas unidades mais elementares, as moléculas de aminoácidos. De fato, de uma forma bem geral, as proteínas constituem-se numa sequência de cerca de 200 ou mais aminoácidos. Estes aminoácidos são interessantes porque, além de fazerem parte das proteínas, eles também podem ser cristalizados. Tal cristalização permite que possam ser inferidas diversas propriedades de interesse do material, incluindo-se aí o comportamento das moléculas relacionadas às ligações de hidrogênio. Isto porque quando os aminoácidos são empacotados numa estrutura cristalina o papel desempenhado pelas ligações de hidrogênio é o que definirá como as moléculas de aminoácidos se distribuirão na estrutura.

É claro que condições externas poderão induzir novas formas cristalinas, ou em outras palavras, dependendo das condições externas (pressão, temperatura) e às vezes das condições de crescimento (como no caso da L-isoleucina) para um mesmo cristal de aminoácido .

De fato, estas possibilidades de se encontrar novos polimorfos de cristais de aminoácidos têm sido exploradas através de diversas técnicas experimentais, incluindo-se a espectroscopia Raman, a difração de raios-X, as técnicas térmicas, entre outras. Neste sentido, para exemplificar com um caso, fez-se uma série de investigações no cristal de glicina. A forma α , descobriu-se, é estável até pressões de aproximadamente 23 GPa [2] e no que diz respeito ao comportamento do material com a temperatura, não foi verificada nenhuma mudança estrutural num amplo intervalo desse parâmetro termodinâmico. Isto é diferente do que acontece com a forma β da glicina, que sob condições de altas pressões sofre uma transição de base para pressões inferiores a 1 GPa [3]. A forma γ da glicina, sob altas pressões, sofre uma série de transições de fase [4, 5].

O aminoácido quiral mais simples é a alanina. A forma L-alanina é estável num largo intervalo de temperatura, mas sob altas pressões, ele tem um comportamento bem complexo conforme se descreve a seguir. Estudo realizado pelos autores das Refs. [6, 7] mostraram que a L-alanina sofre uma transição de fase em aproximadamente 2,2 GPa, passando de uma estrutura ortorrômbica para uma estrutura tetragonal, com possibilidade, em ~ 9 GPa, passar para uma estrutura monoclinica. Tais resultados não foram confirmados por estudos recentes realizados com difração de raios-X [8, 9], que indicam que a estrutura ortorrômbica D_2^4 original é estável até cerca de 7 GPa. Isto mostra o quão sutil podem ser as modificações observadas pelas diversas técnicas experimentais.

No que diz respeito ao cristal de DL-alanina, um estudo realizado recentemente mostrou que em pressões de até 18 GPa uma série de modificações é visível nos espectros Raman [7]. Tal comportamento sugere que um estudo sistemático dos cristais de aminoácidos, seja na forma L, ou seja na forma DL, é de relevância para se entender o comportamento destas incríveis estruturas cristalinas.

Nesta dissertação, em particular, o alvo é o cristal de DL-leucina, que será investigado por espectroscopia Raman variando-se a temperatura. A partir deste estudo será possível entender a existência de novas formas polimórficas induzidas pela variação de algum parâmetro termodinâmico, acrescentando-se conhecimento na área, e auxiliando a construção de um grande quadro representado pelas propriedades físicas dos cristais de aminoácidos.

1 Aspectos Teóricos

1.1 Espectroscopia Vibracional

A espectroscopia vibracional é o método utilizado para análise de elementos simples, da estrutura química de compostos inorgânicos, ou de grupos funcionais de uma substância orgânica utilizando fonte de energia. Quando excitamos uma substância com uma radiação eletromagnética, esta pode tanto emitir como absorver radiação em determinados comprimentos de onda, desta forma permitindo uma observação dos modos da substância a ser estudada [22]. Os resultados, nos mostra, dados sobre a estrutura da substância, por exemplo, a natureza química, comprimentos de ligações, os modos vibracionais da moléculas, níveis de energia, etc.

A espectroscopia Raman [29-31], destaca-se entre as técnicas usadas na investigação da estrutura da matéria. É sabido que as técnicas espectroscópica de uma maneira geral fornecem informações detalhadas sobre os níveis de energia da espécie em estudo, particularmente no caso da espectroscopia vibracional, a grande vantagem reside na maior riqueza de detalhes proporcionada pelos os níveis de energia do sistema em estudo.

A espectroscopia Raman é uma técnica que se emprega nos estudos da física da matéria condensada, em um amplo âmbito de aplicações como, em química, bioquímica, farmacologia, ciências biológicas e da saúde [31].

O fenômeno do espalhamento inelástico da luz pela matéria foi previsto e estudado teoricamente em 1922 por *Brillouin* e em 1923 por *A. Smekal*. Em 1928 foi observado experimentalmente pela primeira vez pelo Indiano *C.V Raman* e foi explicado utilizando-se a teoria corpuscular da luz. Em Julho do mesmo ano, os russos *Landsberg e Mandelstam* publicaram um artigo informando sobre a observação do fenômeno em cristais de quartzo [24]. Em meios gasosos esse efeito praticamente não é observado devido a rarefação das moléculas de gás, mas em meios líquido ou sólido é intenso o suficiente para ser observado em aparatos experimentais relativamente simples.

No espalhamento *Rayleigh* pelo esquema da figura 1.1, a molécula é excitada por fótons de uma radiação eletromagnética, que podem ser absorvidos por uma molécula, caso apresentem energia $\Delta E_i = h\nu_0$, correspondente a diferença entre o estado fundamental e um nível excitado da molécula. Após absorção, a molécula retorna ao estado fundamental de vibração emitindo a mesma quantidade de energia $\Delta E_v = h\nu_v$, este processo é denominado espalhamento elástico ou espalhamento *Rayleigh*. Em outros casos o espalhamento ocorre com o deslocamento da frequência, originando um espalhamento inelástico entre a molécula e os fótons, através da perda ou ganho de energia com excitação dos modos vibracionais da molécula, sendo esse fenômeno conhecido como efeito Raman.

No processo de espalhamento Raman Stokes, conforme a figura 1.1, o fóton de energia $\Delta E_i = h\nu_0$, encontra a molécula no estado vibracional fundamental e leva o sistema a um estado intermediário com energia $h\nu_0$, em seguida a molécula retorna para o primeiro estado vibracional excitado e emite a diferença de energia como um fóton de menor energia $-h(\nu_0 - \nu_v)$. A radiação de baixa energia (maior comprimento de onda) é chamado de espalhamento Stokes. No terceiro esquema, espalhamento anti-Stokes, a molécula está situado no primeiro nível vibratório excitado, absorve um fóton com energia $\Delta E_i = h\nu_0$, após a interação o fóton é espalhado com energia $-h(\nu_0 + \nu_v)$, nesse tipo de espalhamento resulta numa radiação de alta energia (menor comprimento de onda).

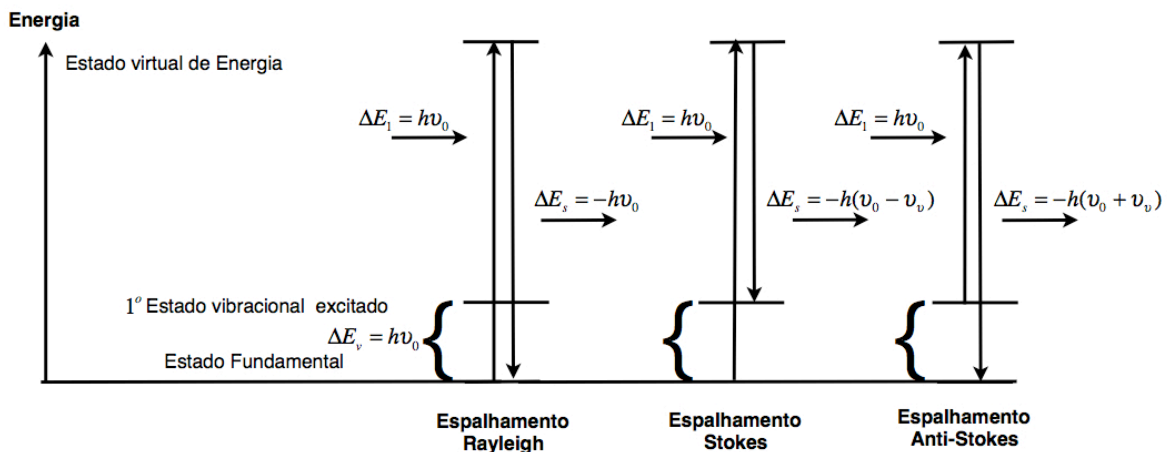


Figura 1.1: Esquema dos mecanismos de espalhamento Raman

Os átomos numa molécula vibram, afastando-se e aproximando-se uns dos outros. Esse tipo de vibração é conhecido como deformação axial ou estiramento. Moléculas com mais de dois átomos, podem vibrar mudando o ângulo de ligação entre os átomos [25,26]. As vibrações moleculares podem ser classificadas em simétricas ou assimétricas e ainda, no caso da deformação angular, no plano ou fora do plano [27], Conforme discussão a seguir.

De um forma geral os modos normais podem ser divididos nas seguintes classificações:

(i) *Stretching* (estiramento): são caracterizado, como movimento, vibracionais periódicos de estiramento e relaxamento de átomo numa molécula, figura 1.2. Neste é possível fazer uma sub-divisão:

1.Modos simétrico: Os átomos simétricos extremos, movimentam-se para fora e para dentro da molécula, estando ambos em fase.

2.Modos assimétrico: Movimenta-se alternadamente para dentro e para fora no plano da molécula.

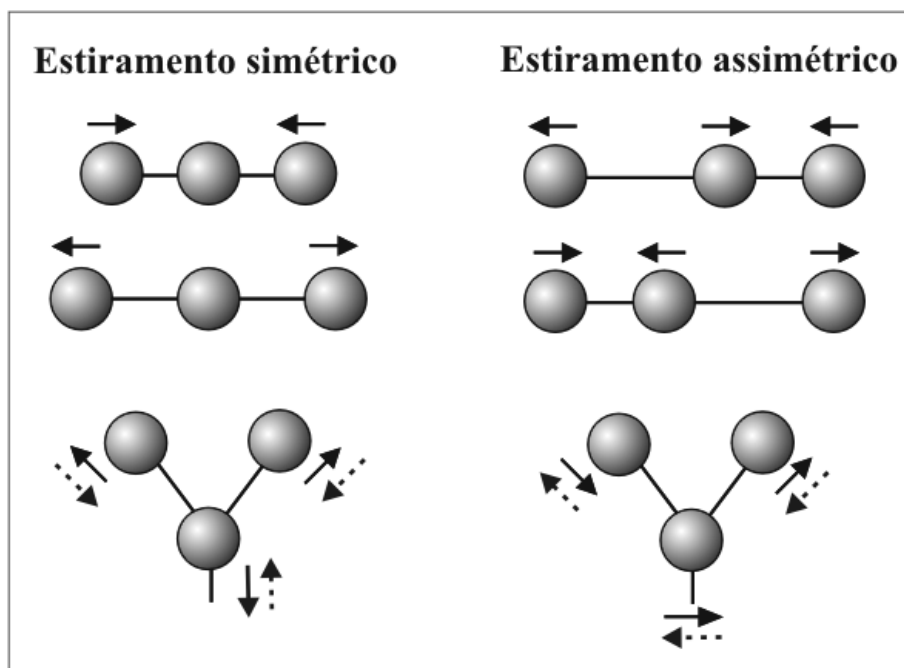


Figura 1.2: Modos de vibração (*Stretching*) simétrico e assimétrico.

(ii) *Bending* (dobramento): São movimentos vibracionais e sua direção é perpendicular a ligação dos átomos da molécula. Neste tipo de movimento são identificados quatro tipos de possibilidades, ver figura 1.3:

1. *Scissoring* (corte): Caracteriza-se como um movimento dos átomos na direção da mudança do ângulo, porém mantendo-se no mesmo plano;
2. *Wagging* (balanço): Define o movimento dos átomos para cima e para baixo do plano, sem que haja mudança de ângulo.
3. *Twisting* (torção): Movimento análogo ao *Wagging*, no entanto neste caso existe diferença de fase dos átomos em movimento.
4. *Rocking* (oscilação): Os átomos extremos oscilam em fase no mesmo plano. No caso de cristais de aminoácidos, na maioria das vezes, a vibração do tipo rocking do grupo carboxílico, produz bandas ativas com grandes intensidade.

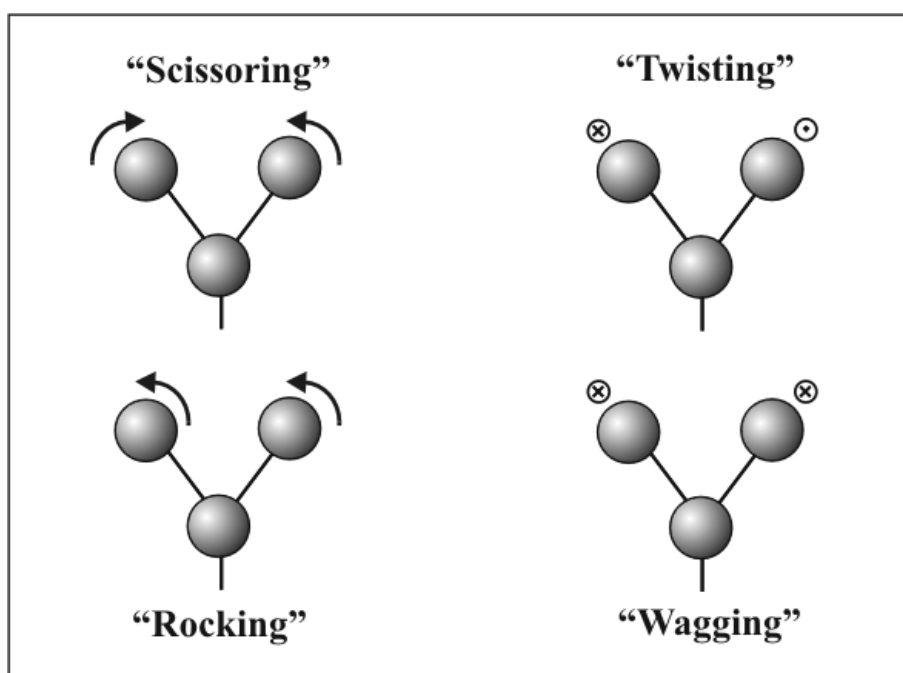


Figura 1.3: Modos de vibração bending e suas ramificações, os símbolos $(-)$ e $(\otimes)$, representam os átomos para fora e dentro do plano, respectivamente

É interessante notar que, as moléculas diatômicas homo nucleares, não apresentam absorção no infravermelho, devido ao fato de que não há variação no seus momentos dipolares.

No entanto, elas apresentam atividades Raman pelo fato de que a excitação incidente de luz monocromática perturba o sistema, fazendo variar a polarizabilidade da molécula (isto é, interage com a densidade eletrônica), criando o momento dipolar induzido [28].

O efeito Raman está associado a indução do momento de dipolo na molécula pelo campo elétrico da radiação incidente de excitação em uma determinada amostra.

De acordo com a teoria clássica [14], podemos representar o momento de dipolo induzido através da equação [2.1].

$$\vec{P} = \alpha \cdot \vec{E} \quad [2.1]$$

$(\vec{P})$ é Vetor do momento de dipolo induzido na molécula.

(α) é Polarizabilidade da molécula, ou seja, capacidade de separar as cargas dentro da molécula.

$(\vec{E})$ é Vetor campo elétrico da radiação incidente de excitação.

A polarizabilidade da molécula pode ainda ser expandida em uma série de potência das coordenadas internas (q), representada pela equação [2.2].

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q + \dots \quad [2.2]$$

Supondo que :

$$\vec{E} = E_0 \cdot \cos(2\pi\nu_v) \quad [2.3]$$

$$q = q_0 \cdot \cos(2\pi\nu_v) \quad [2.4]$$

Onde ν_v e ν_0 , representam respectivamente, a frequência vibracional e frequência da radiação incidente, logo o momento de dipolo induzido pode ser encontrado como apresentado na equação [2.5].

$$\vec{P} = \alpha_0 \cdot E_0 \cdot \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q_0 \cdot E_0 \cdot \cos(2\pi\nu_0 t) \cdot (2\pi\nu_v t) + \dots \quad [2.5]$$

Desprezando os termos de ordem superior para pequenas vibrações, e aplicando uma identidade trigonométrica, encontramos a equação [2.6] .

$$\vec{P} = \alpha_0 \cdot E_0 \cdot \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q_0 \cdot E_0 \cdot \{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_v)t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] \} \quad [2.6]$$

Verificamos que o momento de dipolo induzido são, ν_0 , $(\nu_0 + \nu_v)$ e $(\nu_0 - \nu_v)$, o que correspondem as frequências do espalhamento *Rayleigh*, *Stokes* e *anti-Stokes*, respectivamente. Podemos verificar na equação [2.5], quando α não muda, $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) = 0$, concluído que o segundo termo é nulo, não havendo espalhamento *Raman Stokes* e *Anti-Stokes*.

1.2 Aminoácidos

Os aminoácidos apresentam uma estrutura geral que consiste num grupo primário ($-\text{NH}_2$), um grupo carboxílico ($-\text{COOH}$), um átomo de hidrogênio e uma cadeia lateral R, de dimensão e características variáveis, ligados a um carbono saturado (C_α) como podemos ver na Figura 1.4. Podem ser encontrados 20 diferentes aminoácidos em proteínas.

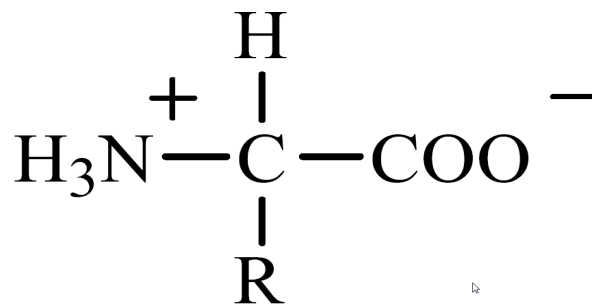


Figura 1.4. Estrutura de um (α)-aminoácido na forma de íon dipolar

Os α -aminoácidos com um único grupo amino e um único grupo carboxila, ocorrem em pH neutro na forma de íons dipolares (“zwitterions”) eletricamente neutros. O grupo α -amino está protonado (íon amônio, $-\text{NH}_3^+$) e o grupo α -carboxílico está dissociado (íon carboxilato, $-\text{COO}^-$)

Eles também servem de precursores para muitos tipos de moléculas pequenas que têm diversos papéis biológicos. A histamina, por exemplo, é derivada, por descarboxilação, da histidina. A tirosina é precursor dos hormônios tiroxina e epinefrina e da melanina. A glutatona, cuja função é proteger os globos vermelhos de danos oxidativos, é derivada de um aminoácido muito especial, o glutamato. Já a biossíntese do óxido nítrico, molécula sinalizadora de curta duração, é iniciada a partir da arginina. O envolvimento de um aminoácido na síntese dos anéis de porfirina de hemoglobina e clorofilas também são de enorme importância. O hemo é sintetizado a partir da glicina e do acetato. Muitas moléculas derivadas dos aminoácidos são essenciais para os sistemas biológicos.

Os aminoácidos apresentam em sua molécula o grupo carboxila (que lhes dá característica ácida) e o grupo amino (que lhes dá característica básica). Desse modo, quando em solução, ocorre interação intramolecular [10], originando um sal interno. Essa interação é comprovada pelo fato de os aminoácidos serem solúveis em água, insolúveis em solventes orgânicos e terem ponto de fusão e ponto de ebulição alto (características dos sais), e explica o caráter anfótero dos aminoácidos, ou seja, eles reagem tanto em ácidos quanto em bases, produzindo sais.

Na natureza existem centenas de aminoácidos, Além de participarem na formação das proteínas e enzimas, os aminoácidos, também participam de uma ampla variedade de reações químicas nos organismos vivos, sendo fundamentais no processo de formação muscular [11,12]. Mas só 20 são metabolizados pelo organismo humano: oito são chamados essenciais e 12 produzidos no organismo são chamados não-essenciais. Os oito aminoácidos essenciais são: leucina, isoleucina, valina, triptofano, metionina, fenilalanina, treonina e lisina (a histidina é um aminoácido essencial na infância). Os 12 não essenciais são: alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, cisteína, glicina, glutamina, hidroxiprolina, prolina, serina e tirosina.

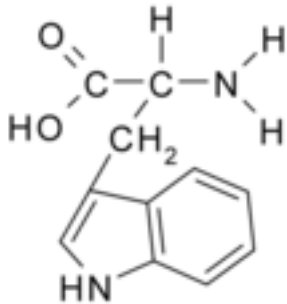
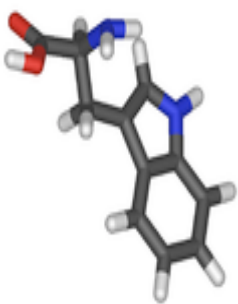
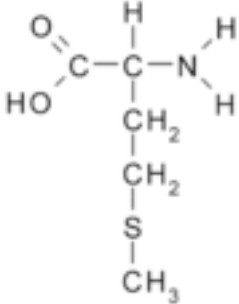
Entre os aminoácidos essenciais, existem três-leucina, isoleucina e valina que apresentam estrutura em forma de cadeia ramificada e por isso são denominados aminoácidos de cadeia ramificada ou BCAAs (*branched chain aminoacids*). Quanto a cadeia lateral os aminoácidos podem ser classificados como: Apolares, polares neutros, ácidos e básicos. A seguir fazemos a classificação dos mesmos.

1.2.1. Aminoácidos apolares

Os aminoácidos apolares, apresentam grupos químicos de hidrocarbonetos apolares ou hidrocarbonetos modificados, exceto a glicina (que possui um átomo de hidrogênio como cadeia lateral). São hidrófobos. A Tabela 1.1 mostra os aminoácidos apolares.

Tabela 1.1: Os aminoácidos apolares na sua forma bidimensional e tridimensional

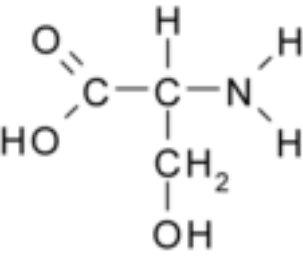
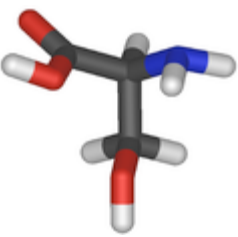
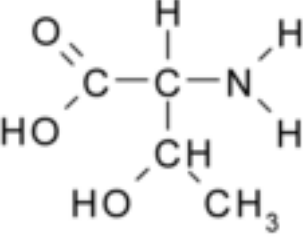
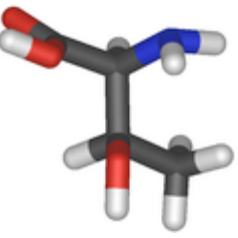
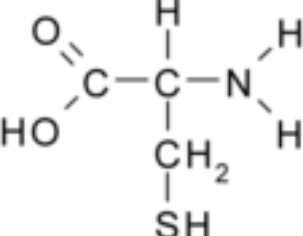
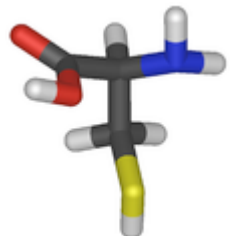
Aminoácidos	Formula	Estrutura bidimensional	Estrutura tridimensional	Sigla
Glicina	$\text{H-CH (NH}_2\text{) - COOH}$			Gly / G
Alanina	$\text{CH}_3\text{-CH (NH}_2\text{) - COOH}$			Ala / A
Leucina	$\text{CH}_3(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH (NH}_2\text{)-COOH}$			Leu / L
Valina:	$\text{CH}_3\text{-CH (CH}_3\text{)-CH (NH}_2\text{)-COOH}$			Val / V
Isoleucina	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH (CH}_3\text{)-CH (NH}_2\text{)-COOH}$			Ile / I
Prolina	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ligando o grupo amino ao carbono alfa			Pro / P
Fenilalanina	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH (NH}_2\text{)-COOH}$			Phe / F

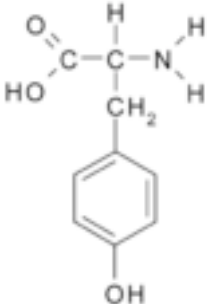
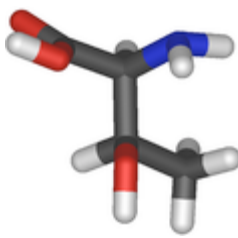
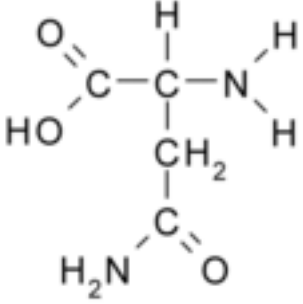
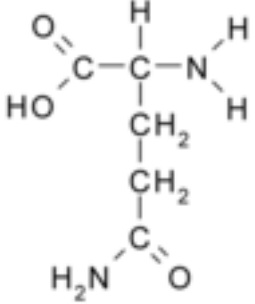
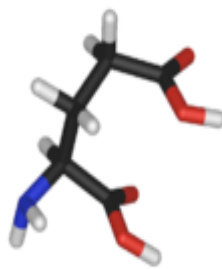
Triptofano	R aromático- CH (NH ₂)- COOH			Trp / W
Metionina	CH₃-S-CH₂- CH₂-CH (NH ₂)-COOH			Met / M

1.2.2. Aminoácidos polares neutros

Apresentam grupos químicos que tendem a formar ligações de hidrogênio. De acordo com a tabela 1.2.

Tabela 1.2: Os aminoácidos polares e neutros na sua forma bidimensional e tridimensional

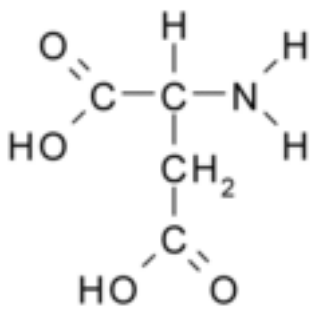
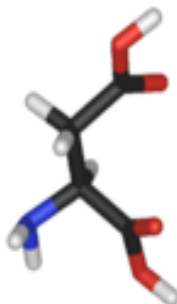
Aminoácidos	Formula	Estrutura bidimensional	Estrutura tridimensional	Sigla
Serina	OH-CH₂-CH (NH ₂)-COOH			Ser / S
Treonina	OH-CH (CH₃)-CH (NH ₂)-COOH			Thr / T
Cisteína	SH-CH₂-CH (NH ₂)-COOH			Cys / C

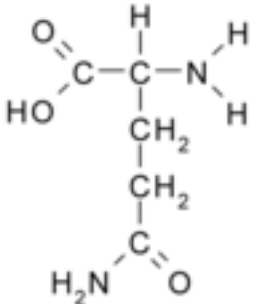
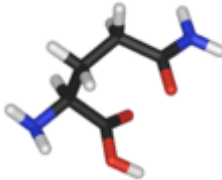
Tirosina	$\text{OH-C}_6\text{H}_4\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Tyr / Y
Asparagina	$\text{NH}_2\text{-CO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Asn / N
Glutamina	$\text{NH}_2\text{-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Gln / Q

1.2.3. Aminoácidos ácidos

Apresentam grupos carboxilato. São hidrófilos, Tabela 1.3.

Tabela 1.3: Os aminoácidos ácidos na sua forma bidimensional e tridimensional.

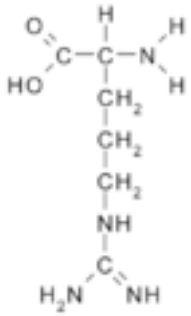
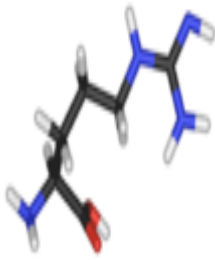
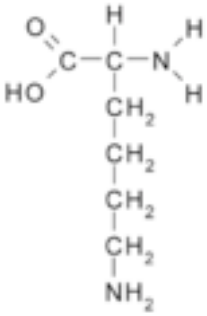
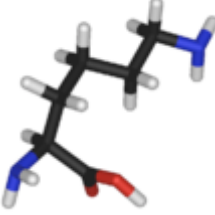
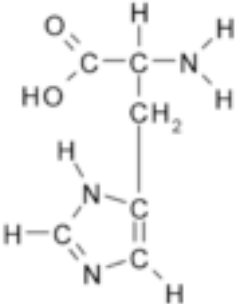
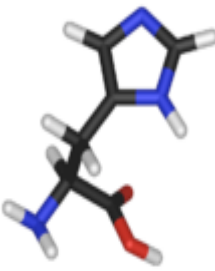
Aminoácidos	Formula	Estrutura bidimensional	Estrutura tridimensional	Sigla
Ácido aspártico	$\text{HCOO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Asp / D

Ácido glutâmico	$\text{HCOO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Glu / E
-----------------	--	---	--	---------

1.2.4. Aminoácidos básicos

Apresentam grupos amino. São hidrófilos. Os três aminoácidos básicos são apresentados na Tabela 1.4

Tabela 1.4: Os aminoácidos básicos na sua forma bidimensional e tridimensional

Aminoácidos	Formula	Estrutura bidimensional	Estrutura tridimensional	Sigla
Arginina	$\text{HN=C(NH}_2\text{)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Arg / R
Lisina	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			Lys / K
Histidina	$\text{H-(C}_3\text{H}_2\text{N}_2\text{)-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$			His / H

Uma descrição exaustiva das propriedades de aminoácidos pode ser encontrada em Amino Acid Repository, mantido por Image Library of Biological Macromolecules, Universidade de Jena, entre outras fontes.

1.2.5. Características Físicas dos aminoácidos

Com relação aos aminoácidos, podemos dizer que são todos compostos sólidos incolores, sendo a maioria de sabor adocicado, alguns insípidos e outros amargos. A maioria é solúvel em água, entretanto apresentam, solubilidade variável.

Analisando as fórmulas estruturais, percebemos que os aminoácidos, com exceção da glicina, apresentam carbono assimétrico; assim, esses compostos apresentam atividade óptica, aparecendo nos organismos vivos, quase sempre na forma levógira

Um aminoácido pode ser levógiro (mão esquerda) ou dextrógiro (mão direita) . Essas duas formas são idênticas quanto a os seus átomos, mas opostas em seu arranjo tridimensional, embora as duas configurações dos aminoácidos (D e L) sejam do ponto de vista energético igualmente favorável. De acordo com a hipótese de Abdus Salam, prêmio Nobel, em baixa temperatura deve haver uma transição de fase da forma D para L [13], o que tornaria o aminoácido na forma L predominante na natureza. Na Figura 1.5, podem-se ver as formas L (esquerda na figura) e D (direita na figura) de um aminoácido geral na forma zwitterion, onde o grupo carboxílico perde um hidrogênio para um grupo amina que se torna amônia [14].

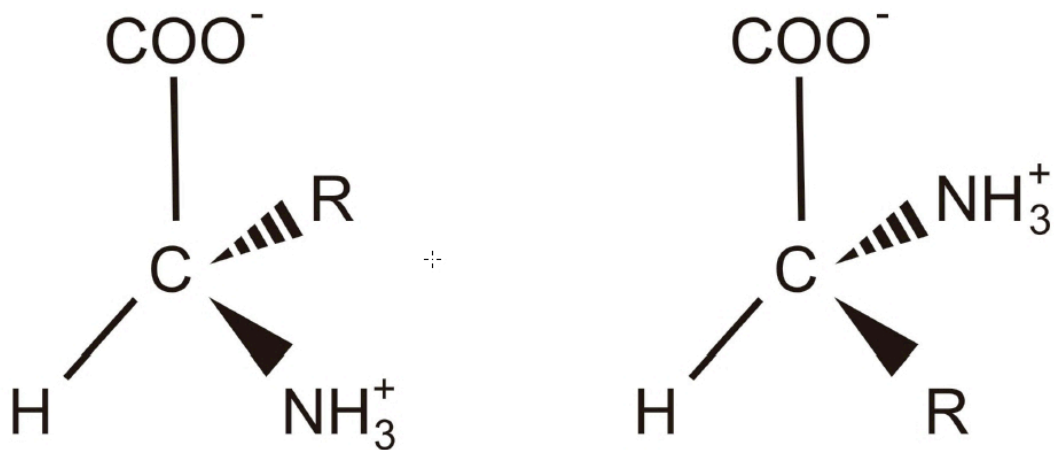


Figura 1.5. Os dois enantiômeros de um aminoácido geral

Isômeros óticos são possíveis sempre que a estrutura molecular é assimétrica. Os exemplos mais comuns em química são aqueles em que um carbono tetraédrico se une a quatro grupos diferentes. A elas damos o nome de enantiômeros, ou mais simplesmente, de isômeros óticos.

Com exceção da glicina, todos os aminoácidos são opticamente ativos, desviam o plano da luz polarizada, uma vez que o átomo de carbono α de tais moléculas é um centro quiral. Isto implica que os aminoácidos com átomos quirais podem existir como estereoisômeros, moléculas que diferem somente no arranjo espacial dos átomos.

Nenhuma forma de vida conhecida pode usar uma combinação de ambos, os tipos de estereoisômeros. Adicionar sequer um aminoácido de mão direita a uma cadeia de “mão esquerda” pode destruir toda a cadeia. Quando aminoácidos são sintetizados em laboratório, há sempre uma mistura de 50% das duas formas. Apenas através de processos altamente avançados e inteligentemente controlados é possível separar as duas formas.

Os α -aminoácidos que constituem as proteínas têm a configuração estereoquímica L. Por convenção, na forma L, o grupo $\alpha - NH_3^+$, está projetado para a esquerda, enquanto na forma D, está direcionado para a direita. Os D-aminoácidos são encontrados em alguns antibióticos: valinomicina e actinomicina D; e em paredes de algumas bactérias: peptidoglicano.

Hoje tornou-se corriqueiro o estudo e a caracterização da estrutura cristalina de um aminoácidos, sendo empregadas diversas técnicas experimentais, tais como, espectroscopia Raman [18,19,20], Difração de Raios-X [15,16], absorção do infravermelho [17], difração de nêutrons [16,21].

2 Procedimento Experimental

2.1 Crescimento do cristal da DL-leucina

Os cristais da DL-leucina, foram obtidos pelo método de difusão a vapor, onde certa quantidade de reagente P.A, foi dissolvida em uma determinada quantidade de água destilada. Em seguida foi colocada no agitador-aquecedor magnético, no intuito de promover uma mistura mais homogênea possível, baseando-se na curva de solubilidade da DL-leucina. Depois a solução foi posta no béquer, tampado com plástico de PVC, onde foram feitos pequenos furos, para que ocorresse a evaporação com maior facilidade, propiciando o crescimento de cristais de boa qualidade. Em seguida o béquer com a solução foi colocado em outro maior, com uma solução de álcool, tampado com plástico de PVC sem furos, de modo que o béquer menor, flutuasse dentro da solução de álcool, conforme a figura 2.1.



Figura 2.1: Difusão a vapor, método utilizado para obtenção dos cristais da DL-leucina.

A solução foi deixada a temperatura de 278 K; após 12 dias formaram-se os primeiros cristais. A figura 2.2 mostra os cristais obtidos por esse método. Eram bastantes delgados, comparáveis à lâminas bastante finas. Com relação aos eixos utilizamos a seguinte convenção, o eixo z foi definido como aquele perpendicular ao plano do cristal, x perpendicular ao eixo y e z e o eixo y, coincidente com a maior dimensão do cristal.



Figura 2.2: Cristal da DL-leucina, obtido pelo método de difusão a vapor.

2.2 Medidas de espalhamento Raman

As medidas de espalhamento Raman foram realizadas, no Laboratório de Espectroscopia Raman da Universidade Federal do Ceará, para isso utilizou-se o sistema de espectroscopia micro Raman, usando geometria de retro espalhamento (figura 2.3) , num espectrofotômetro, T64000 da Jobin Yvon, acoplado à um detector CCD (*Coupled Charge Device*), resfriado a nitrogênio líquido.

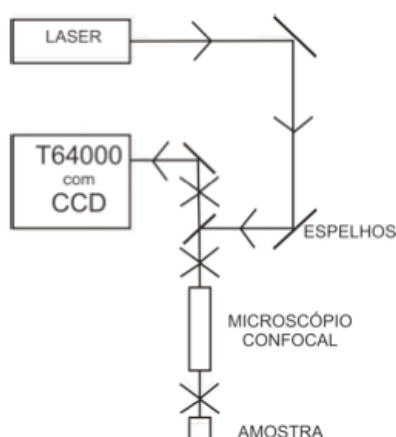


Figura 2.3: Diagrama esquemático da montagem do experimento de espalhamento Raman na geometria de retro-espalhamento.

Para excitação das amostras, usamos um laser de argônio com a potência de 200mW, operando no comprimento de onda de 532 nm. Utilizamos ainda uma câmera de vídeo acoplada ao monitor e a um microscópio da marca olympus BX 40 (figura 2.4), com uma lente objetiva plano cromática com distância focal de 40 mm e abertura numérica 0,35. O microscópio tinha como objetivo focalizar o feixe do laser sobre a superfície da amostra com precisão.

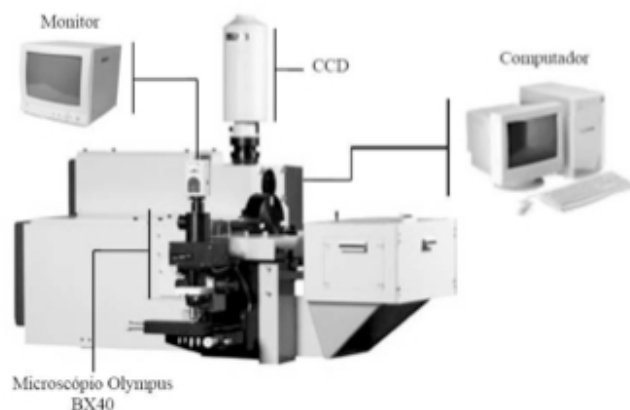


Figura 2.4 Esquema utilizado nas medidas de micro-Raman à temperatura ambiente.

2.3 Medidas de espalhamento Raman a baixas temperaturas da DL-leucina.

Para a realização do experimento a baixas temperaturas, foram utilizadas equipamentos de espectroscopia Raman, já descritos e um criostato (figura 2.5), modelo DE202S da *Air Products and Chemicals Inc.*, num intervalo de temperatura entre 17K a 297K.

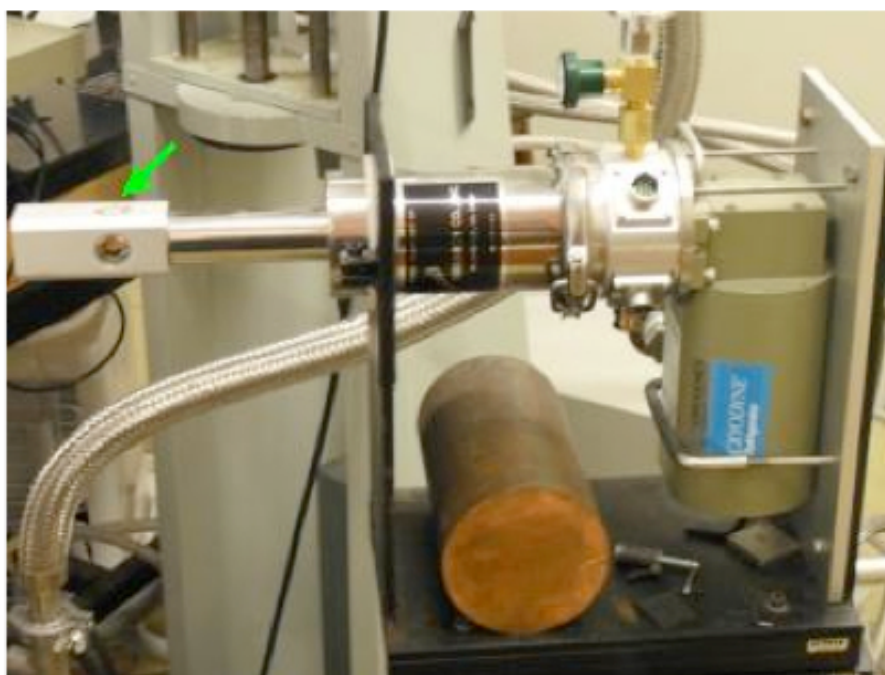


Figura 2.5: Criostato utilizado no experimento de baixa temperatura.

O criostato é constituído de um compressor, um refrigerador, um sistema de gás hélio, que bombeia o gás para a ponta do dedo e um sistema de ultra vácuo (figura 2.6). O controle de temperatura é feito por um controlador de temperatura Lakeshore modelo 330.

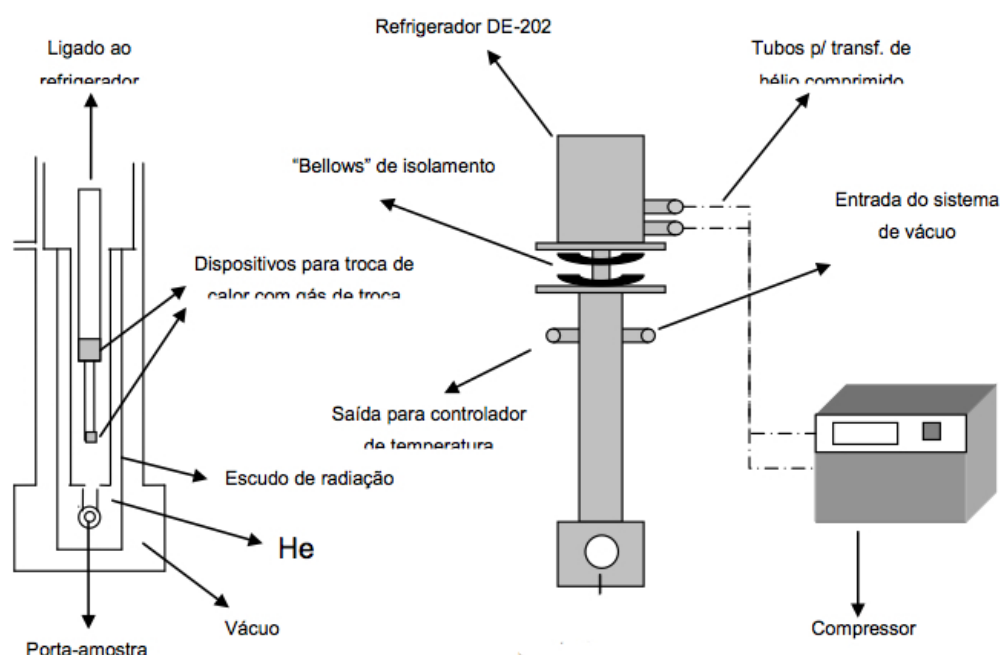


Figura 2.6: Esquema do criostato utilizado nas medidas de baixas temperaturas

3 DL-leucina a baixas temperaturas

Neste capítulo apresenta-se inicialmente um estudo dos modos normais de vibração da DL-leucina, como inferido pela espectroscopia Raman, fazendo-se uma classificação tentativa de todas as bandas visíveis no espectro. Numa segunda etapa, discute-se o comportamento dos espectros Raman deste mesmo material, agora procurando-se entender o que acontece com ele a baixas temperaturas.

3.1 Estrutura da DL-leucina

A DL-leucina ($C_6H_{13}NO_2$) à temperatura ambiente possui densidade $1.293 g/cm^3$ e apresenta uma estrutura triclinica, com duas moléculas por célula unitária. O cristal da DL-leucina pertence ao grupo C_i . As dimensões da célula unitária da DL-leucina são: $a = 14.12 \text{ \AA}$, $b = 5.39 \text{ \AA}$, $c = 5.19 \text{ \AA}$, $\alpha = 111.1^\circ$, $\beta = 97.0^\circ$ e $\gamma = 86.4^\circ$. Nas Figuras 3.1 (a) e (b), temos a forma molecular da leucina e o pacote molecular da DL-leucina ortogonal ao plano ac [32].

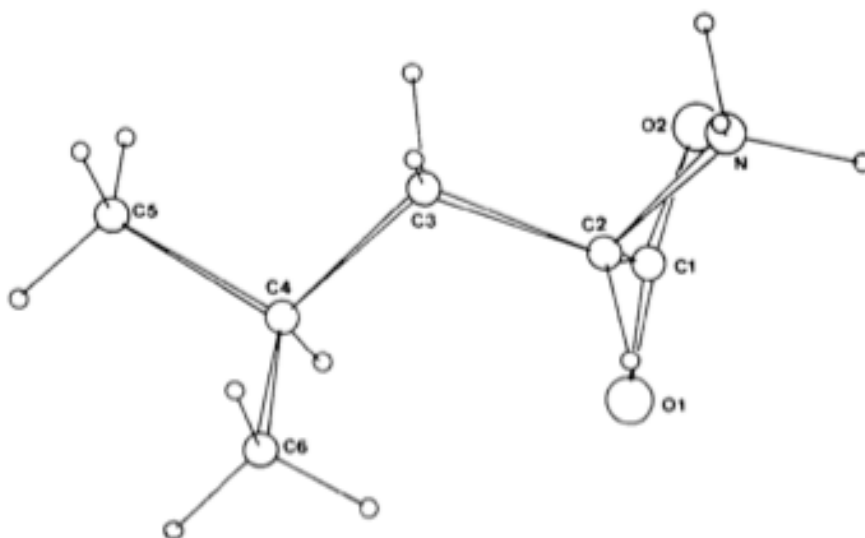


Figura 3.1: (a) Forma molecular da Leucina

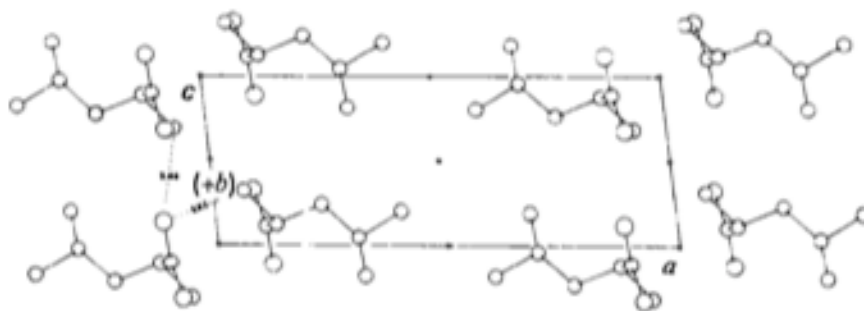


Figura 3.1: (b) Pacote molecular da DL-leucina ortogonal ao plano ac.

Nas tabelas 3.1 (a), (b) e (c) apresentam-se listas das coordenadas atômicas finais e fatores térmicos, os parâmetros finais dos átomos de hidrogênio e as distâncias e os ângulos ligações [32, 33].

Tabela 3.1: (a) Lista das coordenadas atômicas finais e fatores térmicos da DL-leucina .

	x	y	z	B	Bonded to
H (1)	-1157 (17)	543 (51)	8464 (50)	0·16 (47)	C (2)
H (2)	-749 (21)	-3153 (62)	9487 (61)	1·68 (60)	N
H (3)	-86 (20)	-2696 (57)	7401 (55)	1·81 (53)	N
H (4)	-899 (23)	-4936 (68)	6626 (66)	2·04 (68)	N
H (5)	-2503 (23)	-4201 (66)	5873 (64)	2·31 (64)	C (3)
H (6)	-2459 (23)	-2818 (65)	9109 (66)	1·41 (66)	C (3)
H (7)	-2865 (24)	454 (69)	6123 (69)	3·41 (74)	C (4)
H (8)	-4600 (39)	-671 (113)	6996 (113)	6·95 (1·42)	C (5)
H (9)	-4303 (36)	-2994 (113)	8727 (110)	7·33 (1·38)	C (5)
H (10)	-4109 (45)	-3191 (138)	5273 (138)	5·66 (1·90)	C (5)
H (11)	-3575 (30)	3163 (90)	156 (78)	4·93 (1·06)	C (6)
H (12)	-2543 (35)	2773 (101)	730 (105)	7·84 (1·27)	C (6)
H (13)	-3353 (32)	933 (91)	1755 (93)	4·55 (1·04)	C (6)

Tabela 3.1: (b) Parâmetros finais dos átomos de hidrogênio da DL-leucina[1].

	x	y	z	B11	B22	B33	B12	B13	B33
O(1)	-1128 (1)	1154 (3)	4147 (3)	5085 (90)	2489 (69)	2860 (73)	143 (61)	370 (62)	1159 (57)
O(2)	-871 (2)	-3291 (4)	2673 (3)	6360 (107)	3041 (76)	2027 (67)	1100 (71)	777 (64)	911 (59)
N	-710 (2)	-3179 (4)	7663 (4)	4043 (94)	2690 (81)	2028 (74)	470 (68)	443 (64)	908 (64)
C(1)	-1081 (2)	-1089 (5)	4448 (4)	3303 (96)	2453 (90)	2156 (86)	-62 (74)	92 (71)	737 (73)
C(2)	-1324 (2)	-1257 (5)	7203 (4)	3941 (108)	2325 (89)	1998 (85)	313 (76)	393 (73)	608 (72)
C(3)	-2368 (2)	-2379 (6)	7416 (5)	4139 (118)	3196 (107)	3220 (107)	-114 (88)	805 (87)	1002 (88)
C(4)	-3091 (2)	-391 (7)	7518 (6)	4126 (128)	5653 (158)	4121 (133)	857 (115)	768 (102)	2071 (121)
C(5)	-4082 (3)	-2013 (12)	6827 (11)	4186 (169)	10144 (323)	8378 (279)	812 (182)	-568 (168)	278 (230)
C(6)	-3126 (3)	1902 (8)	236 (8)	5646 (171)	4752 (167)	6420 (201)	1306 (136)	1185 (142)	704 (146)

Tabela 3.1: (c) As distancias e os ângulos (A°) de ligações($^\circ$)

O(1)-C(1)	1.241 (3)	O(1)-C(1)-O(2)	125.8 (1)	C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	71.3
O(2)-C(1)	1.253 (3)	O(1)-C(1)-O(2)	118.2 (1)	N-C(2)-C(3)-C(4)	169.0
C(1)-C(2)	1.533 (4)	O(2)-C(1)-O(2)	115.9 (1)	O(1)-C(1)-C(2)-N	145.9
C(2)-N	1.491 (3)	C(1)-C(2)-N	108.9 (1)	O(1)-C(1)-C(2)-C(3)	94.8
C(2)-C(3)	1.530 (4)	N-C(2)-C(3)	108.1 (1)	C(2)-C(1)-C(2)-C(3)	83.6
C(3)-C(4)	1.522 (4)	C(2)-C(3)-C(4)	114.9 (1)	C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	162.9
C(4)-C(5)	1.536 (6)	C(3)-C(4)-C(6)	111.6 (1)	C(2)-C(3)-C(4)-C(6)	75.8
C(4)-C(6)	1.522 (6)	C(3)-C(4)-C(5)	109.6 (1)		
		C(6)-C(4)-C(5)	110.1 (1)		
		C(1)-C(2)-C(3)	11.5 (1)		

* trans = 180°

3.2 Teoria de grupo para DL-leucina

Os átomos ocupam sítios de simetria C_1 , na posição i, de acordo com a tabela 8A [34].

$$C_i^1(P_1) = [iC_1(2)] + (h + g + f + e + d + c + b + a)C_i(1)$$

onde C_i^1 é representação do grupo espacial do cristal de DL-leucina.

A DL-leucina, $(C_6H_{13}NO_2)$ possui 22 átomos por moléculas, sendo 44 átomos por célula, que multiplicando pelos graus de liberdade da moléculas, fornece 132 modos normais de vibração.

De acordo com a tabela 3.2, para a representação irredutível do grupo fator C_1 , temos duas representações irredutíveis. Os modos normais com simetrias A_u e A_g são ativos no infravermelho e no Raman, respectivamente. A distribuição dos modos em termos de representação irredutível do grupo é dado pela tabela 6B da Ref.[34].

Tabela 3.2: Representações irreduzíveis para o grupo fator C_1

C_i	E	i	Função linear; Rotação	Função quadrática
A_g	1	1	R_x, R_y e R_z	x^2, y^2, z^2 xy, xz, yz
A_u	1	-1	T_x, T_y e T_z	

$$\Gamma_{total} = 66(A_u + A_g)$$

Neste caso estamos considerando os modos ópticos e acústicos, na tabela 2B [34], os modos acústicos são dados por:

$$\Gamma_{acústico} = 3A_u$$

Subtraindo os modos acústicos da distribuição total temos:

$$\Gamma_{optico} = 63A_u + 66A_g$$

Do total de modos ópticos acima 21 são modos externos da rede cristalina (translacionais + libracionais).

$$\Gamma_{optico_{externo}} = 10A_u + 11A_g$$

Portanto, temos um total de 129 modos ópticos, sendo 108 associados às vibrações internas e 21 externos da rede cristalina.

3.3 Espectros Raman da DL-leucina a temperatura ambiente.

A identificação dos modos normais pode ser feita de várias formas. A classificação das bandas a seguir foi feita por comparação com outros cristais de aminoácidos. Modos relacionados às unidades CO_2 , CH_3 e NH_3 presentes na estrutura cristalina da DL-leucina e em outros aminoácidos, são relativamente fáceis de se reconhecer devido à forte regularidade de comportamento que tais grupos funcionais apresentam nas diversas substâncias

3.3.1 Região espectral entre 20 à 600 cm^{-1}

Na região abaixo de 200 cm^{-1} , são observados de uma maneira geral os modos da rede. Existe uma dificuldade encontrada na análise, que é de estabelecer os limites dos modos da rede. Esta região é de extrema importância para a detecção de possíveis mudanças de simetria no cristal. A vibração em torno de 215 cm^{-1} foi associada à torção do CH $\{\tau(CH)\}$ e foi observada na L-valina hidrogenada em 213 cm^{-1} [35]. A banda encontrada em 334 cm^{-1} , refere-se à deformação (dobramento) da unidade NCC $\{\delta(NCC)\}$ [35]. A banda observada, em torno de 373 cm^{-1} , foi associada a uma deformação da estrutura C-C-N, $\{\delta(CCN)\}$ [35].

A vibração em torno de 397 cm^{-1} pode envolver, eventualmente, o nitrogênio do grupo amina. Desta forma seria possível existir uma vibração de dobramento do tipo $\{\delta(CCN)\}$. Isto foi sugerido no estudo do sulfato bis (ácido DL-aspartico) [3].

A banda encontrada em 457 cm^{-1} , refere-se à deformação do esqueleto $\{\delta(esquel)\}$ [36]; a mesma banda, também pode estar associada a torção do NH_3^+ , $\{\tau(NH_3^+)\}$ [37-39].

Esta banda foi encontrada com frequência de 409 cm^{-1} e 460 cm^{-1} na L-asparagina monohidratada [40] e na L-metionina dihidrogenada fosfatada, respectivamente [41].

A vibração em torno de 537 cm^{-1} , foi associada ao *rocking* do CO_2 , $\{r(\text{CO}_2^-)\}$, uma vez que esta vibração foi observada na L-alanina [41] em 531 cm^{-1} , em 542 cm^{-1} na L-valina [43] e 530 cm^{-1} na histidina hidrocloreto monohidratada [44]. A banda 560 cm^{-1} , está associado ao *rocking* do CO_2^- $\{r(\text{CO}_2^-)\}$, encontrada na L-asparagina monohidratada dopada com Metais de transição [45].

3.3.2 Região espectral entre $600\text{ à }1100\text{ cm}^{-1}$

A banda observada em 683 cm^{-1} , foi classificada como um *wagging* do CO_2^- , $\{\omega(\text{CO}_2^-)\}$, pois B. Koleva [46], atribuiu esta vibração a um modo observado em 686 cm^{-1} , na L-metionina.

As bandas em 837 cm^{-1} e 846 cm^{-1} , são atribuídas, respectivamente, às vibrações fora do plano do CO_2^- , $\{\gamma(\text{CO}_2^-)\}$ e ao *rocking* de CH_3 , $\{r(\text{CH}_3)\}$ [47]. As vibrações 926 cm^{-1} , 947 cm^{-1} , 964 cm^{-1} e 1001 cm^{-1} , foram identificadas como estiramento do (C-C), $\{v(\text{CC})\}$ [48-50].

As bandas 1039 cm^{-1} e 1088 cm^{-1} , foram associado ao estiramento do CN, $\{v(\text{CN})\}$. Destaca-se que na L-valina hidrogenada [35] bandas em 1029 cm^{-1} , 1033 cm^{-1} e 1068 cm^{-1} foram associadas a vibrações do $\{v(\text{CN})\}$. Similarmente, estudo realizado na L-Isoleucina [47] mostrou que bandas em 1033 cm^{-1} e 1091 cm^{-1} podem ser classificadas como $\{v(\text{CN})\}$. Vale também acrescentar o fato de que na L-leucina [51] também foram observadas bandas em 1032 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} que foram associadas ao $\{v(\text{CN})\}$.

3.3.3 Região espectral entre 1100 à 1560 cm^{-1}

Os modos observados em 1131 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} e 1183 cm^{-1} , são atribuídas ao *rocking* da unidade NH_3^+ , $\{r(NH_3^+)\}$ [35]. Essas bandas são encontradas próximas à região onde modos da DL-metionina sulfatada [52], da L-valina nitrada [53] e da L-treonina [54], estão associados à referida vibração.

A banda em 1237 cm^{-1} é atribuída, por tentativa, à torção do CH_2 , $\{\tau(CH_2)\}$ [47]. Esta vibração foi identificada em 1294 cm^{-1} , β -alanina [55]. A maioria das bandas na região 1300-1375 cm^{-1} , são atribuídas a deformações da unidade CH, $\{\delta(CH)\}$ [47]. As bandas, encontradas em 1230 cm^{-1} , 1313 cm^{-1} e 1340 cm^{-1} , foram identificados como *wagging* do CH_2 , $\{\omega(CH_2)\}$, por estarem numa região próxima onde estas vibrações foram encontradas nas referências [56-58]. O modo 1361 cm^{-1} , foi identificado como uma deformação simétrica do CH_3 , $\{\delta_s(CH_3)\}$; com valores próximos, bandas foram encontradas na L-metionina perclorada [56] e na L-alanina [42].

O modo em torno de 1372 cm^{-1} corresponde ao *twisting* do NH_2^+ , $\{\tau(NH_2^+)\}$, [59]. A vibração em torno de 1415 cm^{-1} pode ser classificada como $\{v(CC)\}$ [59]. As bandas em torno de 1453 cm^{-1} e 1471 cm^{-1} , foram associadas a uma deformação do CH_2 , $\{\delta(CH_2)\}$ [59]. A banda observada em 1517 cm^{-1} , refere-se ao *bending* do CNH, $\{\rho(CNH)\}$, devido a sua frequência estar em torno do valor observado por Grunenbergl [60] para essa banda.

Finalmente na região 1560 à 1650cm^{-1} , destacam-se as bandas em 1568 e 1635cm^{-1} . A primeira banda foi classificada como deformação simétrica ou assimétrica do NH_3^+ , $\{\delta_s(NH_3^+)\}$ ou $\{\delta_{as}(NH_3^+)\}$ e a última como deformação assimétrica do NH_3^+ , $\{\delta_{as}(NH_3^+)\}$, de acordo as referências [40, 52, 56-57, 60]

3.3.4 Região espectral entre 2850 à 3000cm^{-1}

De acordo com a comparação de Herlinger [60] e Grunenberg [59], as bandas 2870 , 2895 , 2908 , 2930 , 2951 e 2965cm^{-1} , observadas entre 2850 e 3000cm^{-1} , referem-se aos estiramentos do CH, $\{v(CH)\}$. Na verdade, na L-leucina também existem unidades CH_2 e CH_3 , assim, é possível também que neste intervalo de frequência existam bandas associadas ao $v(CH_2)$ e ao $v(CH_3)$. De qualquer forma na Tabela 3.3, será apresentado apenas o símbolo $v(CH)$.

Tabela 3.3: Identificação dos modos normais de vibração da DL-leucina à temperatura ambiente.

Frequência (cm^{-1})	Identificação das bandas
39	rede
55	rede
78	rede
129	rede
167	rede
215	$\tau(CH)$
334	$\delta(NCC)$

373	$\delta(CCN)$
397	$\delta(CCN)$
438	
457	$\delta(esquel)$ ou $\tau(NH_3^+)$
537	$r(CO_2^-)$
560	$r(CO_2^-)$
683	$\omega(CO_2^-)$
710	
784	
837	$\gamma(CO_2^-)$
846	$\gamma(CO_2^-)$
926	$\nu(CC)$
947	$\nu(CC)$
963	$\nu(CC)$
1001	$\nu(CC)$
1039	$\nu(CN)$
1088	$\nu(CN)$
1131	$r(NH_3^+)$
1148	$r(NH_3^+)$
1183	$r(NH_3^+)$

1237	$\tau(CH_2)$
1297	$\omega(CH_2)$
1313	$\omega(CH_2)$
1340	$\omega(CH_2)$
1361	$\delta_s(CH_3)$
1372	$\tau(NH_2^+)$
1415	$\nu(CC)$
1452	$\delta(CH_2)$
1471	$\delta(CH_2)$
1517	$\rho(CNH)$
1568	$\delta_s(NH_3^+)$ ou $\delta_{as}(NH_3^+)$
1635	$\delta_{as}(NH_3^+)$
2870	$\nu(CH)$
2895	$\nu(CH)$
2909	$\nu(CH)$
2930	$\nu(CH)$
2951	$\nu(CH)$
2965	$\nu(CH)$

Classificação dos modos Raman para DL-leucina. τ :torção (*twisting*); δ : deformação (dobramento); δ_s : deformação simétrica; δ_{as} : deformação simétrica; ρ : (*rocking*); ν : estiramento; ω : *wagging*; ρ : *bending*; γ : para fora do plano; (esquel): esqueleto.

3.4 Espalhamento Raman da DL-leucina a Baixas Temperaturas

São poucos os estudos realizados até o momento na estrutura racêmica (DL) cristalina da leucina. Neste capítulo com o objetivo de preencher parcialmente esta lacuna, é apresentada a evolução dos espectros Raman da DL-leucina em função da temperatura. Sabe-se que sob variação de temperatura os cristais, de uma forma geral, sofrem acomodações de suas moléculas. Nesta acomodação das moléculas na célula unitária, suas distâncias umas em relação às outras se modificam e consequentemente, a intensidade das forças entre elas [49]. Para facilitar a discussão relacionada ao comportamento dos espectros Raman da DL-leucina em função da temperatura, dividiremos a análise, em varias sub secções.

3.4.1 Região espectral entre 20 e 600 cm^{-1}

A Figura 3.2, apresenta a evolução dos espectros Raman da DL-leucina no intervalo de frequência entre 20 e 600 cm^{-1} , conforme o experimento descrito acima, variando a temperatura desde 296K até 16K. Já a Figura 3.3 apresenta um gráfico das frequência dos modos em função da temperatura. As bandas com os números de onda abaixo de 200 cm^{-1} , como já comentado, são de extrema importância, pois permitem a detecção de possíveis mudanças de fase; geralmente estas bandas que estão associadas a modos em que os átomos da célula unitária vibram como um todo. Como se pode observar da Figura 3.2, aparentemente todas as bandas visíveis à mais baixas temperaturas, também são visíveis no espectro obtido a temperatura ambiente, embora obviamente, nesta ultima condição eles se encontrem bem mais largos. O importante é que o número de bandas são conservados no intervalo de temperatura entre 296K e 16K. Neste ponto é importante fazer uma comparação ao comportamento do cristal de L-leucina a baixas temperaturas. Em um estudo realizado recentemente [61], observou-se que em aproximadamente 150K, desaparece uma banda de baixa frequência (45 cm^{-1}) enquanto que uma banda em 52 cm^{-1} , apresenta uma mudança de frequência em aproximadamente 250K. Estudos complementares realizados através de medidas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) mostram a existência de um pico exotérmico em 150K e uma pequena anomalia em aproximadamente em 275K. Em outras palavras, enquanto para a DL-leucina aqui estudada, não foi observada nenhuma anomalia, para L-leucina [63]

foi observado uma transição de fase em 150K e, possivelmente uma mudança conformacional entre 250 e 275K.

O modo com frequência próxima de 457 cm^{-1} , mantém a intensidade e a largura quase inalteradas com a diminuição da temperatura, diferentemente do que ocorre com o modo 215 cm^{-1} , que refere-se à torção do CH. Observa-se também que os modos em 39 e 167 cm^{-1} , pertencente à rede, vão ficando mais intenso, e mais estreito com diminuição da temperatura.

A banda em 537 cm^{-1} , associada ao modo *rocking* do CO_2^- , possui baixa intensidade em praticamente todos os espectros. No intervalo entre 180 K e 296 K, começam a surgir novos modos, que antes não eram detectados, como as bandas 91 cm^{-1} , 97 cm^{-1} e 470 cm^{-1} , conforme a Figura 3.3. Em relação às outras bandas nesta região, não verificamos mudanças significativas de comportamento; os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na Tabela 3.4.

É interessante destacar ainda um outro ponto na Figura 3.2, qual seja, a baixa intensidade de uma banda em torno de $\sim 290\text{ cm}^{-1}$ no espectro da temperatura de 16 K, tal banda está associada a torção do CH_3 , $\tau(\text{CH}_3)$, mas não estar bem visível nos espectros de mais altas temperaturas ($70\text{ K} < T < 296\text{ K}$). Tal resultado é similar aquele observado na L-leucina, cujo o estudo num cristal orientado nos mostrou que a temperatura ambiente, esta banda está presente na geometria de espalhamento $z(xx)z$, estando, portanto, ausente na geometria de espalhamento $z(yy)z$.

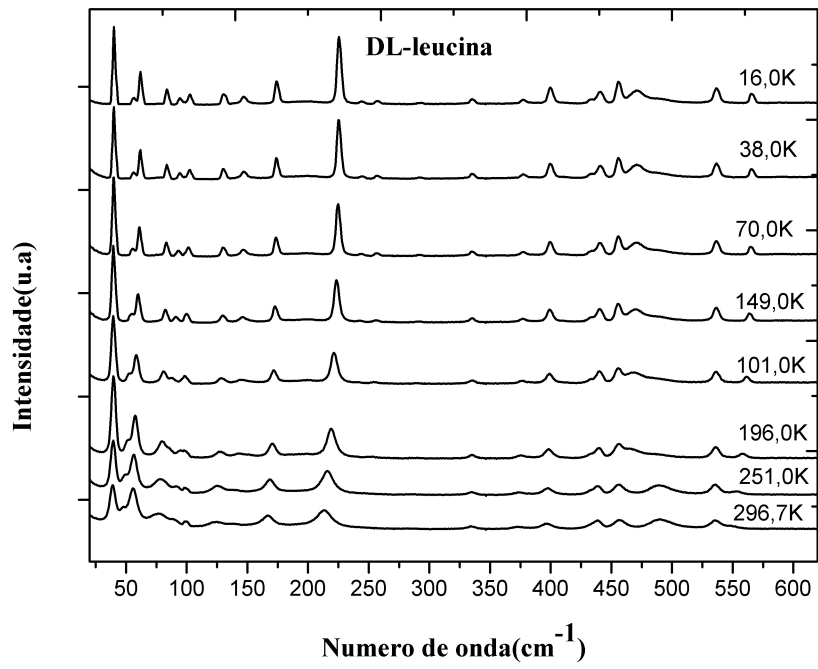


Figura3.2: Evolução dos modos Raman da DL-leucina, a baixas temperaturas, variando desde a temperatura ambiente até 16 K.

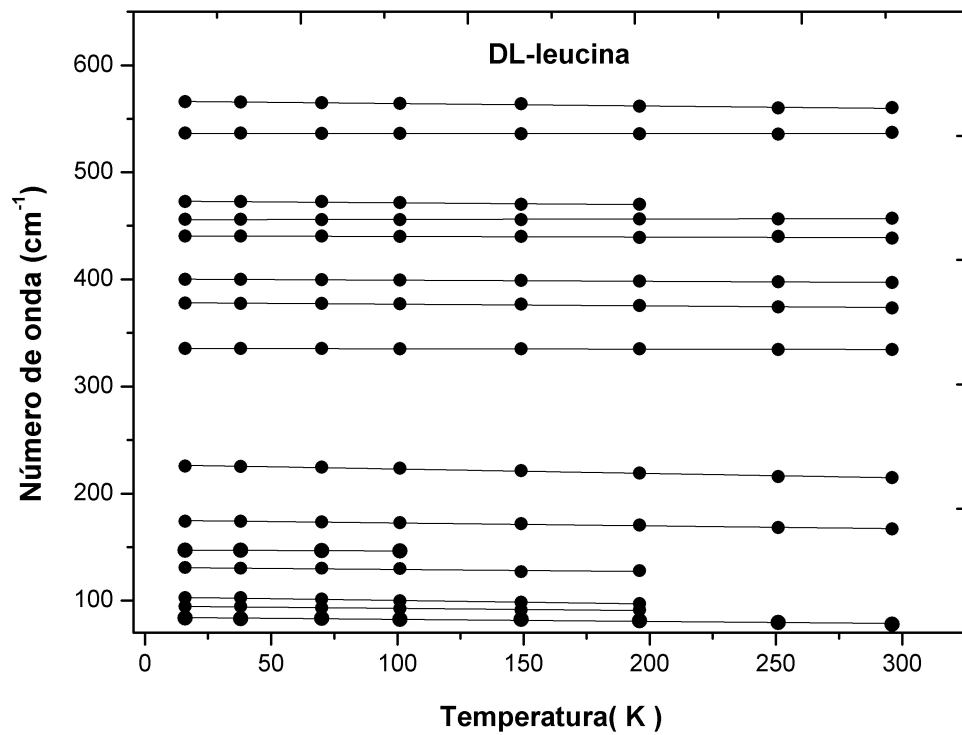


Figura 3.3 : Evolução dos valores de número de onda, com a Temperatura para o cristal da DL-leucina entre 20 e 600 cm^{-1} .

3.4.2 Região espectral entre 600 cm^{-1} e 1100 cm^{-1}

A Figura 3.4 apresenta os espectros Raman do cristal de DL-leucina, na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} , para diversas temperaturas; essa região apresenta 12 modos à temperatura ambiente. Os modos mais intensos, 837 cm^{-1} e 846 cm^{-1} , que têm frequências próximas de 850 cm^{-1} , aumentam de intensidade ao se diminuir a temperatura. O interessante nestes espectros é que as mudanças nas frequências de todas as bandas são muito pequenas, conforme pode-se ver através da Figura 3.5, que apresenta um gráfico das frequências em função da temperatura.

Nesta região espectral destaca-se o fato que as bandas mantêm uma relação de intensidade mais ou menos constante ao longo de todo o intervalo de temperatura, sugerindo de certa forma, uma variação de conformação das moléculas na célula unitária.

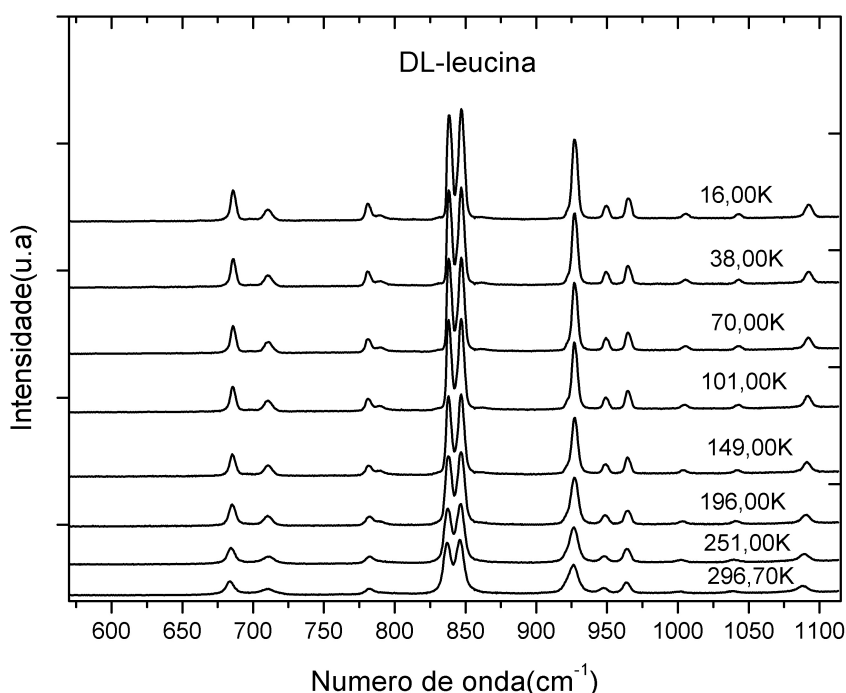


Figura 3.4: Evolução dos modos Raman da DL-leucina, a baixas temperaturas, variando desde a temperatura ambiente até 16 K.

Na região próxima a 950 cm^{-1} , pode-se observar ainda três modos com frequências bem próximas. Os referidos modos em 926 cm^{-1} , 947 cm^{-1} e 964 cm^{-1} aumentam ligeiramente de intensidade com a redução da temperatura. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na Tabela 3.4. Os outros modos dessa região, praticamente não alteram de intensidades relativas a baixas temperaturas. Outro aspecto importante na Figura 3.5 diz respeito à banda associada ao *wagging* do CO_2^- , $\{\omega(\text{CO}_2^-)\}$, que aparece em torno de 700 cm^{-1} ; tal modo permanece quase inalterado com a redução da temperatura.

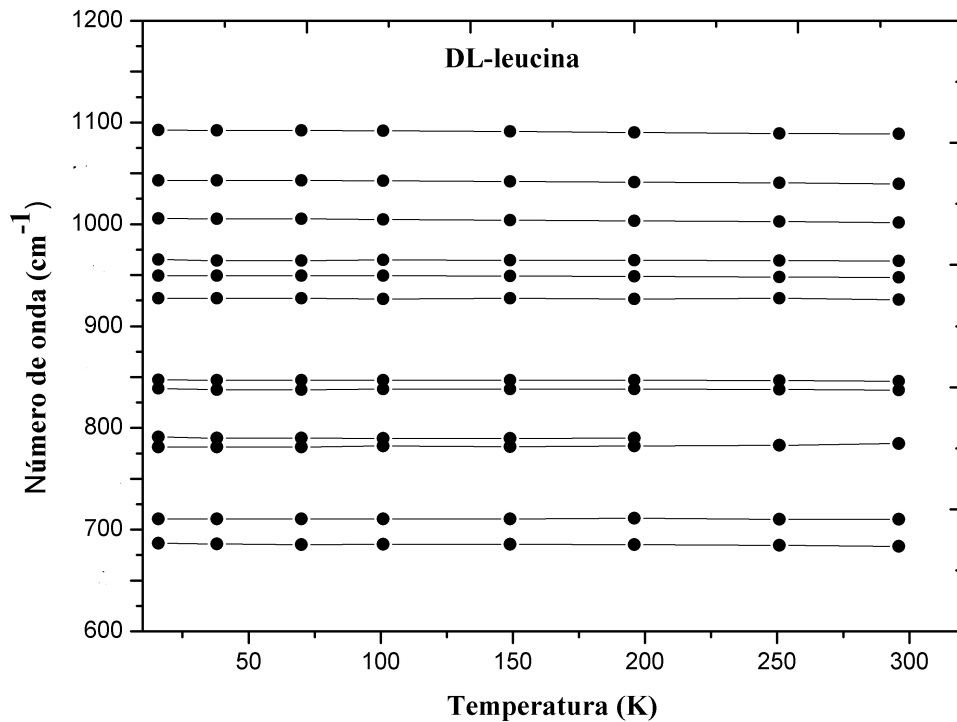


Figura 3.5: Evolução dos valores de número de onda, com a Temperatura para o cristal da DL-leucina entre 600 e 1100 cm^{-1} .

O comportamento geral nesta região espectral com variação de temperatura apresenta uma certa similaridade com aquele observado na L-isoleucina [47]. De fato, é conhecido que nesta região espectral, apenas pequenas mudanças de intensidade de várias bandas Raman são observadas na L-isoleucina, que também é estável a baixas temperaturas[47]. Por outro lado, estudos de espalhamento Raman na L-cisteína, mostraram que neste cristal, que apresenta

transição de fase a baixas temperaturas, ocorrem variações mais claras nas intensidade das bandas Raman nesta região espectral [62].

3.4.3 Região espectral entre 1100 e 1550 cm^{-1}

A Figura 3.6 apresenta a evolução dos espectros Raman da DL-leucina, em função da temperatura no intervalo espectral entre 1100 e 1550 cm^{-1} . De uma forma geral, à medida que a temperatura é diminuída as bandas deslocam-se para mais altas frequências e as larguras de linha diminuem. Nessa região, são observados 14 modos vibracionais. Verifica-se também que a banda em 1453 cm^{-1} , que a temperatura ambiente aparentemente é uma única banda, se separa em dois picos para temperaturas inferiores a 150 K

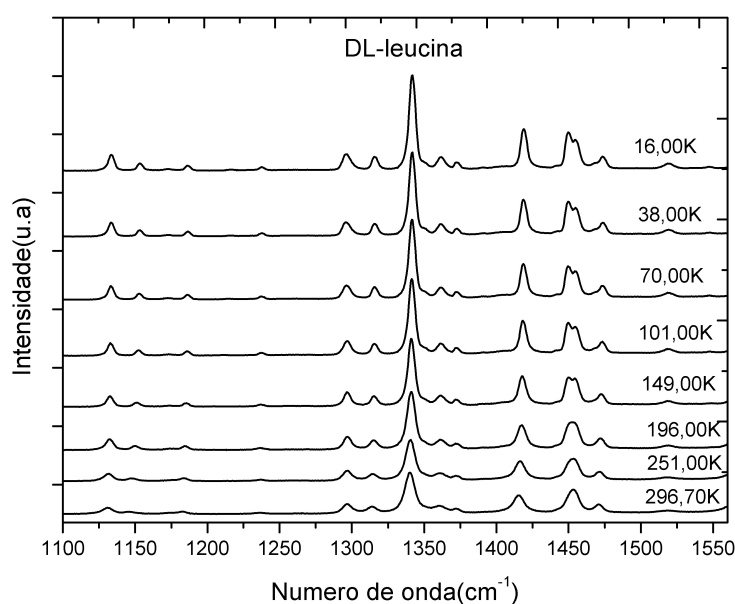


Figura 3.6: Espectros Raman do cristal da DL-leucina no intervalo de 1100 e 1550 cm^{-1} para temperaturas entre 16 K e 296 K .

Finalmente, é possível observar-se na Figura 3.6, uma banda em 1517 cm^{-1} , permanece com sua intensidade baixa em todos os intervalos de temperatura, conforme a figura 3.7. Todos os modos entre 1100 e 1550 cm^{-1} , evoluem linearmente ($\omega = \omega_0 + \alpha T$) conforme pode ser visto na tabela 3.4.

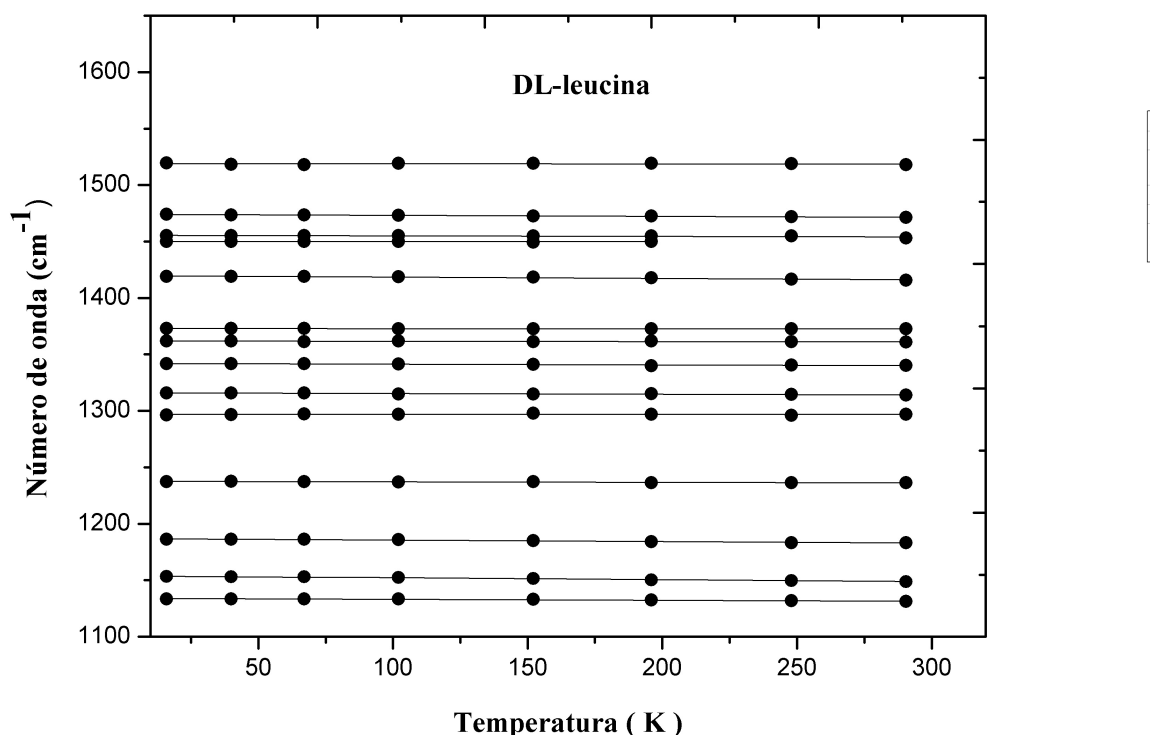


Figura 3.7: Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 1100 e 1550cm^{-1} .

3.4.4 Região espectral entre 1550 e 1700 cm^{-1}

A Figura 3.8 apresenta os espectros Raman do cristal de DL-leucina na região espectral entre 1550cm^{-1} e 1650cm^{-1} . À temperatura ambiente, esta região apresenta apenas dois modos vibracionais em 1568cm^{-1} e 1635cm^{-1} . O primeiro modo é intenso e visível em todos os intervalos de temperatura, tornando mais estreito com a diminuição de temperatura. Já a segunda banda possui pouca intensidade e sua largura permanece aproximadamente constante no intervalo de temperatura investigado. É interessante destacar que quando a temperatura diminui, aparece uma banda de baixíssima intensidade localizada em aproximadamente em 1690cm^{-1} . Tal banda possivelmente está associada a uma vibração do tipo deformação assimétrica do NH_3^+ , $\{\delta_a(\text{NH}_3^+)\}$, uma vez que tipo similar de banda foi encontrado na L-asparagina monohidratada [63].

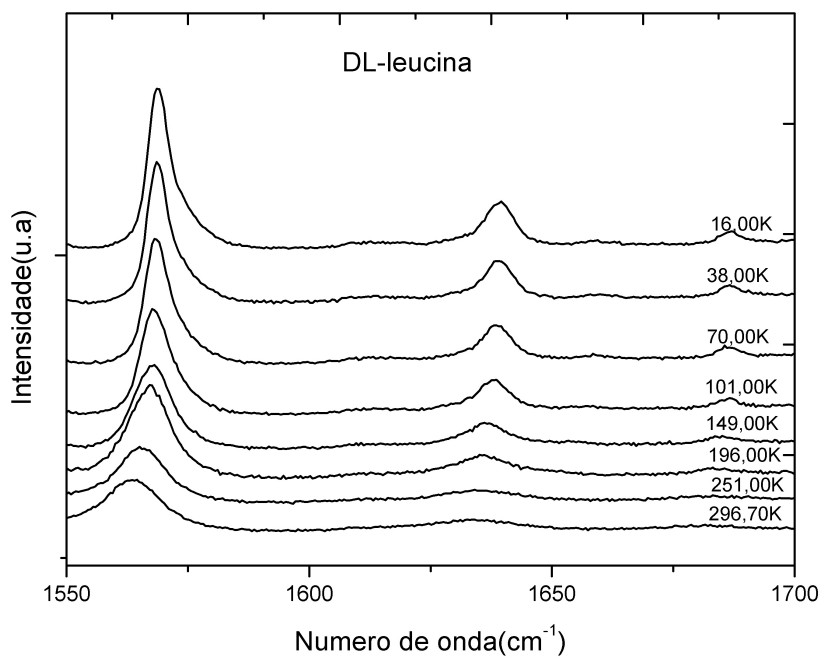


Figura 3.8: Espectros Raman do cristal da DL-leucina no intervalo de 1550cm^{-1} e 1700cm^{-1} , para temperaturas entre 16 K e 296 K.

De uma maneira geral, o comportamento dos espectros Raman da DL-leucina na região entre 1550cm^{-1} e 1700cm^{-1} em função da temperatura, conforme apresentado pela Figura 3.9, é bastante estável, similar ao que foi visto com os modos de baixa frequência, associados à vibrações da rede. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na Tabela 3.4.

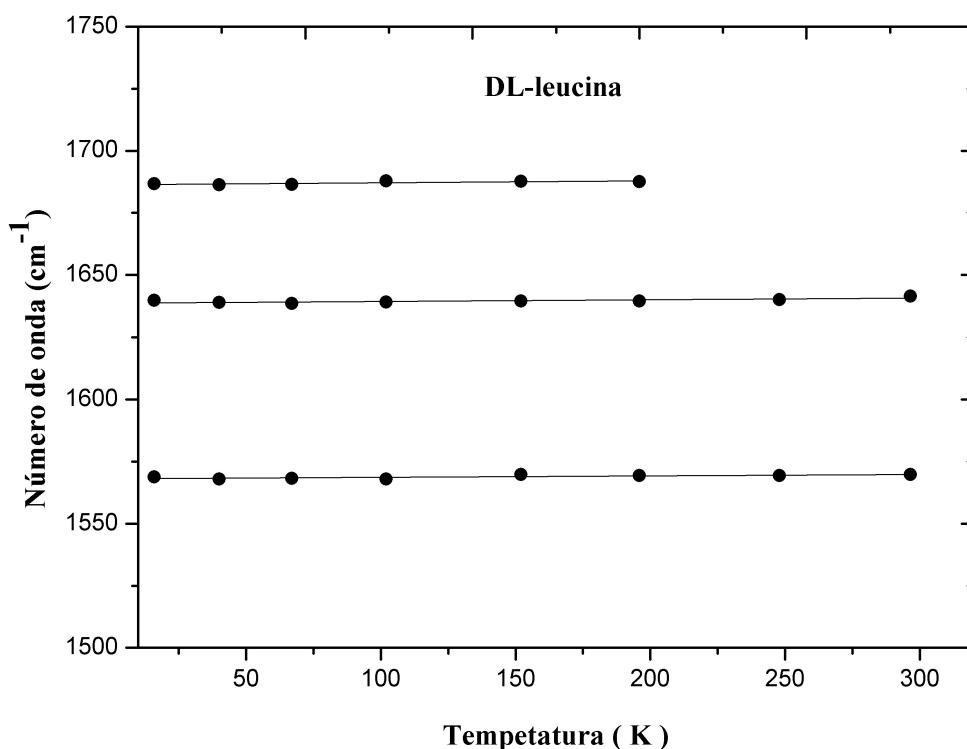


Figura 3.9: Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 1550 e 1700 cm^{-1} .

3.4.5 Região espectral entre 2850 e 3000 cm^{-1}

A Figura 3.10 apresenta a evolução dos espectros Raman da DL-leucina no intervalo de frequência entre 2850 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} em diversas temperaturas. A ausência de bandas acima de 3100 cm^{-1} , indica que o cristal cresceu em sua forma anidra, pois a presença do *stretching* de OH, deveria ser percebida como uma banda larga centrada por volta de 3400 cm^{-1} [49]. Esta região entre 2850 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} , possui bandas associadas a vibrações de estiramentos do CH, entre outras que não sofrem grandes modificações com a temperatura. O segundo modo desta região espectral tem frequência próxima de 2900 cm^{-1} , e a correspondente banda foi ajustada com dois picos. O modo de maior energia nesta região espectral tem frequência em torno de 2965 cm^{-1} . Assim como o ocorrido nas regiões anteriores, os espectros permanecem praticamente inalterados, ou seja, não ocorrem mudanças significativas nem na intensidade e nem na largura das linhas das bandas presentes nestas região espectral.

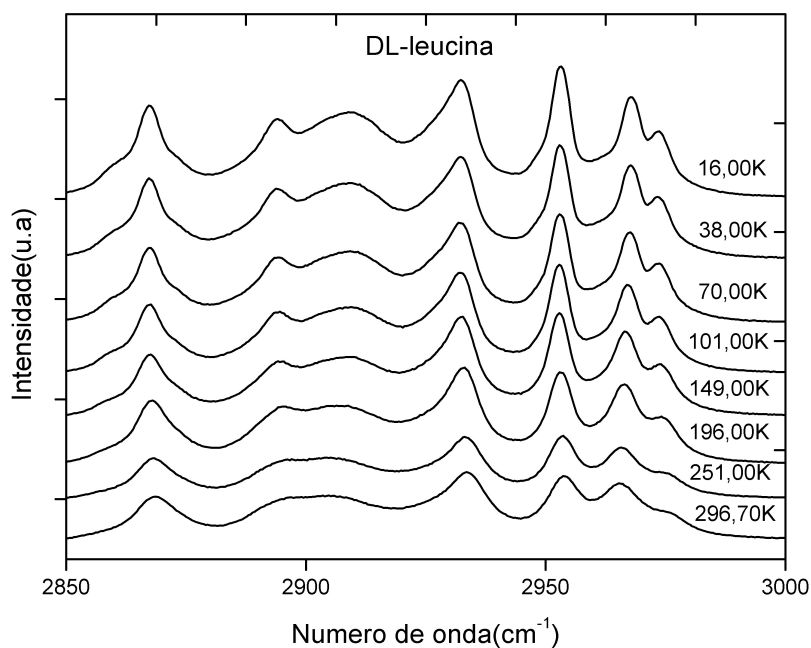


Figura 3.10: Espectros Raman do cristal da DL-leucina na região espectral entre 2850 e 3000cm^{-1} para temperaturas entre 16 K e 296 K.

Um aspecto que deve ser destacado com relação ao comportamento das bandas Raman da DL-leucina nesta região espectral é o seguinte. Estudos realizados em cristais normais e deuterados de L-metionina, juntamente com os cálculos do tipo primeiros princípios mostraram que a região de altas frequências pode fornecer informações sobre a conformação das moléculas na célula unitária do cristal [64]. Assim, dependendo da conformação das moléculas, existirão diferentes relações de intensidade entre as várias bandas Raman. Este resultado ajudou, posteriormente, a se entender, por exemplo, que quando os cristais de aminoácidos são submetidos a condições de altas pressões, as moléculas sofrem grandes mudanças de conformação, como no caso da L-leucina [65], da L-isoleucina [66] e da L-valina [67], entre outros. Voltando ao problema abordado nesta dissertação e observando cuidadosamente a Figura 3.11, percebe-se que as intensidade relativas das bandas Raman não variam, sugerindo fortemente que as conformações das moléculas da DL-leucina permaneçam aproximadamente constantes no cristal entre 16 e 296 K. Os coeficientes dos ajustes lineares estão listados na Tabela 3.4.

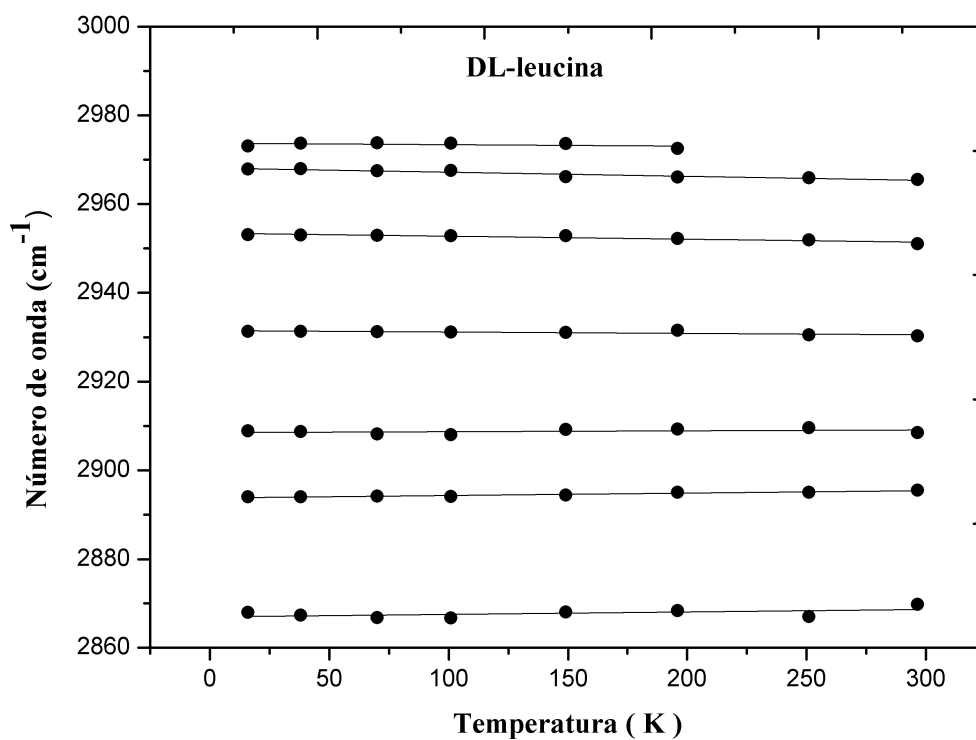


Figura 3.11: Gráfico da frequência versus temperatura dos modos cristal de DL-leucina na região espectral entre 2850 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} .

Tabela 3.4 : Coeficientes dos ajustes lineares ($\omega = \omega_0 + \alpha T$), para os modos Raman do cristal da DL-Leucina em função da temperatura. Os valores das frequência (ω) são dados em cm^{-1} e dos coeficientes (α) em cm^{-1}/K .

$\omega(296\text{K})$	$\omega(16\text{K})$	ω_0	α
39	40	40,0618	-0,0028
55	62	62,6190	-0,0247
77	84	84,3830	-0,0194
	94	94,8041	-0,0210
	102	103,3636	-0,0328
128	131	131,2278	-0,0193
	147	147,5196	-0,0095
167	174	175,3534	-0,0268
215	226	227,1571	-0,0414

334	335	335,5007	-0,0032
373	378	378,3670	-0,0157
397	400	400,2707	-0,0107
438	440	440,5287	-0,0056
457	456	455,5806	0,0034
	473	473,0718	-0,01716
537	537	536,4437	-4,0260
560	566	566,6035	-0,0230
683	686	686,4614	-0,0081
710	711	710,6266	-0,0011
784	781	780,7967	0,0101
	790	790,4223	-0,0034
837	839	838,2094	-0,0024
846	847	847,2887	-0,0032
926	927	927,2344	-0,0030
947	949	949,7902	-0,0065
963	965	964,7889	-0,0024
1001	1005	1006,0516	-0,0146
1039	1043	1043,6120	-0,0121
1088	1092	1092,9534	-0,0141
1131	1133	1133,9302	-0,0097
1148	1153	1154,3512	-0,0237
1183	1186	1187,0099	0,0021
1237	1237	1237,6447	-0,0045
1297	1296	1296,1666	0,0037
1313	1316	1316,3855	-0,0069
1340	1342	1342,0284	-0,0058
1361	1362	1362,2778	-0,0053
1372	1373	1372,9027	-0,0018
1415	1419	1419,6392	-0,0129

1452	1449	1449,3275	0,0074
	1455	1455,2396	-0,0042
1471	1474	1474,0943	-0,0103
1516	1519	1519,7163	-0,0118
1568	1569	1568,98705	-0,00564
1635	1639	1639,54443	-0,01598
	1686	1687,28784	-0,01714
2870	2868	2866,9368	0,0055
2895	2894	2893,7961	0,0054
2908	2908	2908,5197	0,0019
2930	2931	2931,4805	-0,0031
2951	2953	2953,4168	-0,0067
2965	2967	2968,0763	-0,0092
	2973	2973,7534	-0,0032

Observamos que em todo o intervalo de temperatura investigado, não ocorre nenhuma mudança relevante, nos espectros Raman do cristal da DL-leucina. Isto indica, como escrito anteriormente, que aparentemente a DL-leucina não apresenta nenhuma mudança estrutural a baixas temperatura, ou seja, entre 16 K e 296 K, O cristal de DL-leucina permanece com a mesma estrutura cristalina. Tal resultado é similar ao que já foi observado em outros cristais de aminoácidos, como a L-alanina, L-isoleucina e a glicina. Por outro lado, mostra um flagrante contraste com os resultados da L-leucina [37], que conforme comentário anterior, apresenta transição de fase a baixas temperatura. Isto mostra de uma maneira muito clara que a forma como as moléculas de uma determinada substância química encontram-se distribuídas numa estrutura cristalina é fundamental na definição da estabilidade desta estrutura.

Conclusões e perspectivas

Neste trabalho, realizamos a identificação e classificação dos modos dos modos Raman, com o objetivo de estudar o comportamento dos espectros Raman no cristal de DL-leucina, sob condições de altas pressões e baixas temperatura.

As medidas de espalhamento Raman à baixas temperaturas em cristal de DL-leucina, na região espectral 30 à 3000 cm^{-1} , não foram observadas mudanças significativas no espectro, as frequências dos modos varia linearmente com a temperatura, foi observado, com a diminuição da temperatura, outros modos de baixa intensidade surgem, porém, estas modificações não são indícios fortes para se verificar uma transição de fase no material estudado.

Como perspectivas de futuros trabalhos, sugere para ganhar um melhor entendimento, de possíveis mudanças conformacionais que possam vir apresentar a DL-leucina, um estudo de Difração de Raio-X, no material estudado sobre pressão. Outra sugestão seria o estudo com altas pressões por meio de espalhamento Raman, com outro meio compressor, para permitira comparação dos resultados.

Referências Bibliográficas

- [1] J.D. Watson, F.H.C. Crick, *Nature* **171**, 737 (1953).
- [2] C. Murli *et al.*, *Physica B* **339**, 23 (2003).
- [3] S.V. Goryainov *et al.*, *Physica B* **357**, 340 (2005).
- [4] E.V. Boldyreva *et al.*, *Z. Kristallogr.* **220**, 50 (2005);
- [5] S.V. Goryainov *et al.*, *Chem. Phys. Lett.* **419**, 496 (2006).
- [6] A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, A.J.D. Moreno, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, *Solid State Commun.* **116**, 405 (2000).
- [7] J.S. Olsen, L. Gerward, P.T.C. Freire, J.M. Filho, F.E.A. Melo, A.G. Souza Filho, *J. Phys. Chem. Sol.* **69**, 1641 (2008).
- [8] N.A. Tumanov *et al.*, *Acta Crystallogr. B* **66**, 458 (2010).
- [9] N.P. Funnell *et al.*, *CrystEngComm* **12**, 2573 (2010).
- [10] M. K. Campbell. **Bioquímica**; 3ª edição. Artmed. (2006)
- [11] Isabel Cristina Vieira Bento Bastos, Crescimento de Cristais de L-Asparagina Monohidratada Dopada com Metais de Transição e Propriedades Vibracionais a Altas temperaturas, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, (2006).
- [12] Mary, M.B., Ramakrishnam, *Spectrochimica Acta Part A* **62**, 164 (2005).
- [13] A. Salam. *Phis. Let. B*, **153**, 288, (1992)
- [14] José Alves Lima júnior, Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, (2008).
- [15] R. Mahalakshimy, S. X. Jerusaja, S. Jerome Das. *Crist. Res. Technol.* **41**, 780 (2006).
- [16] W. Q. Wang. Y. Gong, N. Yao. *Acta Phis. Chim. Sin.*, **21**, 774 (2005)
- [17] S. Olsztynska, M. Komorowska, L. Vrielynck, N. Dupuy. *Appl. Spect.* **55**, 901 (2001)
- [18] H. I. Lee, M. S. Kim, S. W. Suh. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **9**, 218 (1988)
- [19] P. F. F. Filho, P. T. C. Freire, F. E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani and D. Z. Rossato. *J. Raman spectrosc.* **40**, 46 (2009)
- [20] A. M. R. Teixera, P. T. C. Freire, A. J. D. Moreno, J. M. Sasaki, A. P. Ayala, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, *Solid state Commun* **116**, 405 (2000).

- [21] C. C. Wilson, D. Myles, M. Gosh, L. N. Johnson e W. Wang. *New J. Chem.***29**, 1318, (2005).
- [22] Sala, O, Bassi, D., Santos, P. S., Hase, Y, **Raman: Princípios e Aplicações**, EDUSP, (1984).
- [23] Sala, O., **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**, São Paulo, (1996)
- [24] C.V. Raman e K.S. Krishnan. *Nature*, **121**,521 (1928)
- [25] Silverstein, R. M.; Webster, F. X, **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 6th ed., LTC, (2000).
- [26] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A, **Princípios de Análise Instrumental**, 5th ed., Bookman, (2002).
- [27] Eliane Luz, Predição de propriedades de gasolinas usando espectroscopia FTIR acoplada à regressão por mínimos quadrados parciais. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, (2003)
- [28] Gans P. London, **Vibrational molecules an introduction to the interpretation of infrared and Raman spectra** William Clowes & Sons Limited, (1971).
- [29] J. R. Ferraro, K. Nakamoto, **Introductory Raman Spectroscopy**, Academic Press, New York, (1994).
- [30] J. J. Laserna ,**Modern Techniques in Raman Spectroscopy**, Ed., Wiley, New York, (1996).
- [31] R. L. McCreery, **Raman Spectroscopy for Chemical Analysis**, Wiley- Interscience, New York, (2000).
- [32] Benedetto di Blasio.; Carlo Pedone And Augusto Sirigu. *Acta part B* **31**, 601,(1975).
- [33] Stout, G. H.; Jensen, L. H. **X-ray structure determination: A practical guide**. 2nd ed. New York: A Wiley – Interscience Publication,(1989).
- [34] Rousseau, D.L., R.P. Bauman, and S.P.S. Porto, *Journal of Raman Spectroscopy*, **10**, 253, (1981).
- [35] J. A. Lima, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, A. J. D. Moreno, J. M. Filho, F. E. A. Melo, J, *Raman Spectrosc.* **36** 1076 (2005).
- [36] A. Pawlukoje, J. Leciejewicz, I. Natkaniec, *Spectroc. Acta part A*, 52 (1996).
- [37] K. Machida, A. Kagayama, Y. Saito, T. Uno, *Spectrochimica, Acta part A* **34** (9), 909 (1978).
- [38] K. Machida, A. Kagayama, Y. Saito, *J. Raman Spectrosc*, **7**(4) 188, (1978).
- [39] A. Kagayama, Y. Saito, Y. Kuroda, T Uno, *Spectrochimica Acta A* **33**, 569 (1977)

- [40] Casado, J., J.T.L. Navarrete, and F.J. Ramirez,. *Journal of Raman Spectroscopy*, **26** 1003 (1995).
- [41] Rajkumar, B.J.M. and V. Ramakrishnan. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **7**(2),254, (2001).
- [42] Susi, H. and D.M. Byler. *Journal of Molecular Structure*, **63**(1), 11, (1980).
- [43] Lima Jr, J.A., et al., *Journal of Raman Spectroscopy*, **36**(11), 1081, (2005).
- [44] Faria, J.L.B., et al., *Journal of Raman Spectroscopy*, **35**, 248, (2004).
- [45] Isabel Cristina Vieira Bento Bastos, *Crescimento de Cristais de L-Asparagina Monohidratada Dopada com Metais de Transição e Propriedades Vibracionais a Altas temperaturas*, Universidade Federal do Ceará, (2006).
- [46] Koleva, B.B, *Vibrational Spectroscopy*, **44**(1), 35, (2007).
- [47] F. M. Almeida, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, C. M. R. Remédios, J. Mendes, F. E. A. Melo, J. *Raman Spectrosc.* **37**, 1301, (2006).
- [48] José Alves Lima Junior, *Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*. Universidade Federal do Ceará, (2008).
- [49] Pedro de Freitas Façanha Filho, *Estudo de Espalhamento Raman em Cristais de L-leucina submetidos a Altas Temperaturas e Altas Pressões*. Universidade Federal do Ceará,(2007).
- [50] Dhamelincourt, P. and F.J. Ramirez. *Journal of Raman Spectroscopy*, **2**(10)582, (1991).
- [51] P.F. Facanha Filho, P.T.C. Freire, K.C.V. Lima, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, P.S. Pizani, *Braz. J. Phys.*, **38**,131, (2008).
- [52] Ramaswamy, S., R.K. Rajaram, and V. Ramakrishnan. *Journal of Raman Spectroscopy*, **6** (9)840, (2005).
- [53] Rajkumar, B.J.M. and V. Ramakrishnan,. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1112, (2000).
- [54] Silva, B.L., et al. *Brazilian Journal of Physics*, **28**, 19, (1998).
- [55] Garrigoulagrange, C. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne De Chimie*, **56**(5) 669, (1978)
- [56] Mary, M.B., et al.,. *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*,2651, (2004).
- [77] Pandiarajan, S., et al., *Journal of Raman Spectroscopy*, **35**(11), 913, (2004).
- [58] Rajkumar, B.J.M. and V. Ramakrishnan,. *Spectrochimica Molecular and Biomolecular Spectroscopy Acta Part A* **57**, 254, (2001).
- [59] Grunenberg, A. and D. Bougeard. *Journal of Molecular Structure*, **60**, 27, (1987).
- [60] Herlinger, A. W.; LONG, T. V., *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 6481, (1970).
- [61] P.F. Facanha Filho et al., comunicação privada (2010).

- [62] B. A. Kolesov, V. S. Minkov, E. V. Boldyreva, T. N. Drebuschak, *J. Phys. Chem, Acta Part B* **112**, 12827 (2008).
- [63] A. J. D. Moreno, P. T. C. Freire, I. Guedes, F. E. A. Melo, J. M. Filho, J. A. Sanjurjo, *Braz. J. Phys.* **29**, 380 (1999).
- [64] X. Cao, Fisher, *J. Phys. chem. A*, **106**, 41 (2002).
- [65] P. F. Façanha Filho et al., *J. Raman Spectrosc*, **40**, 46, (2009)
- [66] A. S. Sabino, G. P. De Sousa, C. Luz-lima, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. M. Filho, *Solid State Commun.* **149**, 1553, (2009).
- [67] J. H. Silva, V. Lemos, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. M. Filho, J. A. Lima, P. S. Pizani, *Phys Status Solid*, **246**, 553, (2009)