



Universidade Federal do Piauí
Centro de Ciências da Natureza
Departamento de Física
Programa de Pós-Graduação em Física

José Ferreira da Silva Júnior

**Estudo de Transições de Fase em Cristais de
Cloridrato de Cisteína Monohidratado
Submetidos a Condições de Altas Pressões e
Baixas Temperaturas**

Teresina-PI, 30 de Agosto de 2017.

José Ferreira da Silva Júnior

**Estudo de Transições de Fase em Cristais de
Cloridrato de Cisteína Monohidratado
Submetidos a Condições de Altas Pressões e
Baixas Temperaturas**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Gardênia de Sousa Pinheiro

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Física.

Teresina-PI, 30 de Agosto de 2017.

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial de Ciências da Natureza - CCN

S586e Silva Júnior, José Ferreira da.

Estudo de transições de fase em cristais de cloridrato de cisteína monohidratado submetido a condições de alta pressões e baixas temperaturas / Jose Ferreira da Silva Júnior. – Teresina: 2017.

94 f.: il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Natureza, Pós-graduação em Física, 2017.

Orientadora: Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro..

1. Física. 2. Matéria Condensada. 3. Espectroscopia Raman. 4. Cloridrato de L-cisteína Monohidratado. I. Título.

CDD 530.41

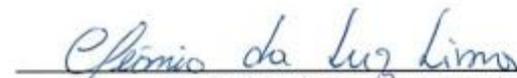
“Estudo de Transições de Fase em Cristais de Cloridrato de Cisteína Monohidratado Submetidos a Condições de Altas Pressões e Baixas Temperaturas “

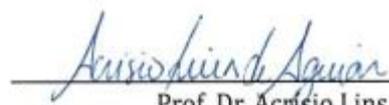
José Ferreira da Silva Júnior

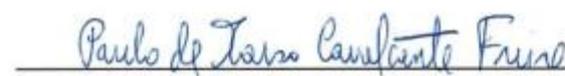
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Centro de Ciências da Natureza-CCN/UFPI.

Comissão Julgadora:


Prof.^a. Dr.^a. Gardênia de Sousa Pinheiro (Orientadora)


Prof. Dr. Cleânio da Luz Lima/UFPI


Prof. Dr. Acrísio Lins de Aguiar/UFPI


Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire/UFC

Aprovada em 30/08/2017

Dedicatória

A toda minha família.
Em especial, aos meus queridos avôs,
Vicente Ferreira, Alfredo Ferreira, Ozila
Ferreira, Maria Pires e tia Raimunda (*in
memorian*).

Agradecimentos

- A Deus pela oportunidade de realizar um sonho;
- À minha família por todo o apoio. Em especial aos meus pais José Ferreira da Silva e Francisca Ferreira Pires, que nunca mediram esforços e nem desistiram perante os obstáculos para que eu tivesse a oportunidade de sair da minha querida cidade São Gonçalo do Piauí para cursar o mestrado em Física pela Universidade Federal do Piauí;
- À professora Dr^a. Gardênia de Sousa Pinheiro pela orientação, paciência, humildade e incentivo. Gostaria de deixar aqui registrado a minha eterna gratidão e admiração, pois sempre que me dirigia a sua sala para sanar dúvidas eu me tornava uma nova pessoa;
- Aos professores do grupo de Física dos Materiais da UFPI – (FisMat). Em especial, ao professor Dr. Cleânio da Luz Lima pela sua disponibilidade sempre que precisei;
- Ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Molecular do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará pela disponibilização de parte dos equipamentos utilizados durante esse trabalho. Em especial, ao professor Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire pela contribuição na realização dos experimentos e por ter aceitado participar da banca examinadora;
- Às secretárias da coordenação de pós-graduação em Física Maria Eugenia Ferreira de Macedo Andrade e Ruth Mara Abreu Oliveira por toda assistência dada no que foi preciso;
- Aos colegas da minha querida cidade de São Gonçalo do Piauí;
- Ao meu colega de graduação José Solano por me incentivar a ingressar no mestrado;
- Aos colegas da sala de mestrado na UFPI. Em especial, ao Gislayllson Dias, Emanuel Sepúlveda, Orlando Ribeiro, Guilherme Severino, Alexandre e Isaias Plácido por terem proporcionado momentos de discussões acerca de temas relevantes à minha formação durante estes dois anos de mestrado;
- Ao Instituto Federal do Piauí (Campus de São João do Piauí) pelo apoio nesta caminhada;
- À minha namorada Patrícia Sousa pelo incentivo ao longo desta caminhada.

- Aos meus amigos da minha querida cidade de São Gonçalo do Piauí pelo apoio nesta caminhada.

- À Capes pelo apoio financeiro durante estes dois anos de estudo.

Persistência é um ato de fé e sabedoria.
(José Ferreira da Silva Júnior)

Resumo

Neste estudo, policristais de cloridrato de L-cisteína monohidratado (CYSCLM), cuja fórmula molecular é $C_3H_7NO_2 \cdot HCl \cdot H_2O$, foram estudados através de espectroscopia Raman à temperatura ambiente, em condições de baixas temperaturas e altas pressões com o objetivo principal de verificar a sua estabilidade. Experimentos de espectroscopia Raman em baixas temperaturas (-160 a 20°C) foram realizados no intervalo espectral de 25 a 3500 cm^{-1} . Com a redução da temperatura, pode-se observar que o perfil do espectro não sofreu mudanças qualitativas e não apresenta qualquer evidência de uma transição estrutural sofrida pelo cristal de CYSCLM. No entanto, descontinuidades no número de onda de alguns modos vibracionais associados ao OH^- , NH_3^+ e CH_2 foram notadas e associados a mudança conformacional do esqueleto da molécula de cisteína para valores de temperatura entre -60 e -20°C. À temperatura ambiente foram realizados experimentos de espectroscopia Raman em altas pressões no mesmo intervalo espectral para valores de pressão até 6,2 GPa. Com o aumento da pressão, o cristal mostrou-se estável, e as mudanças observadas no espectro relacionadas com os modos vibracionais associados ao OH^- , SH e CCN foram associadas a mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária. De forma geral, o cristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado mostrou-se estável tanto à baixas temperaturas (-160 a 20°C) quanto à altas pressões (pressão ambiente até 6,2 GPa), não apresentando qualquer indício de transição de fase estrutural. Tal estabilidade foi explicada em termos da complexa rede de ligações de hidrogênio apresentada por esses cristais.

Abstract

In the present study, L-cysteine hydrochloride monohydrate crystals (molecular formula $C_3H_7NO_2 \cdot HCl \cdot H_2O$) were studied through Raman spectroscopy at room temperature and low temperatures conditions and high pressures, with the aim of verifying their stability. Raman spectroscopy experiments at low temperatures (-160 to 20 °C) were performed in the 25-3500 cm^{-1} spectral range. As the temperature decrease, it can be observed that the spectrum profile has not undergone qualitative changes and does not present any evidence of a structural phase transition experienced by CYSCLM crystal. However, discontinuities in the wavenumber of some vibrational modes associated with OH^- , NH_3^+ and CH_2 units have been noted and associated with conformational change of the skeleton of cysteine molecule for temperature values between -60 and -20 ° C. At ambient temperature, Raman spectroscopy experiments were performed at high pressures in the same spectral range for pressure values up to 6.2 GPa. With increasing pressure, the crystal exhibits no structural phase transition, and the changes observed in bands related to the vibrational modes associated with OH^- , SH and CCN were associated with conformational changes of the molecules in the unit cell. In general, the L-cysteine hydrochloride monohydrate crystal is stable both at low temperatures (-160 to 20 °C) and high pressures (ambient pressure up to 6.2 GPa), exhibiting no evidence of structural phase transition undergone by the crystal. The stability of CYSCLM crystal has been explained regarding the complex network of hydrogen bonds present in the crystal.

Sumário

Resumo	ix
Abstract.....	x
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de Tabelas	xvi
Capítulo 1 – Introdução	1
1.1 Estudos realizados em aminoácidos sob altas pressões.....	3
1.2 Estudos realizados em aminoácidos em função da temperatura.....	4
Capítulo 2 – Espectroscopia Raman	6
Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais.....	10
3.1 A amostra de Cloridrato de L-cisteína Monohidratado.....	10
3.2 Experimentos de Espectroscopia Raman.....	12
Capítulo 4 – Cloridrato de L-Cisteína Monohidratado à Temperatura Ambiente.....	17
4.1 Descrição do Cloridrato de L-cisteína Monohidratado	17
4.2 Teoria de Grupos	21
4.3 Espectroscopia Raman à Temperatura Ambiente.....	22
i. Região espectral entre 20 e 250 cm^{-1}	22
ii. Região espectral entre 250 e 650 cm^{-1}	23
iii. Região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1}	24
iv. Região espectral entre 1200 a 1800 cm^{-1}	26
v. Região espectral entre 2700 a 3500 cm^{-1}	28
4.4 Considerações Finais	29
Capítulo 5 – Cloridrato de L-Cisteína Monohidratado à Baixas Temperaturas	31
5.1 Região espectral entre 25 e 250 cm^{-1}	31

5.2 Região espectral entre 250 e 650 cm^{-1}	34
5.3 Região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1}	37
5.4 Região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1}	41
5.5 Região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1}	45
5.6 Discussão	48
5.7 Considerações Finais	50
Capítulo 6 – Cloridrato de L-Cisteína Monohidratado à Altas Pressões	51
6.1 Região espectral entre 30 e 260 cm^{-1}	51
6.2 Região espectral entre 260 e 650 cm^{-1}	54
6.3 Região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1}	58
6.4 Região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1}	60
6.5 Região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1}	63
6.6 Discussões	66
6.7 Considerações Finais	68
Capítulo 7 – Conclusões e Perspectivas	69
7.1 Conclusões	69
7.2 Perspectivas	70
Referências Bibliográficas	71

Lista de Figuras

Figura 1 – Estrutura do aminoácido na forma (a) neutra; (b) zwitteriônica.	1
Figura 2 – Espalhamento Raman (a) Stokes e (b) anti-Stokes.	7
Figura 3 – Difratorômetro de raios-X D8 Advance (da Bruker Optics) utilizado na caracterização da amostra.	10
Figura 4 – Difratorograma do cristal de CYSCLM.	11
Figura 5 – Diagrama esquemático do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento.	12
Figura 6 – Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman [2].	13
Figura 7 – Câmara de temperatura utilizada no experimento de espectroscopia à baixas temperaturas.	14
Figura 8 – (a) Modelo da célula de pressão utilizada nos experimentos; (b) Vista ampliada da gaxeta e dos diamantes [1].	15
Figura 9 – Cristal de CYSCLM no interior da célula de pressão.	16
Figura 10 – (a) Fórmula estrutural planar da L-cisteína; (b) Fórmula estrutural atomística da L-cisteína na forma zwitteriônica.	17
Figura 11 – Unidade assimétrica da fórmula molecular da CYSCLM.	19
Figura 12 – Célula unitária do cristal de CYSCLM.	20
Figura 13 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 25 a 250 cm^{-1}	23
Figura 14 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 250 a 650 cm^{-1}	24
Figura 15 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 650 a 1200 cm^{-1}	25
Figura 16 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 1200 a 1800 cm^{-1}	26
Figura 17 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 2700 a 3500 cm^{-1}	28
Figura 18 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 25 a 250 cm^{-1}	32

Figura 19 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 70 e 250 cm ⁻¹	33
Figura 20 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 250 a 650 cm ⁻¹	35
Figura 21 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 250 e 650 cm ⁻¹	36
Figura 22 – Número de onda <i>versus</i> temperatura da banda associada à torção do NH ₃ ⁺ , τ(NH ₃ ⁺).....	37
Figura 23 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 650 a 1200 cm ⁻¹	38
Figura 24 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 650 e 1200 cm ⁻¹	39
Figura 25 – Número de onda <i>versus</i> temperatura da banda associada ao <i>rocking</i> do CH ₂	40
Figura 26 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 1200 a 1800 cm ⁻¹	41
Figura 27 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1200 e 1800 cm ⁻¹	42
Figura 28 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1200 e 1800 cm ⁻¹	44
Figura 29 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 2700 a 3500 cm ⁻¹	45
Figura 30 – Número de onda <i>versus</i> temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 2700 e 3500 cm ⁻¹	46
Figura 31 – Evolução dos espectros Raman do cristal CYSCLM na região espectral 30-260 cm ⁻¹ para diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa.	52
Figura 32 – Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 60 e 260 cm ⁻¹	54
Figura 33 – Evolução dos espectros Raman do cristal CYSCLM na região espectral 260-650 cm ⁻¹ para diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa.....	55
Figura 34 – (a-c) Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 260 e 650 cm ⁻¹	56

Figura 35 – (a-b) Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1}	58
Figura 36 – Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1}	60
Figura 37 – Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1}	61
Figura 38 – Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1}	62
Figura 39 – Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1}	63
Figura 40 – (a-d) Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1}	65

Lista de Tabelas

Tabela 1- Dados cristalográficos e indicadores de qualidade de refinamento estrutural (R's) da amostra de CYSCLM.....	12
Tabela 2 – Dados cristalográficos para o cristal de CYSCLM.....	19
Tabela 3 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal CYSCLM.	20
Tabela 4 – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de CYSCLM à temperatura ambiente.	29
Tabela 5 – Coeficientes obtidos do ajuste linear $\omega T = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal CYSCLM como uma função da temperatura.	47

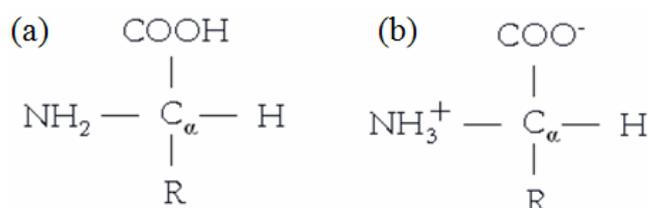
Capítulo 1 – Introdução

O estudo da função das interações intermoleculares na formação das estruturas cristalinas e nas propriedades vibracionais de aminoácidos vem despertando a atenção de muitos pesquisadores durante algumas décadas. Um dos motivos desse interesse se devem à importância das suas aplicações na indústria farmacêutica. Os aminoácidos são moléculas orgânicas formadoras dos peptídeos e proteínas, e são considerados de extrema importância para a manutenção da vida.

As proteínas têm suas propriedades determinadas pelo número, tipo e conformação dos aminoácidos dentro desta cadeia. As proteínas desempenham funções indispensáveis aos seres vivos, como crescimento e regeneração de tecidos, transporte de nutrientes e oxigênio, fornecimento de energia, funções reguladoras e metabólicas, entre outras [1]. Dos vários aminoácidos encontrados na natureza, 20 deles são constituintes das proteínas e se incorporam à molécula protéica, estes aminoácidos recebem a denominação de proteinogênicos.

Um aminoácido é caracterizado por conter em sua estrutura um carbono, chamado de carbono alfa, que está ligado a um hidrogênio, a um agrupamento amina (NH_2), a um ácido carboxílico (COOH) e a um radical (R), onde este último diferencia os aminoácidos entre si e determina as características do mesmo (quanto a carga, polaridade e hidrofobia, por exemplo). Em quase todos os aminoácidos (exceção da glicina), a posição dos átomos em torno do carbono alfa não apresenta simetria, tornando-o opticamente ativo [1,2]. A estrutura geral de um aminoácido (tipo α) é mostrada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura do aminoácido na forma (a) neutra; (b) zwitteriônica.



Os aminoácidos quando estão na forma cristalina ou em solução encontram-se em uma forma ionizada (chamada de zwitteriônica), em que, na maioria dos casos, o grupo carboxílico cede seu átomo de hidrogênio ao grupo amina, tornando-os CO_2^- e NH_3^+ . No entanto, no caso do cristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado (CYSCLM) estudado nesse trabalho, tem que o grupo amina se ioniza através da doação do hidrogênio pertencente ao ácido clorídrico.

Quanto à forma de obtenção pelo organismo, os aminoácidos são classificados como [1]:

- (i) essenciais, que não são produzidos pelo organismo e devem ser obtidos através da alimentação;
- (ii) não essenciais, que podem ser obtidos por meio de transformações metabólicas dos aminoácidos essenciais.

A cisteína, por exemplo, é considerada um aminoácido não essencial e o único cuja cadeia lateral é capaz de realizar ligações covalentes contribuindo com a estrutura da proteína. Vale ressaltar que dos vinte aminoácidos protéicos, a metionina e a cisteína são os únicos que apresentam enxofre em sua composição.

Com relação à polarização da luz espalhada, os aminoácidos podem ser designados como L ou D, respectivamente, do latim *laevus* (esquerda) e *dexter* (direita). Ou seja, aminoácidos L giram o plano de polarização da luz para esquerda, enquanto que os aminoácidos D giram o plano de polarização da luz para direita. [1,3].

Dentre as técnicas utilizadas no estudo de aminoácidos, podemos destacar a difração de raios-X e a espectroscopia Raman, que são as principais técnicas usadas neste trabalho.

Pesquisas realizadas com aminoácidos em função de um parâmetro termodinâmico (pressão ou temperatura) são interessantes por possibilitarem analisar a estabilidade e possíveis transições de fase sofridas pelos materiais, e eventualmente novas formas polimórficas. Estas informações são úteis no que diz respeito a aplicabilidade desses materiais em diversas áreas como, por exemplo, Geoquímica, Medicina e Farmacologia, óptica não-linear e dispositivos piezoelétricos [1]. Desta motivação definimos o objetivo principal deste trabalho: analisar a estabilidade do cloridrato de L-cisteína monohidratado quando submetido à altas pressões e à baixas temperaturas.

1.1 Estudos realizados em aminoácidos sob altas pressões

Os primeiros trabalhos sobre a estabilidade de cristais de aminoácidos sob condições de altas pressões apareceram no final da década de 90 como resultados de estudos realizados pelo grupo de espalhamento Raman do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará. Desde então, vários outros laboratórios, notadamente na Rússia e na Índia têm se dedicado a pesquisas neste assunto [4,5] com o intuito de elucidar o problema relacionado ao efeito da pressão sobre as ligações de hidrogênio.

Estudos em função da pressão têm como objetivo analisar a estabilidade da estrutura cristalina, informação de fundamental importância na compreensão das ligações que formam um cristal. Nesta linha de pesquisa vários estudos vêm sendo realizados e nos parágrafos seguintes apresentaremos alguns dos resultados obtidos com realização de pesquisas envolvendo a variação deste parâmetro termodinâmico.

O cloridrato de cisteína submetido a diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,9 GPa, apresentou uma transição de fase estrutural para o valor de pressão 0,9 GPa em virtude de um surgimento de uma banda bem intensa na região dos modos externos [2]. O cristal de D-treonina experimenta transições de fase estruturais, sendo a primeira no intervalo de pressão entre 1,9 e 2,4 GPa e a segunda no intervalo de pressão entre 5,1 e 6,0 GPa [5], onde foram observadas mudanças principalmente na região dos modos externos de vibração do cristal.

Quando submetido às condições de altas pressões, o cristal de cloridrato L-histidina monohidratado apresentou o desdobramento de uma banda pertencente à região dos modos externos, além de diversas mudanças nas outras regiões do espectro Raman, evidenciando a ocorrência de uma transição de fase estrutural induzida por pressão entre 2,7 GPa e 3,1 GPa [6].

O cristal de L-cisteína na forma ortorrômbica apresenta uma transição de fase para a pressão de 1,9 GPa, evidenciada pela observação em relação ao número de onda associado ao modo de torção do SH que diminui 40 cm^{-1} , e a banda conseqüentemente se divide em duas [7].

O cristal de L-metionina apresentou uma transição de fase estrutural em torno de 2,1 GPa, tendo como evidência o aparecimento de duas bandas, suposição esta corroborada pelos resultados de espectroscopia Raman na região dos modos internos [8].

E por último, a glicina, considerada o mais simples aminoácido, possui vários polimorfos em condições normais de pressão e temperatura (α , β e γ). A forma β apresenta uma transição de fase em 0,8 GPa [9,10], enquanto a forma γ muda para uma nova fase acima de 2,0 GPa [10]. Surpreendentemente, a forma α mostrou-se estável até 23 GPa [11].

1.2 Estudos realizados em aminoácidos em função da temperatura

Estudos com variações de temperatura em aminoácidos têm como objetivos verificar a estabilidade da estrutura cristalina, buscar novos polimorfos e entender a dinâmica das ligações de hidrogênio em um cristal, como um primeiro passo para compreender as suas funções biológicas. A seguir apresentamos os resultados de algumas pesquisas já realizadas com aminoácidos quando submetidos às condições de baixas temperaturas.

O cristal de L-histidina quando resfriado a temperaturas entre 30 e 300 K não apresenta mudanças significativas no seu espectro Raman, indicando que o cristal não apresenta transição de fase estrutural nesse intervalo de temperatura. No entanto, descontinuidades no número de onda em função da temperatura de algumas bandas relacionadas às unidades que participam diretamente das ligações de hidrogênio indicam uma mudança conformacional da molécula afetando as ligações intermoleculares de hidrogênio em torno de 165 K. A mudança conformacional também foi verificada via análise térmica [12,13].

O dipeptídeo α -L-aspartil-L-alanina mostrou-se estável no intervalo de temperatura entre 18 e 293 K, não sendo detectado nenhum indício de que o material sofra uma transição de fase estrutural [14]. O mesmo acontece com a DL-alanina que mostrou-se estável para valores de temperatura até 15 K durante o processo de arrefecimento, e as mudanças observadas nas bandas que estavam relacionadas com as unidades CO_2^- foram relacionadas com conformações das ligações de hidrogênio [1,15].

Os três polimorfos da glicina (α , β e γ) apresentam calor específico similar à temperatura ambiente. No entanto, a forma β apresenta uma transição de fase de segunda ordem a 252 K [16]. O calor específico da forma β difere do apresentado pela forma α por uma contribuição linear aT , que desaparece depois da transição de fase.

Esta dissertação, além do capítulo introdutório, está assim dividida: no capítulo 2 apresenta uma abordagem teórica acerca da espectroscopia Raman; no capítulo 3 são

apresentados os procedimentos experimentais utilizados nesse trabalho; o capítulo 4 apresenta um estudo do cloridrato de cisteína monohidratado à temperatura ambiente com a respectiva discussão da teoria de grupos do cristal juntamente com a classificação tentativa dos modos vibracionais observados; no capítulo 5 são apresentados os resultados e discussões relacionados ao estudo de espectroscopia Raman à baixas temperaturas; o capítulo 6 trata dos resultados e discussões relacionados ao estudo de espectroscopia Raman sob altas pressões; e, por fim, o capítulo 7 apresenta as conclusões e perspectivas acerca da pesquisa realizada.

Capítulo 2 – Espectroscopia Raman

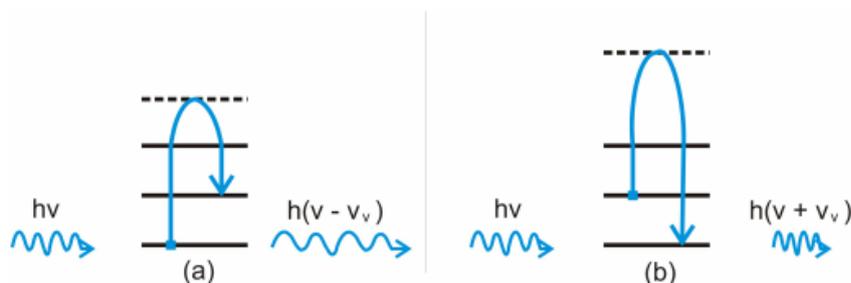
Neste capítulo é apresentado um estudo teórico da principal técnica utilizada neste trabalho: a espectroscopia Raman.

Quando ocorre a incidência de uma radiação monocromática de frequência ν_0 sobre um material, uma parte da radiação é espalhada sem que ocorra mudança de suas propriedades. Porém, verificando a radiação espalhada, percebe-se que não somente a frequência ν_0 esta presente, mas também outras duas porções, com frequências acima e abaixo de ν_0 . A radiação espalhada que possui a mesma frequência da onda incidente ficou conhecida como espalhamento Rayleigh, descoberto por Lord Rayleigh [17]. Em 1928, Raman e Krishanan mostraram experimentalmente um outro tipo de espalhamento, já predito teoricamente por Smekal que ficou conhecido como espalhamento Raman [18].

Como já mencionado anteriormente, quando uma radiação monocromática incide sobre um material, temos também outros dois tipos de espalhamento: (i) espalhamento Stokes, em que a radiação espalhada possui frequência menor do que a frequência incidente; (ii) espalhamento anti-Stokes, onde a frequência da radiação espalhada é superior à da radiação incidente. De maneira geral, no espalhamento Stokes, a radiação espalhada detectada possui energia menor que a radiação incidente, e essa diferença de energia corresponde à diferença de energia entre dois níveis vibracionais da molécula. A Figura 2 apresenta o diagrama de níveis de energia para os espalhamentos Stokes e anti-Stokes.

Apesar de ter sido desenvolvido na década de 1930, a espectroscopia Raman se popularizou, principalmente devido aos avanços tecnológicos, tais como o emprego de radiação monocromática oriunda de lasers, acoplamento a microscópios ópticos para focalização de áreas diminutas da amostra e uso de fibras ópticas para a introdução da radiação no espectrômetro [19]. Então, o principal fenômeno físico envolvido na técnica de espectroscopia Raman é o espalhamento inelástico da luz. É importante ressaltar que Sir Chandrashekhara Venkata Raman ganhou o prêmio Nobel em Física em 1930 pelo efeito Raman.

Figura 2 – Espalhamento Raman (a) Stokes e (b) anti-Stokes.



Pela lei de Boltzmann, o nível vibracional mais populoso é o nível fundamental, portanto levando-se em consideração esse fato a molécula pode voltar para estado fundamental através do espalhamento elástico (representado pelo termo ν_v). Conforme a Figura 2, a molécula também pode sair do estado fundamental após a excitação e permanecer imediatamente em um nível superior (espalhamento Stokes) representado pelo termo $(\nu - \nu_v)$. Ainda há a possibilidade da matéria estar em um estado excitado, a colisão com um fóton pode causar uma perda de energia e os elétrons sofrem uma transição para um estado de energia mais baixa (espalhamento anti-Stokes) representado pelo termo $(\nu + \nu_v)$ [20]

Para um modo vibracional ser Raman ativo, sua polarizabilidade deve variar durante a vibração [17]. Ao contrário de outras técnicas (como o infravermelho), a espectroscopia Raman leva em consideração a variação do momento dipolo elétrico induzido pelo campo elétrico da luz. O momento de dipolo induzido ocorre como consequência da polarizabilidade molecular α como mostra a equação (1):

$$\mathbf{P} = \alpha \times \mathbf{E}, \quad (1)$$

onde α representa a polarizabilidade da molécula e \mathbf{E} o vetor campo elétrico da radiação monocromática incidente. É importante ressaltar que a polarizabilidade mede a deformação da nuvem eletrônica da molécula quando um campo elétrico externo é aplicado. Com base na teoria clássica pode-se chegar às expressões que qualitativamente explicam os tipos de espalhamentos abordados anteriormente. O campo elétrico (\mathbf{E}) da onda eletromagnética (luz) é definido como

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu t). \quad (2)$$

onde \mathbf{E}_o é o campo elétrico da luz incidente, ν é a frequência da radiação e o t é o tempo.

Os elementos do tensor de polarizabilidade podem ser desenvolvidos em série de Taylor em função da coordenadas normais da seguinte forma

$$\alpha_{po} = (\alpha_{po}) + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k} \right)_o Q_k + \frac{1}{2} \sum_{k,l} \left(\frac{\partial^2 \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k \partial Q_l} \right)_o Q_k Q_l + \dots, \quad (3)$$

ou em uma forma reduzida para pequenos deslocamentos, podemos expandir a polarizabilidade.

$$\alpha_k = \alpha_o + \alpha'_k Q_k, \quad (4)$$

onde α_o é a polarizabilidade na posição de equilíbrio e $(\partial\alpha/\partial Q)$ é a variação da polarizabilidade com as coordenadas normais (medidas na configuração de equilíbrio).

$$(\alpha_{\rho\sigma})_k = \left(\frac{\partial \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k} \right)_o. \quad (5)$$

Considerando que os termos de ordem mais alta podem ser desprezados devido à pequena variação da coordenada Q , teremos

$$Q = Q_o \cos(2\pi\nu_v t), \quad (6)$$

onde Q_o é a constante (o valor máximo de Q) e ν_v é a frequência de vibração da coordenada normal Q .

Combinando as equações (3) e (5), teremos

$$\alpha_k = \alpha_o + \alpha'_k Q_{ko} \cos(2\pi\nu_v t). \quad (7)$$

Substituindo as expressões (2) e (7) na expressão (1) para o dipolo induzido \mathbf{P} , obteremos

$$\mathbf{P} = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu t) + \alpha_k' \mathbf{E}_0 Q_{k0} \cos(2\pi\nu t) \cos(2\pi\nu_v t). \quad (8)$$

Lembrando que

$$\cos A \cos B = \frac{1}{2} [\cos(A + B) + \cos(A - B)] \quad (9)$$

e usando a identidade trigonométrica (9) na expressão (8), será obtida a seguinte expressão para a polarização

$$\mathbf{P} = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu t) + \frac{1}{2} \alpha_k' \mathbf{E}_0 Q_{k0} \left\{ \cos \left[2\pi(\nu - \nu_v)t \right] + \cos \left[2\pi(\nu + \nu_v)t \right] \right\}, \quad (10)$$

onde o primeiro termo corresponde ao espalhamento Rayleigh.

Com base na equação (10), o momento do dipolo induzido da molécula varia com três componentes de frequências: ν , $\nu - \nu_v$ e $\nu + \nu_v$, as quais o segundo e terceiro termo dão origem aos espalhamentos Raman Stokes e Raman anti-Stokes respectivamente.

Vale ressaltar que dentre as vantagens da espectroscopia Raman destacam-se a não necessidade de pré-tratamento da amostra e a não destrutibilidade durante a análise [17,19]. Outra vantagem da espectroscopia Raman é a possibilidade de realizar análise em meio aquoso proporcionando, assim, a caracterização de materiais biológicos. Dentre as desvantagens, tem-se a baixa intensidade do sinal Raman e a possível interferência pelo fenômeno de fluorescência [17].

Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais

Neste capítulo são apresentados os arranjos experimentais utilizados neste trabalho. Inicialmente, a amostra utilizada bem como o equipamento de difração de raios-X utilizado para caracterizar a amostra são descritos. Em seguida, são apresentados o equipamento de espectroscopia Raman e seus acessórios utilizados nos experimentos à baixas temperaturas e à altas pressões.

3.1 A amostra de Cloridrato de L-cisteína Monohidratado

A amostra policristalina de cloridrato de L-cisteína monohidratado (CYSCLM) utilizada neste trabalho foi originada do pó comercial fabricada pela Vetec Química Fina Ltda (código de referência 176), sem qualquer processo de purificação ou cristalização.

Com o objetivo de confirmar a estrutura cristalina da amostra utilizada, um experimento de difração de raios-X à temperatura ambiente foi realizado. Esse experimento foi realizado no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Molecular do Departamento de Física da UFC. Na ocasião, foi utilizado um difratômetro de raios-X de policristais modelo D8 Advance da Bruker Optics (Figura 3) utilizando radiação monocromática de Cu K α . Nesse experimento, foi utilizada a configuração θ -2 θ , com 2θ variando no intervalo de 5 a 70°, passo 0,05° e um tempo de 2 s/passos.

Figura 3 – Difratômetro de raios-X D8 Advance (da Bruker Optics) utilizado na caracterização da amostra.



De posse dos dados do experimento de DRX e utilizando o programa Expo 2014 [21] e o arquivo com os dados cristalográficos referente a estrutura determinada por Chapman e Bryce [22] (CCDC número 657965), fez-se o refinamento Rietveld do difratograma obtido, com o objetivo de confirmar a estrutura e extrair os parâmetros de rede da amostra utilizada. A Figura 4 apresenta os difratogramas obtidos experimentalmente e aquele calculado usando refinamento Rietveld. É possível observar nesta figura uma correspondência de posições e intensidades nos dois difratogramas, o que confirma que os dois padrões de difração correspondem à mesma estrutura cristalina. Nenhum pico na difração de raios-X adicional foi observado, confirmando a pureza da amostra. Os detalhes do refinamento estrutural são listados na Tabela 1 bem como os valores dos indicadores de qualidade do refinamento (R's) obtidos, onde é possível afirmar que estão dentro dos limites aceitáveis para esse tipo de estrutura com base na literatura.

Figura 4 – Difratograma do cristal de CYSCLM.

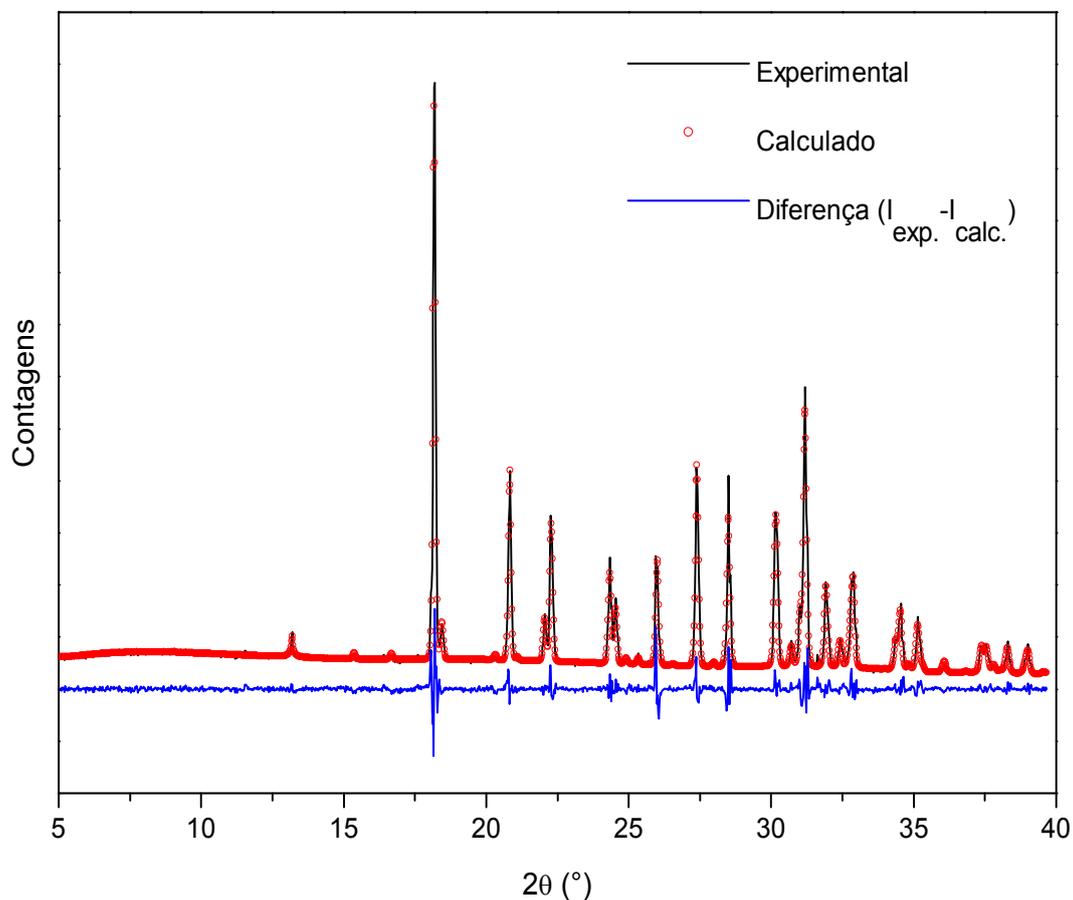


Tabela 1- Dados cristalográficos e indicadores de qualidade de refinamento estrutural (R's) da amostra de CYSCLM

Parâmetros de Rede	$a = 5,5182786 \text{ \AA}$ $b = 7,1403995 \text{ \AA}$ $c = 19,5025215 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $V = 768,452 \text{ \AA}^3$
Direção Preferencial	[0 1 1]
Indicadores de Qualidade de Refinamento (R's)	$R_p = 6,038\%$ $R_{exp} = 8,615\%$ $R_{wp} = 3,699\%$ $GOF = 2,329$

3.2 Experimentos de Espectroscopia Raman

Os espectros Raman do cristal de CYSCLM foram obtidos utilizando um sistema de micro-Raman em uma geometria de retroespalhamento como mostrado na Figura 5 [14]. O sistema é constituído de uma fonte de radiação monocromática, um espectrômetro para dispersão da radiação espalhada e um dispositivo de detecção. A luz espalhada foi coletada através do espectrômetro triplo T64000 da Jobin Yvon Horiba equipada com sistema de detecção do tipo CCD (*charge coupled device*) resfriado a nitrogênio líquido. A Figura 6 apresenta o espectrômetro usado para a obtenção dos

Figura 5 – Diagrama esquemático do experimento de espalhamento Raman na geometria de retroespalhamento.

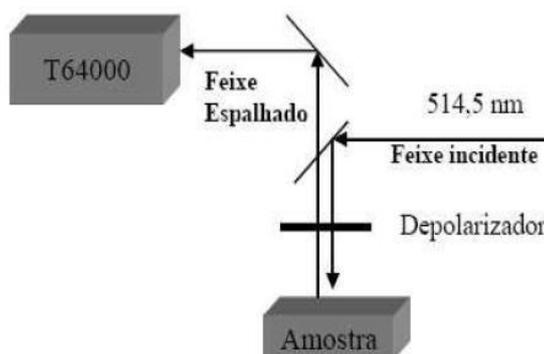


Figura 6 – Espectrômetro Jobin-Yvon T64000 utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman [2].



espectros Raman do cristal de CYSCLM. Um laser de argônio (Ar), modelo Innova 70 da Coherent Inc, emitindo na linha de 514,5 nm e com uma potência de saída de 200 mW foi usado como fonte de excitação da amostra, sendo o feixe focalizado na amostra com o auxílio de um microscópio da marca Olympus BX40 equipado com uma lente de distância focal de 20 mm e abertura numérica 0,35.

Os espectros Raman obtidos através dos experimentos foram devidamente analisados utilizando os *softwares* Peak Fit da SPSS Inc. e Origin da Original Lab Corporation. Os espectros foram ajustados por decomposição dos picos, sendo utilizada a função lorentziana. Em seguida, foram extraídos os dados referentes à posição e à largura a meia altura das bandas Raman.

i. Experimentos de espectroscopia Raman a baixas temperaturas

Nos experimentos de espectroscopia Raman à baixas temperaturas, os espectros foram coletados usando 3 acumulações de 120 segundos e um intervalo de tempo de 20 minutos para que o cristal atingisse a estabilidade térmica em cada valor de temperatura. Vale ressaltar que, além dos equipamentos de espectroscopia Raman, foi utilizada uma câmara de temperatura modelo THMS600 da Linkan Instruments (Figura 7) resfriada a nitrogênio líquido.

Figura 7 – Câmara de temperatura utilizada no experimento de espectroscopia à baixas temperaturas.

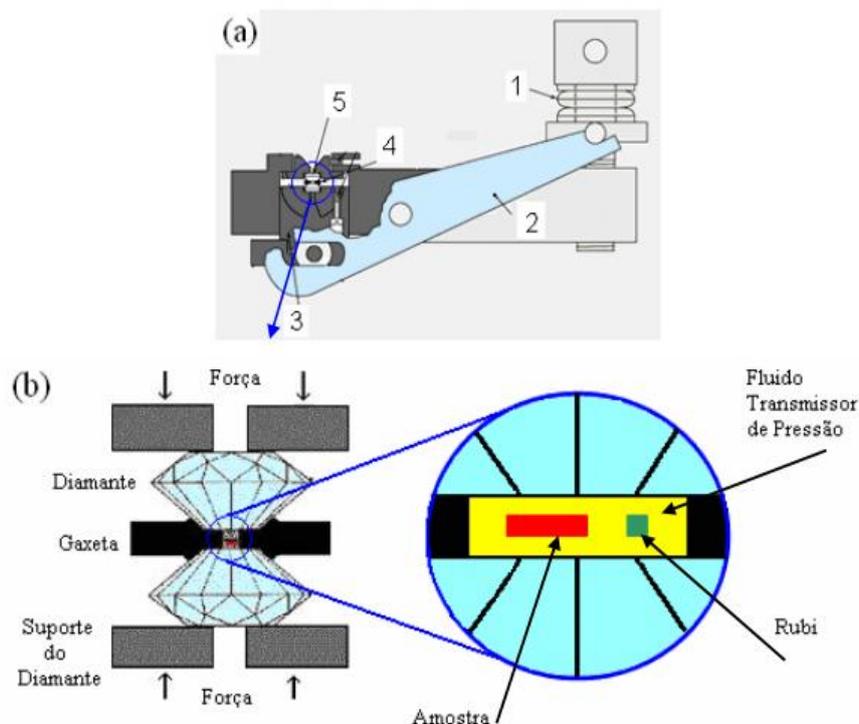


ii. Experimentos de espectroscopia Raman a altas pressões

Na realização dos experimentos Raman em condições de altas pressões, foi utilizada a célula de pressão do tipo bigorna de diamante (DAC, do inglês) [23]. O esquema da célula de pressão utilizada é mostrado na Figura 8(a-b).

A célula de pressão é constituída dos seguintes componentes: parafuso principal, arruelas, alavanca, dois diamantes e uma gaxeta metálica (com cavidade para receber a amostra). O funcionamento da célula de pressão é baseado na compressão da amostra imersa em um fluido transmissor de pressão colocados dentro de uma gaxeta junto com um fragmento de rubi ($\text{Al}_2\text{O}_3: \text{Cr}^{3+}$) entre os extremos dos dois diamantes, através da aplicação de uma força externa. A gaxeta é uma peça metálica feita de aço inoxidável com espessura de 150 μm . A força exercida nos diamantes é produzida pela rotação do parafuso (1), considerado o responsável direto pelo controle da pressão durante a execução do experimento e é transmitida ao diamante montado sobre o pistão móvel (3) por meio da alavanca (2). E então, a câmara (4) onde está localizada a amostra (gaxeta) é pressionada contra o diamante fixo (5) conforme ressaltado anteriormente.

Figura 8 – (a) Modelo da célula de pressão utilizada nos experimentos; (b) Vista ampliada da gaxeta e dos diamantes [1].



O fluido transmissor de pressão utilizado neste trabalho foi o óleo mineral nujol, devido ao fato de que a amostra de CYSCLM apresentar baixa solubilidade em relação a esse solvente, o que não acontece com outros meios de transmissão de pressão, como, por exemplo, metanol-água, metanol-etanol-água. Além disso, o óleo mineral apresenta boas condições hidrostáticas para valores de pressão até ~7,0 GPa [2]. No experimento realizado nesse trabalho, os espectros Raman foram tomados para valores de pressão entre 0,0 (pressão ambiente) e 6,2 GPa.

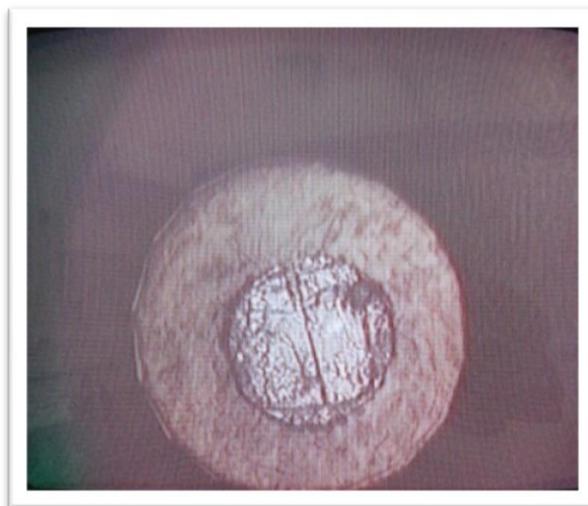
A pressão hidrostática no interior da célula pode ser encontrada usando as linhas de luminescência do rubi pela expressão:

$$P(\text{GPa}) = \frac{\omega_{\text{Ri}} - \omega_{\text{Ri}}^{(P=0)}}{7,535}, \quad (11)$$

onde ω_{Ri} é a posição da linha de luminescência do rubi (dada em cm^{-1}) para uma dada pressão P (dada em GPa) e $\omega_{\text{Ri}}^{(P=0)}$ é a posição da mesma linha à pressão ambiente [2].

A Figura 9 apresenta uma imagem do cristal de CYSCLM no interior da célula de pressão.

Figura 9 – Cristal de CYSCLM no interior da célula de pressão.



Capítulo 4 – Cloridrato de L-Cisteína

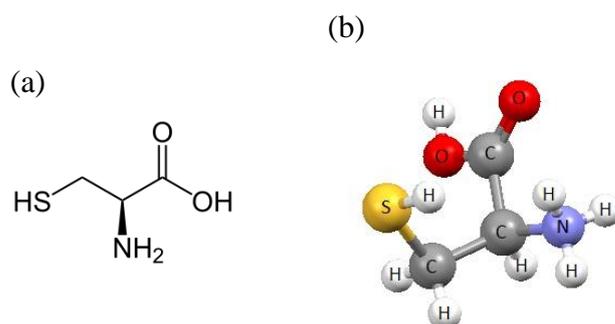
Monohidratado à Temperatura Ambiente

Neste capítulo são apresentadas as características estruturais do cristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado bem como uma análise descritiva do aminoácido L-cisteína. A teoria de grupos para o cristal estudado e os resultados obtidos utilizando espectroscopia Raman à temperatura ambiente são apresentados, além da classificação tentativa dos modos vibracionais observados.

4.1 Descrição do Cloridrato de L-cisteína Monohidratado

À temperatura ambiente, o cristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado estudado, cuja fórmula molecular é $C_3H_7NO_2 \cdot HCl \cdot H_2O$, apresenta estrutura ortorrômbica com quatro fórmulas moleculares por célula unitária. A fórmula estrutural apenas do aminoácido cisteína assim como sua fórmula tridimensional são representadas na Figura 10(a-b).

Figura 10 – (a) Fórmula estrutural planar da L-cisteína; (b) Fórmula estrutural atômica da L-cisteína na forma zwitteriônica.



A cisteína tem sido tradicionalmente considerada um aminoácido hidrofílico, baseada na comparação entre o seu grupo tiol (SH) e a hidroxila presente nas cadeias laterais de outros aminoácidos polares. Contudo, observou-se que a cadeia lateral de cisteína estabiliza as interações hidrofóbicas em micelas a um grau maior do que

cadeias laterais de aminoácidos como a glicina (apolar) e a serina (polar) [24]. Na escala de hidrofobicidade, que classifica os aminoácidos desde os mais hidrofóbicos até os mais hidrofílicos, a cisteína se situa na extremidade hidrofílica do espectro, mesmo quando se baseiam em métodos que não são influenciados pela tendência da cisteína de formar ligações dissulfureto em proteínas. Portanto, a cisteína se situa entre os aminoácidos hidrofílicos, embora às vezes também classificada como ligeiramente polar.

Em condições ambiente, a L-cisteína pode cristalizar-se em três diferentes estruturas: monoclinica (grupos espaciais C_2^2 ou C_2^1) [25–27] e ortorrômbica (grupo espacial D_2^4) [28,29]. A forma monoclinica do cristal de L-cisteína é relatada em uma investigação à temperatura ambiente, baseada em estudos sob filmes onde os átomos de hidrogênio não foram determinados [25] e um estudo a 123 K [27]. A forma ortorrômbica foi relada em dois estudos: um estudo utilizando difração de raios-X à temperatura ambiente [28], e outro com difração de nêutrons [29]. Somente em 1999, a forma racêmica da cisteína no estado sólido - a DL-cisteína - teve sua estrutura determinada (monoclinica com grupo espacial C_2^2) [30].

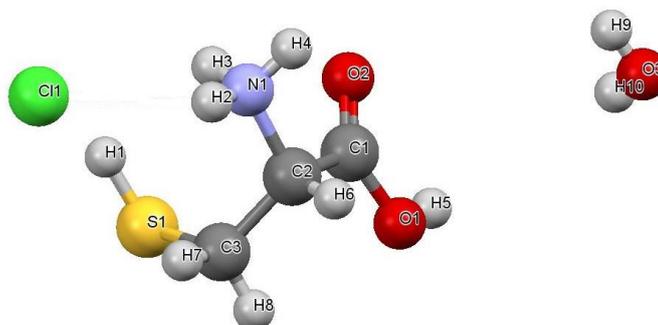
A cisteína também pode ser encontrada na forma de cloridrato de cisteína, contudo sua estrutura cristalográfica ainda não foi determinada experimentalmente. Apesar disso, a mesma foi estudada em condições de altas pressões em trabalhos anteriores [2]. O cloridrato de L-cisteína também pode ser encontrado comercialmente na forma hidratada, e sua estrutura cristalográfica foi determinada inicialmente por Ayyar em 1968 [31] e posteriormente foi confirmada por Chapman e Brice em 2007 [22].

O cristal de (CYSCLM) estudado neste trabalho apresenta estrutura ortorrômbica com grupo espacial D_2^4 ($P2_12_12_1$), e sua célula unitária tem as dimensões : $a = 5,4588(9)$ Å, $b = 7,1570(11)$ Å e $c = 19,389(3)$ Å [22]. Os principais dados cristalográficos são apresentados na Tabela 2. A unidade assimétrica da fórmula molecular da CYSCLM é apresentada na Figura 11 com a identificação dos seus respectivos átomos. Nesta figura, é possível perceber que o átomo de hidrogênio pertencente ao ácido clorídrico se liga ao grupo amina (NH_2), tornando-o NH_3^+ .

Tabela 2 – Dados cristalográficos para o cristal de CYSCLM.

Fórmula molecular	$C_3H_7NO_2S \cdot HCl \cdot H_2O$
Massa molar	156,16 g/mol
Estrutura Cristalina	Ortorrômbica
Grupo espacial	$P2_12_12_1 (D_2^4)$
Parâmetros de rede	$a = 5,4588(9) \text{ \AA}$ $b = 7,1570(11) \text{ \AA}$ $c = 19,389(3) \text{ \AA}$
Volume da célula unitária	$772,502 \text{ \AA}^3$
Número de fórmulas por célula unitária	4

Figura 11 – Unidade assimétrica da fórmula molecular da CYSCLM.



A célula unitária do cristal de CYSCLM, determinada por Chapman e Brice a partir de difração de raios-X [22], é mostrada na Figura 12, assim como as interações intermoleculares existentes no cristal de CYSCLM. Esta figura mostra que a estrutura cristalina é estabilizada por ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo N-H...Cl, N-H...O, O-H...Cl e S-H...Cl.

Os comprimentos e os ângulos das ligações de hidrogênio no cristal foram determinados usando o programa Platon versão 7.17 [32], e encontram-se listados na Tabela 3. Observamos que nitrogênio está ligado ao átomo de cloro e aos dois átomos pertencentes à molécula de água através de ligações de hidrogênio, aproximadamente em direções tetraédricas. A hidroxila (OH), pertencente à carboxila, está envolvida como doadora na formação de uma ligação de hidrogênio com o átomo de cloro, enquanto o outro átomo de oxigênio não faz qualquer ligação de hidrogênio. O átomo de oxigênio da água além de ser aceitador em duas ligações de hidrogênio com o nitrogênio atua como doador em duas ligações com átomos de cloro vizinhos. É

Figura 12 – Célula unitária do cristal de CYSCLM.

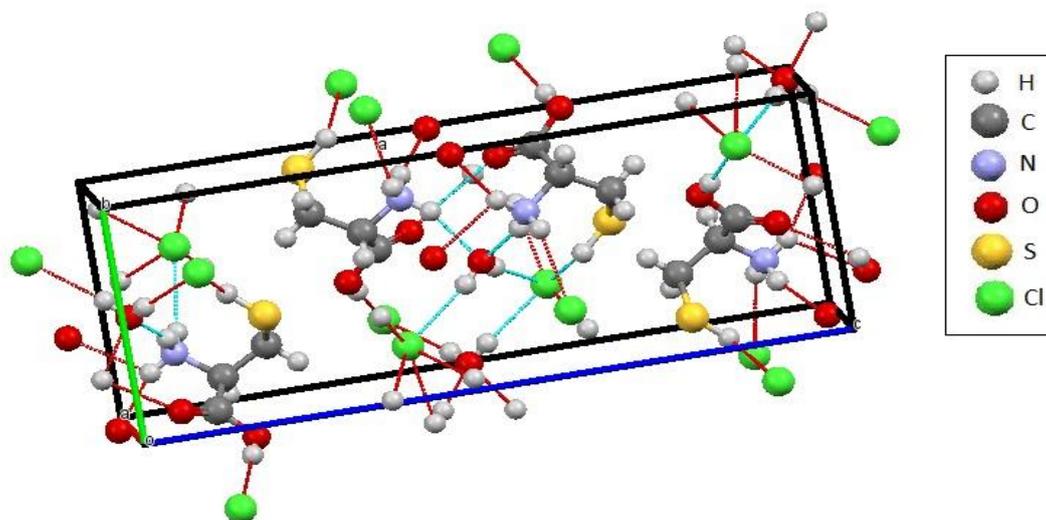


Tabela 3 – Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do cristal CYSCLM.

Ligações D-H...A	Distância (Å) H...A	Distância (Å) D...A	Ângulo (°) D-H...A
S(1)-H(1)...Cl(1)	2,81	3,4740(9)	114
N(1)-H(2)...Cl(1)	2,54	3,2211(16)	133
N(1)-H(3)...O(3)*	2,00	2,859(2)	160
N(1)-H(4)...O(3)*	2,02	2,8778(2)	158
O(1)-H(5)...Cl(1)	2,21	3,0324(13)	174
O(3)-H(9)...Cl(1)**	2,39(3)	3,2076(16)	167(2)
O(3)-H(10)...Cl(1)**	2,40(3)	3,2142(17)	169(3)

*, **: ligações com moléculas distintas.

importante ressaltar que o comprimento da ligação de hidrogênio S-H...Cl parece relativamente alto quando comparado com os outros comprimentos da Tabela 3. De fato, a distância entre os átomos de enxofre e cloro é $\sim 3,50$ Å, ligeiramente menor que a soma dos raios de van der Waals (1,80 Å para o cloro e 1,75 Å para o enxofre), o que confirma a existência de tal ligação [22]. No entanto essa interação é fraca, visto que o ângulo de ligação C(3)-S-Cl mede 151° , significativamente diferente do esperado (100°) [22]. Além disso, é importante ressaltar ao observar na Tabela 3 o enxofre como doador em uma ligação de hidrogênio é atípico.

4.2 Teoria de Grupos

O cloridrato de L-cisteína monohidratado (CYSCLM), cuja fórmula molecular é $C_3H_7NO_2S \cdot HCl \cdot H_2O$, possui 19 átomos por fórmula molecular e quatro fórmulas por célula unitária, o que totaliza 76 átomos por célula unitária. Assim, são previstos 228 modos normais de vibração. Sabendo que o cristal de CYSCLM pertence ao grupo espacial D_2^4 ($P2_12_12_1$), usaremos o método dos sítios de simetria proposto por Rousseau *et al.* [33] para obter o número de modos vibracionais previsto para esse material. Os possíveis sítios de simetria ocupados por este material são:

$$D_2^4 = [aC_1(4)], \quad (12)$$

indicando que todos os sítios possuem simetria local C_1 e são ocupados por quatro átomos. Os quatro átomos de cada sítio de simetria contribuem com 12 modos de vibração distribuídos entre as representações irreduzíveis do grupo D_2 da forma $3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3$. Desta forma, a representação total (Γ) dos modos normais de vibração do CYSCLM decomposta em termos das representações irreduzíveis do grupo pontual é dada por:

$$\Gamma = 19(3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3) = 57(A + B_1 + B_2 + B_3). \quad (13)$$

Os 228 modos normais de vibração estão distribuídos entre modos acústicos e ópticos da seguinte forma:

$$\Gamma_{acústicos} = B_1 + B_2 + B_3, \quad (14)$$

$$\Gamma_{ópticos} = 57A + 56(B_1 + B_2 + B_3). \quad (15)$$

Os 225 modos ópticos, por sua vez, estão distribuídos entre 21 modos externos e 204 modos internos:

$$\Gamma_{externos} = 6A + 5(B_1 + B_2 + B_3) \quad (16)$$

e

$$\Gamma_{internos} = 51(A + B_1 + B_2 + B_3), \quad (17)$$

onde todos os modos são Raman ativos e somente os modos com simetria B_1 , B_2 e B_3 são infravermelho ativos.

4.3 Espectroscopia Raman à Temperatura Ambiente

Com intuito de caracterizar o cristal de CYSCLM, inicialmente o espectro Raman da amostra foi coletado à temperatura ambiente, e os modos vibracionais observados foram classificados. A classificação tentativa dos modos vibracionais foi realizada por comparação com bandas previamente classificadas em outros cristais de aminoácidos, dando ênfase aos resultados obtidos em cristais de cisteína. É importante mencionar que as vibrações, na maioria dos casos, não estão precisamente localizadas em uma parte da molécula. Portanto, a classificação estimada nas seções posteriores corresponde à vibração com maior contribuição para a banda classificada. Para facilitar a classificação, o espectro vibracional foi dividido em cinco regiões.

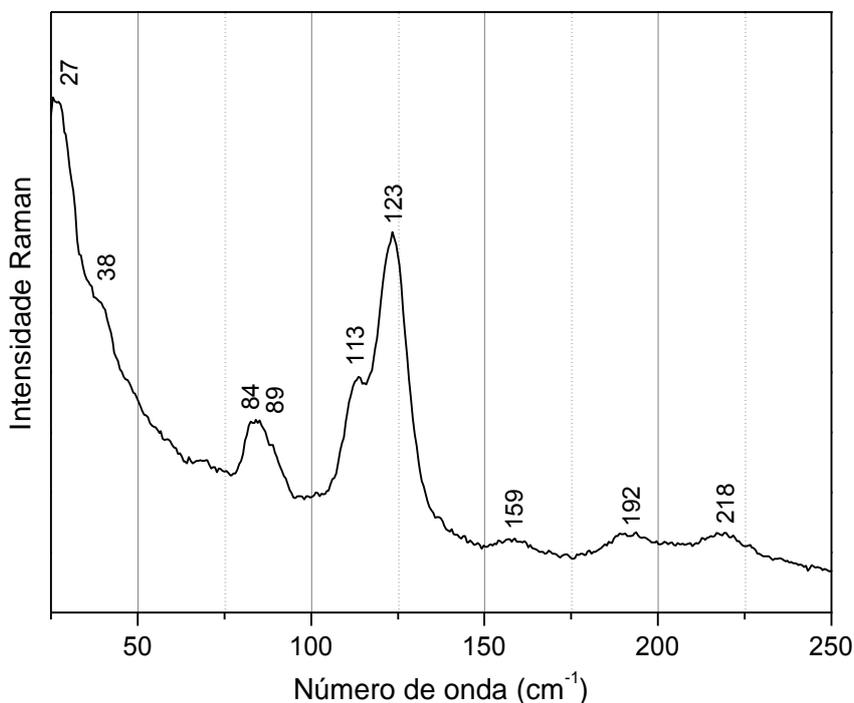
i. Região espectral entre 20 e 250 cm^{-1}

Nesta região espectral são encontrados os modos externos de vibração do cristal e vibrações internas de baixas energias, fundamentais para o entendimento da estabilidade estrutural do material. A classificação desses modos vibracionais é uma tarefa difícil, mesmo com o auxílio dos métodos computacionais nem sempre é possível calcular o espectro vibracional para esta região de baixo número de onda.

O espectro Raman do cristal de CYSCLM para a região espectral entre 25 e 250 cm^{-1} é mostrado na Figura 13. Nesta região espectral são encontrados 9 modos de vibração. Tratando-se de aminoácidos, costuma-se classificar como modos externos os modos com número de onda inferior a 200 cm^{-1} [1], embora nessa região também estejam presentes vibrações de deformação do esqueleto da molécula e vibrações associadas aos grupos terminais (NH_3^+ e COOH) [34]. O valor limite para o número de onda relativo aos modos externos de vibração do cristal ainda é uma questão em aberto [34]. Além disso, as vibrações internas da molécula que consistem apenas de uma rotação de pequena parte da molécula (ou a dobra de um fragmento), aparecem como vibrações com baixo número de onda [35].

No entanto, a banda observada em 159 cm^{-1} pode ser atribuída à uma torção do SH, $\tau(\text{SH})$. A mesma vibração foi observada em 169 cm^{-1} na L-cisteína [36] e em 160 cm^{-1} no cloridrato de L-cisteína [2]. Portanto, com exceção de tal banda, todos os modos observados nesta região foram classificados como modos da rede.

Figura 13 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 25 a 250 cm^{-1} .



ii. Região espectral entre 250 e 650 cm^{-1}

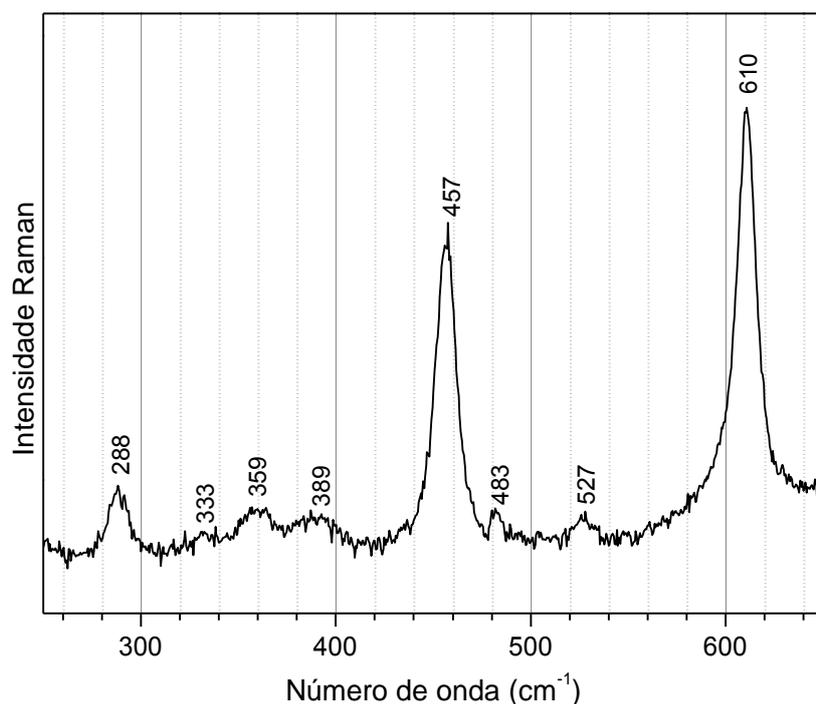
Nesta região são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula - $\delta(\text{CCC})$, $\delta(\text{CCN})$ e $\delta(\text{CCS})$, torção e estiramento do grupo SH. As bandas desta região são sensíveis às mudanças nas conformações moleculares [37]. O espectro Raman para a região espectral entre 250 e 650 cm^{-1} são ilustrados na Figura 14.

As bandas localizadas em 288 e 389 cm^{-1} foram classificadas como deformações do esqueleto da molécula de L-cisteína, em concordância com Minkov *et al.* [37–40]. A banda posicionada em 359 cm^{-1} corresponde à torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, visto que esta vibração foi observada na L-cisteína em 364 cm^{-1} [36].

Em 333 cm^{-1} , é possível observar uma banda pouco intensa. Essa banda pode estar associada à torção do CSH, $\tau(\text{CSH})$, de acordo com trabalho anterior realizado na taurina [41,42].

A banda localizada em 457 cm^{-1} foi classificada como uma deformação do CCN, $\delta(\text{CCN})$, em concordância com Minkov *et al.* [38–40] e Pawlukojć *et al.* [36]. As

Figura 14 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 250 a 650 cm^{-1} .



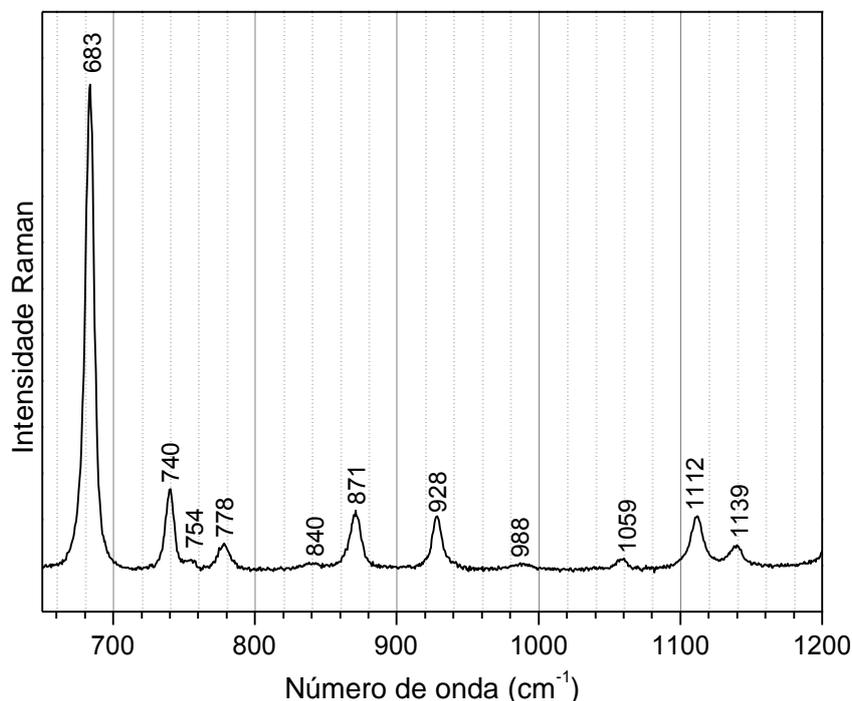
bandas de baixa intensidade observadas em 483 e 527 cm^{-1} foram identificadas como deformações do CCC, $\delta(\text{CCC})$, uma vez que esta vibração foi encontrada na L-cisteína em trabalhos anteriores [37,39,43].

A banda observada em 610 cm^{-1} (Figura 14) pode ser atribuída ao estiramento C-S, $\nu(\text{CS})$, visto que Minkov *et al.* [37] atribuíram esta classificação a um modo observado em 620 cm^{-1} na L-cisteína. Esta banda também foi observada em 611 cm^{-1} no cloridrato de L-cisteína [2].

iii. Região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1}

A Figura 15 apresenta o espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1} . Nesta região encontram-se os modos de vibração associados às deformações angulares da unidade COOH, vibrações do tipo *rocking* das unidades CH_2 e NH_3^+ e estiramentos CC e CN.

Figura 15 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 650 a 1200 cm^{-1} .



A banda observada em 683 cm^{-1} foi identificada como um estiramento CS, $\nu(\text{CS})$, uma vez que esta vibração foi encontrada na L-cisteína em 690 cm^{-1} [36,37,44]. A banda posicionada em 740 cm^{-1} foi identificada como torção do COH, $\tau(\text{COH})$. Esta vibração foi observada em 747 cm^{-1} na L-treonina [45] e em 732 cm^{-1} no cloridrato de L-lisina dihidratado [46].

A banda observada em 778 cm^{-1} pode ser atribuída ao *rocking* da unidade CH_2 , $r(\text{CH}_2)$, visto que Minkov *et al.* [37] atribuiu esta classificação a um modo observado em 775 cm^{-1} na L-cisteína. No espectro, a banda observada em 871 cm^{-1} foi classificada como um estiramento CC, $\nu(\text{CC})$, visto que esta vibração foi observada em 869, 871 e 877 cm^{-1} por diversos autores ao estudarem a L-cisteína [2,36,37].

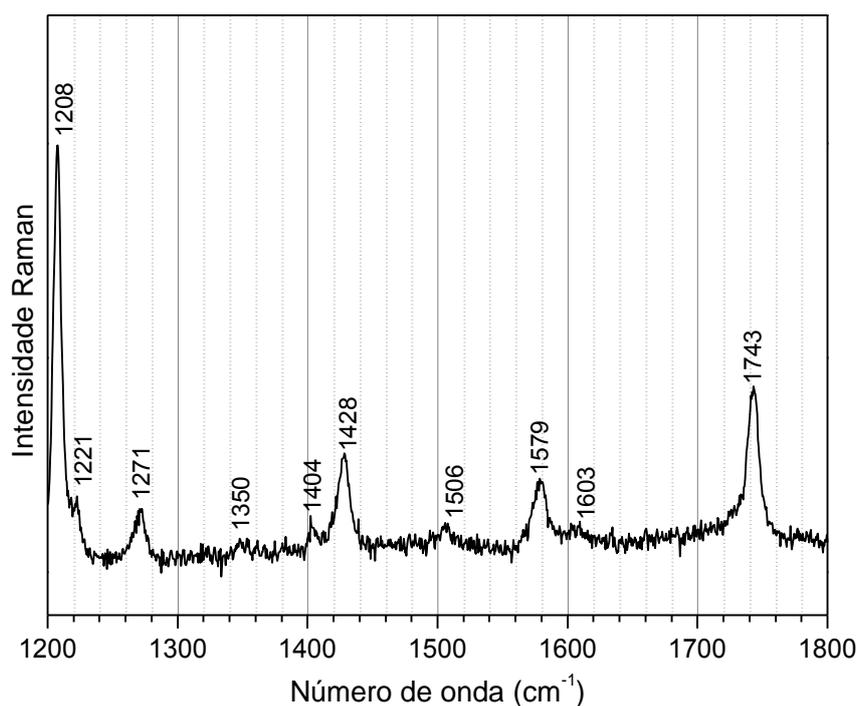
Em concordância com Minkov *et al.* [43], a banda posicionada em 988 cm^{-1} corresponde a uma deformação do SH, $\delta(\text{SH})$. Esta vibração foi observada na L-cisteína em 994 cm^{-1} . No entanto, no cristal de CYSCLM, a unidade SH participa de uma ligação de hidrogênio relativamente fraca, o que justifica o seu deslocamento para menores números de onda. A mesma classificação foi dada à banda localizada em 928 cm^{-1} , de acordo com Coelho [2].

Pawlukojć *et al.* [36], ao estudarem cristais de L-cisteína, observaram uma banda posicionada em 1061 cm^{-1} , e classificaram como uma vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$. Em concordância com esse resultado, atribuímos à banda observada em 1059 cm^{-1} a uma vibração do mesmo tipo, $r(\text{NH}_3^+)$. As bandas encontradas em 1112 e 1139 cm^{-1} foram associadas à deformações do CH, $\delta(\text{CH})$, em concordância com os resultados obtidos na L-cisteína em trabalhos anteriores [2,36–38].

iv. Região espectral entre 1200 a 1800 cm^{-1}

A Figura 16 apresenta o espectro Raman do cristal CYSCLM na região espectral entre 1200 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} . Esta região contém bandas associadas a deformações das unidades COOH, CH, CH_2 e NH_3^+ , estiramento da unidade C=O, entre outras.

Figura 16 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 1200 a 1800 cm^{-1} .



A banda observada em 1208 cm^{-1} foi classificada como uma vibração do tipo *twisting* do CH_2 , $\text{tw}(\text{CH}_2)$. Vibrações desse tipo foram observadas na L-cisteína em 1203 e 1207 cm^{-1} [2,36] e na DL-cisteína em 1211 cm^{-1} [40].

Rosado *et al.* [47], ao estudarem a β -alanina através de espectroscopia vibracional, classificaram um modo de vibração localizado em 1221 cm^{-1} como uma deformação do COH, $\delta(\text{COH})$. Utilizando esta referência, classificamos da mesma forma a banda localizada em 1221 cm^{-1} no espectro Raman. A banda observada em 1271 cm^{-1} foi atribuída a uma vibração do tipo *rocking* do CH, $r(\text{CH})$, visto que a mesma vibração foi encontrada na L-cisteína em 1267 e 1268 cm^{-1} [36,40].

A banda observada em 1350 cm^{-1} foi classificada como uma deformação simétrica da unidade NH_3^+ , $\delta_s(\text{NH}_3^+)$, o que concorda com os resultados obtidos por Kolesov *et al.* [43] e Minkov *et al.* [37,40], ao estudarem a L-cisteína.

Uma banda com baixa intensidade posicionada em 1404 cm^{-1} foi atribuída a uma deformação OH pertencente ao ácido carboxílico, $\delta(\text{OH})$, a mesma vibração foi observada em 1401 cm^{-1} no L-cisteína [48].

Uma banda localizada em 1428 cm^{-1} foi atribuída a uma deformação da unidade CH_2 , $\delta(\text{CH}_2)$. A mesma vibração foi observada em 1424 , 1426 e 1429 cm^{-1} na L-cisteína [36,43,48].

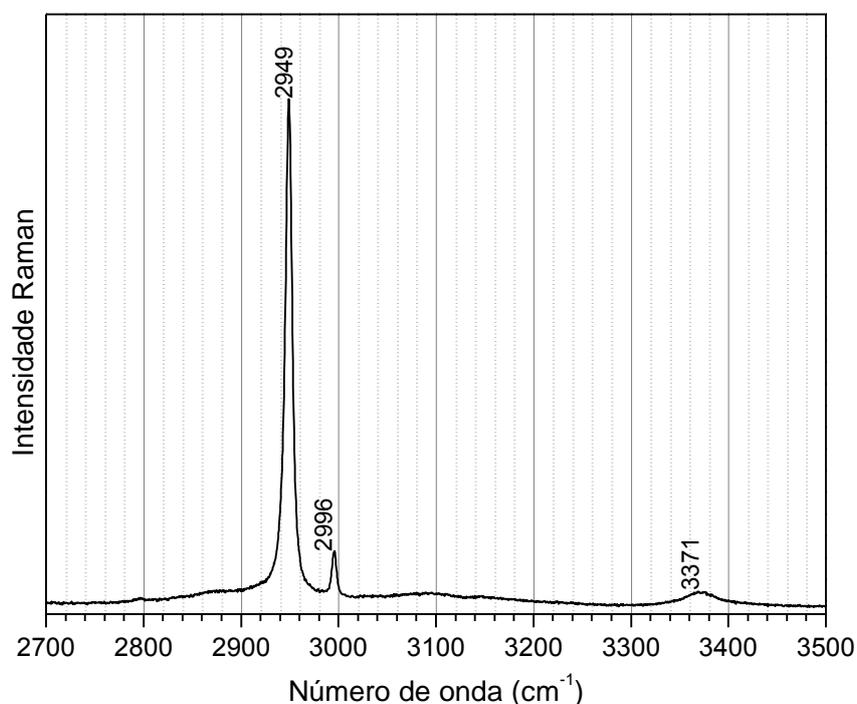
As bandas observadas em 1579 e 1603 cm^{-1} correspondem a deformações antissimétrica da unidade NH_3^+ , $\delta_a(\text{NH}_3^+)$. Na L-cisteína esta vibração foi encontrada em 1578 cm^{-1} [43], em 1580 cm^{-1} [36], em 1580 cm^{-1} [2] e em 1603 cm^{-1} [2].

A última banda desta região, localizada em 1743 cm^{-1} , foi identificada como um estiramento C=O, $\nu(\text{C=O})$, em virtude desta vibração aparecer em 1731 cm^{-1} no nitrato de ácido DL-aspártico monohidratado [49] e em 1735 cm^{-1} na glicina [50]. Vale ressaltar que, normalmente, os aminoácidos anidros (em estado sólido) apresentam-se na forma zwitteriônica, onde o hidrogênio pertencente ao grupo carboxílico (COOH) é cedido ao grupo amina (NH_2) tornando-os CO_2^- e NH_3^+ , e estas unidades participam diretamente das ligações de hidrogênio. No caso do cristal de CYSCLM, o grupo carboxílico não cede o hidrogênio para a amina quem o faz é a molécula de H_2O presente na estrutura. A diferença no número de onda da banda referente à vibração de estiramento C=O dos grupos CO_2^- e COOH é significativa (da ordem de 150 cm^{-1} neste caso).

v. Região espectral entre 2700 a 3500 cm^{-1}

A Figura 17 apresenta o espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1} . Esta região é caracterizada por vibrações do tipo estiramento das unidades CH, CH_2 , NH_3^+ e OH. Estas bandas fornecem informações sobre a conformação molecular no interior do cristal, ou seja, esta região é muito sensível a mudanças conformacionais. É importante ressaltar que, como as bandas associadas às unidades NH_3^+ e OH participam diretamente de ligações de hidrogênio, as mesmas podem sofrer deslocamentos para menores números de onda em condições ambiente.

Figura 17 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 2700 a 3500 cm^{-1} .



Na Figura 17 é possível observar somente 3 bandas. Uma observação inicial é de que o cristal estudado encontra-se na forma hidratada. De fato, uma banda larga centrada em 3371 cm^{-1} é observada no espectro relativo ao estiramento O-H, $\nu(\text{OH})$, pertencente à água. Esta vibração também foi observada no cloridrato de L-histidina monohidratado (3371 cm^{-1}) [6] e no nitrato de ácido DL-aspartico monohidratado (3434 cm^{-1}) [49].

Minkov *et al.* [37], ao estudarem a L-cisteína atribuíram a banda localizada em 2959 cm^{-1} ao estiramentos do CH, $\nu(\text{CH})$. Assim, atribuímos a mesma classificação à banda observada em 2949 cm^{-1} .

A banda localizada em 2996 cm^{-1} foi classificada como um estiramento antissimétrico da unidade CH_2 , $\nu_a(\text{CH}_2)$, em concordância com os resultados obtidos por diversos autores em estudos realizados na cisteína e em outros aminoácidos [11,12,37,43,48,51].

Nesta região nenhuma banda foi atribuída ao estiramento do grupo NH_3^+ . Possivelmente o fator explicativo para não a visualização desta banda é que esta unidade está ligada a três pontes de hidrogênio, o que resultaria em uma banda larga e pouco intensa, não possibilitando uma análise quantitativa.

4.4 Considerações Finais

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados em cristais de CYSCLM na região espectral entre 25 e 3500 cm^{-1} . A classificação tentativa dos modos vibracionais observados está listada na Tabela 4.

Tabela 4 – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de CYSCLM à temperatura ambiente.

Número de onda (cm^{-1})	Classificação	Referências
27	Rede	[1,34]
38	Rede	[1,34]
84	Rede	[1,34]
89	Rede	[1,34]
113	Rede	[1,34]
123	Rede	[1,34]
159	$\tau(\text{SH})$	[2,36]
192	Rede	[1,34]
218	Rede	[1,34]
288	$\delta(\text{esq.})$	[37–40]
333	$\tau(\text{CSH})$	[41,42]
359	$\tau(\text{NH}_3^+)$	[36]
389	$\delta(\text{esq.})$	[37–40]
457	$\delta(\text{CCN})$	[36,38–40]

Tabela 4 (continuação) – Classificação tentativa dos modos normais de vibração do cristal de CYSCLM à temperatura ambiente.

Número de onda (cm ⁻¹)	Classificação	Referências
483	$\delta(\text{CCC})$	[37,39,43]
527	$\delta(\text{CCC})$	[37,39,43]
610	$\nu(\text{CS})$	[2]
683	$\nu(\text{CS})$	[36,37,44]
740	$\tau(\text{COH})$	[45,46]
754		
778	$r(\text{CH}_2)$	[37]
840		
871	$\nu(\text{CC})$	[2,36,37]
928	$\delta(\text{SH})$	[2]
988	$\delta(\text{SH})$	[43]
1059	$r(\text{NH}_3^+)$	[36]
1112	$\delta(\text{CH})$	[2,36–38]
1139	$\delta(\text{CH})$	[2,36–38]
1208	$\text{tw}(\text{CH}_2)$	[2,36,40]
1221	$\delta(\text{COH})$	[47]
1271	$r(\text{CH})$	[36,40]
1350	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$	[37,40,43]
1404	$\delta(\text{OH})$	[48]
1428	$\delta(\text{CH}_2)$	[36,43,48]
1506		
1579	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	[2,36,43]
1603	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	[2]
1743	$\nu(\text{C=O})$	[49,50]
2949	$\nu(\text{CH})$	[37]
2996	$\nu_a(\text{CH}_2)$	[11,12,37,43,48,51]
3371	$\nu(\text{OH})$	[6,49]

Capítulo 5 – Cloridrato de L-Cisteína Monohidratado à Baixas Temperaturas

Neste capítulo apresentamos os resultados de espectroscopia Raman no cristal de CYSCLM submetido às condições de baixas temperaturas (no intervalo entre -160 e 20°C) com o objetivo de verificar sua estabilidade em relação à estrutura cristalina. Além disso, o comportamento dos modos vibracionais é discutido, e os coeficientes do ajuste linear do número de onda em função da temperatura são determinados.

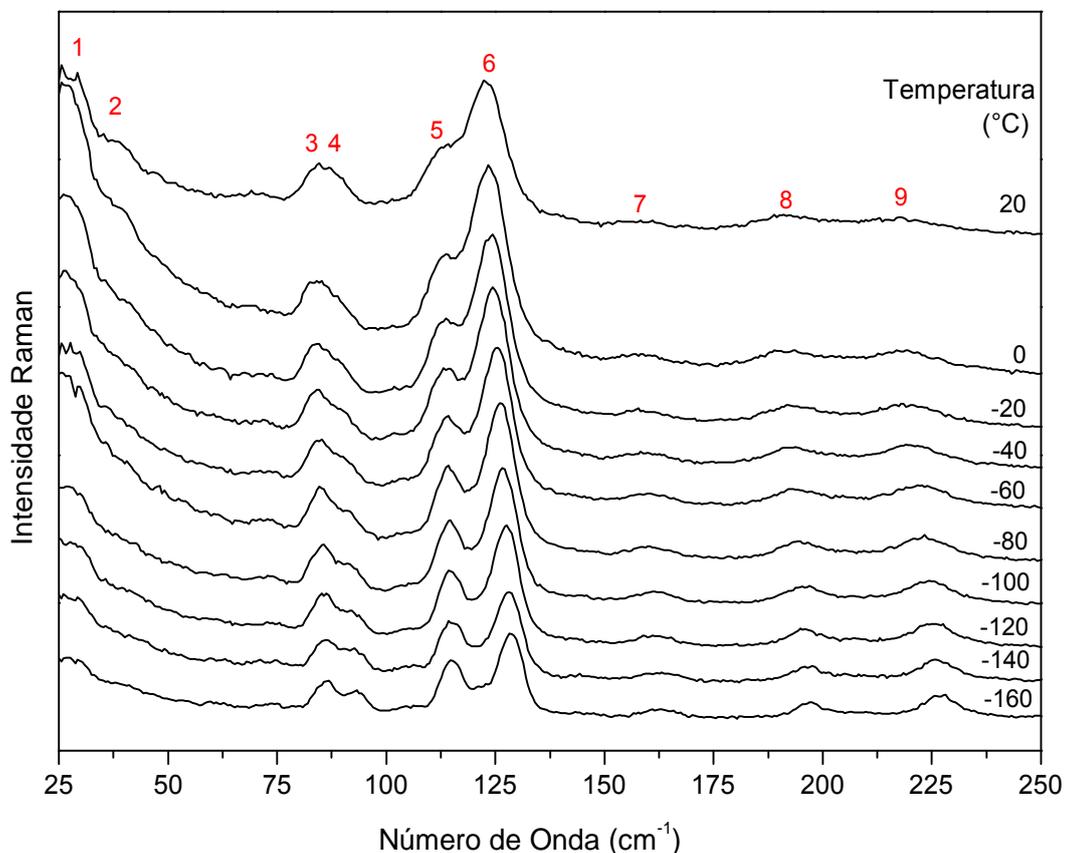
Após a obtenção dos espectros, os dados foram ajustados utilizando o programa Peakfit da SPSS Inc para realizar a decomposição das bandas. Em seguida, foram extraídos dados como posição e largura de linha das bandas Raman observadas. Para facilitar a discussão, os espectros Raman foram divididos em cinco regiões que são mostradas a seguir.

5.1 Região espectral entre 25 e 250 cm^{-1}

A Figura 18 apresenta o espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral entre 25 e 250 cm^{-1} , no processo de arrefecimento. Essa região é característica dos modos associados às vibrações intermoleculares do cristal (modos da rede) que estão diretamente relacionados com a estabilidade estrutural do material. Portanto, mudanças como o aparecimento e/ou desaparecimento de bandas nessa região são fortes indícios de uma transição de fase estrutural sofrida pelo cristal.

Da Figura 18 pode-se observar que o perfil qualitativo do espectro é mantido à medida que a temperatura é reduzida. No entanto, algumas bandas que aparecem com números de onda próximos, como as bandas numeradas no espectro como 3 e 4, e 5 e 6, afastam-se uma das outras com a diminuição da temperatura. As bandas 1 e 2 deslocam-se para menores números de onda (*red shift*), não sendo possível determinar seus números de onda para todos os valores de temperatura; ou seja, apenas uma análise qualitativa pode ser feita com relação ao comportamento destas bandas.

Figura 18 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 25 a 250 cm^{-1} .



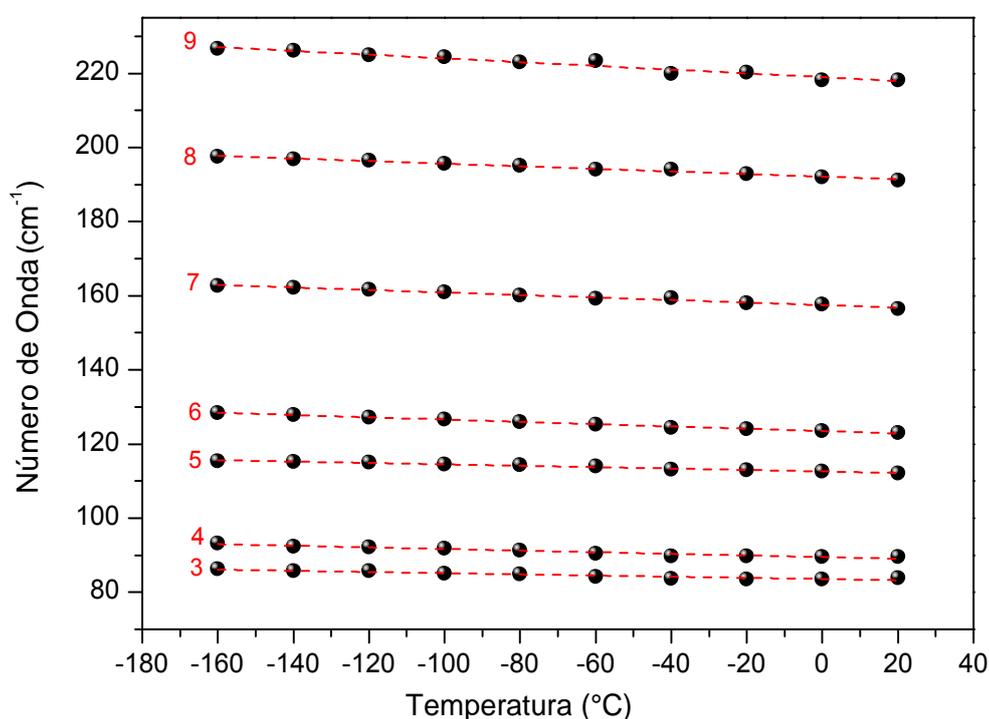
Dois picos foram usados para ajustar uma banda com número de onda de aproximadamente 80 cm^{-1} (numeradas como 3 e 4). Com a diminuição da temperatura estas bandas afastam-se e encontram-se completamente separadas para temperaturas menores que $-100 \text{ }^{\circ}\text{C}$. O mesmo acontece com as bandas de números 5 e 6.

As bandas 7 e 8 apresentadas no espectro Raman possuem baixas intensidades mesmo às menores temperaturas obtidas durante o experimento. No entanto, a banda de número 9 (localizada em $\sim 220 \text{ cm}^{-1}$) apresenta baixa intensidade no espectro tomado a 20°C , mas torna-se mais intensa a medida que a temperatura é reduzida. A banda classificada como a torção do CSH, $\tau(\text{CSH})$, numerada como 7 no espectro da Figura 18, apresentou um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) com a redução da temperatura.

Ao longo dessa região espectral não foi verificada nenhuma mudança que venha a caracterizar uma transição de fase estrutural, apenas o estreitamento das bandas conforme ocorre a redução da temperatura.

Uma análise do comportamento do número de onda das bandas em função da temperatura pode auxiliar na verificação da estabilidade do material a baixas temperaturas. Normalmente, mudanças conformacionais sofridas pelas moléculas dentro do cristal são observadas apenas em uma análise minuciosa do comportamento do número de onda das bandas, como observado no cristal de L-histidina em baixas temperaturas [12], onde descontinuidades no número de onda *versus* temperatura foram observadas e associadas à mudanças conformacionais das moléculas no cristal. A Figura 19 apresenta o gráfico do número de onda *versus* temperatura, onde observa-se um comportamento linear do número de onda dos modos vibracionais observados com a diminuição da temperatura.

Figura 19 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 70 e 250 cm^{-1} .



Os números de onda dos modos desta região foram ajustados segundo uma reta cujo parâmetro é a temperatura, onde os coeficientes dos ajustes lineares dos modos desta região são apresentados na Tabela 5. Desta tabela é possível observar que todos os

modos sofrem um deslocamento para maiores números de onda (*blue shift*) com o arrefecimento, ou seja, o número de onda daquela vibração aumenta com a diminuição da temperatura, aumentando a energia de vibração das bandas.

Além de deslocamento das bandas, variações na intensidade e estreitamento das bandas mediante a redução da temperatura, não foram verificados indícios de mudanças nesta região. Esta região espectral está diretamente relacionada com as vibrações da rede, bem como aquelas que envolvem as ligações de hidrogênio do cristal. Desta forma, podemos afirmar que não existe nenhum indício de que o material sofra uma transição de fase estrutural para o intervalo de temperatura estudado. Este comportamento é semelhante ao que acontece com a L-histidina [13] e com a L-isoleucina [52], quando submetidos às condições de baixas temperaturas. O espectro Raman destes cristais, em particular para a região de vibração dos modos da rede, não apresentam qualquer evidência de transições de fase sofridas pelos cristais.

5.2 Região espectral entre 250 e 650 cm^{-1}

A Figura 20 apresenta os espectros Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral entre 250 e 650 cm^{-1} . Nesta região são observados os modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula e às vibrações de baixa energia, como já comentado no capítulo anterior.

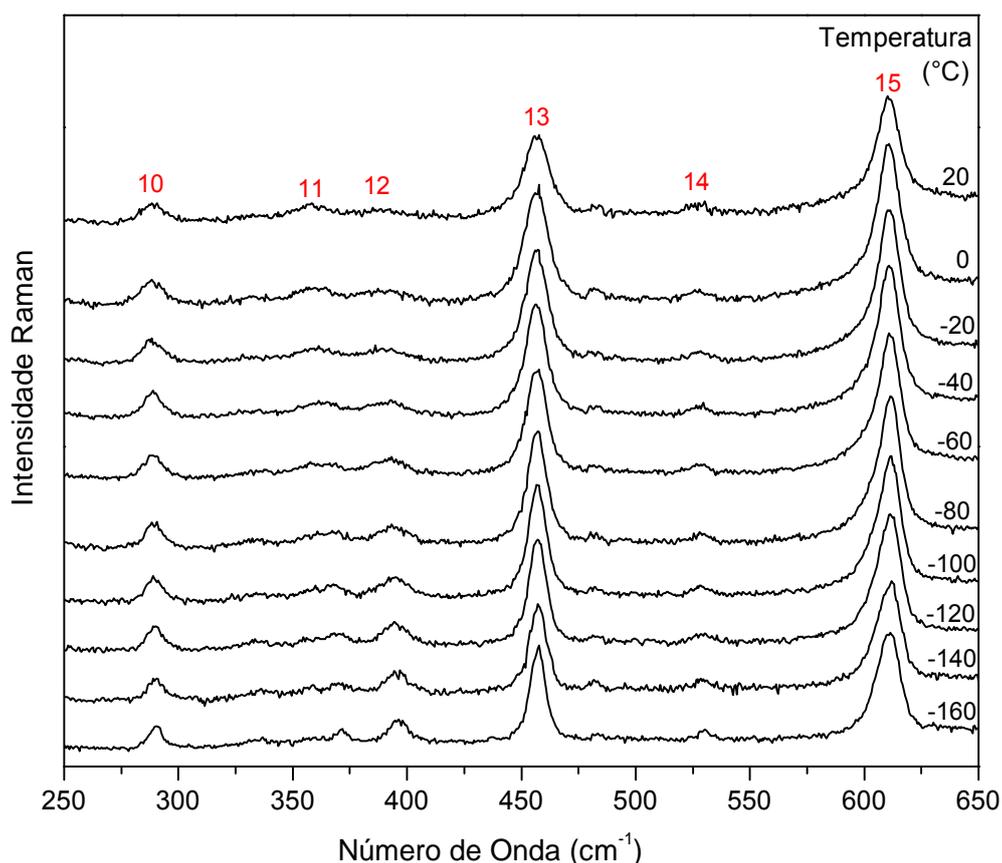
Da Figura 20 é possível perceber que, com a diminuição da temperatura, o perfil do espectro nesta região se mantém, verificando-se apenas o estreitamento das bandas, pequenas variações nas intensidades e um deslocamento das mesmas para maiores números de onda.

A banda localizada em $\sim 290 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 10), está associada com uma deformação do esqueleto da molécula. Com a diminuição da temperatura, esta banda permanece com a mesma intensidade; no entanto, com uma menor largura de linha (largura à meia altura). A banda identificada como 13, que foi classificada como uma deformação do CCN, $\delta(\text{CCN})$, apresenta estreitamento à baixas temperaturas. Essas duas bandas são sensíveis a mudanças no esqueleto da molécula, ou seja, são sensíveis a conformações moleculares. No entanto, nenhuma mudança foi observada à baixas temperaturas.

As bandas com números 11 e 14 apresentam baixa intensidade mesmo no espectro tomado a menor temperatura; diferentemente do observado para a banda de

número 12, que apresentou um aumento de intensidade com a diminuição da temperatura. Esta banda foi associada à uma deformação do esqueleto da molécula, δ (esq.).

Figura 20 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 250 a 650 cm^{-1} .

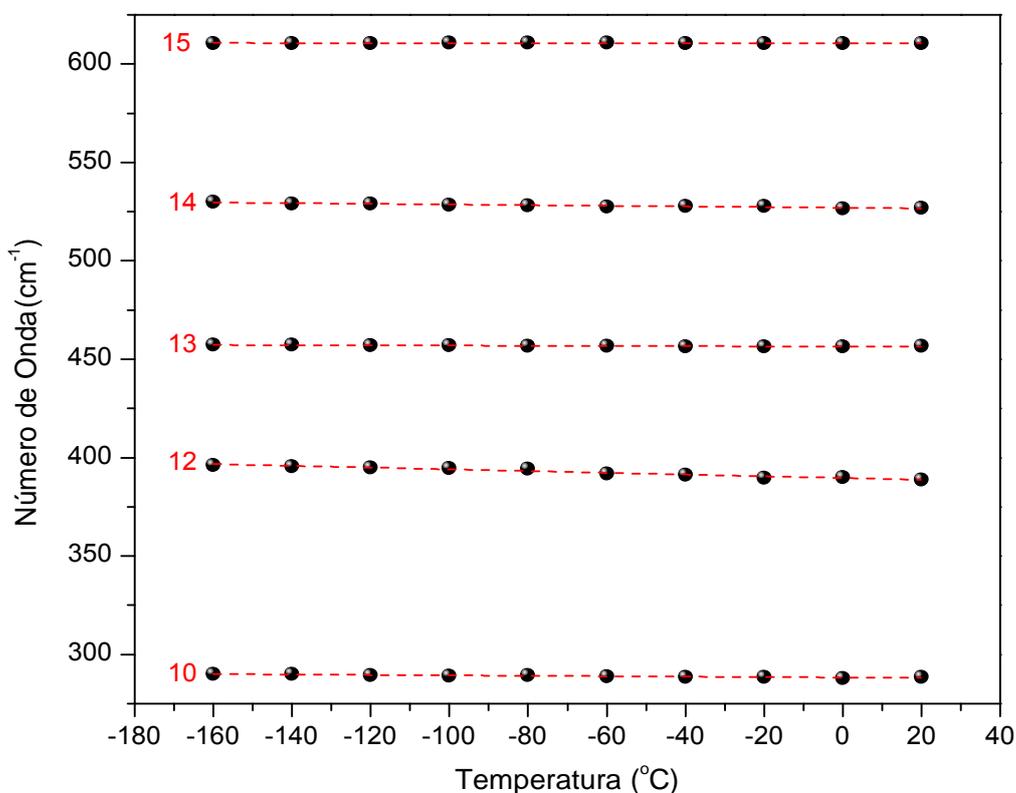


Uma importante banda está contida nesta região espectral - a banda associada à torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$ - que foi localizada durante a classificação tentativa em 359 cm^{-1} . Esta unidade participa diretamente de 3 ligações de hidrogênio, onde o comportamento da mesma pode fornecer informações sobre as ligações de hidrogênio das quais participa. Essa correlação do comportamento da banda associada à torção do NH_3^+ com o comportamento dinâmico das ligações de hidrogênio já foi realizado em diversos aminoácidos, como o cloridrato de L-histidina monohidratado [6,53]. Na L-alanina esta banda apresenta comportamento não-linear (anarmônico) variando em cerca de 13 cm^{-1} entre 300 e 120 K [53]. No caso da CYSCLM, o modo $\tau(\text{NH}_3^+)$ possui uma variação de 12,8 cm^{-1} do seu número de onda no intervalo de -160 a 20°C, resultando

que a sensibilidade desta banda mediante variações de temperatura é compatível com os resultados observados em outros aminoácidos.

A Figura 21 apresenta o número de onda *versus* temperatura dos modos observados nesta região espectral. É possível notar que essas bandas apresentam variação do número de onda com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos são apresentados na Tabela 5.

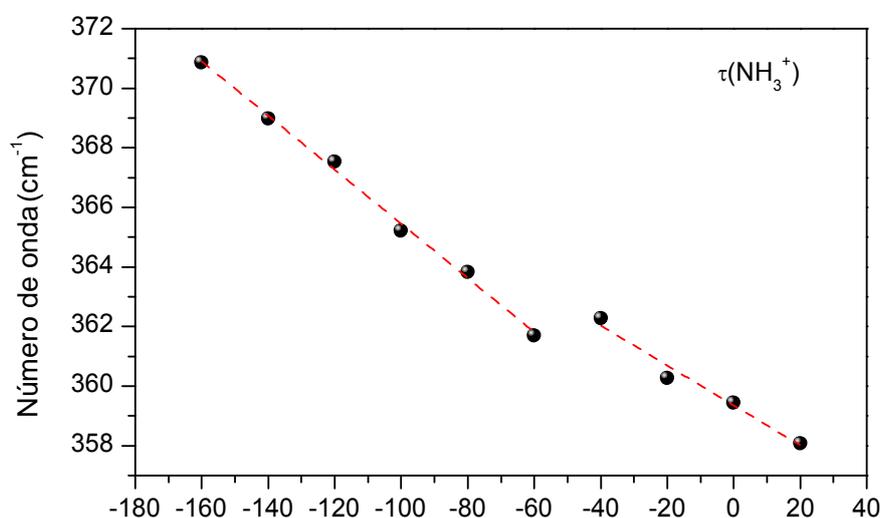
Figura 21 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 250 e 650 cm^{-1} .



Dos coeficientes do ajuste linear dos pontos experimentais obtidos (Tabela 5), é possível afirmar que todos os modos vibracionais exibidos na Figura 21 pertencentes à esta região sofrem um deslocamento para maiores números de onda com a diminuição da temperatura. Por outro lado, a banda associada com o estiramento CS (identificada como 15), $\nu(\text{CS})$, praticamente não sofre variação no seu número de onda com a variação da temperatura, o que também já foi observado na torção do CSH, $\tau(\text{CSH})$, na seção anterior.

O comportamento do número de onda da banda 11 relacionada com a torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, é apresentado na Figura 22. Dentre todas as bandas pertencentes a esta região espectral, esta banda é a que sofre maior variação no número de onda. Da Figura 22 é possível perceber que o número de onda desta banda apresenta uma descontinuidade entre -60 e -40 °C. Seu comportamento foi separado em dois regimes de -160 a -60°C e -40 a 20°C, e os coeficientes do ajuste linear para os dois intervalos é mostrado na Tabela 5. Dos coeficientes para os dois regimes, a banda apresenta deslocamento para maiores números de onda com a redução da temperatura. Este comportamento deve estar associado ao fato de que esta unidade participa diretamente das ligações de hidrogênio, e está relacionada com a estabilidade estrutural do cristal. Ou seja, de alguma forma, a molécula apresenta uma conformação molecular. Descontinuidades no número de onda das bandas relacionadas com as unidades que participavam das pontes de hidrogênio (NH_3^+ e CO_2^-) foram observadas na L-histidina quando submetida à baixas temperaturas e relacionadas com mudanças conformacionais na molécula [12].

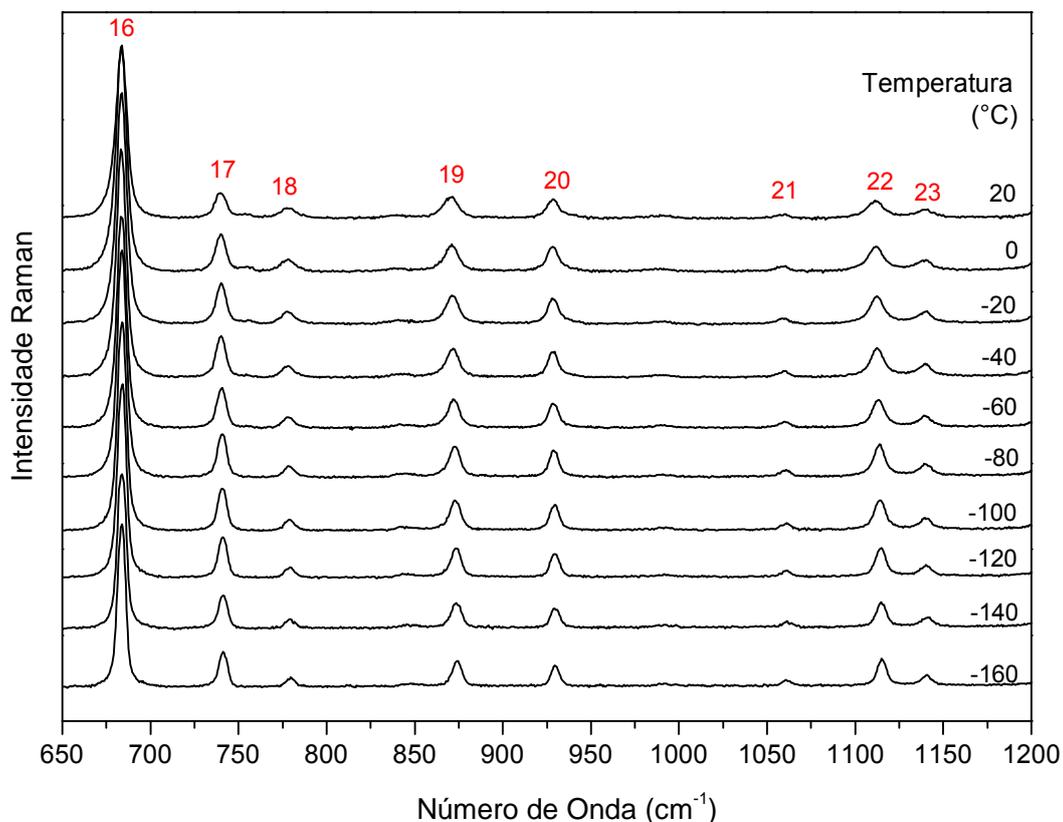
Figura 22 – Número de onda *versus* temperatura da banda associada à torção do NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$.



5.3 Região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1}

A Figura 23 mostra os espectros Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1} durante o processo de arrefecimento. Nesta região encontram-se os modos vibracionais associados às

Figura 23 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 650 a 1200 cm^{-1} .



deformações angulares da unidade COOH, vibrações do tipo *rocking* das unidades CH_2 e NH_3^+ e estiramentos relativos ao esqueleto da molécula (CC e CN).

A banda mais intensa dessa região do espectro (número 16) está associada ao estiramento CS, $\nu(\text{CS})$ e sofre um deslocamento para maiores números de onda e uma diminuição da sua largura de linha à medida que a temperatura é reduzida.

A banda observada em $\sim 740 \text{ cm}^{-1}$ à temperatura ambiente está associada a uma torção do COH, $\tau(\text{COH})$, umas das unidades participantes das ligações de hidrogênio. Esta banda não sofre grandes alterações na sua forma com a evolução da temperatura, assim como a banda identificada como 18.

A 20 $^{\circ}\text{C}$, duas bandas localizadas em 871 e 928 cm^{-1} (identificadas no espectro como 19 e 20) apresentam baixa intensidade. Com a redução da temperatura, é possível observar que a largura de linha das mesmas diminui.

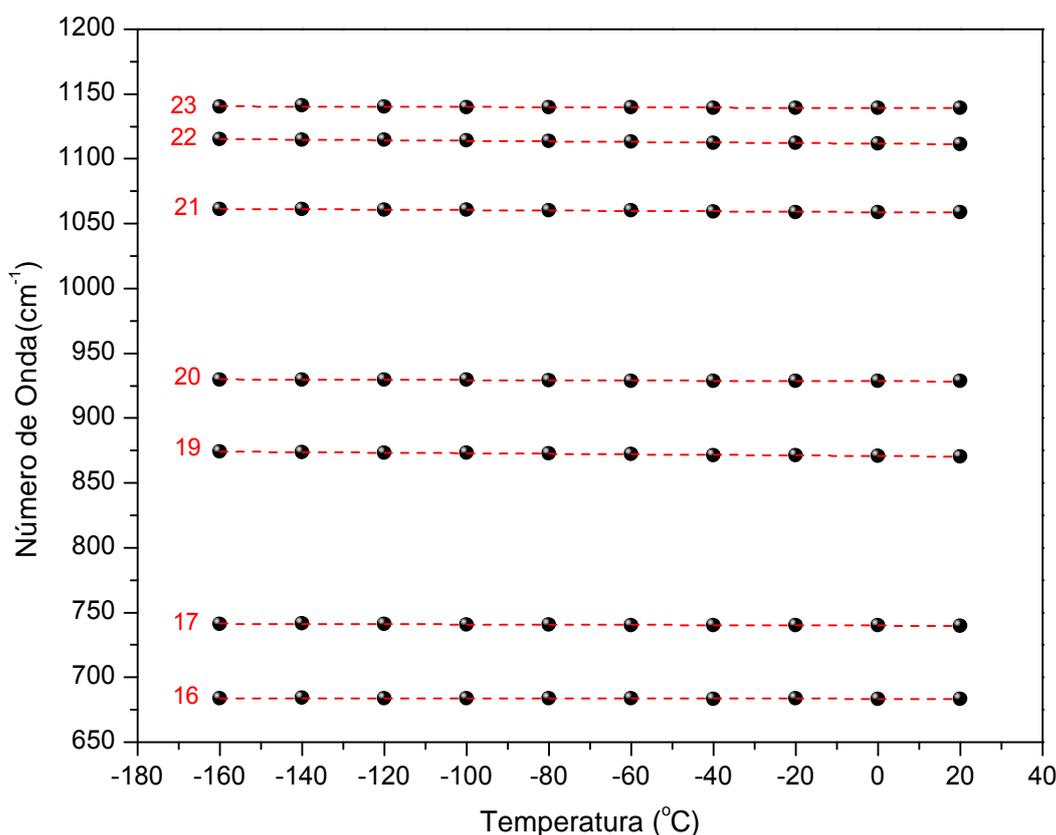
A banda associada à vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$, localizada inicialmente em 1059 cm^{-1} e identificada pelo número 21, apresentou baixa intensidade mesmo para os menores valores de temperatura obtidos. As bandas

associadas à deformação CH, $\delta(\text{CH})$, e identificadas no gráfico como 22 e 23, mantêm as suas formas com a diminuição da temperatura.

De uma forma geral, o perfil do espectro foi mantido, mesmo à baixas temperaturas, como aconteceu nas regiões espectrais apresentadas anteriormente, não fornecendo qualquer indício de mudanças estruturais ou conformacionais.

O gráfico do número de onda *versus* temperatura dos modos observados (exceto o modo de número 18) na região espectral 650-1200 cm^{-1} é apresentado na Figura 24. Desta figura percebe-se que todas as bandas apresentam dependência linear do número de onda com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos para esta banda são apresentados na Tabela 5.

Figura 24 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 650 e 1200 cm^{-1} .

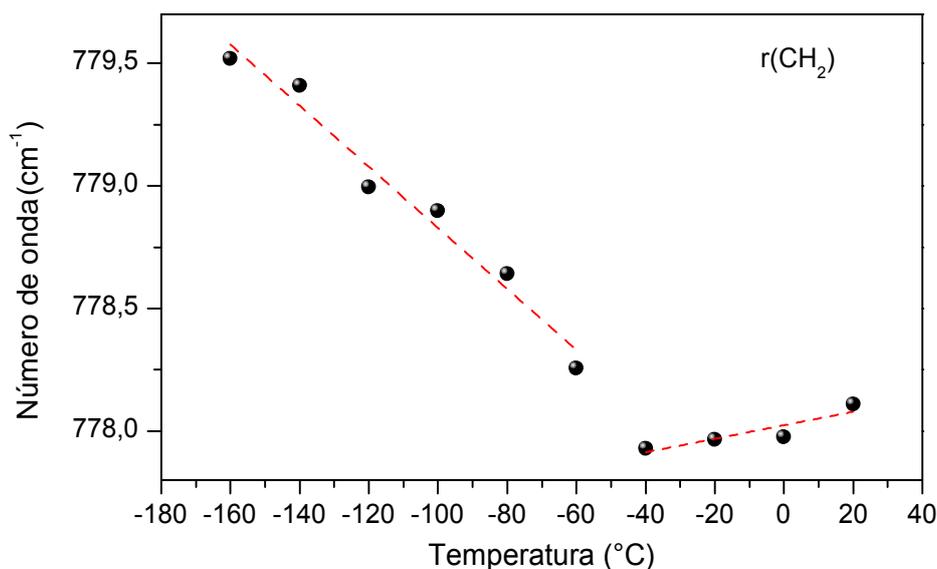


Dos coeficientes do ajuste linear dos pontos experimentais obtidos (Tabela 5), é possível afirmar que todos os modos vibracionais apresentados na Figura 24 apresentam deslocamento para maiores números de onda com a redução da temperatura. Na mesma tabela, também é possível perceber que as bandas 19 e 22 que estão associadas com o estiramento CC, $\nu(\text{CC})$, e com a deformação do CH, $\delta(\text{CH})$, apresentam maior variação

com o decréscimo da temperatura. No entanto, como já visto na outra banda associada com o estiramento CS, $\nu(\text{CS})$, apresentado na seção anterior, esta banda não sofre variação no seu número de onda com a variação da temperatura.

O número de onda da banda associada ao *rocking* da unidade CH_2 (de número 18 e localizada inicialmente em $\sim 778 \text{ cm}^{-1}$) é exibido na Figura 25. Desta figura é possível notar que o número de onda desta banda apresenta um comportamento singular com a temperatura. Assim como a torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, apresentado na seção anterior, é possível perceber que o número de onda do $\nu(\text{CH}_2)$ exibe uma descontinuidade entre -60 e $-40 \text{ }^\circ\text{C}$. Os coeficientes do ajuste linear para os dois regimes (-160 a -60°C e -40 a 20°C) são apresentados na Tabela 5. Dos coeficientes obtidos para os dois regimes, é possível perceber que inicialmente, entre 20 e -40°C , a banda apresenta deslocamento para menores números de onda quando a temperatura é reduzida, e entre -60 e -160°C a banda começa a se deslocar para maiores números de onda. Olhando para a célula unitária do cristal (Figura 12), pode-se perceber que a unidade CH_2 juntamente com um CH são as únicas partes moleculares que não se encontram ligadas em pontes de hidrogênio. Desta forma, o comportamento desta banda está diretamente relacionado com possíveis conformações moleculares produzidas pelo efeito de arrefecimento.

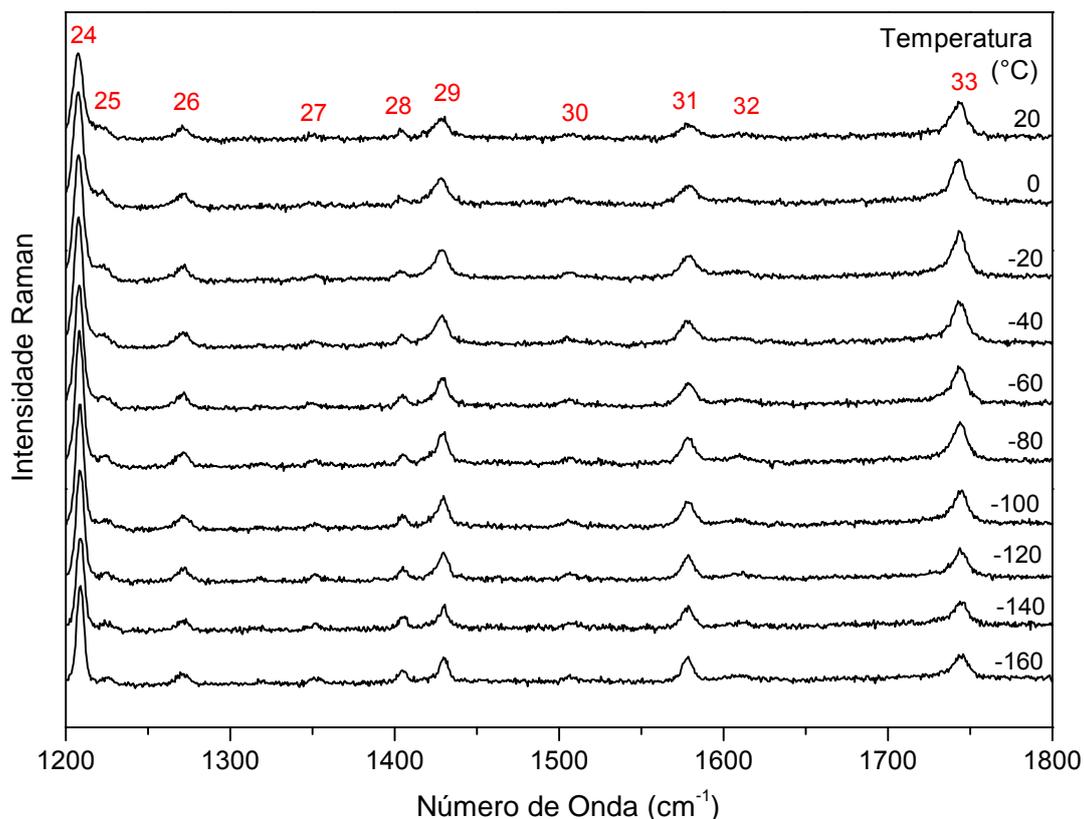
Figura 25 – Número de onda *versus* temperatura da banda associada ao *rocking* do CH_2 .



5.4 Região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1}

A Figura 26 mostra os espectros Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1} durante o resfriamento. Esta região contém bandas associadas principalmente a deformações das unidades COOH, CH, CH₂ e NH₃⁺, e estiramento da unidade C=O.

Figura 26 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 1200 a 1800 cm^{-1} .



A primeira banda desta região, identificada por 24, apresenta uma redução na sua largura de linha com a temperatura. A banda de número 25 apresenta baixa intensidade mesmo no espectro tomado a mais baixa temperatura (-160 °C).

A banda de número 26, que está associada com o *rocking* do CH, apresenta fraca dependência da intensidade e largura de linha com a temperatura.

As bandas associadas com a deformação da unidade NH₃⁺, identificadas pelos números 27 e 32, apresentam baixa intensidade mesmo a -160 °C, tornando difícil uma análise detalhada do comportamento desta banda. O mesmo acontece com a banda de

número 30. A banda de número 29, relativo à deformação do CH_2 , $\delta(\text{CH}_2)$, torna-se menos intensa e mais estreita com a diminuição da temperatura.

A banda de baixa intensidade localizada em $\sim 1404 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 28), está associada à deformação do OH, $\delta(\text{OH})$. Com a diminuição da temperatura, esta banda ainda permanece com baixa intensidade, no entanto com uma menor largura de linha. A diminuição na largura de linha e pequena variação na intensidade também é observada na banda relativa à deformação antissimétrica da unidade NH_3^+ , $\delta_a(\text{NH}_3^+)$, identificada no espectro pelo número 31.

A banda identificada como 33, que foi classificada como um estiramento do $\text{C}=\text{O}$, $\nu(\text{C}=\text{O})$, apresenta uma redução na intensidade com a diminuição da temperatura.

A evolução dos espectros apresentou apenas mudanças qualitativas com a diminuição da temperatura, ou seja, nenhum indício de mudanças estruturais ou conformacionais pode ser notado nesta região espectral.

O gráfico do número de onda *versus* temperatura de alguns modos vibracionais observados na região espectral de 1200 a 1800 cm^{-1} é apresentado na Figura 27. Desta

Figura 27 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1} .

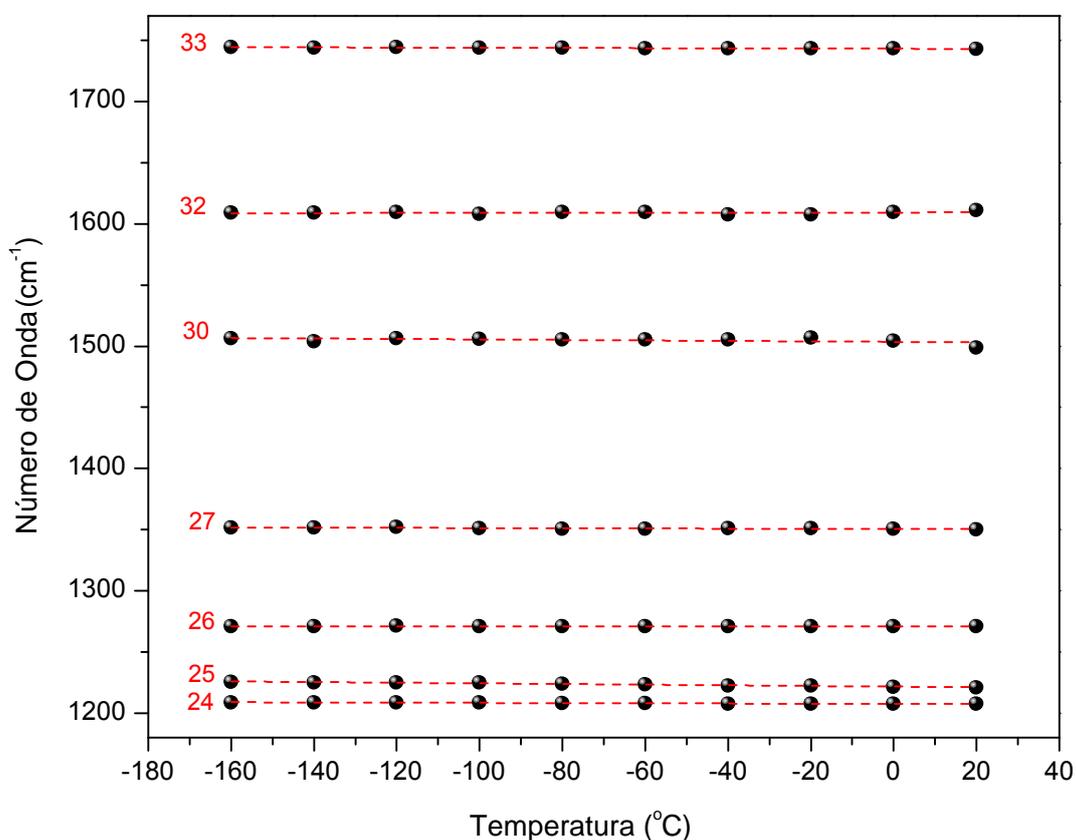


figura percebe-se que todas as bandas apresentadas possuem dependência linear do número de onda com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos para estas bandas são apresentados na Tabela 5.

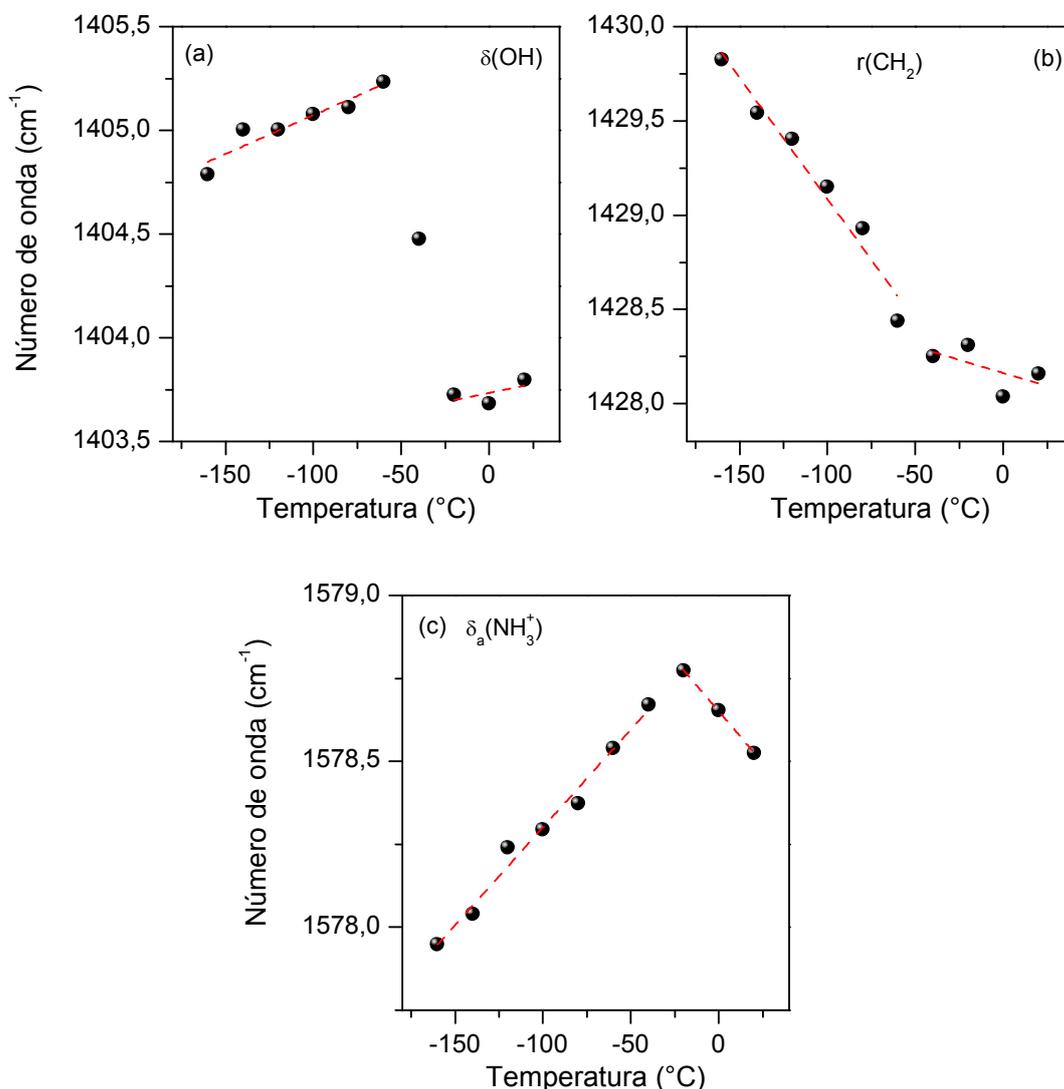
Dos coeficientes do ajuste linear dos pontos experimentais obtidos (Tabela 5), é possível afirmar que, com exceção da banda de número 32, todas as bandas mostradas na Figura 27 apresentam deslocamento para maiores números de onda com a redução da temperatura. Na mesma tabela, também é possível perceber que a banda 24 que está associada com uma deformação do COH, $\delta(\text{COH})$, apresenta maior variação do número de onda com a temperatura. É importante ressaltar que a unidade COH participa diretamente de uma ligação de hidrogênio, ou seja, apresenta maior sensibilidade em relação a mudanças quando submetida em condições diversas em relação a determinados parâmetros termodinâmicos. Apesar da unidade NH_3^+ também participar das ligações de hidrogênio, a banda associada à deformação antissimétrica desta unidade (número 32) apresenta número de onda praticamente constante para o intervalo de temperatura estudado. Esta diferença se deve ao fato de que, diferentemente da unidade COH que participa apenas de uma ligação de hidrogênio, a unidade NH_3^+ participa de três ligações, o que deve fornecer uma certa estabilidade a esta banda.

O comportamento do número de onda em função da temperatura dos modos identificados como 28, 29 e 31 na Figura 26 é mostrado na Figura 28(a-c). Desta figura é possível perceber que estas três bandas apresentam descontinuidades entre -20 e -60 °C.

A deformação da unidade OH, $\delta(\text{OH})$, apresenta uma descontinuidade entre -20 e -60 °C, como pode ser vista na Figura 28(a). Se considerarmos dois regimes diferentes de comportamento, um entre -160 e -60°C e o outro entre -20 e 20 °C, percebemos que nos dois regimes de comportamento a banda sofre deslocamento para maiores números de onda com o arrefecimento. No entanto, esta banda sofre uma descontinuidade de $\sim 2 \text{ cm}^{-1}$ entre -20 e -60°C.

A banda identificada pelo número 29, que está associada com a deformação do $\text{CH}_2 - \delta(\text{CH}_2)$, apresenta uma mudança na dependência do seu número de onda com a temperatura (Figura 28(b)) para valores entre -40 e -60 °C; de fato, uma mudança na inclinação da reta do ajuste linear pode ser notada na figura.

Figura 28 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1} .



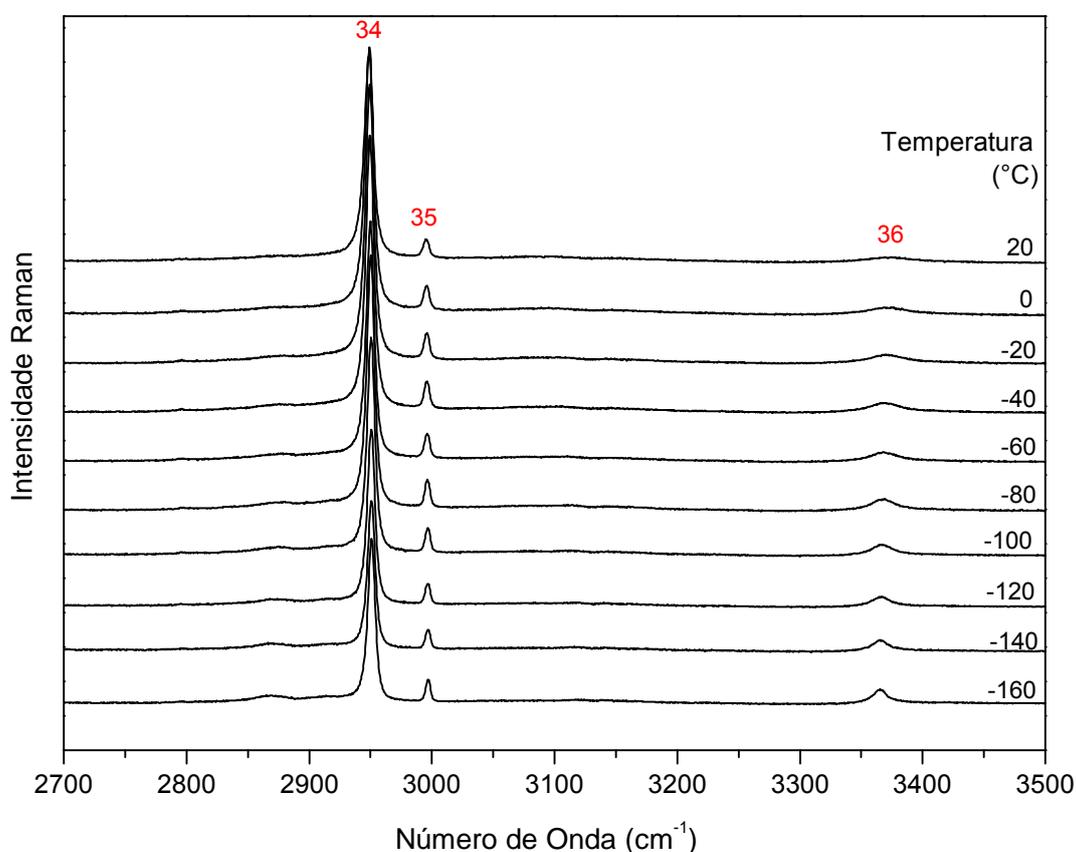
A Figura 28(c) apresenta o comportamento do número de onda da banda associada à deformação da unidade NH_3^+ , $\delta(\text{NH}_3^+)$, em função da temperatura. Desta figura é possível perceber que, com a diminuição da temperatura, inicialmente a banda desloca-se para maiores números de onda até -20 $^{\circ}\text{C}$, e em seguida a banda passa a deslocar-se para menores números de onda até -160 $^{\circ}\text{C}$. Essa mudança de comportamento pode estar associada à conformações moleculares que também envolvem mudanças nas ligações de hidrogênio, visto que esta banda é sensível a mudanças nesse tipo de ligação.

Os coeficientes do ajuste linear obtidos para as bandas identificadas como 28, 29 e 31 são dados na Tabela 5.

5.5 Região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1}

A Figura 29 apresenta os espectros Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura entre -160 e 20 $^{\circ}\text{C}$ na região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1} durante o processo de resfriamento. Esta região espectral é caracterizada por vibrações do tipo estiramento das unidades CH, CH_2 e OH, que fornecem informações sobre a conformação molecular no interior do cristal.

Figura 29 – Espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de temperatura na região espectral de 2700 a 3500 cm^{-1} .



A banda mais intensa dessa região do espectro (número 34), associada ao estiramento CH - $\nu(\text{CH})$, sofre um deslocamento para maiores números de onda e uma diminuição da sua largura de linha à medida que a temperatura é diminuída.

A banda observada em ~ 2996 cm^{-1} à temperatura ambiente e identificada pelo número 35, está associada ao estiramento antissimétrico da unidade CH_2 - $\nu(\text{CH}_2)$. Esta banda sofre apenas uma diminuição da sua largura de linha com a diminuição da temperatura.

A banda associada à vibração de estiramento do OH, $\nu(\text{OH})$, localizada inicialmente em 3371 cm^{-1} e identificada pelo número 36, apresenta baixa intensidade a $20 \text{ }^\circ\text{C}$. No entanto, com a diminuição da temperatura, a banda apresenta um aumento de intensidade e diminuição da sua largura de linha. Além disso, diferentemente da maioria das bandas do espectro, esta banda apresenta um deslocamento para menores números de onda com a redução da temperatura.

O comportamento do número de onda em função da temperatura dos modos mostrados na Figura 29 é apresentado na Figura 30. Desta figura é possível notar que as três bandas pertencentes a esta região possuem dependência linear do número de onda com a temperatura, e os coeficientes do ajuste linear obtidos são apresentados na Tabela 5. Dos coeficientes obtidos percebe-se que a banda associada ao estiramento OH possui uma forte dependência do seu número de onda com a temperatura, sofrendo uma variação de $\sim 11 \text{ cm}^{-1}$ entre -160 e $20 \text{ }^\circ\text{C}$. No entanto, a banda associada ao estiramento do CH (número 34), apresenta uma menor sensibilidade a variações na temperatura.

Figura 30 – Número de onda *versus* temperatura dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1} .

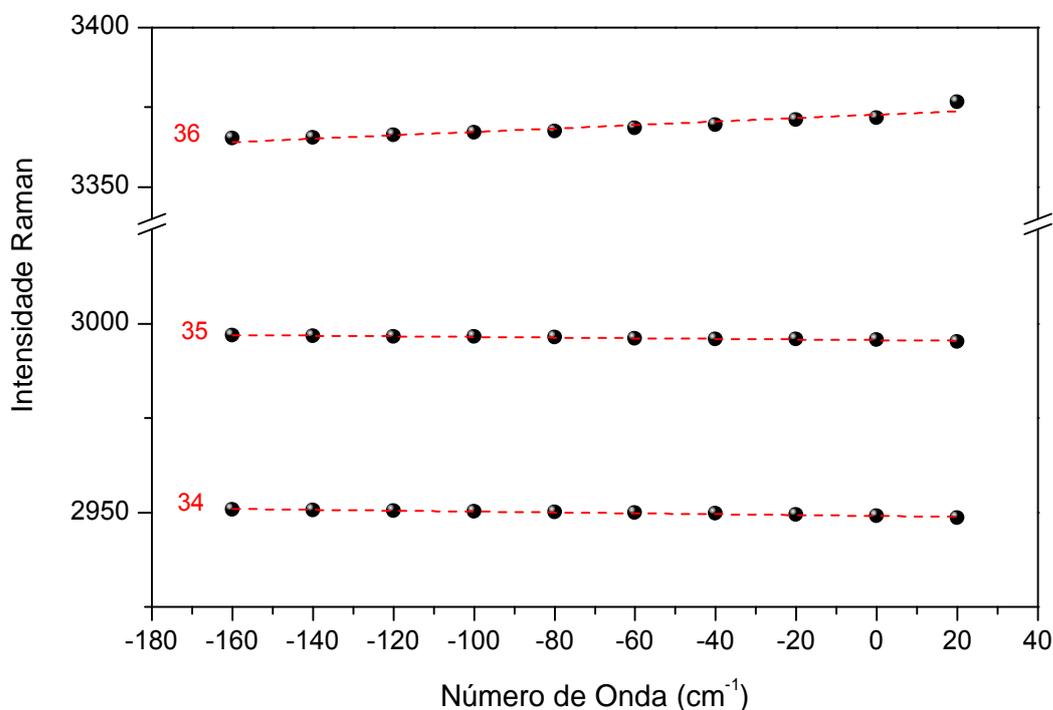


Tabela 5 – Coeficientes obtidos do ajuste linear $\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal CYSCLM como uma função da temperatura.

Identificação do modo	Número de onda a 20 °C (cm ⁻¹)	Coeficientes do Ajuste Linear		Classificação
		$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$		
		ω_0 (cm ⁻¹)	α (cm ⁻¹ /°C)	
1	27	-	-	Rede
2	38	-	-	Rede
3	84	83,6	- 1,59 . 10 ⁻²	Rede
4	90	89,5	- 2,17 . 10 ⁻²	Rede
5	112	112,6	- 1,93 . 10 ⁻²	Rede
6	123	123,5	- 3,09 . 10 ⁻²	Rede
7	156	157,5	- 3,39 . 10 ⁻²	τ (SH)
8	191	192,1	- 3,51 . 10 ⁻²	Rede
9	218	219,0	- 5,07 . 10 ⁻²	Rede
10	288	288,3	- 1,08 . 10 ⁻²	δ (esq.)
11	358	359,3 ^(a)	- 6,70 . 10 ^{-2(a)}	τ (NH ₃ ⁺)
		356,4 ^(b)	- 9,09 . 10 ^{-2 (b)}	
12	389	389,7	- 4,42 . 10 ⁻²	δ (esq.)
13	457	456,5	- 4,86 . 10 ⁻³	δ (CCN)
14	527	527,0	- 1,65 . 10 ⁻²	δ (CCC)
15	611	610,6	- 5,00 . 10 ⁻⁴	ν (CS)
16	683	683,5	- 2,41 . 10 ⁻³	ν (CS)
17	740	739,9	- 9,01 . 10 ⁻³	τ (COH)
18	778	778,0 ^(a)	2,76 . 10 ^{-2 (a)}	r (CH ₂)
		777,5 ^(b)	- 1,33 . 10 ^{-2 (b)}	
19	870	870,8	- 2,11 . 10 ⁻²	ν (CC)
20	929	928,5	- 8,76 . 10 ⁻³	δ (SH)
21	1059	1058,9	- 1,60 . 10 ⁻²	r (NH ₃ ⁺)
22	1111	1111,8	- 2,18 . 10 ⁻²	δ (CH)
23	1139	1139,2	- 8,30 . 10 ⁻³	δ (CH)
24	1207	1207,5	- 8,81 . 10 ⁻³	tw(CH ₂)
25	1221	1221,7	- 2,66 . 10 ⁻²	δ (COH)
26	1271	1270,8	- 1,86 . 10 ⁻³	r (CH)
27	1350	1350,5	- 7,88 . 10 ⁻³	δ_s (NH ₃ ⁺)
28	1404	1403,7 ^(c)	1,74 . 10 ^{-3 (c)}	δ (OH)
		1405,4 ^(b)	3,75 . 10 ^{-3 (b)}	

(a) -40 a 20°C; (b) -160 a -60 °C; (c) -20 a 20 °C; (d) -160 a -40 °C.

Tabela 5 (continuação) – Coeficientes obtidos do ajuste linear $\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$ para os modos Raman do cristal CYSCLM como uma função da temperatura.

Identificação do modo	Número de onda a 20 °C (cm ⁻¹)	Coeficientes do Ajuste Linear		Classificação
		$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \cdot T$		
		ω_0 (cm ⁻¹)	α (cm ⁻¹ /°C)	
29	1428	1428,2 ^(a)	$-2,78 \cdot 10^{-3}$ ^(a)	$\delta(\text{CH}_2)$
		1427,8 ^(b)	$-1,29 \cdot 10^{-2}$ ^(b)	
30	1499	1503,5	$-1,97 \cdot 10^{-2}$	
31	1578	1578,7 ^(c)	$-6,20 \cdot 10^{-3}$ ^(c)	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
		1578,9 ^(d)	$5,89 \cdot 10^{-3}$ ^(d)	
32	1611	1609,3	$3,63 \cdot 10^{-3}$	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
33	1743	1743,2	$-7,53 \cdot 10^{-3}$	$\nu(\text{C}=\text{O})$
34	2949	2949,1	$-1,16 \cdot 10^{-2}$	$\nu(\text{CH})$
35	2995	2995,6	$-8,46 \cdot 10^{-3}$	$\nu_a(\text{CH}_2)$
36	3374	3372,7	$5,39 \cdot 10^{-2}$	$\nu(\text{OH})$

(a) -40 a 20°C; (b) -160 a -60 °C; (c) -20 a 20 °C; (d) -160 a -40 °C.

5.6 Discussão

De uma forma geral, quando a temperatura do cristal é diminuída, os números de onda dos modos de vibração deslocam-se para maiores números de onda. Os modos vibracionais relacionados com o *rocking* da unidade CH₂, deformação e estiramento do OH, e deformação antisimétrica da unidade NH₃⁺ têm seus números de onda diminuídos em um determinado intervalo de temperatura. Este comportamento claramente se constitui uma anomalia. Tal anomalia, observada nos modos associados com as unidades que participam diretamente das ligações de hidrogênio (OH e NH₃⁺), pode ser correlacionada com conformações moleculares ocorridas no cristal devido ao efeito de arrefecimento. Como relatado anteriormente, nenhuma modificação foi observada na região espectral abaixo de 200 cm⁻¹ (região dos modos externos), indicando que as mudanças ocorridas não estão relacionadas com transições de fase estruturais.

Na referida mudança conformacional, pode-se imaginar que para valores de temperatura entre -60 e -20 °C ocorre uma sutil conformação do esqueleto da molécula, onde a mudança no grupo carboxílico (COOH) reflete em um aumento do comprimento da ligação de hidrogênio O(1)-H(5)...Cl(1) e, conseqüentemente, em um aumento do

número de onda do modo vibracional relativo à deformação do OH, $\delta(\text{OH})$. Por outro lado, as mudanças conformacionais ocorridas no esqueleto da molécula afetam também as ligações de hidrogênio N(1)-H...O(3), diminuindo a distância doador-aceitador, o que é possível notar no comportamento do modo vibracional associado à deformação anti-simétrica da unidade NH_3^+ , $\delta_a(\text{NH}_3^+)$, através da (c).

A unidade CH_2 encontra-se no esqueleto da molécula, não estando ligada a qualquer ligação de hidrogênio. Baseado nisto, podemos afirmar que apenas mudanças conformacionais no esqueleto podem justificar as descontinuidades observadas nos modos associados às vibrações do tipo *rocking* e deformação da unidade CH_2 , como pode ser observado na Figura 25 e na Figura 28(c), respectivamente.

Em contraste com o observado no cristal de DL-alanina [1], em que as bandas associadas às unidades participantes das ligações de hidrogênio apresentam comportamento anarmônico com o arrefecimento, o cristal de CYSCLM não apresentou bandas com grande anarmonicidade.

Neste ponto é interessante comparar a estabilidade estrutural do cristal de CYSCLM com a de outros cristais de L-cisteína. Em contraste com o observado no cristal de CYSCLM estudado nesse trabalho, mudanças nos modos externos do cristal de L-cisteína em sua forma ortorrômbica foram observadas e relacionadas com mudanças na coordenação do grupo tiol próximas a 70 K [43]. No caso da fase monoclínica da L-cisteína, estudos anteriores revelaram que o cristal experimenta uma transição de fase em 240 K através da observação de uma anomalia dos parâmetros de rede da célula unitária [54].

Como observado na L-histidina [12], descontinuidades no número de onda de algumas bandas desses modos em função da temperatura sugerem uma sutil acomodação das moléculas na célula unitária entre -60 e -20°C sem nenhum indício de mudanças estruturais, o que concorda com os resultados obtidos para a região dos modos externos. Assim como no cloridrato de L-asparagina monohidratado [55] e na DL-alanina [1,15], o modo de torção da unidade NH_3^+ apresenta dependência linear com a temperatura.

5.7 Considerações Finais

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de CYSCLM na região espectral entre 25 e 3500 cm^{-1} para valores de temperatura entre -160 e 20°C . Com a redução da temperatura, pode-se observar que o perfil do espectro não sofreu mudanças qualitativas e não apresenta qualquer evidência de uma transição estrutural sofrida pelo cristal de CYSCLM. No entanto, descontinuidades no número de onda de alguns modos vibracionais associados às unidades OH, NH_3^+ e CH_2 foram notadas entre -60 e -20°C , e associadas a uma mudança conformacional do esqueleto da molécula de cisteína.

Capítulo 6 – Cloridrato de L-Cisteína Monohidratado à Altas Pressões

Neste capítulo apresentamos os resultados de espectroscopia Raman no cristal de CYSCLM submetido à altas pressões (a partir da pressão ambiente até 6,2 GPa) com o objetivo de verificar sua estabilidade e buscar a formação de novos polimorfos. Além disso, o comportamento dos modos vibracionais é discutido em termos das ligações intermoleculares presentes no cristal.

Para facilitar a discussão, o espectro vibracional foi dividido em cinco regiões.

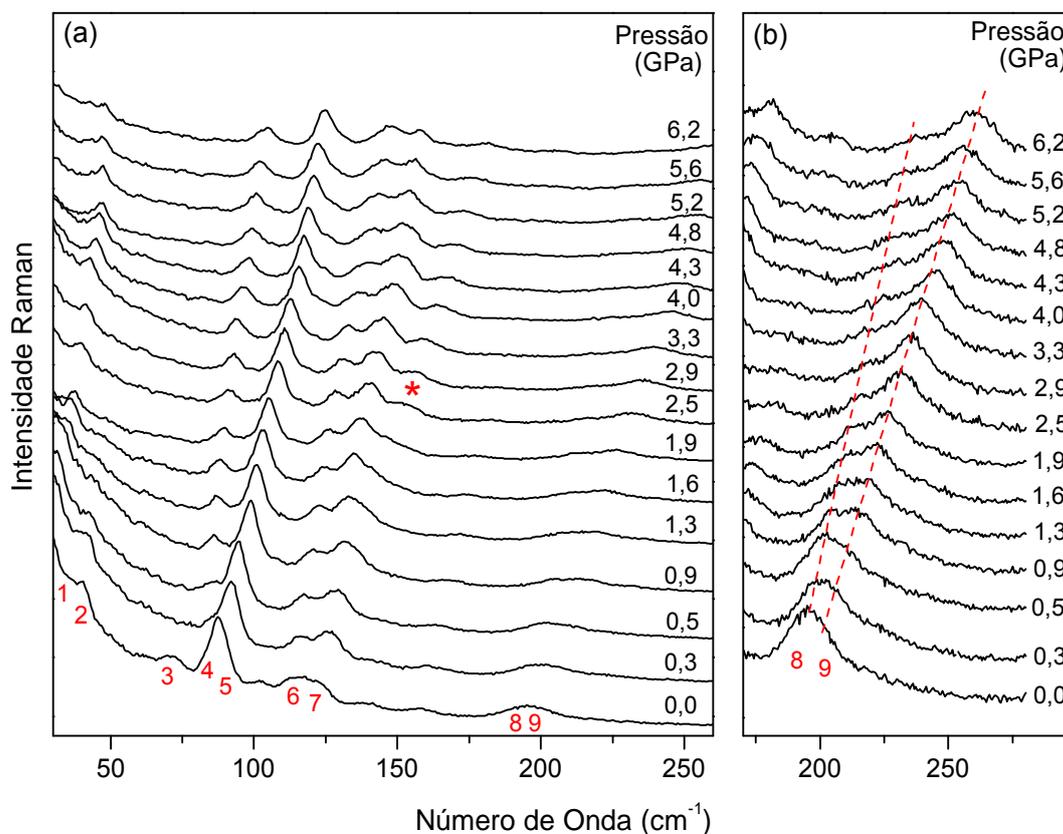
6.1 Região espectral entre 30 e 260 cm^{-1}

A Figura 31(a) apresenta os espectros Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de pressão entre 0,0 (pressão ambiente) e 6,2 GPa, na região espectral 30-260 cm^{-1} . Essa região espectral contém os modos externos de vibração do cristal e vibrações internas de baixas energias, fornecendo informações fundamentais sobre a simetria cristalina apresentada pelo material. Portanto, mudanças observadas nessa região podem estar relacionadas com possíveis transições de fase sofridas pelo cristal.

Na Figura 31 (a) é possível observar 8 bandas, sendo as bandas identificadas pelos números 7 e 8 de baixa intensidade. No entanto, as bandas com números de onda menores do que 50 cm^{-1} , numeradas como 1 e 2, encontram-se sobrepostas e apresentam um corte no seu perfil no início do espectro, tornando difícil uma análise quantitativa dos seus comportamentos, enquanto que a primeira banda do espectro desloca-se para menores números de onda (*red shift*).

A banda de número 3 apresenta baixa intensidade mesmo no espectro a pressão ambiente e no espectro tomado a 0,3 GPa a banda já não encontra-se visível. A banda localizada inicialmente em $\sim 80 \text{ cm}^{-1}$ parece ser composta de apenas um pico, com o aumento da pressão percebe-se a existência de uma segunda banda com número de onda próximo ao da primeira banda.

Figura 31 – Evolução dos espectros Raman do cristal CYSCLM na região espectral 30-260 cm^{-1} para diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa.



Uma banda larga com número de onda $\sim 120 \text{ cm}^{-1}$ pode ser notada no espectro tomado a pressão ambiente. Com o aumento da pressão, nota-se que a banda larga é constituída de duas bandas que foram numeradas na figura como 6 e 7. Após 1,3 GPa essas duas bandas encontram-se claramente separadas.

No espectro a 2,5 GPa é possível observar o surgimento de um pico (marcado por um asterisco na Figura 31(a)) localizado em $\sim 150 \text{ cm}^{-1}$. De fato, essa banda pode existir desde o espectro inicial e teve um aumento de intensidade para esse valor de pressão. Quando a pressão é aumentada, esta banda tem sua intensidade reduzida e apresenta um alargamento. É importante ressaltar que esta região espectral é característica da vibração de torção da unidade SH, $\tau(\text{SH})$, que apresentava baixa intensidade no espectro tomado em condições ambientes (vide Figura 13). Com a acomodação molecular devido às condições de altas pressões, a banda relativa a essa vibração pode ter toda sua intensidade modificada, impossibilitando a sua visualização.

À pressão ambiente (0,0 GPa) e em $\sim 195 \text{ cm}^{-1}$ é possível notar uma banda de baixa intensidade tornando difícil sua análise. Essa região do espectro foi ampliada e é

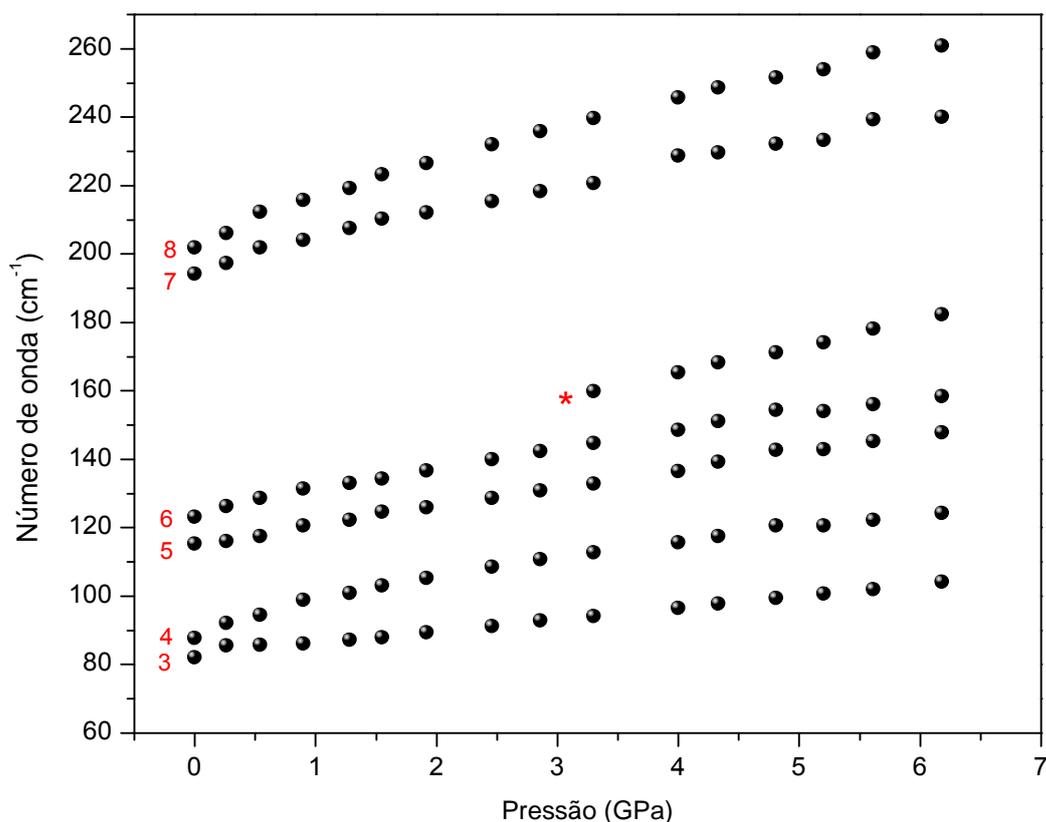
mostrada na Figura 31(b). Desta figura, e baseado na sua evolução com a pressão, podemos afirmar que nesta região espectral existem duas bandas que foram numeradas nos espectros como 8 e 9. A banda de número 8 apresenta maior intensidade à pressão ambiente. Com o aumento de pressão, esta banda tem sua intensidade consideravelmente reduzida. No entanto, a banda de número 9 mantém sua intensidade praticamente constante mesmo para os mais altos valores de pressão obtidos durante o experimento. Essas duas bandas apresentam deslocamentos para maiores números de onda (*blue shift*) com o aumento da pressão.

O perfil do espectro na região de vibração dos modos externos do cristal foi mantido mesmo à altas pressões, não fornecendo indícios de qualquer transição de fase sofrida pelo cristal.

Uma análise do comportamento do número de onda das bandas em função da pressão pode auxiliar na verificação da estabilidade do material a altas pressões. Descontinuidades apresentadas por essas curvas podem ser indicativos de mudanças ocorridas na estrutura do cristal, sejam elas mudanças conformacionais ou estruturais. O comportamento do número de onda em função da pressão das bandas pertencentes a região espectral 30-260 cm^{-1} é exibido na Figura 32. Dessa figura é possível perceber que todos os modos vibracionais apresentam deslocamentos para maiores números de onda com o aumento da pressão, onde observa-se um comportamento aproximadamente linear. Como podemos observar nesta figura, nenhuma descontinuidade é vista para esses modos, ou seja, o cristal de CYSCLM não apresenta qualquer evidência de transição de fase estrutural. Este resultado é similar ao observado no mesmo cristal quando submetido à baixas temperaturas (ver Figura 18).

Como afirmado anteriormente, esta região espectral está relacionada com as vibrações que envolvem as ligações de hidrogênio do cristal, bem como às vibrações da rede. Podemos afirmar que não existe indício de que o material sofra uma transição de fase estrutural para o intervalo de pressão estudado e que o aparecimento da banda em torno de 150 cm^{-1} a 2,5 GPa pode estar associado apenas a mudanças conformacionais na molécula em altas pressões.

Figura 32 – Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 60 e 260 cm^{-1} .



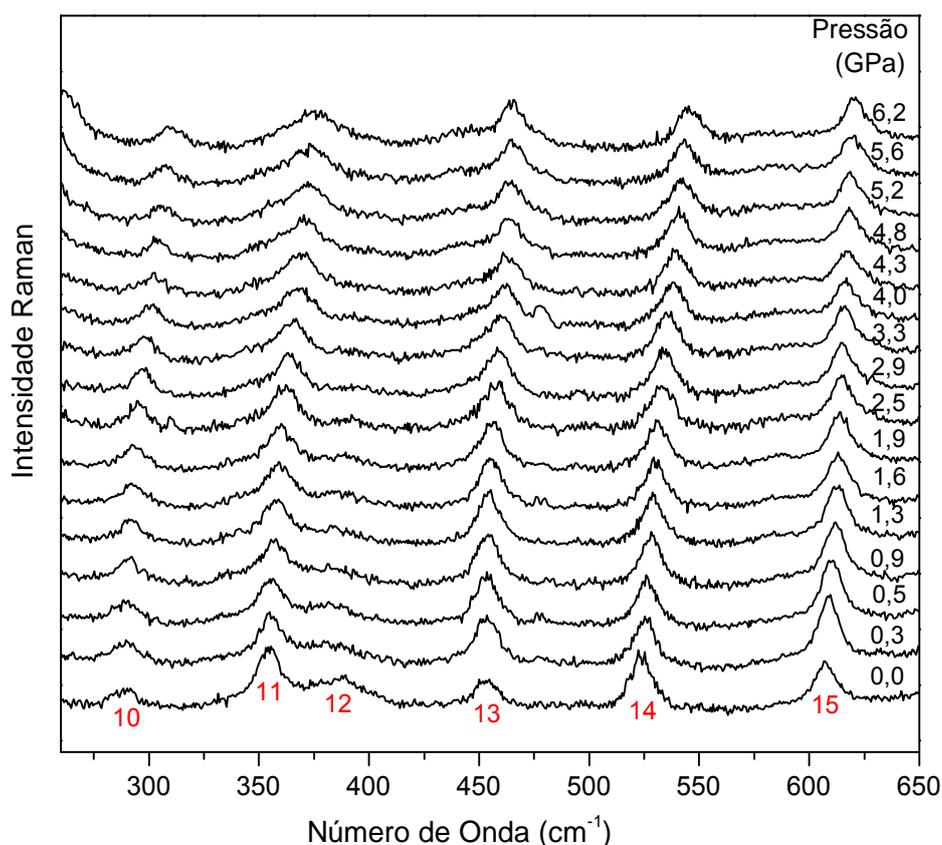
6.2 Região espectral entre 260 e 650 cm^{-1}

A Figura 33 apresenta a evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral 280-650 cm^{-1} . Nesta região espectral encontramos as bandas associadas aos modos de vibração relativos às deformações do esqueleto da molécula - $\delta(\text{CCC})$, $\delta(\text{CCN})$ e $\delta(\text{CCS})$ - e estiramento do CS, $\nu(\text{CS})$.

Os espectros dessa região apresentam uma baixa relação sinal-ruído, contudo ainda podemos observar seis modos vibracionais à pressão ambiente.

A banda localizada em $\sim 288 \text{ cm}^{-1}$ (e identificada como 10) está associada com uma deformação do esqueleto da molécula, $\delta(\text{esq.})$. Com o aumento da pressão, esta banda permanece com intensidade praticamente constante bem como a sua largura à meia altura (largura de linha). A banda 12, que foi classificada da mesma forma, apresenta uma forte dependência da sua largura de linha com a pressão, não sendo possível determinar o seu número de onda para valores de pressão acima de 2,5 GPa.

Figura 33 – Evolução dos espectros Raman do cristal CYSCLM na região espectral 260-650 cm^{-1} para diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa.

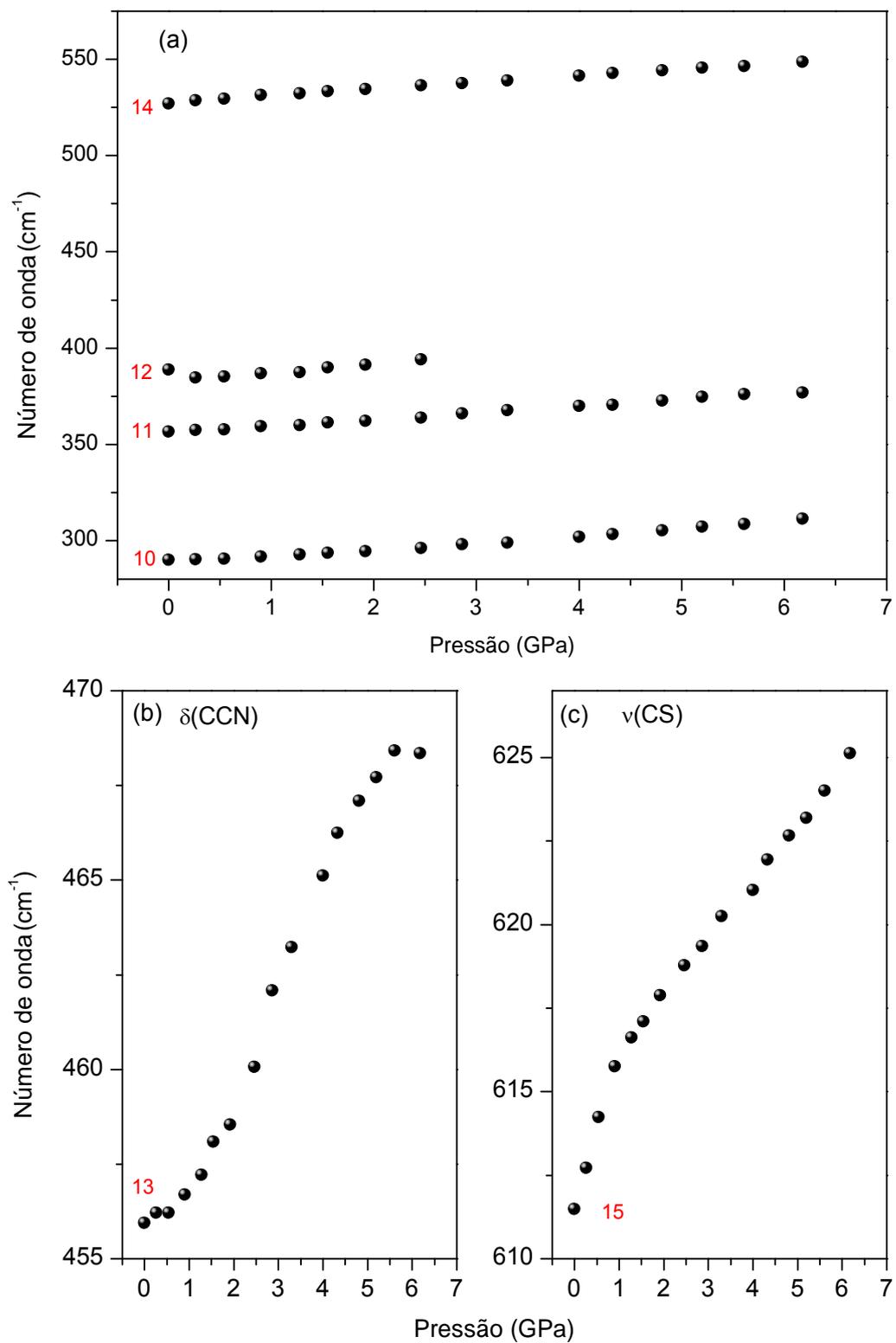


A banda identificada como 11, associada à torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, apresenta uma sutil redução da sua intensidade e um aumento na largura de linha com o aumento da pressão. A banda localizada em $\sim 453 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 13), está associada à deformação do CCN, $\delta(\text{CCN})$, apresenta uma diminuição da intensidade à altas pressões.

Por fim, os modos vibracionais localizados à pressão ambiente em ~ 524 e 610 cm^{-1} (identificadas como 14 e 15), associados a deformação do CCC e ao estiramento C-S, respectivamente, apresentam um aumento das larguras de linha e suas intensidades apresentam fraca dependência com a pressão.

A Figura 34(a-c) mostra o gráfico do número de onda *versus* pressão dos modos vibracionais observados na região espectral 260-650 cm^{-1} .

Figura 34 – (a-c) Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 260 e 650 cm^{-1} .



As bandas exibidas na Figura 34(a), de uma forma geral, apresentam comportamento aproximadamente linear com o aumento da pressão, apresentando deslocamentos para maiores números de onda.

O comportamento da banda associada à deformação do CCN, $\delta(\text{CCN})$, em função da pressão é exibido na Figura 34(b). Esta banda exibe um comportamento singular, como foi observado em outras pesquisas realizadas com aminoácidos, como por exemplo, metionina, DL-alanina, cloridrato de L-cisteína, cisteína e histidina, quando submetidos a altas pressões [1,2,11,13,41,56–64]. Apesar disso, as variações no número de onda desta banda são suaves, não caracterizando mudanças conformacionais no esqueleto da molécula. No caso da banda classificada como um estiramento CS, $\nu(\text{CS})$, exibida na Figura 34(c), o comportamento do número de onda com a pressão parece ser linear em dois regimes distintos: 0,0-0,9 GPa e 1,3-6,2 GPa, o que seria explicado por uma leve acomodação da ligação de hidrogênio S-H...Cl entre 0,9 e 1,3 GPa.

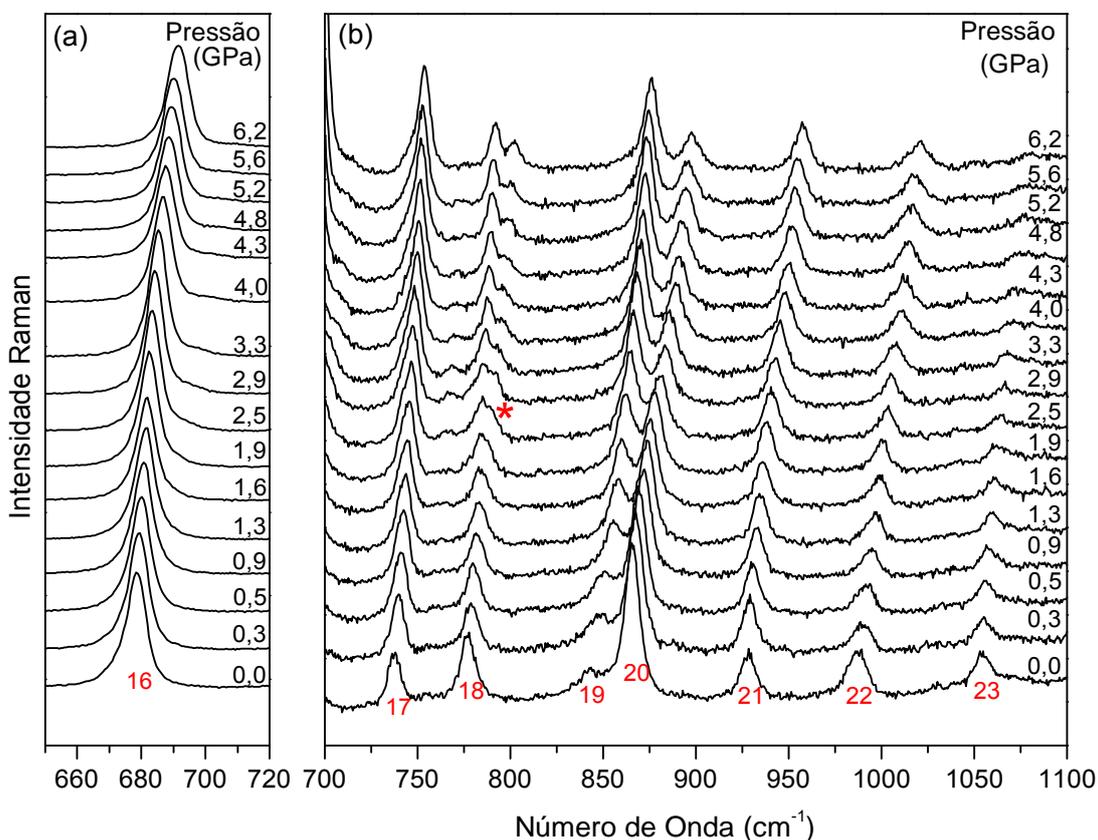
O comportamento da banda associada à torção da unidade NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, que tentativamente foi classificada como a banda localizada em 359 cm^{-1} merece uma atenção especial devido ao fato da unidade NH_3^+ participar de três ligações de hidrogênio. Desta forma, o comportamento do grupo NH_3^+ como um todo está correlacionado com o comportamento dinâmico das ligações de hidrogênio [14,53]. Em estudo realizado anteriormente [65], os pesquisadores tentaram estabelecer uma correlação entre a dependência com a pressão do número de onda do modo associado à torção do NH_3^+ e as distâncias médias das ligações de hidrogênio N-H...O existentes na célula unitária do cristal. No caso da L-alanina, em que a distância média N...O (doador-aceitador) é $2,83 \text{ \AA}$, temos que a banda $\tau(\text{NH}_3^+)$ desloca-se para menores números de onda com o aumento da pressão, enquanto que na L-treonina e na taurina, cujas distâncias médias N...O são $2,86 \text{ \AA}$ e $2,90 \text{ \AA}$, respectivamente, estas bandas deslocam-se para maiores números de onda. No primeiro caso (alanina), como a ligação N...O é relativamente curta, ocorre uma deformação na geometria da ligação quando a pressão é aumentada, enquanto que para distâncias de ligações de hidrogênio mais longas (nos casos da L-treonina e taurina) ocorre uma diminuição do comprimento de ligação com o aumento da pressão. No caso do cristal estudado nesse trabalho (CYSCLM), temos que a unidade NH_3^+ participa de três ligações de hidrogênio (duas do tipo N-H...O e uma N-H...Cl), onde a média das distâncias N-O é $2,87 \text{ \AA}$. Como foi observado na Figura 34(a), esta banda desloca-se para maiores números de onda com o aumento da pressão,

implicando que no caso do cristal de CYSCLM ocorre o encurtamento da ligação de hidrogênio com o aumento da pressão.

6.3 Região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1}

A Figura 35(a-b) apresenta os espectros Raman do cristal de CYSCLM na região espectral de 650 a 1100 cm^{-1} , para diversos valores de pressão. Os modos de vibração associados às deformações angulares da unidade COOH, vibrações do tipo *rocking* das unidades CH_2 e NH_3^+ , estiramentos CC e CN, entre outros são encontrados nessa região espectral.

Figura 35 – (a-b) Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1} .



A banda localizada em $\sim 683 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 16), associada ao estiramento CS - $\nu(\text{CS})$, apresenta intensidade consideravelmente superior em relação à intensidade das outras bandas pertencentes a esta região. Desta forma, a evolução desta banda é mostrada separadamente na Figura 35(a). De acordo com a figura, esta banda

apresenta fraca dependência do seu número de onda e da sua intensidade com o aumento da pressão.

A evolução das bandas localizadas na região espectral 700-1100 cm^{-1} são exibidas na Figura 35(b). A primeira banda desta figura, localizada em $\sim 738 \text{ cm}^{-1}$ e identificada como 17, está associada à torção do COH - $\tau(\text{COH})$ - umas das unidades participantes das ligações de hidrogênio, visto que esta banda e a de número 19 apresenta um aumento na sua intensidade e uma diminuição da sua largura de linha com o aumento de pressão, devido a sensibilidade destes modos vibracionais ao efeito da pressão. Em relação à banda de número 17, a explicação para este tipo de comportamento está possivelmente associado ao fato que esta unidade está participando de apenas uma única ligação de hidrogênio, o que possibilita uma menor estabilidade com o aumento da pressão. A banda localizada em $\sim 868 \text{ cm}^{-1}$, identificada como 20 e associada ao estiramento do CC apresenta uma redução da sua intensidade e um aumento da largura de linha com a pressão.

O modo vibracional localizado em $\sim 778 \text{ cm}^{-1}$ (identificado como 18 na Figura 35(b)) está associado à vibração do tipo *rocking* do CH_2 , $r(\text{CH}_2)$. Inicialmente, esta banda tem sua intensidade reduzida com o aumento da pressão para valores de pressão até 1,9 GPa. Para pressões acima deste valor, observa-se uma assimetria nesta banda, indicando o desdobramento desta banda (marcada com um asterisco na figura). De fato, no espectro tomado a 6,2 GPa, as duas bandas aparecem completamente separadas. Observando a molécula e a célula unitária do cristal (Figura 12), possivelmente o aparecimento desta banda pode estar relacionada com mudanças conformacionais na molécula de L-cisteína a altas pressões, visto que esta unidade CH_2 não participa de ligações de hidrogênio.

O desdobramento (*splitting*) da banda 18 associada à vibração do tipo *rocking* do CH_2 merece destaque nesse ponto da discussão. Este desdobramento deve estar associado a um aumento da intensidade das ligações intermoleculares via a diminuição do espaçamento da rede cristalina com o aumento da pressão [2,66], induzindo mudanças conformacionais na molécula de cisteína. O mesmo fenômeno foi observado na banda associada à deformação do CCN, $\delta(\text{CCN})$, no cristal de cloridrato de L-cisteína quando submetido à altas pressões [2].

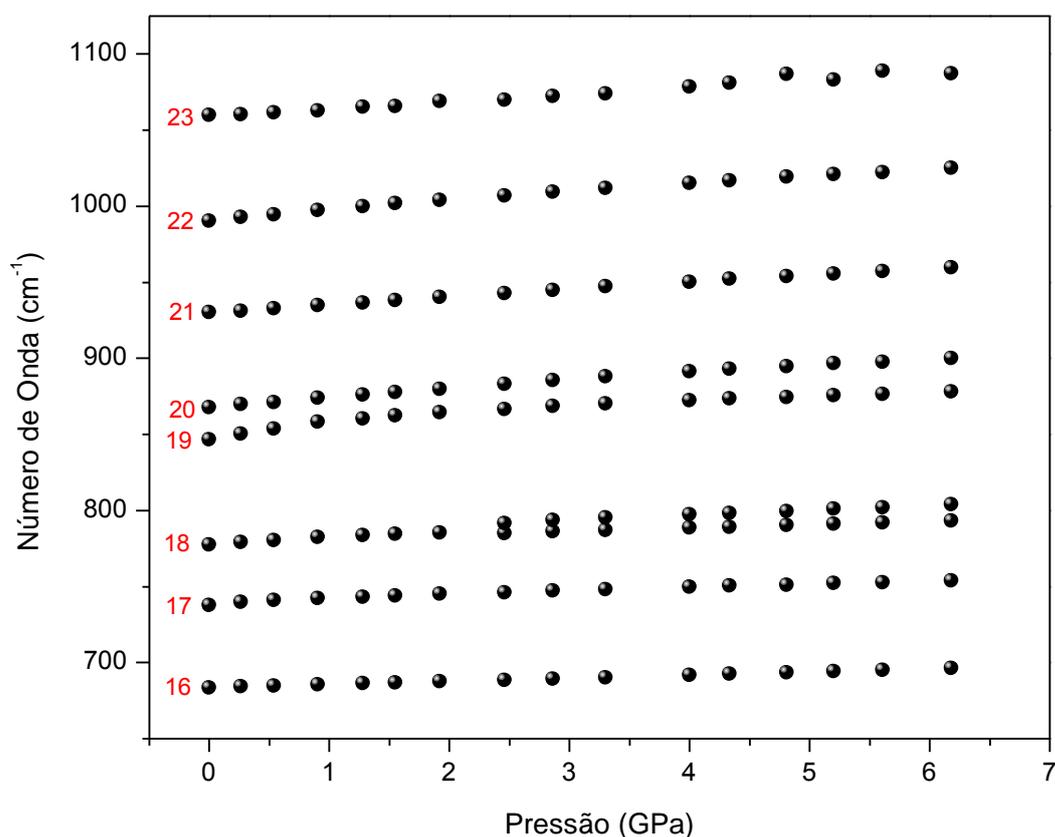
A banda associada à deformação do SH, $\delta(\text{SH})$, e identificada pelo número 21, não apresenta mudanças consideráveis no seu perfil mesmo a altas pressões.

Diferentemente, a banda de número 22 e também classificada como $\delta(\text{SH})$, tem sua intensidade reduzida e sua largura de linha aumentada com o aumento da pressão.

A banda localizada em $\sim 1059 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 23) e associada à vibração do tipo *rocking* da unidade NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$, apresenta uma diminuição da sua intensidade e um aumento da sua largura de linha com o aumento da pressão.

A Figura 36 apresenta o gráfico do número de onda *versus* a pressão para os modos vibracionais mostrados na Figura 35(a-b). Desta figura é possível afirmar que todas as bandas apresentam comportamento aproximadamente linear com deslocamentos para maiores de onda com o aumento da pressão.

Figura 36 – Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 650 e 1100 cm^{-1} .

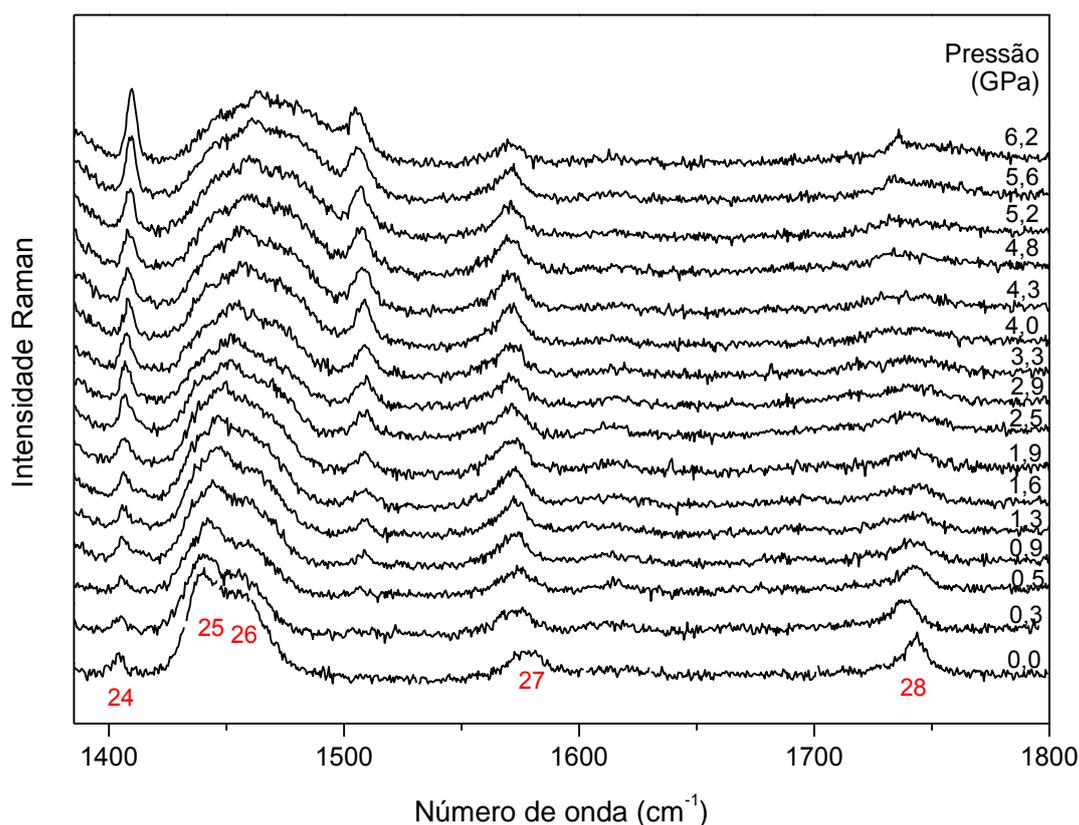


6.4 Região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1}

A Figura 37 exhibe a evolução do espectro Raman do cristal de CYSCLM na região espectral 1385 - 1800 cm^{-1} para valores de pressão entre $0,0$ e $6,2 \text{ GPa}$. Nesta figura é possível visualizar uma baixa relação sinal-ruído, todavia, é possível identificar

cinco modos vibracionais a pressão ambiente (0,0 GPa). Destas bandas, os picos identificados pelos números 25 e 26 estão associados aos modos vibracionais do óleo mineral utilizado como meio transmissor de pressão.

Figura 37 – Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1} .



A banda localizada em $\sim 1404 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 24), está associada à deformação do OH, $\delta(\text{OH})$. Com o aumento da pressão, esta banda apresenta um aumento da sua intensidade, uma diminuição da largura de linha.

À pressão ambiente, nenhuma banda é vista em torno de 1510 cm^{-1} ; no entanto, para valores de pressão acima de 0,5 GPa é possível notar uma banda nesta região. De fato, quando a pressão é aumentada, esta banda tem sua intensidade aumentada, visto que esta mesma banda é observada em 1506 cm^{-1} no espectro em temperatura ambiente na Figura 16, que por falta de referência na literatura não foi possível relacionar com alguma unidade molecular.

A banda associada à deformação antissimétrica da unidade NH_3^+ , identificada na Figura 37 pelo número 27, tem seu perfil mantido mesmo a altas pressões mostrando

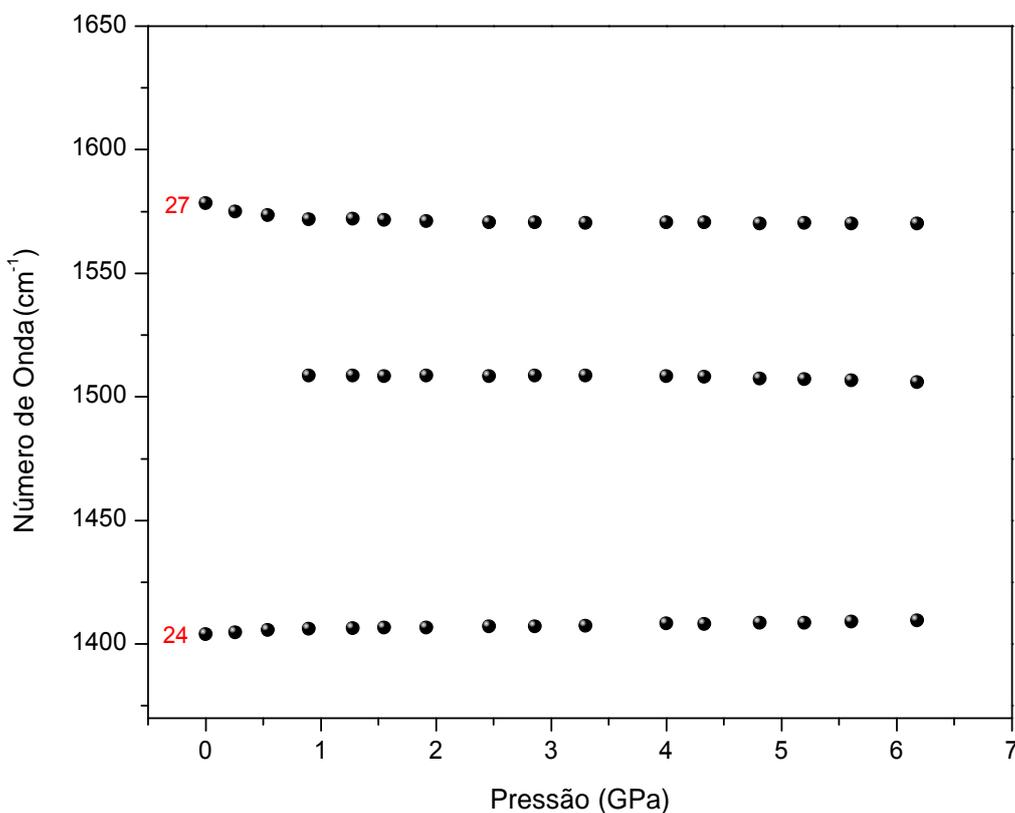
fraca dependência do número de onda e intensidade com a variação da pressão. Esse comportamento também foi observado quando o cristal foi submetido à baixas temperaturas. A estabilidade dessa banda pode estar relacionada com o fato de esta unidade participar das ligações de hidrogênio, proporcionando uma fraca dependência dos parâmetros dessa banda quando variamos pressão ou temperatura.

A banda identificada como 28 no espectro, que está associada ao estiramento C=O, apresenta redução na sua intensidade com o aumento da pressão e um aumento da largura de linha, o que torna difícil uma análise quantitativa dos seus parâmetros (número de onda, intensidade e largura de linha).

De uma forma geral, os espectros nessa região espectral não apresentaram mudanças qualitativas mesmo a altas pressões, ou seja, nenhum indício de transição de fase ou mudança conformacional das moléculas no cristal foi verificado nesta região. Resultado este que corrobora com a análise realizada na região espectral dos modos externos, em que o cristal de CYSCLM mostrou-se estável para valores de pressão até 6,2 GPa.

A Figura 38 apresenta o gráfico do número de onda *versus* pressão para os modos vibracionais observados nesta região espectral.

Figura 38 – Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 1385 e 1800 cm^{-1} .



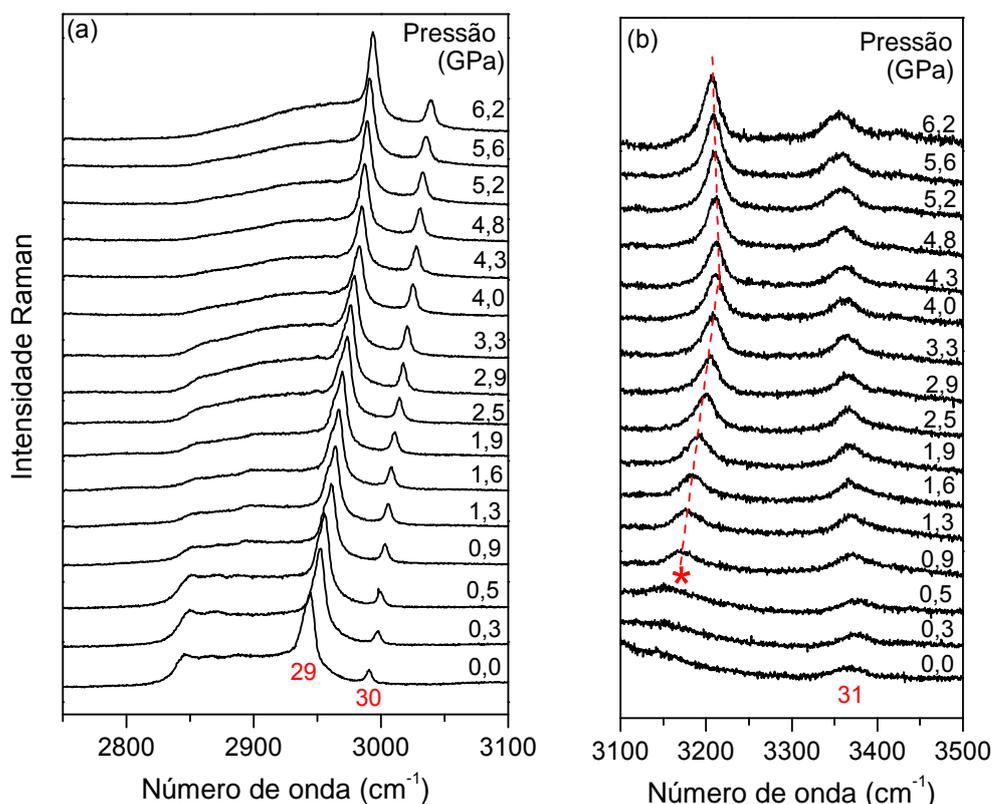
Do comportamento das três bandas exibidas na Figura 38 é possível observar que, de uma forma geral, elas possuem uma dependência linear com a pressão. A banda de número 24, associada à deformação do OH - $\delta(\text{OH})$, desloca-se para maiores números de onda com o aumento da pressão.

A banda de número 27 exibe inicialmente uma variação maior do seu número de onda, e em seguida tem seu número de onda diminuído gradativamente. A banda visualizada somente para valores de pressão acima de 0,5 GPa também apresenta um deslocamento para menores números de onda com o aumento da pressão.

6.5 Região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1}

A Figura 39(a-b) apresenta a evolução do espectro Raman do cristal de CYSCLM para diversos valores de pressão entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral 2750-3500 cm^{-1} . Nesta região são encontradas bandas associadas às vibrações de estiramento CH, CH₂ e OH. As bandas de estiramento CH e CH₂ podem fornecer informações sobre a conformação da molécula na célula unitária [1], enquanto a banda de estiramento do OH é sensível a mudanças nas ligações de hidrogênio.

Figura 39 – Evolução dos espectros Raman do cristal de CYSCLM para pressões entre 0,0 e 6,2 GPa na região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1} .



A banda larga que aparece entre 2830 e 2970 cm^{-1} na Figura 39(a) refere-se a um conjunto de bandas pertencentes ao óleo mineral usado durante o experimento. É importante ressaltar aqui que esta banda não foi observada no espectro tomado em condições ambientes fora da célula de pressão (vide Figura 17). Portanto, na região espectral 2750-3500 cm^{-1} e à pressão ambiente (0,0 GPa) são observadas quatro bandas relativas ao cristal de CYSCLM.

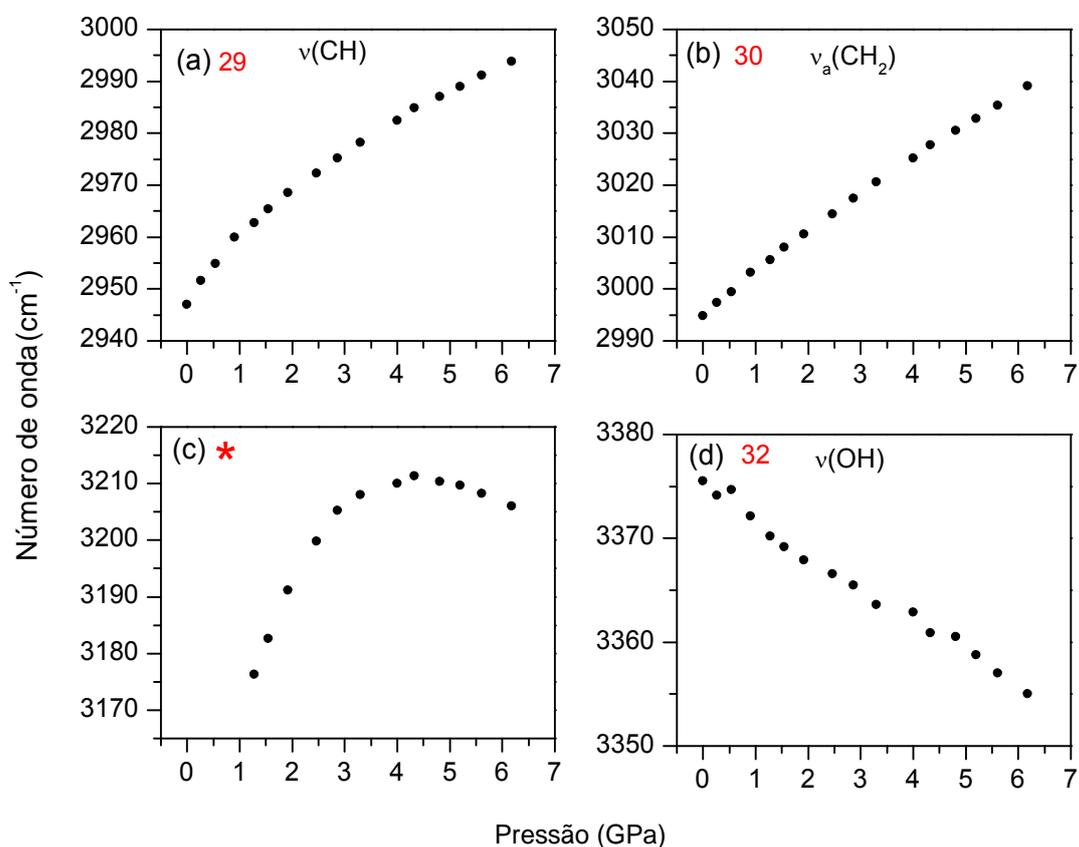
Como pode ser notado na Figura 39(a), a banda localizada em $\sim 2947 \text{ cm}^{-1}$ (identificada como 29), associada ao estiramento C-H, $\nu(\text{CH})$, desloca-se para maiores números de onda e apresenta uma diminuição da largura de linha com o aumento da pressão. Assim como a banda 29, a banda identificada pelo número 30 na figura, associada ao estiramento anti-simétrico do CH_2 - $\nu_a(\text{CH}_2)$, sofre deslocamento para maiores números de onda, bem como tem sua intensidade aumentada com o aumento da pressão.

As bandas localizadas entre 3100 e 3500 cm^{-1} apresentam baixa intensidade e, por esse motivo, são exibidas separadamente na Figura 39(b). Nesta figura é possível observar claramente apenas uma banda larga localizada em $\sim 3375 \text{ cm}^{-1}$ à pressão ambiente. Esta banda foi classificada previamente como uma vibração de estiramento O-H pertencente à molécula de água, $\nu(\text{OH})$. Para valores de pressão menor do que 0,9 GPa, a banda apresenta forma larga e de baixa intensidade, o que dificulta uma análise quantitativa do seu comportamento. No entanto, para pressões acima deste valor torna possível perceber que a mesma sofre deslocamento para menores números de onda com o aumento da pressão.

Para valores de pressão acima de 0,5 GPa, é possível perceber o aparecimento de uma banda localizada em $\sim 3175 \text{ cm}^{-1}$ (marcada por um asterisco na Figura 39(b)). Nessa região espectral espera-se observar o estiramento assimétrico do NH_3^+ , $\nu_a(\text{NH}_3^+)$ [67]. Nesse ponto podemos inferir que a banda já existia mesmo a pressão ambiente apresentando forma larga e baixa intensidade, e com o aumento da pressão esta banda tem sua intensidade aumentada. A evolução desse modo com a pressão é acompanhada pela linha tracejada na figura. Desta evolução é possível notar que para valores de pressão entre 0,9 e 4,3 GPa a banda desloca-se para maiores números de onda, e para pressões acima deste valor a mesma desloca-se no sentido contrário. Desta forma, podemos afirmar que o aumento da pressão alterou a dinâmica das ligações de hidrogênio N-H...O e N-H...Cl.

A Figura 40(a-d) apresenta o gráfico do número de onda *versus* pressão para os modos vibracionais observados nesta região espectral.

Figura 40 – (a-d) Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de CYSCLM pertencentes à região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1} .



A Figura 40(a) refere-se ao comportamento da banda associada ao estiramento C-H, $\nu(\text{CH})$. Desta figura, é possível perceber que o número de onda desta banda comporta-se de forma não linear com a pressão, mesmo que de forma contínua. Entretanto, o comportamento da banda associada ao estiramento antissimétrico do CH_2 , $\nu_a(\text{CH}_2)$, exibido na Figura 40(b) exibe comportamento linear.

A banda marcada pelo asterisco na Figura 39(b) exibe um comportamento singular como mostrado na Figura 40(c). Para valores de pressão até 4,3 GPa a banda desloca-se para maiores números de onda apresentando uma dependência não-linear, e acima deste valor a banda apresenta dependência linear com a pressão deslocando-se para menores números de onda, comportamento este que pode estar relacionado com mudanças conformacionais ocorridas na molécula.

A evolução do número de onda com relação a pressão da banda associada ao estiramento OH, $\nu(\text{OH})$, é mostrado na Figura 40(d). Deste resultado podemos afirmar que a banda possui uma dependência linear com a pressão, embora se caracterize pelo seu enfraquecimento.

6.6 Discussões

Como discutido nas seções anteriores foram observadas algumas mudanças nos espectros Raman do cristal de CYSCLM quando submetido a altas pressões, tanto na região dos modos externos vibracionais (mudança de intensidade) quanto na região dos modos internos. As principais alterações nos espectros ocorrem nas vibrações associadas às unidades SH, NH_3^+ , CH_2 , CCN, OH e COH. Na região dos modos externos foi verificado que o modo ($\sim 154 \text{ cm}^{-1}$) teve sua intensidade aumentada significativamente para valores de pressão acima de 2,5 GPa. Na região dos modos internos entre as mudanças mais relevantes está a mudança de comportamento do número de onda em função da pressão, das bandas associadas à deformação do CCN e ao estiramento C-S (vide Figura 34(b-c)), o que pode ser explicado por mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária. Uma outra mudança observada que corrobora com a ideia de mudança conformacional sofrida pelas moléculas a altas pressões é o desdobramento de uma banda associada ao *rocking* do CH_2 , $r(\text{CH}_2)$, visto que essa unidade encontra-se ligada apenas ao esqueleto molecular. Na região espectral entre 2750 e 3500 cm^{-1} observou-se a mudança na intensidade relativa da banda associada ao estiramento antissimétrico do NH_3^+ , $\nu_a(\text{NH}_3^+)$, e uma descontinuidade no comportamento do número de onda desta banda.

As mudanças observadas no espectro Raman do cristal de CYSCLM em altas pressões não são impressionantes a ponto de afirmarmos a existência de uma transição de fase estrutural sofrida pelo cristal. Essas modificações podem estar associadas a mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária sofridas pelo cristal quando submetidos a altas pressões.

Na estrutura cristalina do CYSCLM, cada molécula de cisteína participa de sete ligações de hidrogênio, formando uma complexa rede tridimensional de ligações intermoleculares. O efeito da variação da pressão nas ligações de hidrogênio pode ser entendido através da observação das bandas associadas às unidades participantes destas ligações (SH, OH, NH_3^+ , e COOH). É interessante notar que mesmo bandas associadas

à unidades (CH₂ e CCN) pertencentes ao esqueleto da molécula apresentaram mudanças nos seus parâmetros com a variação da pressão.

No cristal de CYSCLM, cada molécula de água forma quatro ligações de hidrogênio, duas delas com o átomo de cloro e duas com moléculas de L-cisteína. Na Figura 40(d) observamos que o número de onda relativo à vibração de estiramento O-H diminui com o aumento da pressão, indicando que o comprimento de ligação diminui com o aumento da pressão.

A complexa rede de ligações de hidrogênio no cristal entre as moléculas de água, cisteína e ácido clorídrico mantém a estrutura cristalina estável mesmo a altas pressões. Normalmente, nos aminoácidos e peptídeos, a dinâmica da transição de fase acontece envolvendo os grupos CO₂⁻ e NH₃⁺. No entanto, no caso do cristal de CYSCLM, o grupo carboxílico (COOH) não cede o seu hidrogênio ao grupo NH₂, onde o hidrogênio recebido pelo grupo NH₃⁺ é doado pelo ácido clorídrico. Além disso, a molécula de cisteína está circundada por ligações de hidrogênio em todas as suas extremidades, o que proporciona uma grande estabilidade ao cristal.

De acordo com estudos anteriores realizados em cristais de aminoácidos [6,13] que continham moléculas de água e ácido clorídrico em sua estrutura, o cristal na forma de cloridrato monohidratado apresentava menor estabilidade quando submetido a altas pressões do que no caso do cristal monocomponente. Por exemplo, o cristal de L-histidina mantém-se estável para valores de pressão até 7,0 GPa [13], enquanto o cristal de cloridrato de L-histidina monohidratada [6] apresenta uma transição de fase entre 2,7 e 3,1 GPa. Os estudos realizados nos cristais de L-histidina, nos levam a acreditar que sistemas com um grande número de ligações de hidrogênio parecem mais fáceis de terem suas estruturas modificadas através da variação de um parâmetro termodinâmico, principalmente quando moléculas menores encontram-se na estrutura cristalina. No entanto, os resultados apresentados nas seções anteriores mostram que enquanto o cristal de CYSCLM apresenta-se estável para valores de pressão de até 6,2 GPa, o mesmo não ocorre para outros cristais de cisteína (L-cisteína e DL-cisteína) [39,43]. O cristal de DL-cisteína experimenta três transições de fase estruturais para valores de pressão até 6,5 GPa, enquanto que o cristal de L-cisteína apresenta uma série de transições de fase até 3,6 GPa [39]. No caso do cristal de DL-cisteína cada molécula participa de seis ligações de hidrogênio entre as duas moléculas não equivalentes, enquanto que no cristal de L-cisteína a molécula participa de oito ligações de hidrogênio [68,69]. Isso nos leva a imaginar que, apesar do cristal de CYSCLM apresentar uma

complexa rede de ligações de hidrogênio e em número de ligações muito similares aos dois casos citados anteriormente, o fator determinante na estabilidade da estrutura pode estar mais fortemente relacionado com outros fatores até então não mencionados como força de atração entre os íons que participam das ligações de hidrogênio e geometria das ligações.

O cristal de cloridrato de cisteína é um segundo exemplo de cristais de cisteína que não se apresenta estável em altas pressões [2]. Este cristal foi estudado para valores de pressão da ordem de 6,9 GPa e apresentou uma transição de fase em 0,8 GPa onde foram observadas diversas mudanças em todas as regiões do espectro. Além disso, algumas modificações nos espectros foram observadas entre 1,7 e 2,3 GPa e entre 3,5 e 4,5 GPa e associadas a mudanças conformacionais nas moléculas contidas na célula unitária.

Assim como a α -glicina que mostrou ser estável para valores de pressão até 23 GPa [11], o cristal de CYSCLM mostrou-se estável até 6,2 GPa. Este comportamento é diferente da maioria dos aminoácidos investigados em altas pressões, que apresentam no mínimo uma transição de fase estrutural. Desta forma, o cristal de CYSCLM juntamente com os cristais de L-histidina e α -glicina são exemplos de cristais que mantiveram-se estáveis em estudos de altas pressões.

6.7 Considerações Finais

Experimentos de espectroscopia Raman foram realizados no cristal de CYSCLM na região espectral entre 30 e 3500 cm^{-1} para o intervalo entre pressão ambiente até 6,2 GPa. Com o aumento da pressão, o cristal mostrou-se estável, e as mudanças observadas no espectro relacionadas com os modos vibracionais associados às unidades OH, SH e CCN foram associadas a mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária.

Capítulo 7 – Conclusões e Perspectivas

7.1 Conclusões

Neste trabalho foram estudadas as propriedades vibracionais do cristal de aminoácido cloridrato de L-cisteína monohidratado - CYSCLM - em diferentes condições (à temperatura ambiente, à baixas temperaturas e à altas pressões). No cristal de CYSCLM foram realizados experimentos de difração de raios-X com o objetivo de confirmar a sua estrutura cristalina. O espectro Raman à temperatura ambiente foi obtido e a classificação tentativa dos modos vibracionais do cristal de CYSCLM foi realizada baseando-se em trabalhos anteriores realizados em outros aminoácidos.

Experimentos de espectroscopia Raman à baixas temperaturas (entre -160 e 20°C) na região espectral entre 25 e 3500 cm^{-1} foram realizados. Da análise dos espectros Raman obtidos, foi possível concluir que: (i) Os espectros não sofreram mudanças qualitativas e não apresentam qualquer evidência de uma transição de fase estrutural sofrida pelo cristal de CYSCLM; (ii) Descontinuidades no número de onda de alguns modos vibracionais associados às unidades OH, NH_3^+ e CH_2 foram notadas entre -60 e -20°C, e associadas a uma mudança conformacional do esqueleto da molécula de cisteína.

Experimentos de espectroscopia Raman à altas pressões no cristal de CYSCLM foram realizados, desde a pressão ambiente até 6,2 GPa. Com o aumento da pressão, o espectro Raman não apresentou indícios de qualquer transição de fase estrutural sofrida pelo cristal, e as mudanças observadas no espectro relacionadas com os modos vibracionais associados às unidades OH, SH e CCN foram interpretados como mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária.

De uma forma geral, o cristal de CYSCLM mostrou-se estável tanto à baixas temperaturas (-160 a 20°C) quanto à altas pressões (pressão ambiente até 6,2 GPa), não apresentando qualquer indício de transição de fase estrutural. Tal estabilidade foi explicada em termos da complexa rede de ligações de hidrogênio apresentada por esses cristais.

7.2 Perspectivas

Como perspectivas de trabalhos futuros para a continuidade desse trabalho sugerem-se:

(i) Obter o monocristal de cloridrato de L-cisteína monohidratado, e realizar experimentos de espectroscopia Raman polarizado à baixas temperaturas com o objetivo de obter mais detalhes sobre a mudança conformacional que ocorre na molécula de cisteína entre -60 e -20°C ;

(ii) Realizar experimentos de espectroscopia de infravermelho em função de baixas temperaturas;

(iii) Realizar experimentos de difração de raios-x em função de baixas temperaturas no cristal estudado;

(iv) Realizar experimentos de espectroscopia Raman a altas temperaturas e estudar o processo de desidratação do cristal;

(v) Realizar experimentos de espectroscopia Raman em pressões superiores ($P > 6,2$ GPa);

(vi) Realizar experimentos de difração de raios-x a altas pressões utilizando radiação síncroton.

Referências Bibliográficas

- [1] J.A. Lima Jr, Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina, DL-alanina e de Nanotubos de Carbono, Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [2] M.N. Coelho, Espectroscopia Raman de policristais de clorohidrato de L-cisteína sob altas pressões, Universidade Federal do Ceará, 2010.
- [3] C. da S. Moraes, F.O.R. de Oliveira Junior, G. Masson, K.M. Rebello, L. de O. Santos, N.F.P. Bastos, et al., Métodos experimentais no estudo de proteínas, 1^a, FIOCRUZ, 2013.
- [4] A.J.D. Moreno, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, M.A. Araújo Silva, I. Guedes, J. Mendes Filho, Pressure-Induced Phase Transitions in Monohydrated L-Asparagine Aminoacid Crystals, *Solid State Commun.* 103 (1997) 655–658.
- [5] R.O. Holanda, Propriedades vibracionais de L-treonina e D-treonina sob altas pressões, Universidade Federal do Ceará, 2014.
- [6] G.P. De Sousa, P.T.C. Freire, J.A. Lima, J.M. Filho, F.E.A. Melo, High-pressure Raman spectra of l-histidine hydrochloride monohydrate crystal, *Vib. Spectrosc.* 57 (2011) 102–107. doi:10.1016/j.vibspec.2011.05.010.
- [7] T. Journal, P. Chemistry, S.S. Chemistry, K.R. Academy, S.S. Chemistry, Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline l - and dl -Cysteine, (2008). doi:10.1021/jp8020276.
- [8] J.A. Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P.S. Pizani, High pressure Raman spectra of L-methionine crystal, *J. Raman Spectrosc.* 39 (2008) 1356–1363. doi:10.1002/jrs.2005.
- [9] S.V. Goryainov, E.N. Kolesnik, E.V. Boldyreva, A reversible pressure-induced phase transition in β -glycine at 0.76GPa, *Phys. B Condens. Matter.* 357 (2005) 340–347. doi:10.1016/j.physb.2004.11.089.
- [10] E. V. Boldyreva, S.N. Ivashevskaya, H. Sowa, H. Ahsbahs, H.-P. Weber, Effect of High Pressure on Crystalline Glycine: A New High-Pressure Polymorph, *Dokl. Phys. Chem.* 396 (2004) 111–114. doi:10.1023/B:DOPC.0000029166.57397.2d.
- [11] C. Murli, S.M. Sharma, S. Karmakar, S.K. Sikka, α -Glycine under high pressures: a Raman scattering study, *Phys. B Condens. Matter.* 339 (2003) 23–

30. doi:10.1016/S0921-4526(03)00446-0.
- [12] G.P. De Sousa, P.T.C. Freire, J.M. Filho, F.E. a. Melo, C.L. Lima, G.P. Sousa, et al., Low-Temperature Raman Spectra of L-Histidine Crystals, *Brazilian J. Phys.* 43 (2013) 137–144. doi:10.1007/s13538-013-0132-3.
- [13] G. de S. Pinheiro, *Espectroscopia Vibracional em Cristais de L-histidina*, Universidade Federal do Ceará, 2009.
- [14] G. de S. Pinheiro, *Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo α -L-Aspartil-L-Alanina em Condições Extremas de Temperatura*, Universidade Federal do Ceará, 2013.
- [15] J.A. Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J.M. Filho, G.P. De Sousa, R.J.C. Lima, et al., Low-temperature Raman spectra of racemate DL-Alanine crystals, *J. Raman Spectrosc.* 41 (2010) 808–813. doi:10.1002/jrs.2507.
- [16] V.A. Drebuschak, E. V. Boldyreva, Y.A. Kovalevskaya, I.E. Paukov, T.N. Drebuschak, Low-temperature heat capacity of beta-glycine and a phase transition at 252 K, *J. Therm. Anal. Calorim.* 79 (2005) 65–70. doi:10.1007/s10973-004-0563-8.
- [17] O. Sala, *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*, 2^a, Unesp, 2008.
- [18] A. Smekal, *Zur Quantentheorie der Streuung und Dispersion*, (n.d.).
- [19] J.J. Laserna, *An Introduction to Raman Spectroscopy: Introduction and Basic Principles*, Spectrosc. Now. (2014). <http://www.spectroscopynow.com/details/education/sepspec1882education/An-Introduction-to-Raman-Spectroscopy-Introduction-and-Basic-Principles.html?tzcheck=1,1,1,1,1,1&> (accessed August 8, 2017).
- [20] Universidade do Vale do Paraíba Edmilson Tadeu Martins “ *Espectroscopia Raman na biomolécula de cisteína* ,” (2007).
- [21] A. Altomare, C. Cuocci, C. Giacovazzo, A. Moliterni, R. Rizzi, N. Corriero, et al., EXPO2013: A kit of tools for phasing crystal structures from powder data, *J. Appl. Crystallogr.* 46 (2013) 1231–1235. doi:10.1107/S0021889813013113.
- [22] R.P. Chapman, D.L. Bryce, A high-field solid-state ^{35/37}Cl NMR and quantum chemical investigation of the chlorine quadrupolar and chemical shift tensors in amino acid hydrochlorides, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 6219. doi:10.1039/b712688c.
- [23] G.J. Piermarini, S. Block, J.D. Barnett, R.A. Forman, *Calibration of the Pressure*

- Dependence of the R1 Ruby Fluorescence Line To 195 Kbar, *J. Appl. Phys.* 46 (1975) 2774–2780. doi:10.1063/1.321957.
- [24] P. Heitmann, A Model for Sulfhydryl Groups in Proteins. Hydrophobic Interactions of the Cysteine Side Chain in Micelles, *Eur. J. Biochem.* 3 (1968) 346–350. doi:10.1111/j.1432-1033.1968.tb19535.x.
- [25] M.M. Harding, H.A. Long, IUCr, The crystal and molecular structure of L-cysteine, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* 24 (1968) 1096–1102. doi:10.1107/S0567740868003742.
- [26] B. Khawas, IUCr, X-ray study of L-arginine HCl, L-cysteine, DL-lysine and DL-phenylalanine, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* 27 (1971) 1517–1520. doi:10.1107/S056774087100431X.
- [27] C.H. Görbitz, B. Dalhus, IUCr, L-Cysteine, Monoclinic Form, Redetermination at 120K, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 52 (1996) 1756–1759. doi:10.1107/S0108270196003952.
- [28] K.A. Kerr, J.P. Ashmore, IUCr, Structure and conformation of orthorhombic L-cysteine, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* 29 (1973) 2124–2127. doi:10.1107/S0567740873006217.
- [29] K.A. Kerr, J.P. Ashmore, T.F. Koetzle, IUCr, A neutron diffraction study of L-cysteine, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* 31 (1975) 2022–2026. doi:10.1107/S0567740875006772.
- [30] P. Luger, M. Weber, IUCr, DL -Cysteine at 298K, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 55 (1999) 1882–1885. doi:10.1107/S0108270199009208.
- [31] R.R.R. Ayyar, Crystal structure of L(+)-cysteine hydrochloride monohydrate, *Zeitschrift Für Krist. - Cryst. Mater.* 126 (1968) 227–239. doi:10.1524/zkri.1968.126.16.227.
- [32] A.L. Spek, Structure validation in chemical crystallography, *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 65 (2009) 148–155. doi:10.1107/S090744490804362X.
- [33] D.L. Rousseau, R.P. Bauman, S.P.S. Porto, Normal mode determination in crystals, *J. Raman Spectrosc.* 10 (1981) 253–290. doi:10.1002/jrs.1250100152.
- [34] A. Matei, N. Drichko, B. Gompf, M. Dressel, Far-infrared spectra of amino acids, *Chem. Phys.* 316 (2005) 61–71.
- [35] N.A. Tumanov, E. V. Boldyreva, B.A. Kolesov, A. V. Kurnosov, R. Quesada Cabrera, Pressure-induced phase transitions in L-alanine, revisited., *Acta*

- Crystallogr. B. 66 (2010) 458–71. doi:10.1107/S010876811001983X.
- [36] A. Pawlukoć, J. Leciejewicz, A.J. Ramirez-Cuesta, J. Nowicka-Scheibe, L-Cysteine: Neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study., *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 61 (2005) 2474–81.
- [37] V.S. Minkov, S. V. Goryainov, E. V. Boldyreva, C.H. Görbitz, Raman study of pressure-induced phase transitions in crystals of orthorhombic and monoclinic polymorphs of L-cysteine: dynamics of the side chain, *J. Raman Spectrosc.* 41 (2010) 1748–1758. doi:10.1002/jrs.2624.
- [38] V.S. Minkov, N.A. Tumanov, R.Q. Cabrera, E. V. Boldyreva, Low temperature/high pressure polymorphism in dl-cysteine, *CrystEngComm.* 12 (2010) 2551. doi:10.1039/c003617j.
- [39] V.S. Minkov, A.S. Krylov, E. V. Boldyreva, S. V. Goryainov, S.N. Bizyaev, A.N. Vtyurin, Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline *l*- and *dl*-Cysteine, *J. Phys. Chem. B.* 112 (2008) 8851–8854. doi:10.1021/jp8020276.
- [40] V.S. Minkov, N.A. Tumanov, B.A. Kolesov, E. V. Boldyreva, S.N. Bizyaev, Phase Transitions in the Crystals of *l*- and *dl*-Cysteine on Cooling: The Role of the Hydrogen-Bond Distortions and the Side-Chain Motions. 2. *dl*-Cysteine, *J. Phys. Chem. B.* 113 (2009) 5262–5272. doi:10.1021/jp810355a.
- [41] R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, F.E.A. Melo, et al., High-pressure Raman study of taurine crystal, *J. Raman Spectrosc.* 32 (2001) 27–32.
- [42] P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, Polarized Raman and Infrared Spectra of Taurine Crystals, *J. Raman Spectrosc.* 27 (1996) 507–512.
- [43] B.A. Kolesov, V.S. Minkov, E. V Boldyreva, T.N. Drebuschak, Phase transitions in the crystals of L- and DL-cysteine on cooling: intermolecular hydrogen bonds distortions and the side-chain motions of thiol-groups. 1. L-cysteine., *J. Phys. Chem. B.* 112 (2008) 12827–39. doi:10.1021/jp804142c.
- [44] D. Garfinkel, J.T. Edsall, Raman Spectra of Amino Acids and Related Compounds. XI. The Ionization of Cysteine¹⁻³, *J. Am. Chem. Soc.* 80 (1958) 3823–3826.
- [45] B.L. Silva, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, I. Guedes, M.A. Araújo Silva, J. Mendes Filho, et al., Polarized Raman Spectra and Infrared Analysis of Vibrational

- Modes in L-Threonine Crystals, *Brazilian J. Phys.* 28 (1998) 19–24. doi:10.1590/S0103-97331998000100003.
- [46] R. Ramesh Babu, N. Vijayan, R. Gopalakrishnan, P. Ramasamy, Growth and characterization of L-lysine monohydrochloride dihydrate (L-LMHCl) single crystal, *Cryst. Res. Technol.* 41 (2006) 405–410. doi:10.1002/crat.200510594.
- [47] M.T.S. Rosado, M.L.R.S.S. Duarte, R. Fausto, Vibrational spectra (FT-IR, Raman and MI-IR) of α - and β -alanine, *J. Mol. Struct.* 410–411 (1997) 343–348. doi:10.1016/S0022-2860(96)09695-0.
- [48] M. Wolpert, P. Hellwig, 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} ., *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 64 (2006) 987–1001. doi:10.1016/j.saa.2005.08.025.
- [49] B.J.M. Rajkumar, V. Ramakrishnan, R.K. Rajaram, Infrared and Raman spectra of DL -aspartic acid nitrate monohydrate, 54 (1998) 1527–1532.
- [50] J.F. Pearson, M.A. Slifkin, The infrared spectra of amino acids and dipeptides, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* 28 (1972) 2403–2417. doi:10.1016/0584-8539(72)80220-4.
- [51] E.N. Kolesnik, S. V. Goryainov, E. V. Boldyreva, Different Behavior of L- and DL-Serine Crystals at High Pressures: Phase Transitions in L-Serine and Stability of the DL-Serine Structure, *Dokl. Phys. Chem.* 404 (2005) 169–172. doi:10.1007/s10634-005-0052-1.
- [52] F.M. Almeida, P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, C.M.R. Remédios, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, Raman spectra of L-isoleucine crystals, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 1296–1301. doi:10.1002/jrs.1553.
- [53] C.H. Wang, R.D. Storms, Temperature-Dependent Raman Study and Molecular Motion in L-Alanine Single Crystal, *J. Chem. Phys.* 55 (1971) 3291.
- [54] H.N. Bordallo, E. V. Boldyreva, J. Fischer, M.M. Koza, T. Seydel, V.S. Minkov, et al., Observation of subtle dynamic transitions by a combination of neutron scattering, X-ray diffraction and DSC: a case study of the monoclinic L-cysteine., *Biophys. Chem.* 148 (2010) 34–41. doi:10.1016/j.bpc.2010.02.003.
- [55] A.J. de D. Moreno, Estudos de Transições de Fase por Espectroscopia Raman em Monocristais de L-Asparagina Monohidratada, Universidade Federal do Ceará, 1996.
- [56] C. da L. Lima, Estudo espectroscópico de materiais: A múltipla aplicabilidade da

- espectroscopia Raman na caracterização de aminoácidos, molibdato e tungstato de sódio, e óxidos nanomoldados., Universidade Federal do Ceará, 2011.
- [57] A.S. Sabino, G.P. De Sousa, C. Luz-Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, High-pressure Raman spectra of L-isoleucine crystals, *Solid State Commun.* 149 (2009) 1553–1556. doi:10.1016/j.ssc.2009.05.048.
- [58] J.H. da Silva, J.A. Lima Jr, P.T.C. Freire, V. Lemos, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, et al., Raman spectroscopy and inelastic neutron scattering study of crystalline L-valine, *J. Phys. Condens. Matter.* 21 (2009) 415404. doi:10.1088/0953-8984/21/41/415404.
- [59] E.V. Boldyreva, H. Sowa, Y.V. Seryotkin, T.N. Drebuschak, H. Ahsbahs, V. Chernyshev, et al., Pressure-induced phase transitions in crystalline l-serine studied by single-crystal and high-resolution powder X-ray diffraction, *Chem. Phys. Lett.* 429 (2006) 474–478. doi:10.1016/j.cplett.2006.08.092.
- [60] J. Hermínio da Silva, V. Lemos, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J.M. Filho, J.A. Lima Jr, et al., Stability of the crystal structure of L-valine under high pressure, *Phys. Status Solidi.* 246 (2009) 553–557. doi:10.1002/pssb.200880523.
- [61] E.A. Belo, J.A. Lima Jr, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, H.N. Bordallo, et al., High-pressure Raman spectra of racemate dl-alanine crystals, *Vib. Spectrosc.* 54 (2010) 107–111. doi:10.1016/j.vibspec.2010.03.016.
- [62] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, A.O. dos Santos, L.M. da Silva, High pressure Raman spectra of l-glutamic acid hydrochloride crystal, *Vib. Spectrosc.* 72 (2014) 15–19. doi:10.1016/j.vibspec.2014.02.004.
- [63] C. Luz-Lima, G.P. De Sousa, J.A. Lima Jr, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, A. Polian, et al., High pressure Raman spectra of β -form of l-glutamic acid, *Vib. Spectrosc.* 58 (2012) 181–187. doi:10.1016/j.vibspec.2011.12.005.
- [64] P. de T.C. Freire, J.A. Lima Júnior, B.T. de O. Abagaro, G. de S. Pinheiro, J. de A. Freitas e Silva, J.M.F. and F.E. de A. Melo, High Pressure Raman Spectra of Amino Acid Crystals, in: n.d.
- [65] P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira, The behavior of NH₃ torsional vibration of l-alanine, l-threonine and taurine crystals under high pressure: A Raman spectroscopic study, *Vib. Spectrosc.* 45 (2007) 99–102. doi:10.1016/j.vibspec.2007.05.003.
- [66] W.S. Zhou, K.M. Yenice, S.A. Lee, A. Anderson, Raman Studies of Molecular Crystals at High Pressures. I. Tribromofluoromethane, *J. Raman Spectrosc.* 27

- (1996) 9–15. doi:10.1002/(SICI)1097-4555(199601)27:1<9::AID-JRS915>3.0.CO;2-C.
- [67] N.B. Colthup, L.H. Daly, S.E. Wiberley, Introduction to infrared and Raman spectroscopy, 3rd ed., Academic Press, San Diego, 1990.
- [68] P. Luger, M. Weber, DL-Cysteine at 298K, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 55 (1999) 1882–1885. doi:10.1107/S0108270199009208.
- [69] K.A. Kerr, J.P. Ashmore, T.F. Koetzle, A neutron diffraction study of L-cysteine, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* 31 (1975) 2022–2026. doi:10.1107/S0567740875006772.