



Universidade Federal do Ceará

Ricardo Oliveira Gonçalves

*Espalhamento Raman polarizado em cristais de  
L-arginina.HCl.H<sub>2</sub>O e estudo da  
L-arginina.2H<sub>2</sub>O sob altas pressões e sob altas  
temperaturas*

Fortaleza – CE

Junho / 2012

Ricardo Oliveira Gonçalves

*Espalhamento Raman polarizado em cristais de  
L-arginina.HCl.H<sub>2</sub>O e estudo da  
L-Arginina.2H<sub>2</sub>O sob altas pressões e sob altas  
temperaturas*

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Física da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Física.

Orientador:  
Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire

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

Fortaleza – CE  
Junho / 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

G628e Gonçalves, Ricardo Oliveira.

Espalhamento Raman polarizado em cristais de L-arginina.HCl:H<sub>2</sub>O e estudo da L-Arginina.2H<sub>2</sub>O sob altas pressões e sob altas temperaturas / Ricardo Oliveira Gonçalves. – 2012.

126 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física , Fortaleza, 2012.

Orientação: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.

1. Espectroscopia Raman. 2. Teoria do espalhamento Raman. 3. Classificação dos aminoácidos. I. Título.  
CDD 530

---

Tese apresentada à coordenação do Programa de Pós-graduação em Física da Universidade Federal do Ceará sob o título "*Espalhamento Raman polarizado em cristais de L-arginina.HCl.H<sub>2</sub>O e estudo da L-arginina.2H<sub>2</sub>O sob altas pressões e sob altas temperaturas*", defendida por Ricardo Oliveira Gonçalves e aprovada em 05 de junho de 2012, em Fortaleza, Ceará, pela banca examinadora constituída pelos doutores:

---

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

---

Prof. Dr. Eduardo Bedê Barros  
Departamento de Física - UFC

---

Prof. Dr. João Hermínio da Silva  
Departamento de Engenharia de Materiais - UFC

---

Prof. Dr. Waldeci Paraguassu Feio  
Departamento de Física - UFPA

Copyright 2012 Ricardo Oliveira Gonçalves.

Este documento é distribuído nos termos da licença descrita no arquivo LICENCA que o  
acompanha.

*Dedico esta dissertação a meus pais,  
cujo exemplo de honestidade e trabalho  
tem sido um norteador para a minha vida,  
me dado apoio nos momentos mais difíceis  
e mostrado a simplicidade de ter esperança.*

## *Agradecimentos*

Dedico meus sinceros agradecimentos para:

- O meu criador, e criador do universo, nosso eterno Deus, por ter me dado saúde, força e vigor para a realização deste trabalho;
- Aos meus pais, minhas irmãs e meus sobrinhos;
- Ao professor doutor Paulo de Tarso Cavalcante Freire, pela orientação, incentivo, ajuda nas horas difíceis e realização deste trabalho;
- Ao professor doutor Josué Mendes Filho por ter me ajudado sempre que foi preciso;
- Ao professor doutor José Alves Lima Junior por ter me acompanhado nas medidas e análise dos dados;
- Ao Bruno Tavares de Oliveira Abagaro por ter me ajudado no crescimento do cristal e em algumas medidas;
- Aos Amigos: João Herminio da Silva, Adelmo Sabino Santiago e Juscilene Estênio dos Santos, Eduardo Souza Filho, Robson Maia, César Rodrigues, Daniel Matos, Cléanio Cruz Lima, Gardênia de Sousa Pinheiro, Saulo Davi Soares e Reis, Danila Tavares, João Damasceno, Nizomar, Clenilton, Michel, Gilberto Dantas Saraiva, Pascoal, Ana Teresa, Sérgio Gomes, George Frederick, Roger, Roberto Narmor, Prof. Rogério (in memorian), Rocicler Oliveira, Carlos Alex, José Junior, Ivan Carneiro ("brother"), Roner e muitos outros o qual sempre terão um lugar especial em minhas lembranças;
- Aos Professores: professor doutor Eduardo Bedê Barros (UFC), professor doutor Waldeci Paraguassu Feio (UFPA) e professor doutor Ricardo Rodrigues de França Bento (UFMT), pela participação em minha banca;
- A todos os professores do departamento em especial aqueles que participaram da minha formação;
- Aos funcionários: Maria Creusa da Silva, Maria do Carmo Germano de Souza, Luiza do Nascimento Barros, Joana Umbilina da Conceição Coutinho, Rejane Ramos Coelho, Ana Cleide Ferreira Sampaio, Jailson da Silva Neves, Vera Lúcia dos Santos,

Amélia Landim Barrocas e a todos aqueles que contribuem com seus esforços para o engrandecimento deste Departamento;

- Agradeço também a FUNCAP e ao CNPq por terem financiado este trabalho;
- Todos os colegas do Mestrado e doutorado do programa de pós-graduação em física da UFC.

*“Porque o Senhor dá a sabedoria,  
da sua boca vem o conhecimento e o entendimento.”*  
*(Provérbios 2:6)*

## *Resumo*

Esta Tese teve como objetivo o estudo por meio de espectroscopia Raman de dois cristais contendo o aminoácido L-arginina em sua constituição: a L-arginina monohidratada clorohidrato (LARHCL) e a L-arginina dihidratada (LARDH). Na primeira parte do trabalho foram discutidos aspectos estruturais gerais da LARHCL e da LARDH, em particular a distribuição dos modos normais do material em termos das representações irreduzíveis dos grupos fatores  $C_2$  e  $D_2$ , respectivamente. Foi realizado um estudo detalhado dos modos normais de vibração da LARHCL à temperatura ambiente através de espectroscopia Raman polarizada observando-se os modos normais de vibração do material em nove diferentes geometrias de espalhamento. Com o auxílio de cálculos "ab initio" foi feita a classificação tentativa dos modos normais de vibração da LARHCL ativos no Raman. Numa outra etapa do trabalho analisou-se os espectros Raman da LARDH sob diversas condições de temperatura e de pressão. Realizou-se um estudo dos modos normais do cristal de LARDH através da espectroscopia Raman no intervalo entre  $30^0$  e  $200^0C$ . Deste estudo observou-se a existência de algumas anomalias nos espectros Raman, como mudança de inclinação de curvas  $d\omega/dT$  para modos de baixa frequência em torno de  $45^0C$ , além do fato de que a partir de  $50^0C$  algumas bandas vão perdendo intensidade. Estes fatos foram interpretados como uma transição de fase sofrida pelo cristal entre  $45^0C$  e  $50^0C$ . Observou-se que os espectros Raman entre  $45^0C$  e  $60^0C$  eram diferentes dos espectros Raman para  $T < 45^0C$  e para  $T > 60^0C$  sugerindo a coexistência de fases neste intervalo de temperatura. Uma outra hipótese foi que o cristal sofreria uma transição de fase em  $45^0C$ , ficando nesta fase até a temperatura de  $60^0C$ . Foram realizadas medidas térmicas do tipo análise térmica diferencial (DTA) e análise termogravimétrica (TG). Da análise de DTA observou-se que entre  $45^0$  e  $50^0C$  inicia-se um evento endotérmico que se prolonga até cerca de  $84^0C$ . A seguir, um segundo evento endotérmico, prolongando-se até  $109^0C$ . Com o auxílio das medidas de TG compreendeu-se que estes dois eventos endotérmicos estão associados à expulsão das moléculas de água, embora uma pequena quantidade permaneça no cristal como demonstrado pela espectroscopia Raman. Como parte final do trabalho estudou-se cristais de LARDH sob condições de altas pressões até cerca de 8 GPa. Deste estudo inferiu-se pela análise da região dos modos externos, que o cristal sofre uma transição de fase em torno de 2,5 GPa. Entretanto, para pressões no intervalo entre 2,5 e 8,0 GPa nenhuma outra transição de fase foi percebida, o que aponta para uma grande estabilidade do cristal quando comparado a outros cristais hidratados de aminoácidos. Além disso, nas regiões dos modos internos não foram observadas grandes mudanças nos espectros Raman, sugerindo que a transição de fase com a pressão seja do tipo conformacional.

## ***Abstract***

The objective of this Thesis is the study through Raman spectroscopy of two crystals containing amino acid L-arginine: L-arginine monohydrated hydrochloride (LARHCL) and L-arginine dihydrated (LARDH). In the first part of the work it was presented structural and vibrational aspects of LARHCL and LARDH, particularly the distribution of normal modes in terms of the irreducible representations of factor groups  $C_2$  and  $D_2$ , respectively. The room temperature normal modes of LARHCL observed through polarized Raman spectroscopy using nine different scattering geometries was presented. Using ab initio calculations it was possible to tentatively assign the Raman-active normal modes of LARHCL. In another part of the work it is presented the analysis of Raman spectra of LARDH under several temperature and pressure conditions. It was studied the normal modes of LARDH crystal through Raman spectroscopy in the range between  $30^{\circ}C$  and  $200^{\circ}C$ . From this study it was observed the occurrence of anomalies in the Raman spectra, such as change in the curves  $d\omega/dT$  related to modes of low frequency (at about  $45^{\circ}C$ ), as well as the fact that, starting from  $50^{\circ}C$ , in a heating process, some bands decrease intensity. Such a picture suggested that LARDH crystal undergoes a phase transition between  $45^{\circ}$  and  $50^{\circ}C$ . Also, it was possible to note that the spectra recorded between  $45^{\circ}$  and  $60^{\circ}C$  were different from those recorded for  $T < 45^{\circ}C$  and for  $T > 60^{\circ}C$  suggesting the coexistence of phases in this temperature interval. Another hypothesis was that the crystal undergoes a phase transition at  $45^{\circ}C$ , remaining in this phase up to the temperature of  $60^{\circ}C$ . Additionally, it was possible to perform thermal analysis measurements, differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetric analysis (TG). From the DTA it was observed that between  $45^{\circ}$  and  $50^{\circ}C$  begins an endothermic event that is observed up to  $84^{\circ}C$ . A second endothermic event begins and remains up to  $109^{\circ}C$ . By using TG data it was possible to understand that these two events are related to water that left the crystal, although a small quantity remains in the crystal, as pointed out by Raman spectroscopy. In the final part of the work LARDH crystal under high pressure conditions was studied up to 8 GPa. From this study, in particular the analysis of external modes, it was revealed that the crystal undergoes a phase transition at 2,5 GPa. However, for pressures between 2,5 and 8,0 GPa no additional phase transition was observed, pointing to a great stability of the crystal when compared with other amino acid hydrated crystals. Additionally, there is no great change in the internal mode region of the Raman spectrum, suggesting that the phase transition undergone by LARDH under high pressure conditions can be classified as a conformational one.

# *Sumário*

## **Lista de Figuras**

## **Lista de Tabelas**

<b>Introdução</b>	p. 16
<b>1 Aspectos Teóricos</b>	p. 22
1.1 Introdução . . . . .	p. 22
1.2 O que são aminoácidos . . . . .	p. 22
1.3 Classificação dos aminoácidos . . . . .	p. 23
1.4 Isomeria . . . . .	p. 23
1.5 As ligações de hidrogênio . . . . .	p. 24
1.6 Espectroscopia . . . . .	p. 25
1.6.1 Espectroscopia Raman . . . . .	p. 28
1.6.2 Teoria do espalhamento Raman . . . . .	p. 28
<b>2 A L – Arginina.HCl.H<sub>2</sub>O e a L – Arginina.2H<sub>2</sub>O</b>	p. 31
2.1 Introdução . . . . .	p. 31
2.2 L – Arginina.HCl.H <sub>2</sub> O . . . . .	p. 31
2.3 L – Arginina.2H <sub>2</sub> O . . . . .	p. 34
<b>3 Procedimento Experimental</b>	p. 36
3.1 Introdução . . . . .	p. 36
3.2 Crescimento da amostra LARHCL . . . . .	p. 36

3.3	Crescimento da amostra LARDH . . . . .	p. 37
3.4	Medidas de Espectroscopia Raman . . . . .	p. 38
3.5	Medidas de altas temperaturas na LARDH . . . . .	p. 39
3.6	Medidas de altas pressões para a LARDH . . . . .	p. 41
3.7	Procedimentos experimentais para as medidas de pressão hidrostática .	p. 42
<b>4</b>	<b>Espalhamento Raman polarizado da LARHCL à temperatura ambiente</b>	
		p. 47
4.1	Introdução . . . . .	p. 47
4.2	Espectros Raman da LARHCL . . . . .	p. 49
<b>5</b>	<b>Espectros Raman da LARDH em condições ambiente</b>	
		p. 59
5.1	Introdução . . . . .	p. 59
5.2	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente - assinalamento dos modos . . . . .	p. 59
<b>6</b>	<b>Espalhamento Raman da LARDH sob altas temperaturas</b>	
		p. 73
6.1	Introdução . . . . .	p. 73
6.2	Principais características dos espectros Raman da LARDH sob altas temperaturas . . . . .	p. 74
<b>7</b>	<b>Medidas de espalhamento Raman na LARDH sob altas pressões</b>	
		p. 94
7.1	Introdução . . . . .	p. 94
7.2	A amostra de LARDH sob altas pressões . . . . .	p. 95
<b>8</b>	<b>Conclusões e Perspectivas</b>	
		p. 119
<b>Referências</b>		p. 121

# ***Lista de Figuras***

1	Esquema geral de um aminoácido de radical R qualquer. . . . .	p. 22
2	Forma zwitterion de um aminoácido. . . . .	p. 24
3	Esquema geral mostrando as formas catiônicas, zwitterion e aniónicas dos aminoácidos quando expostos a soluções de PH ácido, neutro a alcalino, respectivamente. . . . .	p. 25
4	Os vinte aminoácidos que participam da síntese de proteínas classificados segundo a polaridade de seus radicais: a) Aminoácidos hidrofóbicos b) Aminoácidos hidrofílicos. . . . .	p. 26
5	Continuação c)Aminoácidos ácidos d) Aminoácidos básicos. . . . .	p. 27
6	Molécula de L-Arginina na forma zwitterion. . . . .	p. 32
7	Disposição da <i>LAHCL</i> na estrutura cristalina. . . . .	p. 33
8	Molécula de LARDH na forma zwitterion. . . . .	p. 35
9	Detalhe da orientaçao do cristal. . . . .	p. 37
10	Morfologia da amostra de LARDH. . . . .	p. 38
11	Diagrama em blocos da configuração do espectrômetro utilizado nos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 39
12	Aparelho T64000 utilizado na realização dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 40
13	Equipamento utilizado no aquecimento da amostra para a realização dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 41
14	Representação esquemática do diamante e da marca que o mesmo deixa sobre a gaxeta metálica após o experimento. . . . .	p. 45
15	Representação esquemática da disposição dos diamantes em uma célula de pressão a extremos de diamante. . . . .	p. 45

16	Fotografia de uma célula de pressão a extremos de diamante. . . . .	p. 46
17	Representação esquemática de uma célula de pressão a extremos de diamante montada sobre uma mesa com deslocamento XYZ. . . . .	p. 46
18	Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 25-225 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 53
19	Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 200-650 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 54
20	Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 650-1750 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 55
21	Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 2800-3600 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 56
22	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 0 e 600 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 66
23	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 600 e 1200 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 67
24	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 1100 e 1650 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 68
25	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 2650 e 3050 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 69
26	Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 3000 e 3400 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 70
27	Difratograma de raio-x da amostra de LARDH. . . . .	p. 71
28	Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 0 e 650 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 75
29	Gráfico de $\omega$ x T dos experimentos de espalhamento Raman na LARDH. . . . .	p. 76
30	Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 600 e 1200 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 79
31	Gráfico de $\omega$ x T dos experimentos de espalhamento Raman para um cristal de LARDH. . . . .	p. 80

32	Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 1150 e 1650 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 82
33	Gráfico de $\omega$ x T dos experimentos de espalhamento Raman para um cristal de LARDH. . . . .	p. 83
34	Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 2650 e 3000 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 85
35	Gráfico de $\omega$ x T dos experimentos de espalhamento Raman num cristal de LARDH. . . . .	p. 86
36	Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 3000 e 3400 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 89
37	Gráfico de $\omega$ x T dos experimentos de espalhamento Raman realizadas na LARDH. . . . .	p. 90
38	Medida de análise térmica diferencial da amostra LARDH. . . . .	p. 91
39	Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 50 e 600 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 100
40	Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 50 e 600 $cm^{-1}$ para o processo de descompressão da amostra. . . . .	p. 101
41	Gráfico de $\omega$ x P dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 102
42	Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 600 e 1200 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 104
43	Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 600 e 1200 $cm^{-1}$ para o processo de descompressão da amostra. . . . .	p. 105
44	Gráfico de $\omega$ x P dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 106
45	Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 1350 e 1650 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 107
46	Gráfico de $\omega$ x P dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 108
47	Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 2600 e 3050 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 109
48	Gráfico de $\omega$ x P dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 110

49	Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 3100 e 3450 $cm^{-1}$ . . . . .	p. 114
50	Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 3100 e 3400 $cm^{-1}$ para o processo de descompressão da amostra. . . . .	p. 115
51	Gráfico $\omega$ x P dos experimentos de espalhamento Raman. . . . .	p. 116
52	comprimentos das ligações de hidrogênio da LARDH. . . . .	p. 117

## *Listas de Tabelas*

1	Símbolos dos aminoácidos . . . . .	p. 24
2	Tabela de caracteres para o grupo $C_2$ . . . . .	p. 32
3	Tabela de caracteres para o grupo $D_2$ . . . . .	p. 34
4	Quadro geral das regiões e modos vibracionais da LARHCL. . . . .	p. 49
5	Identificação dos modos vibracionais da LARHCL. . . . .	p. 57
6	Identificação dos modos vibracionais da LARHCL. . . . .	p. 58
7	Identificação tentativa dos modos vibracionais da LARDH. . . . .	p. 72
8	Valores de $\omega$ , $\omega_0$ e $\alpha$ para os ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha T$ dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 32 a $1099\text{ cm}^{-1}$ . . .	p. 92
9	Valores de $\omega$ , $\omega_0$ e $\alpha$ para os ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha T$ dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 1222 a $3359\text{ cm}^{-1}$ . .	p. 93
10	Dimensões dos comprimentos das ligações de hidrogênio da LARDH. .	p. 113
11	Valores de $\omega$ , $\omega_0$ e $\alpha$ para os ajustes lineares do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha P$ dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 104 a $3347\text{ cm}^{-1}$ . .	p. 118

# *Introdução*

Os sólidos orgânicos encontram-se no nosso dia-a-dia de uma forma indiscutível. Assim, substâncias como medicamentos, plásticos, pigmentos, entre outros, fazem parte do cotidiano de qualquer pessoa, por mais humilde que ela seja. Mas partindo de uma idéia até chegar à casa das pessoas, um longo caminho é percorrido. Em particular, existe a questão de se descobrir a partir das propriedades moleculares e cristalográficas (quando for o caso) a função que uma determinada substância terá; em outras palavras, a partir da constituição molecular e cristalográfica, qual a função que a substância poderá desempenhar? Essa é uma questão central na química da atualidade e a sua resposta passa tanto pela investigação teórica/computacional quanto pela caracterização físico-química das substâncias em questão [1,2].

No que diz respeito aos cálculos teóricos e computacionais, o uso de supercomputadores tem permitido que tarefas anteriormente proibidas hoje sejam efetuadas quase que corriqueiramente. Entre as técnicas computacionais, para citar apenas uma, pode-se lembrar dos cálculos envolvendo teoria de funcional de densidade (DFT - density functional theory) no qual uma excelente previsão das propriedades de moléculas e sólidos pode ser atingida [3, 4].

Por outro lado, no que diz respeito à caracterização físico-química, um número bastante grande de técnicas experimentais têm sido utilizadas, algumas das quais podem ser citadas: difração de raios-X, difração de nêutrons, ressonância nuclear magnética, espectroscopia infravermelho, espectroscopia Raman, espalhamento de nêutrons, análise térmica (englobando análise térmica diferencial, calorimetria diferencial de varredura), microscopia eletrônica, etc.

Entre estas técnicas experimentais, aquelas mais comumente utilizadas para descobrir polimorfos, ou seja, novas estruturas cristalinas de uma mesma substância crescida sob uma condição diferente ou submetida a uma condição termodinâmica diversa encontram-se a difração de raios-X, a espectroscopia Raman e a espectroscopia infravermelho. A questão do polimorfismo é particularmente relevante quando a substância em estudo é um produto da indústria farmacêutica, uma vez que o fenômeno está intimamente relacionado

com as propriedades químicas da substância. Isso significa que se uma determinada substância encontra-se numa certa estrutura cristalina ela tem uma determinada atuação no organismo, mas se ela for administrada numa outra estrutura cristalina, eventualmente, a atuação desejada não será conseguida [5].

O fenômeno do polimorfismo, pela sua própria natureza envolvendo diversas variáveis termodinâmicas, é difícil de entender, e mais ainda de ser previsto, apesar dos avanços nos cálculos computacionais conforme citado anteriormente. Então, a junção entre previsões teóricas e experimentos muitas vezes fornece interessantes informações a respeito de polimorfos de substâncias orgânicas.

Muitos trabalhos têm procurado investigar as propriedades vibracionais e estruturais de substâncias orgânicas e a literatura a esse respeito é bastante grande. Por exemplo, no trabalho de revisão da Ref. [6] os autores descreveram as investigações relacionadas à caracterização de moléculas de uso farmacêutico, as propriedades de estado sólido dos polimorfos através de espectroscopia Raman cobrindo o período entre 1978-1999, enquanto que outro artigo de revisão sobre o mesmo assunto, mas cobrindo o período 1999-2004, foi apresentado na Ref. [7].

Outra classe de sólidos orgânicos com diversos trabalhos relacionados às propriedades físicas publicados na literatura nos últimos anos são os aminoácidos. Estas substâncias são as moléculas formadoras de todas as proteínas dos seres vivos. Possuem como fórmula química geral  $(NH_3^+) - CH - (CO_2^-) - R$ , onde R é um radical que caracteriza todos os diferentes tipos de aminoácidos. A importância destas substâncias está no fato de que, além de serem as unidades básicas das proteínas, elas são sistemas relativamente simples nos quais pode-se investigar o comportamento de ligações de hidrogênio, simulando o comportamento mais complicado de substâncias de fundamental importância na bioquímica, como as enzimas. Alguns trabalhos de revisão relacionados às propriedades vibracionais e estruturais apareceram na literatura nos últimos anos [1, 8-10] e uma rápida revisão é fornecida a seguir.

O mais simples dos aminoácidos proteicos é a -glicina, cujo radical R é simplesmente um átomo de hidrogênio. Estudos mostraram que o cristal é estável sob variação de temperatura e que quando o mesmo é submetido a condições de altas pressões, ele permanece com a estrutura original até pressões de cerca de 23 GPa [11]. Possuindo duplas camadas que são estabilizadas por ligações de hidrogênio, em virtude da dificuldade em mudar o arranjo destas camadas, explica-se o porquê da estrutura ser tão estável. Entretanto, quando se estudam outros polimorfos da glicina, a situação é bastante diversa. Por exem-

plo, a b-glicina quando submetida a condições de altas pressões, apresenta uma transição de fase em valores relativamente baixos, 0,76 GPa [12].

O segundo mais simples aminoácido proteico é a alanina, cujo radical  $R = CH_3$ . Diversas propriedades vibracionais e estruturais do cristal desta substância foram estudadas tanto com variação de temperatura quanto com variação de pressão. Sabe-se que o eixo  $c$  do cristal possui um comportamento anômalo, qual seja, aumenta com a diminuição de temperatura [13], embora em todo o intervalo de temperatura investigado não tenha sido observada nenhuma transição de fase. Em temperaturas inferiores a temperatura ambiente foi reportada pela Ref. [14] que o cristal de L-alanina apresenta com as duas bandas de mais baixas energias ativas no Raman um comportamento que foi interpretado como localização de energia vibracional, envolvendo acoplamento de modos de altas e baixas energias. Por outro lado, quando o cristal é submetido a condições de altas pressões observou-se através de espectroscopia Raman que o cristal sofre uma transição de fase entre 2,0 e 2,3 GPa, conforme anunciado pela Ref. [15]. Estes resultados de espectroscopia Raman foram confirmados por medidas de difração de raios-X no trabalho da Ref. [16], apesar dos trabalhos das Refs. [17, 18] sugerirem que na verdade em 2,3 GPa o que está acontecendo é apenas uma coincidência nas dimensões de dois eixos da célula unitária, o que daria a impressão de que o cristal sofreria uma transição de fase da simetria ortorrômbica para a simetria tetragonal, conforme apontado pela Ref. [16]. Os resultados apresentados neste parágrafo mostram, portanto, que mesmo num sistema simples como é o caso do cristal de L-alanina, a interpretação dos resultados pode não ser trivial.

A L-valina, um outro aminoácido protéico, cujo radical  $R = CH_3 - CH_2 - CH$ , foi investigada tanto com variação de temperatura quanto com variação de pressão. No primeiro caso, observou-se que o cristal sofre uma transição de fase em torno de 110 K, conforme resultados de espectroscopia Raman, em particular, com modificações de modos de baixa frequência [19]. No que diz respeito às medidas de altas pressões, observou-se também através de medidas de espalhamento Raman um grande aumento da intensidade de bandas associadas ao estiramento C - H em torno de 3 GPa, bem como modificações - diminuição de intensidade - em aproximadamente 5,3 GPa [20]. Tais observações, juntamente com modificações em bandas de baixa frequência foram interpretadas como transições de fase estruturais sofridas pelo cristal de L-valina nestes valores de pressão.

Outro aminoácido cujas propriedades vibracionais no estado sólido foram investigadas foi a L-leucina, que possui como radical  $R = (CH_3)_2 - CH_2 - CH$ . Medidas de espectro-

scopia Raman mostraram que o cristal de L-leucina sofre uma transição de fase em torno de 353 K [21] e que sob condições de altas pressões o cristal também sofre modificações. Estas modificações em altas pressões ocorrem em três diferentes intervalos: (a) entre 0,0 e 4,6 GPa; (b) entre 0,8 e 1,5 GPa; (c) em torno de 3,6 GPa [22]. Nestes estudos destaca-se o fato de que a transição observada entre 0,8 e 1,5 GPa é a mais evidente, haja vista modificações tanto na região dos modos internos quanto na região dos modos da rede.

A L-isoleucina possui o mesmo radical da L-leucina,  $R = (CH_3)_2 - CH_2 - CH$ , com a diferença entre eles encontrando-se apenas na posição ocupada por uma das unidades  $CH_3$ . Sob condições de baixas temperaturas não foi verificada nenhuma mudança nos espectros Raman que possam ser atribuídas a uma transição de fase sofrida pelo cristal [23]. Já sob condições de altas pressões foi observado que bandas associadas a vibrações do tipo rocking do  $NH_3^+$ ,  $r(NH_3^+)$ , e rocking do  $CO_2^-$ ,  $r(CO_2^-)$ , além de modos da rede, sofrem modificações em pressões da ordem de 2,3 GPa e 5,0 GPa [24].

Outro cristal de aminoácido investigado foi a L-metionina,  $R = CH_3 - S - CH_2 - CH_2$ , que possui como característica o fato de possuir um átomo de enxofre em sua constituição (o outro aminoácido protéico que possui enxofre é a cisteína). Medidas de espectroscopia Raman foram realizadas na L-metionina a altas pressões, mostrando que o cristal sofre uma transição de fase em cerca de 2,2 GPa [25]. (Esse valor coincide com o valor de pressão em torno do qual tanto a L-alanina quanto a L-isoleucina parecem também apresentar uma transição de fase). A transição na L-metionina é caracterizada pelo surgimento de um pico bastante intenso em aproximadamente  $670\text{ cm}^{-1}$ , ou seja, na região espectral entre uma banda característica da vibração CS e uma banda característica da vibração do tipo wagging do  $CO_2^-$ .

A L-serina, o aminoácido protéico com radical  $R = HO - CH_2$ , foi também extensivamente investigado nos últimos anos [27-30]. Descobriu-se, por exemplo, que o cristal sofre uma transição de fase em aproximadamente 4,8 GPa, transição esta cuja principal característica são modificações na rede de ligações de hidrogênio [27]. O trabalho da Ref. [30] confirma a existência da transição de fase em 4,8 GPa, embora a corriga para a pressão de 5,3 GPa, e aponta para a existência de uma segunda transição de fase, feita em 7,8 GPa. Nesta transição de fase nas mais altas pressões observou-se a formação de uma nova ligação de hidrogênio do tipo  $NH...OH$ .

Tendo como radical  $R = HO - CH_3 - CH$ , a L-treonina foi outro cristal de aminoácido investigado por espectroscopia Raman. Os dados obtidos novamente através de espectroscopia Raman mostraram que o cristal sofre uma transição de fase em torno de

2 GPa [31], embora até o momento nenhum resultado de difração de raios-X tenha sido reportado na literatura.

Outro cristal de aminoácido no qual existem muitos resultados na literatura é a L-cisteína, que possui como radical,  $R = HS - CH_2$ . É interessante destacar que mesmo à pressão atmosférica e temperatura ambiente a L-cisteína apresenta dois polimorfos [32]. Em particular, a forma monoclinica apresenta transições de fase em 2,9 e 3,9 GPa, ocorrendo uma distorção das ligações de hidrogênio. Já a forma ortorrômbica da L-cisteína, foi observada uma série de transições de fase, principalmente com mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária [32].

Continuando a discussão dos resultados relativos às propriedades vibracionais e estruturais de cristais de aminoácidos, o próximo a ser discutido é a L-asparagina, ou mais especificamente, a L-asparagina monohidratada. Este cristal foi investigado inicialmente no trabalho da Ref. [33], onde foi possível observar transições de fase entre as pressões de (i) 0,1 e 0,3 GPa; (ii) 0,3 e 0,6 GPa e (iii) 0,9 e 1,3 GPa. Posteriormente, num trabalho bastante recente inferiu-se, estudando-se o cristal de L-asparagina monohidratada em maiores valores de pressão, que o cristal apresenta ainda mais 5 transições de fase entre 2,0 e 30,0 GPa [34].

A L-glutamina,  $R = NH_2 - CO - (CH_2)_2$ , foi um outro cristal de aminoácido cujas propriedades vibracionais foram investigadas. Sob condições de baixas temperaturas não foi verificada nenhuma mudança relevante; entretanto, sob condições de altas pressões hidrostáticas foi observado que a L-glutamina sofre transição de fase em torno de 3,0 GPa [35]. Esta transição foi inferida pela observação de descontinuidades nas curvas de frequência versus pressão, principalmente relacionadas aos modos de baixa energia, quanto pela mudança de intensidades relativas de diversas bandas [35].

Resultados preliminares também foram conseguidos em cristais de L-prolina,  $R = (anel)C_4 - NH$ ; ou mais precisamente, na L-prolina monohidratada [36]. Estes resultados mostram que a L-prolina.H<sub>2</sub>O sofre duas transições de fase, uma entre 0,0 e 1,5 GPa e outra entre 6,5 e 7,8 GPa. Tais transições foram inferidas pela observação de descontinuidades das frequências de diversos modos de vibração, em particular na região dos modos externos, além da observação de aparecimento de novas bandas. Estas transições possivelmente estão relacionadas com modificações nas ligações de hidrogênio, uma vez que modos relacionados ao grupamento  $CO_2$ , sofrem grandes mudanças nas transições de fase.

O ácido L-glutâmico,  $R = HOOC - (CH_2)_2$ , possui no mínimo dois polimorfos em

condições normais de temperatura e pressão. A forma foi recentemente investigada sob condições de altas pressões [37]. Neste trabalho, quando a pressão atingiu uma pressão máxima de 21,5 GPa, foi verificada a ocorrência de uma série de transições de fase: entre 0,5 e 1,3 GPa; entre 2,6 e 3,1 GPa; entre 5,4 e 6,4 GPa; entre 13,9 e 15,9 GPa. Em todas as transições de fase foram observadas modificações em modos relacionados ao rocking do  $CO_2$  e aos estiramentos CH e  $CH_3$ .

Finalmente, estudos foram realizados em cristais de L-histidina,  $R = anel(C_3N_2H) - CH_2$ , ou mais especificamente na  $L - histidina.HCl.H_2O$ . Fazendo-se um experimento a baixas temperaturas encontrou-se indícios de que o cristal sofra uma transição de fase entre 140 e 110 K [38] e realizando-se estudos a altas pressões, descobriu-se que o cristal sofre uma transição de fase reversível entre 2,7 e 3,1 GPa [39].

Esse quadro mostra o esforço que já foi feito para entender as propriedades vibracionais e estruturais dos cristais de aminoácidos, mas obviamente, uma lacuna imensa ainda existe para ser preenchida. O objetivo desta Tese é dar uma contribuição ao entendimento das propriedades vibracionais de cristais de aminoácidos, mais particularmente, de cristais nos quais a molécula de L-arginina [ $R = (NH_2)_2 - C - NH - (CH_2)_3$ ] esteja presente. Observe-se que é um radical muito mais complexo do que os radicais dos aminoácidos anteriormente investigados. Neste sentido foram estudados sob diversas condições termodinâmicas cristais de (i) L-arginina clorohidrato monohidratado (LARHCL) e (ii) L-arginina dihidratado (LARDH). Assim, esta Tese está dividida nos seguintes capítulos. No capítulo 1 são apresentados alguns aspectos teóricos relacionados ao assunto estudado. No capítulo 2 descrevem-se os dois materiais investigados. No capítulo 3 descreve-se o procedimento experimental. No capítulo 4 um estudo de espalhamento Raman polarizado da LARHCL à temperatura ambiente, enquanto um estudo de espalhamento Raman da LARDH em condições ambiente é apresentado no capítulo 5. No capítulo 6 é apresentado um estudo de espalhamento Raman da LARDH sob altas temperaturas e no capítulo 7 é apresentado um estudo na LARDH sob altas pressões. Finalmente, no capítulo 8 são apresentadas as conclusões e as perspectivas de trabalhos.

# 1 Aspectos Teóricos

## 1.1 Introdução

Neste capítulo faremos uma abordagem dos aspectos teóricos sobre os aminoácidos em geral, descrevendo suas formas, suas propriedades físicas bem como suas estruturas. Também falaremos sobre a técnica do espalhamento Raman, que é o método experimental utilizado para a análise dos modos vibracionais do material em estudo. Ainda falaremos sobre as ligações que mantêm os aminoácidos unidos e as ligações que eles fazem entre si.

## 1.2 O que são aminoácidos

Um aminoácido é uma molécula orgânica constituída por átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e eventualmente, também o enxofre. Os aminoácidos podem ser divididos em quatro partes: um grupo amina ( $NH_2$ ) e um grupo carboxilíco ( $COOH$ ), os quais estão ligados a um átomo de carbono chamado de carbono "alfa" que está ligado a um átomo de hidrogênio e a um radical ( $R$ ). Este radical será o responsável pela diferenciação entre os aminoácidos e suas propriedades. Uma fórmula geral de um aminoácido é mostrada esquematicamente na Figura 1.

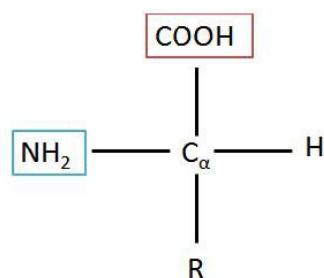


Figura 1: Esquema geral de um aminoácido de radical R qualquer.

## 1.3 Classificação dos aminoácidos

Quanto aos radicais, os aminoácidos protéicos podem ser classificados como:

- Apolar: alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptofano e metionina;
- Polar não-carregado: glicina, serina, cisteína, tirosina, asparagina e glutamina;
- Polar carregado: (carregados positivamente) lisina, arginina, histidina, (carregados negativamente) ácido aspártico e ácido glutâmico.
- Ácidos: ácido aspártico e ácido glutâmico;
- Básicos: arginina, lisina e histidina;

Quanto à forma de obtenção pelo organismo humano se dividem em essenciais, que não são produzidos pelo organismo e devem ser obtidos através da alimentação ou produtos que os contenham, e os não essenciais que são os que o organismo humano pode produzir por meio do metabolismo com os aminoácidos essenciais.

Na Tabela 1 temos os nomes dos principais aminoácidos e a letra que os representa.

## 1.4 Isomeria

Com exceção da glicina, todos os aminoácidos protéicos apresentam atividade ótica, ou seja, quando luz circularmente polarizada incide sobre eles, ela sai com polarização à direita (D) ou à esquerda (L). Esses aminoácidos apresentam quatro grupos diferentes todos ligados ao carbono central, ou seja, esse carbono é assimétrico, assim esse carbono é chamado centro quiral.

A existência de um centro quiral permite que esses aminoácidos formem esteroisômeros. Dentre estes esteroisômeros existem aqueles que se apresentam como imagem especulares um do outro sem sobreposição, a estes chamamos de enantiômeros. Os enantiômeros podem ser D ou L e somente os L-aminoácidos são os formadores das proteínas.

Uma interessante questão da investigação científica é descobrir o porquê de apenas os aminoácidos do tipo L serem encontrados nos seres vivos. Mas esse não é um ponto de relevância na presente tese.

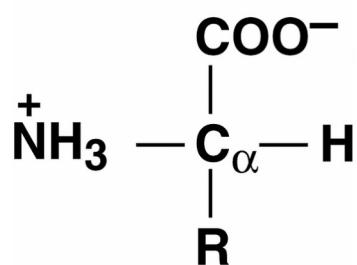


Figura 2: Forma zwitterion de um aminoácido.

Pode-se destacar ainda que dos 20 aminoácidos protéicos três são aromáticos: fenilalanina, tirosina e triptofano e apenas dois possuem enxofre em sua estrutura: metionina e cisteína.

Tabela 1: Símbolos dos aminoácidos

Aminoácido	Símbolo de três letras	símbolo de uma letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Ácido Glutâmico	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

## 1.5 As ligações de hidrogênio

As ligações de hidrogênio ocorrem quando um átomo de hidrogênio está preso a outros dois átomos em determinadas circunstâncias. O hidrogênio possui algumas propriedades

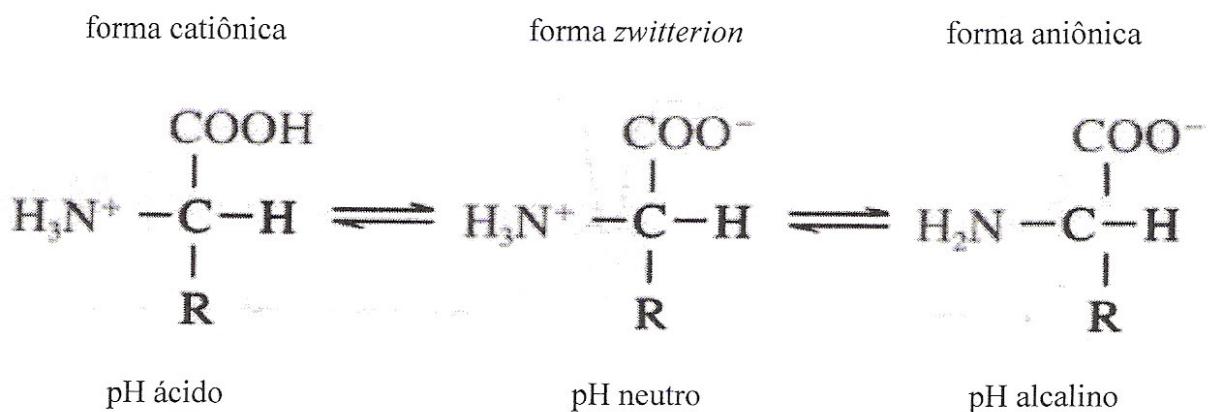


Figura 3: Esquema geral mostrando as formas catiônicas, zwitterion e aniônicas dos aminoácidos quando expostos a soluções de pH ácido, neutro a alcalino, respectivamente.

que lhe são peculiares como um núcleo composto por um único próton e alto potencial de ionização se comparado com outros elementos como  $L_i$  (5,39 eV) e K (4,34 eV). Quando na presença de átomos com forte eletronegatividade, como o oxigênio ou o flúor, o hidrogênio é fortemente atraído. Os exemplos mais importantes de ligações de hidrogênio ocorrem na molécula de DNA, onde átomos de hidrogênio formam a "ponte" entre as duas cadeias helicoidais da molécula e na formação do gelo.

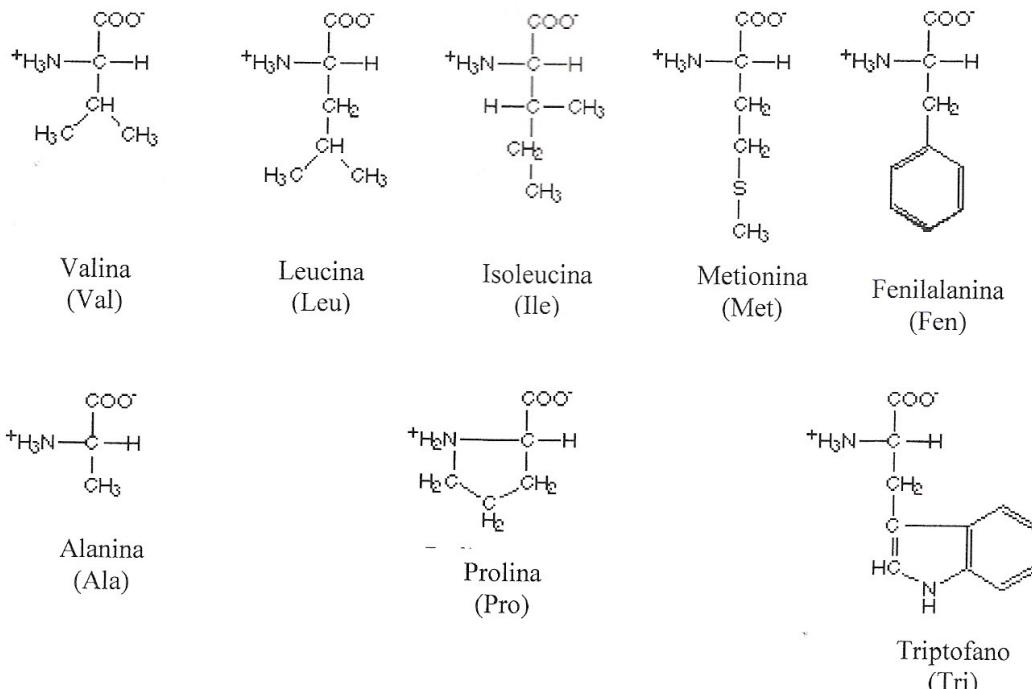
As ligações de hidrogênio podem ser intermolecular, quando ocorre entre moléculas, e intramolecular, quando ocorre entre átomos dentro da molécula. Nas ligações de hidrogênio, representadas por  $X - H \dots Y$ , o átomo de hidrogênio atua como uma "ponte" entre os átomos de  $X$  e  $Y$  que são eletronegativos (F, N, O, etc.). Nos aminoácidos, as ligações de hidrogênio são principalmente do tipo  $N - H \dots O$  onde o hidrogênio pertence ao grupo amino ( $\text{NH}_3^+$ ) e o oxigênio ao grupo carboxílico ( $\text{CO}_2^-$ ). Obviamente, quando um aminoácido se cristaliza na forma hidratada, as moléculas de água também participarão de ligações de hidrogênio com as moléculas dos aminoácidos.

Nas Figuras 2 e 3 temos a forma zwitterion de um aminoácido e nas Figuras 4 e 5 temos a representação de todos os aminoácidos essenciais e suas características.

## 1.6 Espectroscopia

A espectroscopia diz respeito à interação da radiação com a matéria, sendo o principal objetivo a determinação dos níveis de energia de átomos, moléculas ou cristais. O espalha-

## a) Aminoácidos hidrofóbicos



## b) Aminoácidos hidrofílicos

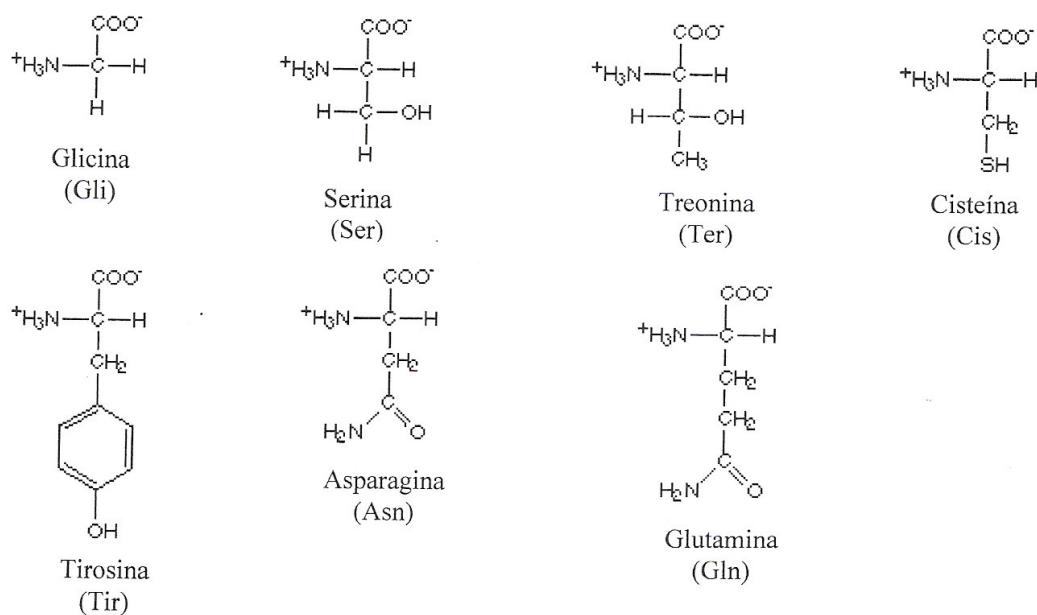
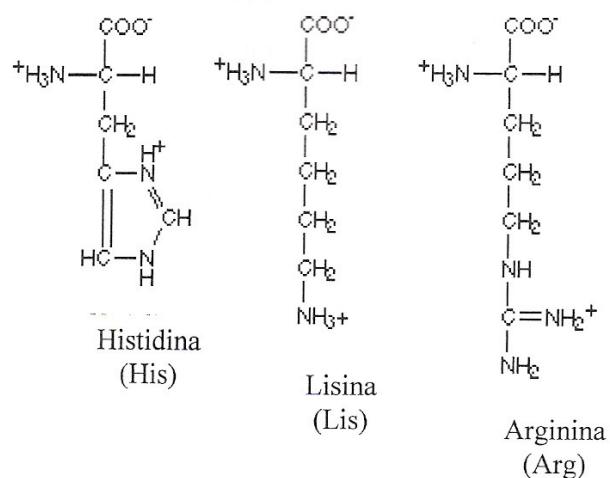


Figura 4: Os vinte aminoácidos que participam da síntese de proteínas classificados segundo a polaridade de seus radicais: a) Aminoácidos hidrofóbicos b) Aminoácidos hidrofílicos.

c) Aminoácidos ácidos



d) Aminoácidos básicos

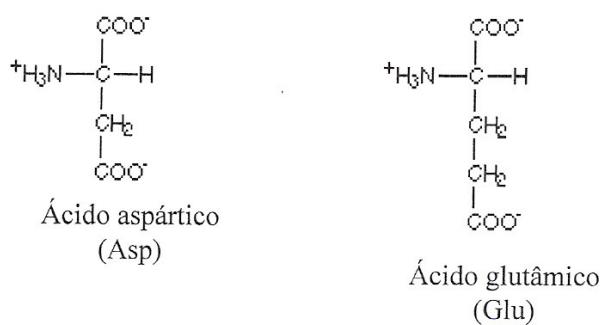


Figura 5: Continuação c) Aminoácidos ácidos d) Aminoácidos básicos.

mento Raman consiste do espalhamento inelástico de radiação de origem eletromagnética monocromática que interage com as moléculas. No espalhamento Raman uma radiação de origem geralmente na região do visível, interage com a molécula e sofre um espalhamento sendo que a freqüência de espalhamento é ligeiramente diferente da radiação incidente. Esta radiação espalhada traz consigo informações preciosas sobre os níveis energéticos do sistema em estudo.

### 1.6.1 Espectroscopia Raman

O efeito Raman foi previsto teoricamente por Smekal em (1923). No entanto, a observação e interpretação correta foi feita pela primeira vez por C. V. Raman e K.S. Krishnan também em 1923, na Índia. Independente e simultaneamente na Rússia, Grigory Landsberg e Leonid Mandelstam deram contribuições semelhantes, porém trabalhando com quartzo. A técnica ficou internacionalmente conhecida como espectroscopia Raman.

Quando radiação eletromagnética incide sobre uma amostra ela poderá ser absorvida se a energia da radiação incidente corresponder à separação de dois níveis de energia do átomo ou molécula em questão. A origem de uma freqüência modificada encontrada no espalhamento Raman pode ser explicada em termos da energia transferida entre o sistema espalhado e a radiação incidente. Quando um sistema interage com radiação de freqüência  $\nu_0$  ele poderá fazer uma transição de um nível de energia mais baixo  $E_1$  para um mais alto  $E_2$ .

Esta energia requerida poderá ser considerada como sendo provida pela aniquilação de um fóton da radiação incidente de energia  $h\nu_0$  e a simultânea criação de um fóton de menor energia  $E_f > E_0$ , tal que um espalhamento de baixa freqüência é observado.

Alternativamente, a interação da radiação com o sistema poderá causar uma transição de um nível de energia mais alto para outro nível mais baixo ( $E_2 \rightarrow E_1$ ). Novamente, como no processo anterior, um fóton da radiação incidente de energia  $h\nu_0$  é aniquilado, mas neste instante existe a criação simultânea de um fóton de maior energia ( $h\nu_0 + h\nu$ ), de tal modo que o espalhamento de radiação de número de onda mais alto ocorre [16].

### 1.6.2 Teoria do espalhamento Raman

Quando radiação de freqüência  $\nu_0$  incide sobre um sistema (que no caso pode ser qualquer tipo de matéria, ou um gás ) parte desta radiação poderá ser absorvida pelos átomos ou moléculas do sistema o qual passam a vibrar com a mesma freqüência  $\nu_0$  da

radiação incidente ou com outra freqüência característica do sistema. Daí podemos dar o nome de espalhamento ao processo de colisão de fótons de energia  $h\nu_0$ , com as moléculas do sistema.

Existem dois tipos de espalhamentos : o elástico e o inelástico. No espalhamento elástico, a molécula atingida pelo fóton da radiação incidente não vibra e o fóton espalhado conserva toda a sua energia. No inelástico, parte da energia do fóton incidente é absorvida pela molécula o qual passa a vibrar. Neste caso, a energia do fóton diminui. O espalhamento Raman é um tipo de espalhamento inelástico e o espalhamento elástico é chamado de espalhamento Rayleigh. O parâmetro que determina o grau de espalhamento quando a radiação incide sobre a matéria é a polarizabilidade  $\alpha$ . A polarizabilidade é uma medida do grau de afastamento do centro da nuvem eletrônica negativa em relação ao núcleo. Em geral, a polarizabilidade é uma propriedade anisotrópica, o que significa que, a iguais distâncias do centro da molécula  $\alpha$  poderá ter diferentes magnitudes quando medidas em diferentes direções.

No espalhamento Raman a radiação incidente induz um momento de dipolo  $\vec{P}$  ao qual está relacionado ao campo elétrico pela equação:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}, \quad (1.1)$$

onde nesta caso  $\alpha$  que é a polarizabilidade da molécula, é um tensor de segunda ordem cujas componentes têm unidade de  $CV^{-1} m^2$  e  $\vec{E}$  é o vetor do campo elétrico da radiação incidente.

Vamos agora considerar o significado do tensor de polarizabilidade o qual relaciona os vetores  $\vec{P}$  e  $\vec{E}$ . A equação a seguir implica que as magnitudes das componentes de  $\vec{P}$  estão relacionadas com as componentes de  $\vec{E}$  da seguinte maneira:

$$P_x = \alpha_{xx} E_x + \alpha_{xy} E_y + \alpha_{xz} E_z \quad (1.2)$$

$$P_y = \alpha_{yx} E_x + \alpha_{yy} E_y + \alpha_{yz} E_z \quad (1.3)$$

$$P_z = \alpha_{zx} E_x + \alpha_{zy} E_y + \alpha_{zz} E_z, \quad (1.4)$$

os novos coeficientes  $\alpha_{ij}$  são chamados as componentes do tensor de polarizabilidade  $\alpha$ . Este tensor é simétrico ou seja:

$$\alpha_{xy} = \alpha_{yx}; \alpha_{xz} = \alpha_{zx}; \alpha_{yz} = \alpha_{zy} \quad (1.5)$$

Vamos agora desenvolver  $\alpha$  em uma série em torno da coordenada  $q$  que é a coordenada normal do sistema:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)q + \dots, \quad (1.6)$$

onde fizemos a aproximação até a primeira ordem. Vamos agora supor que uma radiação monocromática dada por  $\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$  e também a coordenada  $q$  seja dada por um termo oscilatório do tipo  $q = q_0 \cos(2\pi\nu_v t)$  onde neste caso  $\nu_v$  e também  $\nu_0$  são, respectivamente, a freqüência vibracional e a freqüência da radiação incidente. Agora vamos substituir estas duas expressões em (1.2) e (1.3), então teremos:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)q_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_v t) \quad (1.7)$$

onde usando uma identidade trigonométrica conhecida teremos:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)q_0 \vec{E}_0 [\cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_v)t]] \quad (1.8)$$

Observemos agora que obtivemos três freqüências diferentes. O primeiro termo contém a freqüência da radiação incidente, o qual é conhecido como espalhamento Rayleigh, que é justamente a parte que corresponde ao espalhamento elástico. As outras duas correspondem respectivamente, ao espalhamento Raman anti-Stokes e ao espalhamento Raman Stokes.

## 2 A $L - Arginina.HCl.H_2O$ e a $L - Arginina.2H_2O$

### 2.1 Introdução

Neste capítulo iremos discutir alguns aspectos estruturais e vibracionais relacionados aos cristais de aminoácidos  $L - Arginina.HCl.H_2O$  (LARHCL) e  $L - Arginina.2H_2O$  (LARH).

### 2.2 $L - Arginina.HCl.H_2O$

A  $L - Arginina.HCl.H_2O$  cristaliza-se em uma rede monoclinica, pertencente ao grupo espacial  $P2_1(C_2^2)$ . A Figura 6 mostra a estrutura molecular da L-arginina, onde podemos destacar os grupos carboxílico e amônio na forma *zwitterion* (dipolar). Na Figura 7 temos o arranjo das moléculas na célula unitária com a adição de  $HCl$  e  $H_2O$ . Nesta seção e em capítulos posteriores, iremos usar a sigla LARHCL para a  $L - Arginina.HCl.H_2O$ .

Existem várias formas de estudar a distribuição das vibrações de um cristal quanto a sua simetria. Uma das mais utilizadas consiste no uso de tabelas que facilitam a determinação das regras de seleção para as transições vibracionais. A estrutura da célula unitária da LARHCL consiste de duas moléculas de  $C_6H_{14}O_2N_4.HCl.H_2O$ , num total de 62 átomos. Na célula primitiva da LARHCL todos os átomos ocupam sítios de simetria  $C_1$  e teremos um total de 186 modos normais de vibração. Para o cálculo destes modos devemos lembrar que a LAHCL é composta de 62 átomos, e que cada átomo contribui com três graus de liberdade sendo que teremos então um total de 186 modos normais de vibração. Da tabela 3A da ref. [40] vemos que na célula unitária existem sítios de simetria  $C_1$  ocupados por 2 átomos  $C_1(4)$ . Da tabela 3B, da mesma referência, vemos que os sítios de simetria  $C_1$  dão origem aos modos translacionais da rede:

$$\Gamma = 3A + 3B, \quad (2.1)$$

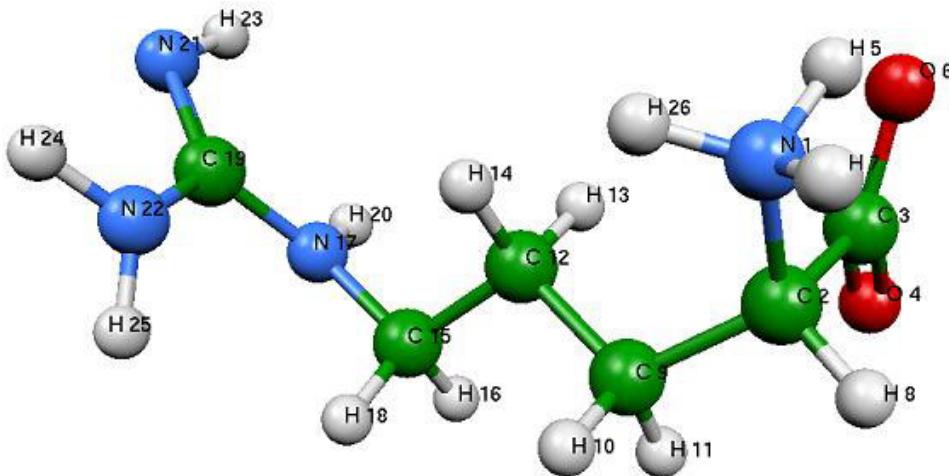


Figura 6: Molécula de L-Arginina na forma zwitterion.

A distribuição dos modos em termos da representações irreduzíveis do grupo fator  $C_2$  são dadas por:

$$\Gamma = 93A + 93B \quad (2.2)$$

onde neste caso estamos considerando tanto modos óticos como modos acústicos. Olhando para a tabela de caracteres do grupo  $C_2$  (Tabela 2), teremos que os modos acústicos são dados por:

$$\Gamma_{acustico} = A + 2B \quad (2.3)$$

descontando estes modos acústicos da distribuição total dos modos da LARHCL teremos a seguinte distribuição dos modos óticos como se segue:

$$\Gamma_{vib} = 92A + 91B \quad (2.4)$$

Tabela 2: Tabela de caracteres para o grupo  $C_2$ 

$C_2$	$E\ C_2^z$	atividade no IR	atividade no Raman
A	1 1	$T_z; R_z$	$\alpha_{xy}^z, \alpha_{xx}^z, \alpha_{yy}^z, \alpha_{zz}^z, \alpha_{xy}^z$
B	1 -1	$T_x, T_y; R_x, R_y$	$\alpha_{yz}^{x,y}, \alpha_{xz}^{x,y}$

Como podemos ver da Tabela 2 fônons com simetria A e B são ativos tanto no Raman como no infravermelho.

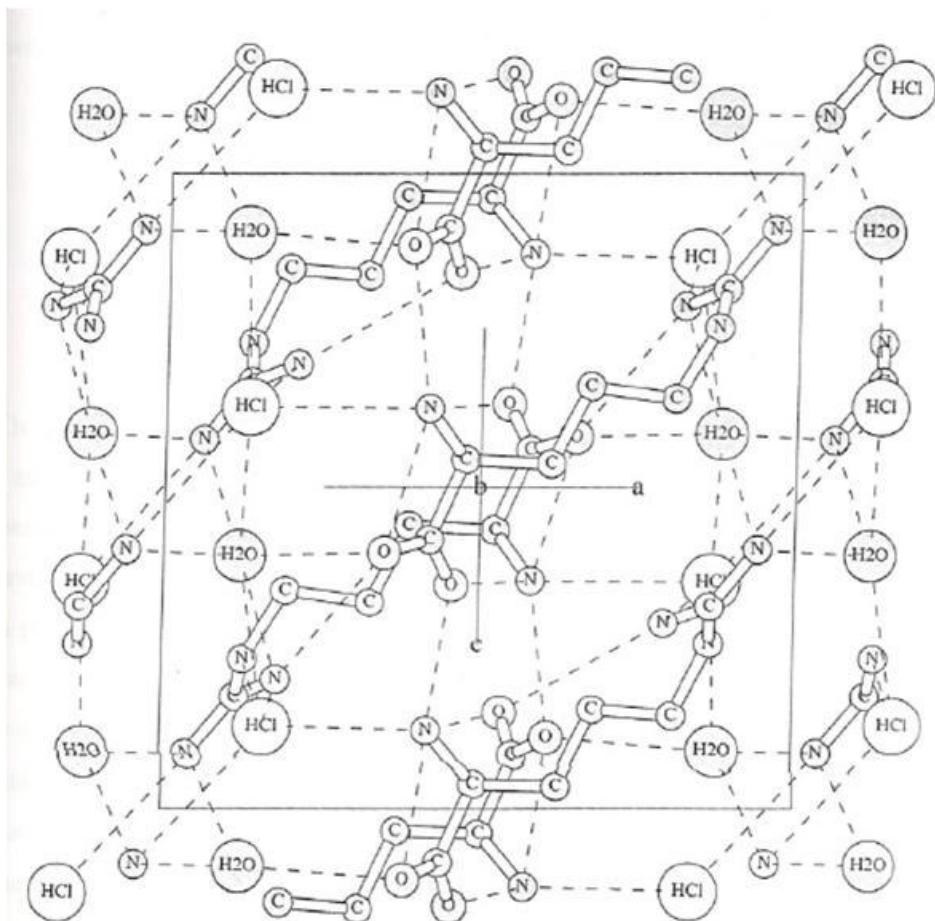


Figura 7: Disposição da *LAHCL* na estrutura cristalina.

## 2.3 *L – Arginina.2H<sub>2</sub>O*

A L-arginina,  $(H_2N)C(NH)_2(CH_2)_3CH(NH_3)^+COO^-$  é um dos aminoácidos essenciais para o crescimento animal[41]. Nesta seção e em capítulos posteriores, iremos usar a sigla LARDH para a L-arginina, di-hidratada. A LARDH, segundo a referência [41], cristaliza-se em uma estrutura ortorrômbica, com grupo espacial  $P2_12_12_1$  ( $D_2^4$ ) e as dimensões da célula unitária são:  $a = 5,86$ ,  $b = 11,87$ ,  $c = 15,74$ . A célula unitária comporta quatro moléculas [42]. A Figura 8 mostra a molécula da LARDH na forma *zwitterion*.

A estrutura da célula unitária da LARDH consiste de quatro moléculas  $C_6H_{14}O_2N_4$ . Da tabela 6B, da mesma referência, vemos que os sítios de simetria  $C_1$  dão origem aos modos translacionais da rede:

$$\Gamma = 3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3 \quad (2.5)$$

Então para a distribuição dos modos em termos das representações irreduutíveis do grupo fator  $D_2$  são dadas por:

$$\Gamma = 124A + 124B_1 + 124B_2 + 124B_3 \quad (2.6)$$

onde estamos a considerar tantos os modos óticos como os acústicos. Observando a Tabela de caracteres do grupo  $D_2$  (Tabela 3), teremos que modos acústicos são dados por:

Tabela 3: Tabela de caracteres para o grupo  $D_2$

$D_2$	E	$C_2^z$ $C_2^y$ $C_2^x$	atividade no IR	atividade no Raman
A	1 1 1 1			$\alpha_{xx}, \alpha_{yy}, \alpha_{zz}$
$B_1$	1 1 -1 -1		$T_z;R_z$	$\alpha_{xy}^z$
$B_2$	1 -1 1 -1		$T_y;R_y$	$\alpha_{xz}^y$
$B_3$	1 -1 -1 1		$T_x;R_x$	$\alpha_{yz}^x$

$$\Gamma_{acustico} = B_1 + B_2 + B_3 \quad (2.7)$$

e quando descontamos estes modos acústicos da distribuição total dos modos da LARDH teremos a seguinte distribuição dos modos óticos como se segue:

$$\Gamma_{vib} = 124A + 123B_1 + 123B_2 + 123B_3 \quad (2.8)$$

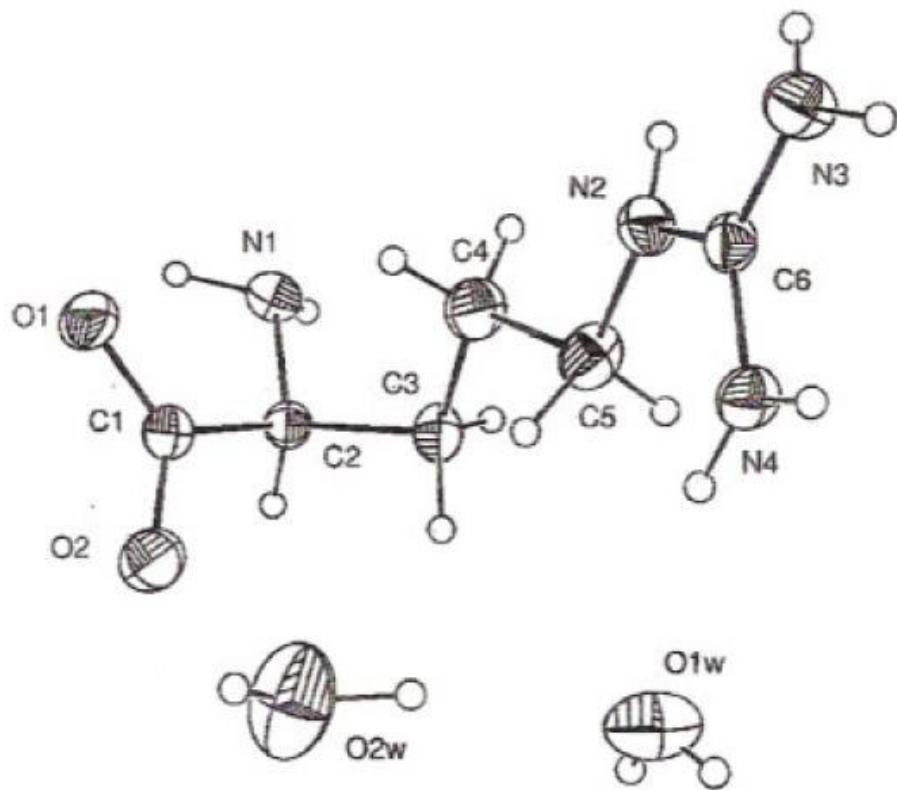


Figura 8: Molécula de LARDH na forma zwitterion.

Observando a tabela de caracteres do grupo  $D_2$  (Tabela 3), observamos que todos os modos são Raman ativos, enquanto os modos ativos no IR são somente  $B_1$ ,  $B_2$ , e  $B_3$ .

## ***3 Procedimento Experimental***

### **3.1 Introdução**

Neste capítulo descreveremos a parte experimental, onde falaremos sobre a técnica de crescimento usada no processo de crescimento dos cristais de LARHCL e LARDH, além dos equipamentos usados no processo de medidas do espalhamento Raman.

### **3.2 Crescimento da amostra LARHCL**

Quase todos os aminoácidos protéicos podem formar cristais produzidos a partir de soluções aquosas. O método geral consiste em dissolver uma determinada quantidade de reagente, escolhida pelo conhecimento da curva de solubilidade, em uma quantidade também pré-determinada de água. Essa solução é agitada mecanicamente mantendo-se a temperatura um pouco acima da temperatura ambiente, cerca de  $35^{\circ}C$ . Depois que todo o reagente é dissolvido na água, a solução é filtrada por um filtro de papel e a seguir é colocada em um becker, onde fica à temperatura constante durante o tempo necessário para que cresçam as amostras. Obviamente, nem todas as soluções preparadas produzirão cristais de boa qualidade ótica. Alguns problemas podem surgir durante o processo de crescimento como a falta de energia (que provocará uma grande variação de temperatura da solução), choque mecânico na mesa onde a solução repousa, desenvolvimento de fungos dentro do becker, etc.

As amostras de LARHCL foram crescidas a partir de uma solução aquosa conforme descrição anterior. Esta solução foi colocada para evaporar pelo método de evaporação lenta à temperatura controlada, em aproximadamente  $20^{\circ}C$ . Tipicamente após 2 a 3 semanas obteve-se os referidos cristais de LARHCL[43]. Na Figura 9 vemos o cristal de LARHCL e a orientação do cristal.

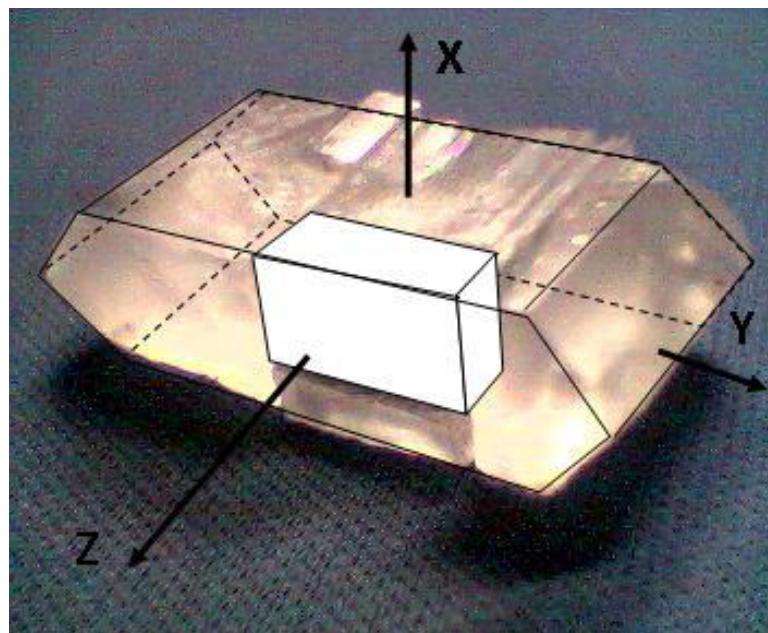


Figura 9: Detalhe da orientação do cristal.

### 3.3 Crescimento da amostra LARDH

Para o crescimento das amostras de LARDH, utilizamos o método de difusão à vapor sem gel (semente). O nosso procedimento experimental consistiu nos seguintes passos: foi medido em uma balança eletrônica 9,29 gramas de L-arginina em pó; foi colocado em um bequer de 100 ml (pyrex) 50 ml de água miliquê e este bequer foi colocado num agitador; foi observado depois de um certo tempo que o soluto não se dissolveu totalmente, com a conseqüente formação de um corpo de fundo; a temperatura de diluição foi medida como sendo  $26^{\circ}C$ ; foi medido na balança eletrônica 2,37 gramas de L-arginina em pó que foi colocada na solução; novamente colocamos mais 5 ml de água miliquê em um bequer de 20 ml e adicionamos à nossa solução. Foi adicionado a solução um pouco de azida de sódio para evitar a formação de fungos; foi medido o pH da solução e encontramos pH = 11,5; foi feito um processo de filtração em um bequer de 50 ml; cobrimos a boca de bequer com um plástico e fizemos alguns furos; foi colocado álcool etílico em um bequer de 250 ml na altura do bequer de 50 ml. Foram feitos ainda furos no bequer interno; cobrimos a boca do bequer externo; colocamos na bancada para o processo de crescimento. Após duas semanas observamos a formação de pequenos cristais de LARDH. A Figura 10 mostra o cristal após o crescimento.



Figura 10: Morfologia da amostra de LARDH.

### 3.4 Medidas de Espectroscopia Raman

As medidas de espalhamento Raman apresentadas nesta Tese foram realizadas utilizando-se um sistema micro - Raman preparado para a geometria de retroespalhamento num espetrômetro triplo da Jobin - Yvon T64000 equipado com um detetor CCD (*coupled charge device*), o qual é resfriado à nitrogênio líquido.

O diagrama em blocos da Figura 11 mostra os componentes de um equipamento necessário para a observação de um espectro Raman. O sistema é constituído de uma fonte de radiação monocromática, um dispositivo apropriado para suportar a amostra, um espetrômetro para dispersão da radiação espalhada, e um dispositivo de detecção da luz que pode ser de natureza fotográfica, de natureza fotoelétrica ou de natureza de cargas acopladas (CCD).

Para excitação da amostra usamos um laser de argônio operando na linha 514,5 nm. A Figura 12 mostra o espetrômetro usado nas medidas de espalhamento Raman. O feixe do laser foi focalizado utilizando-se um microscópio OLYMPUS BH-2 equipado com uma lente de distância focal  $f=20,5$  mm e abertura numérica de 0,35. Após a luz ser espalhada pela amostra ela entra na entrada do espetrômetro atravessando a fenda, sendo a seguir dispersada por uma grade  $G_1$ . A fenda de saída do primeiro monocromador é a fenda de entrada do segundo monocromador, que seleciona radiação com comprimentos de onda entre  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$ . Esta radiação atinge, então uma segunda grade  $G_2$  que recombina toda a radiação dispersada sobre uma terceira fenda. Este processo produz uma radiação

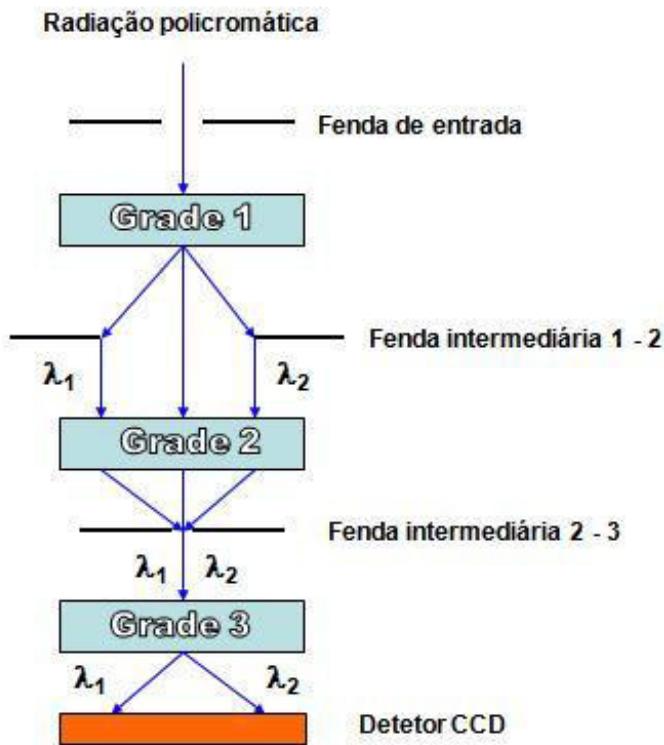


Figura 11: Diagrama em blocos da configuração do espectrômetro utilizado nos experimentos de espalhamento Raman.

novamente policromática, mas limitada ao intervalo espectral  $\lambda_1 - \lambda_2$ . Finalmente esta última radiação é dispersada por uma grade  $G_3$ , e finalmente é direcionada ao detector. Um esquema geral desta configuração, conhecida como configuração de modo subtrativo (ou duplo subtrutivo + espectrógrafo), é apresentado na Figura 11.

Os dados obtidos foram arquivados em um computador que se encontra conectado ao espectrômetro, de onde pudemos analisar os gráficos utilizando as plataformas ORIGIN e Peakfit.

### 3.5 Medidas de altas temperaturas na LARDH

Para as medidas de espalhamento Raman sob altas temperaturas foi utilizado um forno construído no próprio Departamento de Física da UFC, que é controlado por um controlador digital eletrônico microprocessado modelo HW4200. Na Figura 13 vemos o esquema da montagem para o aquecimento da amostra.

Para as medidas foi usada a lente de 20 mm, com uma potência de saída de 175 mW

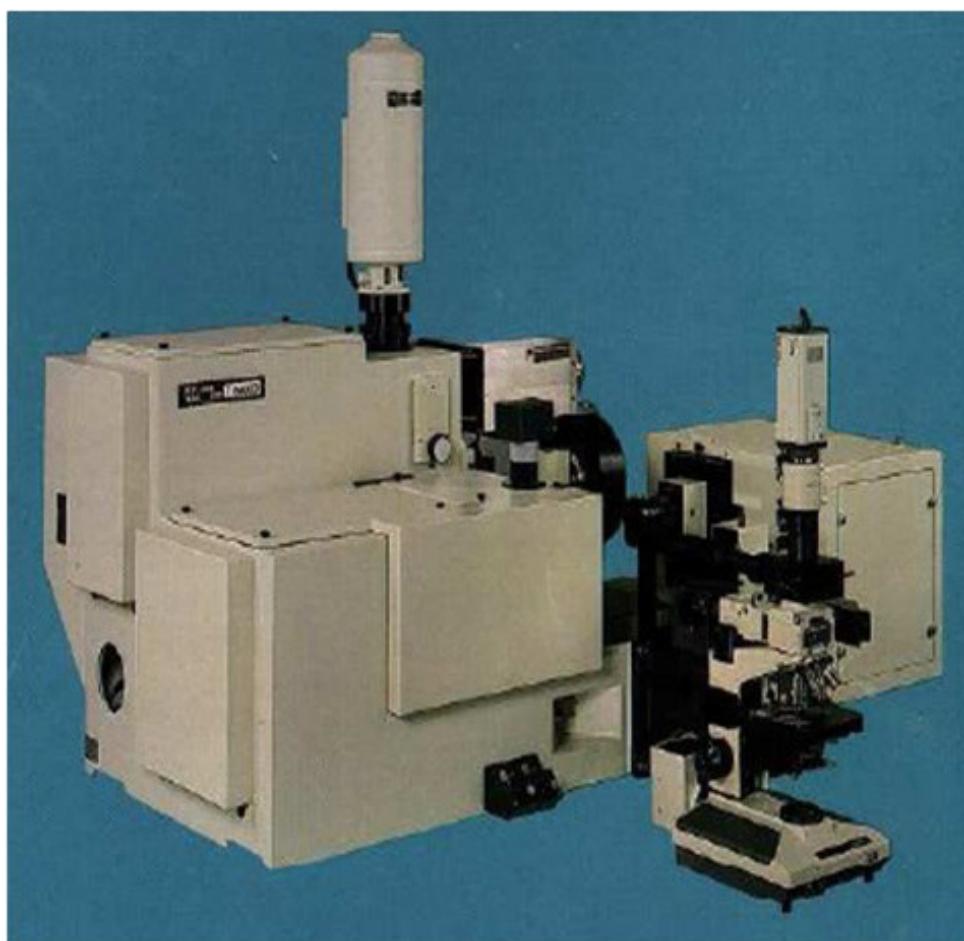


Figura 12: Aparelho T64000 utilizado na realização dos experimentos de espalhamento Raman.

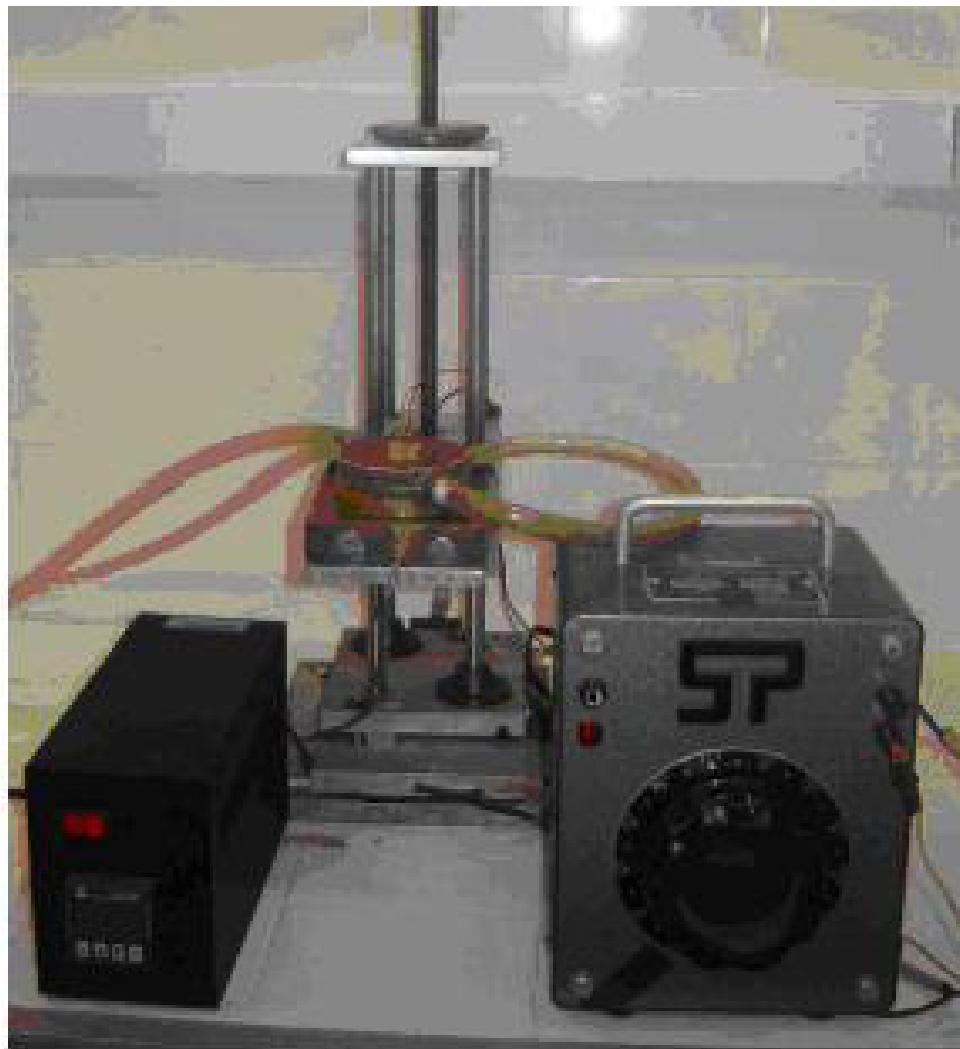


Figura 13: Equipamento utilizado no aquecimento da amostra para a realização dos experimentos de espalhamento Raman.

e o tempo de acumulação de 4 acumulações de 45 segundos para cada medida. O tempo de espera para a amostra atingir o equilíbrio térmico com o forno foi de aproximadamente 15 minutos.

### 3.6 Medidas de altas pressões para a LARDH

A pressão é uma variável termodinâmica que, como a temperatura, pode ser usada como um parâmetro para a observação da ocorrência de mudanças na energia de um sistema.

Existem dois tipos possíveis de aplicação de pressão, sendo uma uniaxial onde existem componentes de cisalhamento, e outra hidrostática, onde as componentes de cisalhamento

são nulas. Na pressão uniaxial existe a possibilidade de se atingir pressões que ultrapassem a rigidez mecânica do material levando à destruição da amostra em estudo. Na pressão hidrostática usamos um líquido compressor o qual exerce uma pressão igual em todos os pontos da amostra. Neste método produz-se uma redução das distâncias interatômicas e a conseqüente redução do volume. Esta redução do volume implica em um trabalho realizado sobre a amostra o que leva a um aumento na energia interna do sistema.

Em amostras cristalinas, o efeito do aumento de energia do sistema leva os átomos do cristal à uma configuração em que minimize a sua energia para aquela dada configuração, preservando (nem sempre) a simetria que ele possuía antes da aplicação da pressão. Existe porém uma situação limite onde a simetria da estrutura não é conservada, ou seja, a energia não consegue mais ser minimizada ao serem atingidos altos valores de pressão. Neste caso os átomos da estrutura da amostra vêm-se obrigados a se organizar em uma nova configuração que possibilite a minimização da energia do sistema. Assim, podemos esperar que a amostra sofra uma transição de fase estrutural.

Durante o aumento de pressão observa-se no espectro Raman uma diminuição da intensidade das bandas que aparecem no espectro. Este é o comportamento geral da maioria dos materiais. Geralmente, esta perda de intensidade está relacionada à perda de luz espalhada devido às heterogeneidades induzidas pelo gradiente de pressão[23].

### 3.7 Procedimentos experimentais para as medidas de pressão hidrostática

Para as medidas de altas pressões hidrostáticas foi utilizada uma cela de pressão do tipo bigorna de diamantes (DAC). O intervalo de pressões suportado pela cela utilizada varia nos experimentos de 0 a 10 GPa. As Figuras 14, 15 16, 17 mostram o esquema deste tipo de cela de pressão onde os números indicam os componentes básicos para que se possa entender os procedimentos experimentais. Este equipamento é constituído dos seguintes elementos:

1. Um parafuso principal;
2. Algumas arruelas e uma alavanca;
3. Um diamante inferior;
4. Um diamante superior;

5. Uma gaxeta metálica;
6. Uma cavidade (no interior da gaxeta).

O parafuso principal é o responsável direto pelo controle da pressão durante a execução do experimento. Ao aumentarmos a pressão devemos ter muito cuidado, pois a pressão não aumenta linearmente com o número de voltas do parafuso. Devemos após cada aperto sobre o parafuso (geralmente algumas dezenas de graus), esperar pela acomodação das arruelas e da gaxeta, que faz com que resultem em incrementos na pressão bastante diferentes.

As arruelas, a alavanca e mais alguns periféricos são os responsáveis pela transmissão de pressão aos diamantes. Estes, por sua vez, são os componentes de maior valor do equipamento, pois como sabemos, apesar da sua alta dureza, os diamantes podem sofrer danos irreparáveis no caso de exercermos uma pressão excessiva sobre a cela de pressão resultando no trincamento e quebra dos mesmos. Os diamantes são os responsáveis diretos (via fluido transmissor de pressão) pela aplicação da pressão sobre a amostra. Eles são desenhados de modo que a área de contato com a gaxeta seja a menor possível. Quanto menor for a área de contato, maior a pressão efetiva sobre a gaxeta e, por conseguinte, sobre a amostra.

A gaxeta é uma peça metálica feita de aço inoxidável, no interior da qual colocamos a amostra junto com o líquido transmissor que exercerá a pressão sobre a amostra. Esta peça é confeccionada de modo a ficar com dimensões de 1,0 cm X 1,0 cm X 1,0 cm. Em seguida é aberta uma cavidade de 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro onde ficará a amostra, utilizando-se de uma broca apropriada. Existe também um outro processo para a abertura da cavidade que é a fusão à laser. Porém, o processo de fusão à laser gera detritos originados da carbonização do material, o qual devem ser removidos por meio da aplicação de ultrassom. A gaxeta é posta entre os diamantes durante a montagem do experimento e sofre deformações consideráveis no decorrer do mesmo. Esta peça não pode ser reaproveitada para outro experimento, devendo ser substituída. A pressão entre a gaxeta e os diamantes impede a saída do fluido transmissor de pressão.

O fluido transmissor de pressão hidrostática mais usado é composto de uma mistura de metanol e etanol na proporção de quatro porções de metanol para uma de etanol. Para realizarmos as medidas de altas pressões hidrostáticas utilizamos como meio compressor óleo mineral *nujol*, de modo a evitarmos problemas com a pequena quantidade de água existente no álcool sobre a amostra.

Durante o processo de montagem dos experimentos os diamantes devem ser cuidadosamente alinhados e limpos utilizando-se para isto uma agulha, papel e acetona, para evitarmos que a luz do laser seja obstruída por partículas microscópicas resultantes de sujeira ou corpos estranhos na superfície ou na lateral dos diamantes. Após o processo de limpeza, a gaxeta é colocada sobre o diamante inferior; a amostra e o rubi são colocados cuidadosamente no interior da cavidade e o líquido transmissor de pressão é colocado na cavidade com a ajuda de uma seringa. Este trabalho deve ser feito com muito cuidado e destreza, pois o escoamento do líquido transmissor de pressão ocorre muito rapidamente, e a imprecisão dos passos anteriores pode ocasionar o surgimento de bolhas de ar no interior da cavidade que, por sua vez, irão interferir no experimento. Como o diamante e o líquido compressor são transparentes, o feixe de laser os atravessa com facilidade, atingindo a amostra.

Finalmente, uma rápida discussão sobre o procedimento de calibração da pressão no interior da célula de pressão, ou seja, como é possível conhecer a pressão no interior do compartimento da gaxeta onde se encontram a amostra e o líquido compressor. Embora existam diversos materiais que possam ser utilizados com o objetivo de se fazer esta calibração, o método mais utilizado, e que foi usado neste trabalho é o da luminescência do rubi. De fato, sabe-se que o  $Cr_3^+$  existente na matriz de óxido de alumínio,  $Al_2O_3$  (o rubi) possui uma luminescência caracterizada por duas linhas intensas,  $R_1$  e  $R_2$ , oriundas da transição eletrônica  $E^2 \longrightarrow A_4^2$ . Os autores da Ref.[45] descobriram que estas linhas se movimentam linearmente para a região de mais altas energias até aproximadamente 20 GPa. Para pressões mais altas ainda, posteriormente, descobriu-se que o comportamento não é linear mas é conhecido que pelo menos até 150 GPa é possível utilizar-se a luminescência do rubi para fazer calibração [46]. No caso dos experimentos realizados nesta Tese, uma vez que as pressões máximas atingidas foram inferiores a 10 GPa, utilizou-se a seguinte equação para se determinar a pressão no interior da célula:

$$P = \frac{\omega_p - \omega_0}{7,565}$$

onde  $\omega_p$  é o valor da energia da linha  $R_1$  (em  $cm^{-1}$ ) na pressão P,  $\omega_0$  é a energia da linha  $R_1$  (em  $cm^{-1}$ ) na pressão atmosférica ( $1\text{ atm} = 10^{-5}\text{ GPa}$ ) e P é a pressão em unidades GPa. Pelo formato das linhas  $R_1$  e  $R_2$  também é possível inferir sobre a hidrostaticidade do ambiente onde está imerso o rubi.

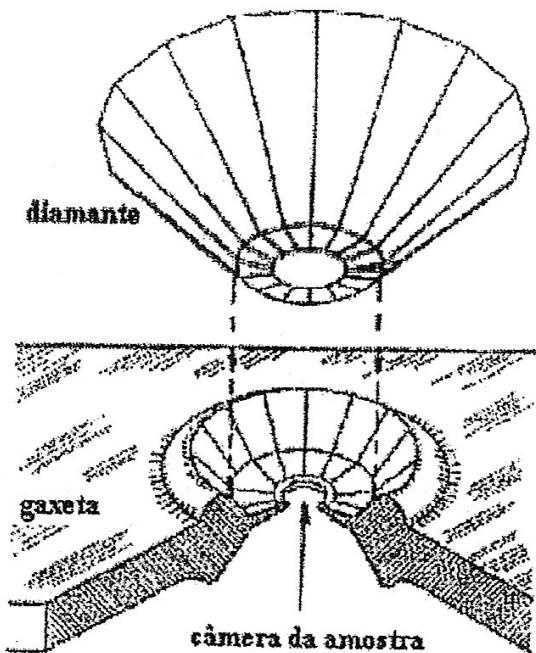


Figura 14: Representação esquemática do diamante e da marca que o mesmo deixa sobre a gaxeta metálica após o experimento.

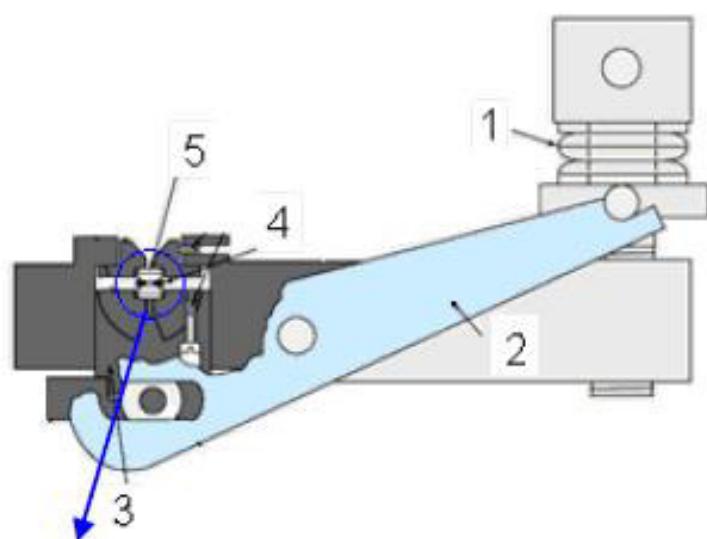


Figura 15: Representação esquemática da disposição dos diamantes em uma célula de pressão a extremos de diamante.

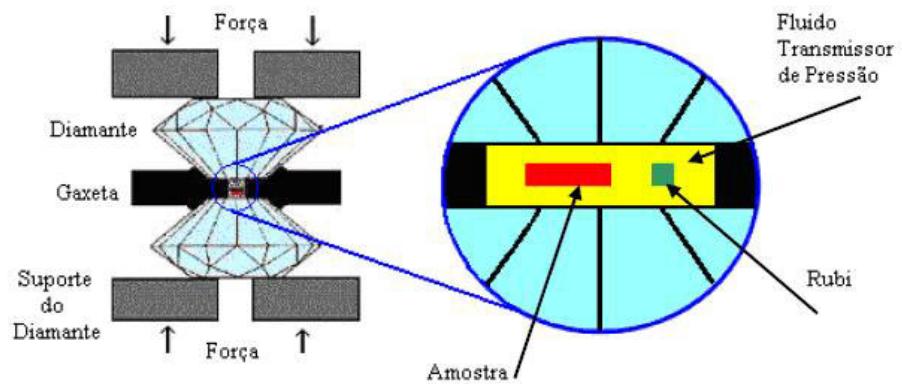


Figura 16: Fotografia de uma célula de pressão a extremos de diamante.

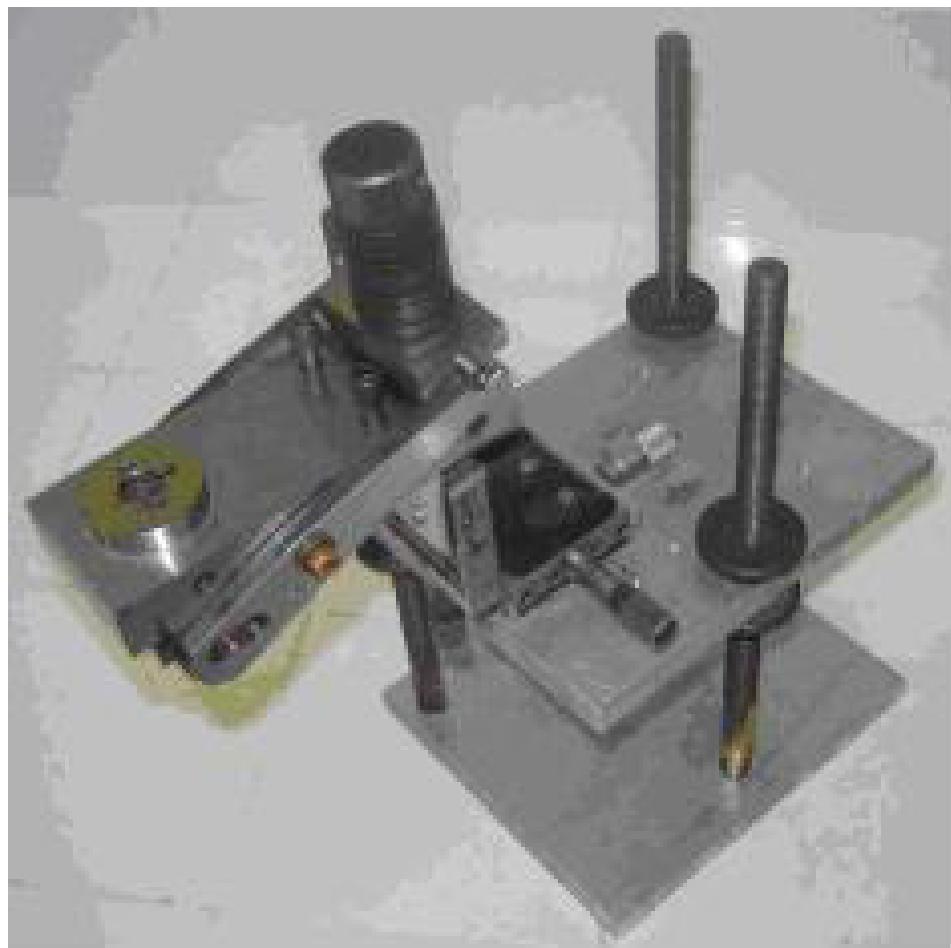


Figura 17: Representação esquemática de uma célula de pressão a extremos de diamante montada sobre uma mesa com deslocamento XYZ.

## 4 *Espalhamento Raman polarizado da LARHCL à temperatura ambiente*

### 4.1 Introdução

Os cristais de aminoácidos possuem um complexo espectro vibracional uma vez que estes materiais são moléculas com vários átomos e, na célula unitária, geralmente, existem de duas a oito moléculas. Assim, o número de modos normais de vibração é bastante grande e o entendimento do significado das várias bandas que aparecem no espectro Raman do material pode ser conseguido com algumas dificuldades.

Existem diversas maneiras de se fazer a identificação das bandas Raman de um cristal. Entre estes métodos um dos que fornecem resultados mais precisos é o de deuteração do cristal. Por exemplo, consideremos o caso da L-alanina,  $CH_3CNNH_3^+CO_2^-$ . É possível deuterar parte da molécula ou mesmo deuterá-la completamente formando as substâncias  $CD_3CHNH_3^+CO_2^-$  (alanina- $d_7$ );  $CD_3CDNH_3^+CO_2^-$  (alanina- $d_4$ ) ou  $CD_3CDND_3^+CO_2^-$  (alanina- $d_7$ ). Ao analisar-se os espectros Raman destas três diferentes substâncias e compará-los entre si e com a amostra não deuterada (alanina- $d_7$ ) é possível descobrir que vibrações correspondem por exemplo, ao estiramento do  $CH_3$ , ao estiramento  $CH$ , ao bending do  $NH_3^+$ , etc. No caso da L-alanina, um tal estudo foi realizado e apresentado na Ref. [47]. Obviamente, esta metodologia pode ser aplicada a qualquer cristal de aminoácido que seja parcial ou totalmente deuterado.

Uma segunda maneira de se identificar os modos normais de vibração é através do uso de cálculos do tipo "ab initio" em moléculas, com a extração para a estrutura cristalina. Tal cálculo foi realizado, entre outros, para a L-metionina [48], onde foi possível inclusive fazer a previsão de diversas conformações da molécula, como será discutido mais adiante. No caso da LARHCL, cálculos "ab initio" foram realizados para auxiliar na identificação dos diversos modos normais de vibração.

Uma terceira possibilidade de identificação das bandas Raman é através da dissolução do reagente na água e a comparação do espectro Raman da solução com o espectro Raman do cristal. Os modos que estiverem ausentes na solução podem ser atribuídos aos modos da rede. Obviamente, neste caso, devido a grande luminescência produzida no espalhamento do laser na solução, necessariamente a técnica de Raman por transformada de Fourier deverá ser utilizada. Esta metodologia foi utilizada no estudo dos modos normais de vibração da seselina [49].

Neste ponto é interessante destacar que os valores das frequências de vibração dependem do estado iônico (ou de protonação) da molécula, ou em última análise, do pH da solução produzida com o aminoácido. Por exemplo, o estado iônico da L-histidina varia de espécies duplamente protonadas, em soluções com alta acidez; para espécies zwitteriônicas em pH neutro; para espécies duplamente desprotonadas, em soluções altamente alcalinas [50]. Num estudo realizado com absorção de infravermelho, observou-se que a vibração do tipo wagging do  $CH_2$  possui as seguintes frequências:  $1.365\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 0,0 ( $His^{2+}$ );  $1.361\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 3,9 ( $His^+$ );  $1.355\text{ cm}^{-1}$  para pH = 7,6 ( $His^0$ ), pH = 11,4 ( $His^-$ ) e pH = 14,0 ( $His^{2-}$ ). Já a banda associada ao estiramento simétrico do  $CO_2^-$  apresenta uma maior variação com o pH, senão vejamos:  $1402\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 3,9;  $1409\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 7,6;  $1410\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 11,4 e  $1419\text{ cm}^{-1}$ , para pH = 14,0 [50]. No caso específico do estudo dos aminoácidos no estado sólido, sabe-se que as moléculas encontram-se na forma zwitteriônica, por tanto, se alguma comparação entre as moléculas no estado sólido e no estado líquido fosse permitida, seria com a solução pH neutro.

Finalmente, como consequência do fato de que os aminoácidos possuem agrupamentos comuns de átomos, também é possível inferir-se num determinado tipo de vibração, observando-se o valor da frequência dessa vibração em substâncias semelhantes. No caso dos aminoácidos, para citar apenas um exemplo, sabe-se que as vibrações do tipo rocking do  $CO_2^-$  estão em torno de  $530\text{ cm}^{-1}$ . Assim, ao se estudar um determinado aminoácido que apresenta uma banda Raman isolada nessa região, pode-se fazer a suposição de que a referida banda esteja associada a um modo tipo rocking do  $CO_2^-$ .

Vamos neste capítulo analisar os espectros Raman do cristal de L-arginina.HCl. $H_2O$  (LARHCL) para várias geometrias de espalhamento e identificar os modos vibracionais do cristal.

## 4.2 Espectros Raman da LARHCL

As moléculas de aminoácidos possuem espectros bem característicos devido à unidades comuns a todos eles [43]. Espera-se observar diversos modos de vibração os quais são resultantes das interações entre carbonos que pertencem ao esqueleto da estrutura, e entre carbonos e átomos pesados como o oxigênio e nitrogênio (C-O e C-N) [43], e modos devido a ligações entre hidrogênio e carbono, nitrogênio e oxigênio (C-H, N-H e O-H) [43]. No caso dos cristais também aparecem modos vibracionais produzidos por ligações de hidrogênio que interligam as moléculas na célula unitária , além dos modos da rede.

Na tabela 4 temos um quadro geral das regiões onde aparecem modos vibracionais da LARHCL e a identificação de alguns dos modos mais importantes segundo a ref. [43].

Tabela 4: Quadro geral das regiões e modos vibracionais da LARHCL.

Região espectral	
$20\text{cm}^{-1}$ - $200\text{cm}^{-1}$	modos externos e grande número de bandas de baixas energias
$50\text{cm}^{-1}$ - $600\text{cm}^{-1}$	estiramentos das unidades X-H...Y
$200\text{cm}^{-1}$ - $450\text{cm}^{-1}$	vibrações associadas ao esqueleto da estrutura
$250\text{cm}^{-1}$	$\tau(\text{CO}_2^-)$
$350\text{cm}^{-1}$ - $420\text{cm}^{-1}$	$\tau(\text{NH}_3^+)$
$600\text{cm}^{-1}$ - $1000\text{cm}^{-1}$	vibrações do grupo $\text{CO}_2^-$
$700\text{cm}^{-1}$	vibração do tipo <i>bending</i> $\delta(\text{CO}_2^-)$
$800\text{cm}^{-1}$ - $850\text{cm}^{-1}$	duas vibrações do tipo <i>rocking</i> $r(\text{CO}_2^-)$
$1000\text{cm}^{-1}$ - $1300\text{cm}^{-1}$	bandas do tipo $\nu(\text{CN})$ , $r(\text{NH}_3^+)$ , $\omega(\text{CH}_3)$
$2900\text{cm}^{-1}$ - $3600\text{cm}^{-1}$	modos do estiramento simétrico $\nu(\text{NH}_3)$

A identificação dos modos normais do cristal foi feita com auxílio do métodos "*ab initio*". Todos os cálculos foram realizados usando o *Gaussian 98* e os resultados foram analisados utilizando o programa *MOLEKEL*. Os cálculos da geometria de otimização e freqüência para a LARHCL na fase gasosa foram feitos com métodos auto-consistentes e *Hartree-Fock* (HF). Foram usados como conjunto base 6-31+G(d,p) e 6-311++G(d,p).

Antes de começar a discussão propriamente dita sobre a identificação dos modos, umas poucas palavras devem ser ditas sobre o método de cálculo. Como afirmado no parágrafo anterior os cálculos foram realizados para a fase gasosa da L-arginina. Consequentemente, modos de baixa energia que estão associados a vibrações da rede não aparecerão nestes cálculos. De uma forma geral, os cálculos "*ab initio*" têm limitações, além do fato de não prever os modos da rede, também necessitarem de um fator de escala para ajustar os valores calculados aos valores experimentais obtidos com cristais. Isto porque na estru-

tura cristalina ocorrem ligações de hidrogênio, que em última análise, são os responsáveis pela estabilidade das moléculas de aminoácidos (ou moléculas de aminoácidos e água nos materiais hidratados) na estrutura cristalina.

De acordo com a literatura, nos últimos 14 anos os chamados métodos híbridos SCF-DFT se tornaram bastante populares, conseguindo fornecer previsões razoáveis dos espectros vibracionais de diversos materiais. Entretanto, as tentativas de se usar estes métodos para otimizar as estruturas zwitteriônicas dos aminoácidos não forma felizes, resultando na transferência de um próton do  $NH_3^+$  para o  $CO_2^-$ , produzindo uma espécie neutra que, obviamente, está bastante distante da situação real [51]. Para contornar estes inconvenientes o uso de alguns funcionais novos tem se mostrado uma estratégia razoável, embora esta estratégia esteja ainda em fase inicial de teste como aquele realizado na L-alanina [51]. No caso da LARHCL, entretanto utilizou-se um cálculo com bases convencionais, como já explicado, e os resultados são mostrados a seguir.

A Figura 18 apresenta os espectros Raman da LARHCL na região espectral entre 25 e  $255\text{ cm}^{-1}$  em várias geometrias de espalhamento. Modos de frequência entre 20 e  $200\text{ cm}^{-1}$  podem ser classificados de uma maneira geral como modos externos ou modos da rede, conforme discussão apresentada em diversos trabalhos já publicados [23,52-54]. O modo em torno de  $189\text{ cm}^{-1}$  foi identificado como sendo uma vibração torsional do grupo  $CO_2^-$ ,  $\tau(CO_2)$ . Esta suposição está baseada em estudos feitos em outros cristais de aminoáciods hidrogenados [23,53,54] como também naqueles que sofreram deuteração [47]. Uma discussão mais pormenorizada sobre o modo  $\tau(CO_2)$  vai ser feita quando da discussão da descrição dos modos normais de vibração da L-arginina. $2H_2O$ .

A Figura 19 apresenta os espectros Raman da LARHCL na região entre 200 e  $600\text{ cm}^{-1}$  para nove geometrias de espalhamento. Nesta região encontramos, entre outras, as bandas associadas a vibrações torsionais do  $NH_3^+$   $\tau(NH_3^+)$ . Outra importante vibração está associada ao *rocking* do  $NH_2$ ,  $r(NH_2)$ , o qual por cálculos de "ab initio" entende-se que ela deve estar entre  $445\text{ cm}^{-1}$  e  $465\text{ cm}^{-1}$ . Um *bending* da unidade  $NH$  também tem a possibilidade de ser encontrado nesta região espectral , em cerca de  $530\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que um *bending* do  $N - C - N$ ,  $\delta N - C - N$ , foi identificado como estando em aproximadamente  $551\text{ cm}^{-1}$ . Nesse ponto se faz necessária uma observação sobre a banda em  $530\text{ cm}^{-1}$ . O cálculo "ab initio" realizado com a base 6-311G apresentou uma vibração em  $513\text{ cm}^{-1}$  na Tabela 5 exatamente na linha correspondente a  $513\text{ cm}^{-1}$  que é identificada pelo cálculo como bending N-H. Entretanto, como também será discutido no capítulo 5 durante a classificação dos modos da LARDH, existe uma vasta literatura

que aponta para o fato de que bandas em torno de  $530\text{ cm}^{-1}$  devem ser associadas a uma vibração do tipo rocking do  $CO_2^-$ ,  $r(CO_2^-)$ . Apenas para citar o caso dos cristais de aminoácidos alifáticos, na  $\alpha$ -glicina o  $r(CO_2^-)$  foi observado em  $503\text{ cm}^{-1}$  [11]. Já na L-alanina, esta vibração foi observada em  $531\text{ cm}^{-1}$  [47] enquanto que nos cristais de L-leucina [21], L-isoleucina [23] e L-valina [45], o  $r(CO_2^-)$  foi observado respectivamente, em  $536$ ,  $536/556$  (duas bandas) e  $542\text{ cm}^{-1}$ .

A Figura 20 apresenta os espectros Raman da LARHCL na região espectral entre  $650$  e  $1750\text{ cm}^{-1}$  para nove geometrias de espalhamento. O pico observado em  $678\text{ cm}^{-1}$  é associado a uma vibração de estiramento da ligação do  $C2 - C3$ ,  $\nu(C2 - C3)$ . De acordo com nossos cálculos uma vibração do tipo *wagging* relacionada com a unidade  $C - N - C$  está associada com a banda em torno de  $751\text{ cm}^{-1}$ . Vibrações do tipo estiramento C-C, na verdade, podem ser encontrados numa gama bastante grande de frequências, dependendo dos tipos de ligação que o carbono forma com outro carbono. Por exemplo, vibrações C-C no diamante, que são ligações  $\sigma$  (isto é, o carbono nessa substância assume hibridização do tipo  $sp^3$ ), são encontradas em  $1322\text{ cm}^{-1}$ . Esta é a vibração que num experimento de espectroscopia Raman a altas pressões deve ser evitada, já que este é um pico bastante intenso. Já nos materiais grafíticos nanotubos de carbono e grafeno as vibrações  $C \equiv C$  são observadas em torno de  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Geralmente esta banda é denominada de banda G, sendo resultado de uma hibridização do tipo  $sp^2$  (compreeendendo uma ligação  $\sigma$  e uma ligação  $\pi$ ). No caso de nanotubos de carbono a banda G é composta por duas componentes (i) a banda  $G^+$ , localizada em  $1590\text{ cm}^{-1}$  e associada às vibrações dos átomos de carbono ao longo do eixo do tubo (fônon LO); (ii) a banda  $G^-$ , localizada em aproximadamente  $1570\text{ cm}^{-1}$ , que está associada a vibrações dos átomos de carbono ao longo da circunferência dos nanotubos (fônons TO) [55]. Obviamente, no caso da L-arginina, existem apenas ligações  $\sigma$  envolvidas na molécula. Isto explica o fato das vibrações de estiramento C-C serem observadas em frequências inferiores a  $1300\text{ cm}^{-1}$ . Aliás, na maioria dos aminoácidos as ligações C-C consistem de ligações  $\sigma$  e, portanto, as vibrações de estiramento C-C encontram-se abaixo de  $1300\text{ cm}^{-1}$ , como veremos adiante. O *bending* da unidade  $CO_2^-$ ,  $\delta(CO_2^-)$ , foi observado em torno de  $843\text{ cm}^{-1}$ . As bandas observadas em torno de  $930\text{ cm}^{-1}$  e  $940\text{ cm}^{-1}$  estão associadas à vibração do tipo *wagging* do  $NH_2$ ,  $w(NH_2)$ . A vibração de estiramento da ligação  $C2 - N1$ ,  $\nu(C2 - N1)$ , foi associada a uma banda em torno de  $1052\text{ cm}^{-1}$ , e uma vibração *rocking* fora do plano da unidade  $NH_3^+$ ,  $r(NH_3^+)$ , foi observada em torno de  $1090\text{ cm}^{-1}$  [5]. Uma vibração fora do plano da unidade  $NH_3^+$  foi observada em torno de  $1250\text{ cm}^{-1}$ .

Pode-se ainda observar muitas bandas no intervalo de freqüências entre  $1300$  e  $1400$

$cm^{-1}$ , sendo que nele temos uma vibração do tipo *twist* da unidade  $CH_2$ ,  $\tau(CH_2)$ [5]. É sugerido ainda pelos cálculos uma vibração do tipo *stretching* da ligação  $C2 - C3$ ,  $\nu(C2 - C3)$ , observada em torno de  $1388\text{ cm}^{-1}$ . É possível que este valor esteja superestimado, haja vista que o cálculo é realizado na molécula livre. De qualquer forma é um valor aceitável para a ocorrência deste tipo de vibração. Uma banda em torno de  $1406\text{ cm}^{-1}$  está associada com um *bending* da unidade  $CO_2^-$ ,  $\delta(CO_2^-)$ , e ainda uma vibração *rocking* da mesma unidade,  $r(CO_2^-)$ , foi observada em torno de  $1472\text{ cm}^{-1}$ , conforme sugerido pelos cálculos "*ab initio*". Finalmente nesta mesma região segundo os mesmos cálculos, uma vibração da unidade  $H - N - C$  foi observada entre  $1600$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$ .

A Figura 21 apresenta os espectros Raman da LARHCL na região entre  $2800$  e  $3600\text{ cm}^{-1}$  para nove geometrias de espalhamento diferentes. A região espectral entre  $2800$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  é muito rica em vibrações do tipo *estiramento* da unidade  $C - H$ . Na L-arginina o carbono quiral faz uma ligação com um átomo de hidrogênio, além obviamente do  $CO_2^-$ , do  $NH_3^+$  e do radical. Na estrutura do esqueleto existem três átomos de carbono ligados por ligações  $\sigma$  a dois átomos de hidrogênio,  $CH_2$ . Logo, é esperado que a unidade CH e três unidades  $CH_2$  contribuam com vibrações para o espectro Raman do material. É interessante destacar que ao mudar a conformação da molécula de L-arginina, ocorre uma mudança nos valores de vibração das unidades  $CH_2$ . Isto já foi percebido de uma forma bem clara num trabalho teórico realizado com a L-metionina [48]. Ou seja, mudança conformacional implicará na variação das intensidades e frequências dos modos de vibração associados ao estiramento do  $CH_2$ , conforme será também discutido mais adiante. Finalmente, as bandas com alto número de onda centradas em  $3200\text{ cm}^{-1}$  e  $3400\text{ cm}^{-1}$ , estão associadas a vibrações de estiramento da água,  $\nu(H_2O)$ , como é esperado para cristais que contenham água.

Nas Tabelas 05 e 06 temos a identificação dos modos vibracionais da LARHCL.

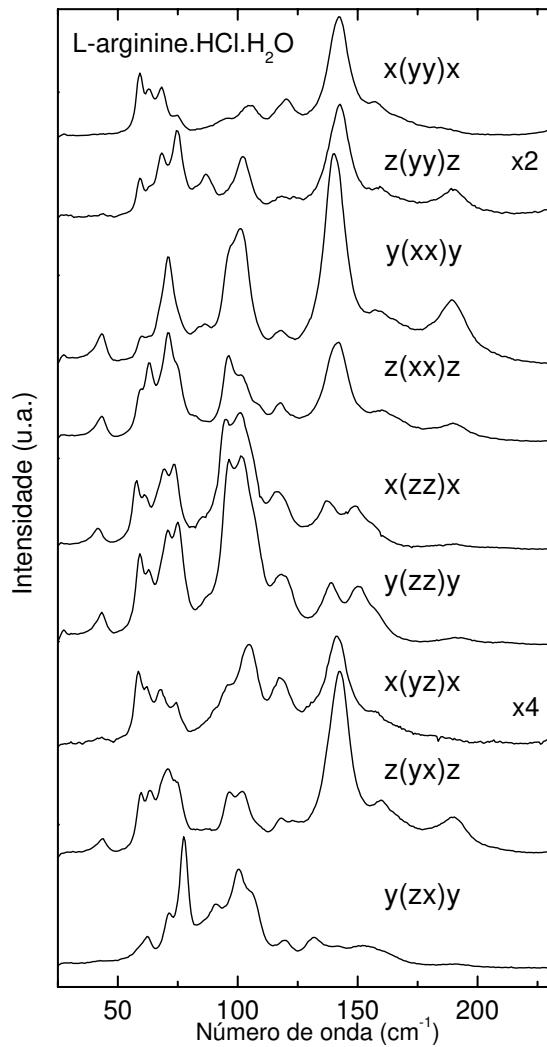


Figura 18: Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 25-225  $cm^{-1}$ .

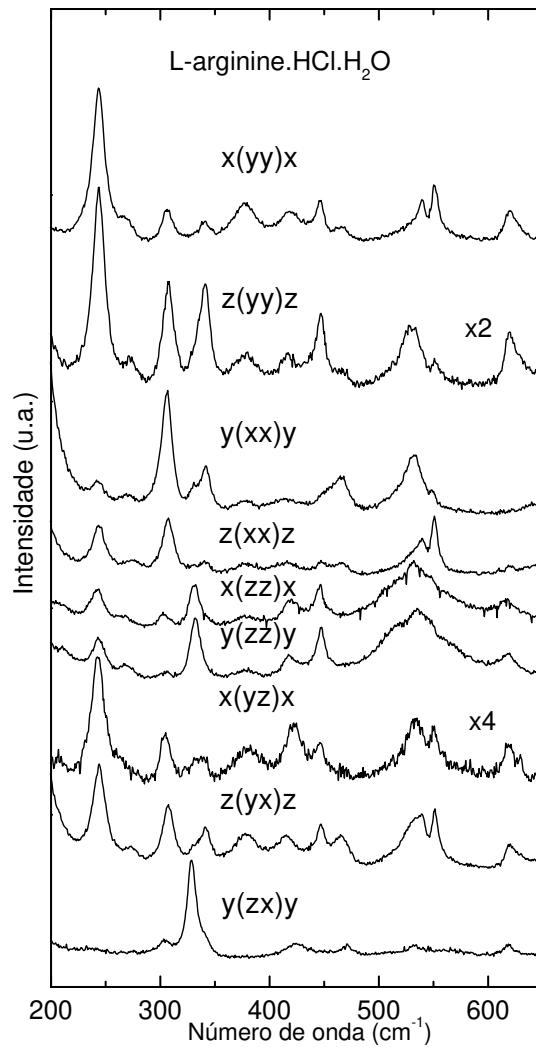


Figura 19: Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 200-650  $cm^{-1}$ .

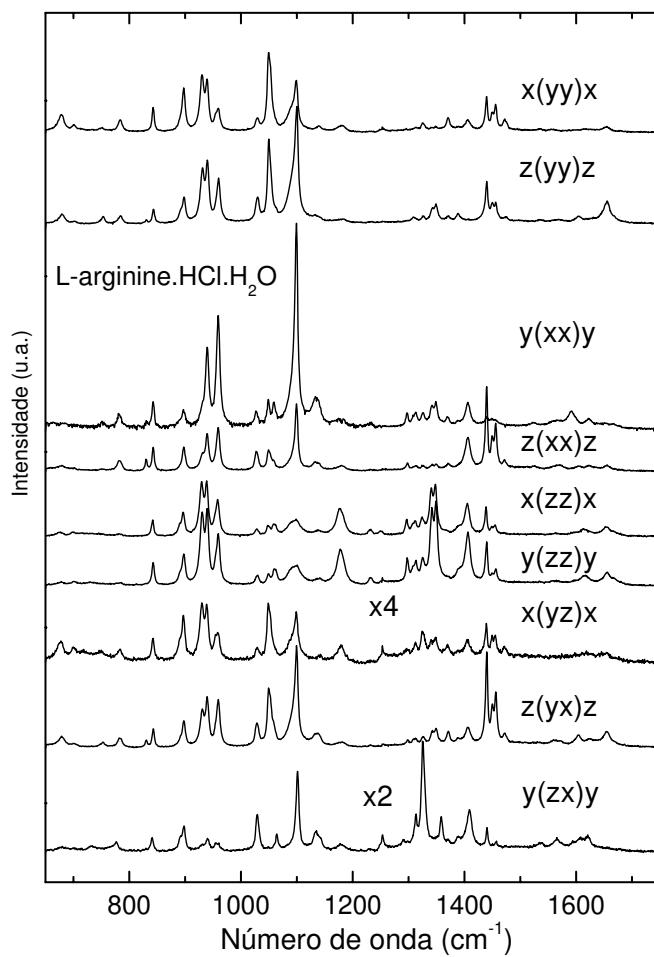


Figura 20: Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 650-1750  $\text{cm}^{-1}$ .

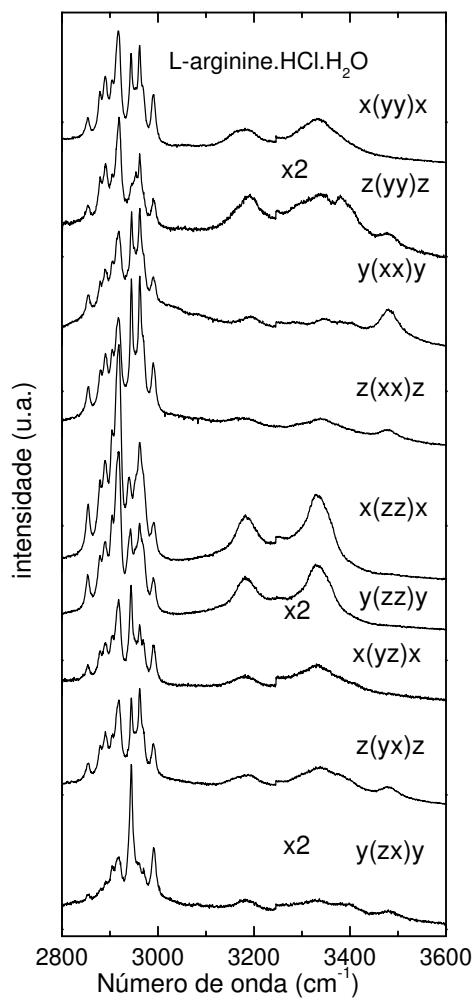


Figura 21: Espectros Raman da LARHCL em várias geometrias de espalhamento na região espectral 2800-3600  $cm^{-1}$ .

Tabela 5: Identificação dos modos vibracionais da LARHCL.

$\nu(cm^{-1})$	6 - 311G + G**	6-311G	x(yy)x	z(yy)z	y(xx)y	z(xx)z	x(zz)x	y(zz)y	x(yz)z	z(yx)z	y(zx)y
44					43	43	41	43	42	43	
48	$\tau(N17 - C19)$				43	43	41	43	42	43	
57			59	59	60	59	58	59	58	59	61
61	$r(NH_3^+)$		63	63		63	61	63	62	63	
78			68	68	71	71	69	70	68	70	71
86	$r(H15-C12-H18)$	r(H16-C15-H18)	75	75	85	75	74	75	74	75	77
					87		83	85	87		86
					94		96	95	96	95	96
					105	102	102	101	102	105	100
							109	106	106		106
							118	117	119	118	119
131			120	120	118	118	117	119	118	119	119
137	$r(H13-C12-H14)$	r(H13-C12-H14)	142	142	140	141	138	139	141	142	132
163	$\omega(H13 - N17 - H14)$	r(N1-H7-H26)	158	159	159	162	156	158	158	162	
			185	190	189	189	189	192		189	191
237	$\tau(NH_3^+)$		244	245	243	245	243	243	243	244	
261	$r(H10 - C9 - H11)$				43						
262			268	273	269	274	267	270		273	
305	$\delta(C9 - C12 - C15)$	r(H10-C9-H11)	307	307	306	307	303	303	305	307	303
308											321
326											
327	$\tau(skel.)$										
334		$\tau(NH_3^+)$			331		331	332	335		
389			340	340	341	340			340	340	
394	$\delta(C3 - C2 - N1)$		377	378	378	379	377	377	380	378	
415										415	
446	$r_1(NH_2)$	$r_1(NH_2)$	419	417			419	418	422		
457	$r_2(NH_2)$		446	446		448	445	447	446	447	
513			466	465	465					465	470
545	$\delta(N17 - C19 - N22)$	$\delta(N17 - H20)$	539	529	531		532	533	533	530	535
557	$\nu(C2 - C3 - N1)$		551	553	550	551			552	552	
558											
567	$\delta(C2 - C9 - C12)$										
585	$\delta(N17 - C19 - N21)$		621	620			618	619	619	621	619
625									629		
692			701	702		702	700	701	700	702	
717	$\omega(N21 - C19 - N17 - N22)$										
732	$\omega(N17 - C19 - N22)$		751	753	751				748	783	
786	$\tau(skel.)$		784	784	782	782			783	783	777
799											
829											
831											
846	$\delta(CO_2^-)$		843	843	843	843	842	843	842	843	841
885											
890											
894	$r(NH_3^+)$	$\delta(N21 - H23)$	897	892	897	898	890	892	890	892	891
900				898			897	898	897	898	898
902											
904											
929	$\omega(NH_2)$		930	931	931	930	929	930	930	930	930
			939	940	939	939	939	939	940	940	

Tabela 6: Identificação dos modos vibracionais da LARHCL.

$\nu(cm^{-1})$	6 - 311 + +G**	6-311G	x(yy)x	z(yy)z	y(xx)y	z(xx)z	x(zz)x	y(zz)y	x(yz)z	z(yx)z	y(zx)y
950			955				953	955			
957			960	960	959	959	958	959	958	959	957
1001	$r_1(NH_3^+)$										
1006			1029	1029	1027	1028	1028	1029	1029	1021	1029
			1049	1049	1049	1049	1049	1049	1049	1050	
1053	$\nu(C2 - N1)$		1052	1053	1059	1052			1052		
1073				1062		1059	1060	1060		1057	1064
1096	$r_1(NH_3^+)$			1089	1092	1092	1090	1090	1093	1091	
				1099	1100	1099	1100	1101	1099	1099	1101
1112		$\delta_1(N1 - H26)$									
				1132	1134	1135				1136	1133
1120	$r_2(NH_3^+)$										
1144		$\omega(N1 - H5 - H26)$	1139					1138	1138	1140	
1163	$\nu(C19 - N22)$										1142
1172		$\delta_2(N1 - H26)$									
1180	$r_2(NH_3^+)$		1179	1181	1177	1179	1176	1178	1179	1180	1179
1211	$r_1(NH_3^+)$			$\omega(NH_3^+)$				1231	1232		
1231								1250	1250	1253	
1247	$r_2(NH_3^+)$										1253
1257	$\tau_1(NH_2)$										
1259		$r_2(NH_2)$									
1275											
1282		$\delta(N21 - H23)$									
1294	$\tau(NH_2)$										
				1297	1298	1297	1298	1297	1298		
				1309				1307	1307		
					1312	1312	1312	1313	1312	1313	1313
					1326	1326	1326	1324	1325	1326	1326
1337	$\tau(CH_2)$				1341	1342	1341	1342	1340	1340	
1344		$\tau(CH_2)$			1349	1349	1349	1348	1349	1348	1349
											1358
									1370	1371	1389
1388		$\nu(C2 - C3)$	1371	1371	1370	1371					
1404	$\delta(CH_2)$				1388	1389	1389		1390	1391	1389
					1406	1406	1406	1405	1406	1405	1406
					1450	1450	1449	1450	1449	1449	1450
					1456	1456	1456	1455	1456	1455	1456
1474	$r(CH_2)$				1472	1474	1472	1471		1472	1473
1534		$\omega(CH_2)$	1535	1535							1535
1572		$\delta(NH_3)$			1567	1565	1568	1564			
1588	$\delta(H - C - N)$		$\delta(H - C - N)$			1591					1564
						1605	1605				1604
							1605				1607
1613	$\delta(H10 - C9 - H11)$						1614	1615			
1623	$\delta(H14 - C12 - H13)$							1621	1625		1621
1650	$\delta(H18 - C15 - H16)$	$\delta(H14 - C12 - H13)$			1619	1623	1624		1652	1655	
					1654	1655	1655	1655	1657	1655	
					2853	2854	2855	2854	2854	2854	2855
					2879	2879	2879	2879	2878	2879	2878
					2890	2891	2891	2890	2890	2890	2891
					2904	2904	2904	2905	2904	2904	2904
					2917	2918	2917	2917	2918	2918	2917
					2944	2947	2943	2945	2940	2944	2944
					2953	2954	2952		2953	2953	
					2962	2962	2962	2962	2962	2962	2960
					2970	2970	2970	2971	2970	2970	2971
					2991	2991	2991	2991	2991	2991	2991
3169		$\delta(C12 - H14)$					3176				
3194		$\nu(H16 - C15 - H18)$	3179	3188	3193		3183	3183	3181	3183	3183
				3335	3332		3335	3334	3336	3335	3332
						3347	3344				
						3392	3391				3398
						3482	3482	3481			3483

## 5 Espectros Raman da LARDH em condições ambiente

### 5.1 Introdução

Neste capítulo vamos destacar a análise dos espectros vibracionais da LARDH em condição de temperatura ambiente, tentando fazer a identificação dos vários modos de vibração. Para isso vamos fazer uso de diversos trabalhos, em especial o da referência [56], onde foi realizado um estudo das propriedades vibracionais do nitrato de L-arginina semihidratada com a utilização de cálculos "*ab initio*" e medidas Raman e infravermelho.

A análise dos modos dos grupos funcionais da LARDH, será feita levando-se em conta a existência dos grupos *carboxílico*, *amino*, *metil*, *metileno*, *esqueleto da estrutura*, e as duas moléculas de água presentes na estrutura do cristal.

### 5.2 Espectro Raman da LARDH em condições ambiente - assinalamento dos modos

Nas Figuras de 22 a 26 apresentamos os espectros Raman em condições ambientes de temperatura e de pressão do cristal de LARDH em todo o intervalo onde podem aparecer modos normais de vibração.

Na Figura 22 apresentamos os modos Raman da LARDH em condições ambientes na região espectral entre 0 e  $600\text{ cm}^{-1}$ , onde é possível observar-se 12 bandas. Para os cristais de aminoácidos, de uma forma geral, as bandas que aparecem abaixo de  $200\text{ cm}^{-1}$  são classificadas como modos da rede. Obviamente, alguns modos internos podem aparecer nessa região espectral, como vibrações de um conjunto de átomos formando uma ligação de hidrogênio. A banda observada em torno de  $39\text{ cm}^{-1}$  pode ser classificada como um modo da rede. Outras bandas de baixa energia foram observadas em 61, 97, 119, 141 e  $191\text{ cm}^{-1}$ . No caso do nitrato de L-arginina semihidratada foi observada uma

banda em  $108\text{ cm}^{-1}$  que foi associada a uma vibração do tipo N...O [56]. Uma banda no espectro Raman, bastante intensa, observada em  $139\text{ cm}^{-1}$  foi associada a vibrações O...O e N...O, enquanto que uma banda em  $159\text{ cm}^{-1}$ , também ativa no Raman, foi associada a vibrações O...O e à torção do  $NO_3^-$ . Obviamente, as ligações de hidrogênio no cristal aqui investigado, a L-arginina. $2H_2O$ , são diferentes das ligações de hidrogênio no nitrato de L-arginina semihidratado, mas certamente há contribuições das ligações de hidrogênio para os modos de baixa frequência da LARDH. Futuros estudos com cálculos de primeiros princípios poderão auxiliar na identificação mais precisa da contribuição das ligações de hidrogênio aos modos de baixa energia. A banda em  $191\text{ cm}^{-1}$  é identificada como uma torção da unidade  $CO_2^-$ ,  $\tau(CO_2^-)$  [57]. De fato, bandas associadas a  $\tau(CO_2^-)$  foram observadas na L-asparagina monohidratada em  $200\text{ cm}^{-1}$  [53], na L-isoleucina em  $177\text{ cm}^{-1}$  [21], na L-valina em  $185\text{ cm}^{-1}$  [54], e na forma  $\beta$  do ácido glutâmico em  $206\text{ cm}^{-1}$  [37].

A banda em torno de  $295\text{ cm}^{-1}$  está associada a uma torção da unidade  $H_2O$ ,  $\tau(H_2O)$ , conforme a ref. [56]. A banda em torno de  $362\text{ cm}^{-1}$  é identificada como uma *torção* da unidade  $COO^-$ ,  $\tau(COO^-)$  [56], enquanto que a banda em torno de  $408\text{ cm}^{-1}$  está associada a uma torção do  $NH_3^+$ ,  $\tau(NH_3^+)$ . Este tipo de vibração aparece em diversos cristais de aminoácidos: na L-valina, em  $471\text{ cm}^{-1}$  e  $496\text{ cm}^{-1}$  [54]; na L-asparagina monohidratada, em aproximadamente  $390\text{ cm}^{-1}$  [53]; na L-histidina. $HCl.H_2O$ , em  $384\text{ cm}^{-1}$  [43, 38]. Esta banda é importante porque nos aminoácidos a unidade  $NH_3^+$  participa de ligações de hidrogênio e, como consequência, o seu comportamento pode fornecer informação sobre esta ligação na estrutura cristalina. Na maioria dos cristais a banda associada à  $\tau(NH_3^+)$  possui baixa intensidade nos espectros Raman. Sendo a baixa intensidade uma regra geral entre os cristais de aminoácidos é razoável supor que a banda em  $408\text{ cm}^{-1}$  é que seja associada ao modo  $\tau(NH_3^+)$  em vez da banda em  $492\text{ cm}^{-1}$  como sugerido pela ref. [56]. Como será visto na seção 5.4 o comportamento dessa banda com a pressão pode ser correlacionado com as dimensões médias das ligações de hidrogênio. Já com a temperatura, um estudo realizado pelo autor da ref. [58] mostrou que a evolução da frequência e da largura de linha no intervalo entre 110 e 350 K permite calcular a energia de ativação da reorientação do grupo  $NH_3^+$ , em bom acordo com medidas de ressonância nuclear magnética.

Vemos uma banda em torno de  $492\text{ cm}^{-1}$  que foi associado à torção do  $NH_2$ ,  $\tau(NH_2)$ . Tal identificação foi feita baseada novamente no estudo realizado no nitrato de L-arginina semihidratado.

Uma outra banda observada em torno de  $549\text{ cm}^{-1}$  está associada a uma vibração do tipo *rocking* da unidade  $\text{COO}^-$ ,  $r(\text{COO}^-)$  [56]. Tal banda, de intensidade média, aparece nesta região em praticamente todos os aminoácidos investigados até o momento. Assim, por exemplo, na L-alanina o modo  $r(\text{CO}_2^-)$  é observado em  $531\text{ cm}^{-1}$ ; na  $\alpha$ -glicina é observado em  $503\text{ cm}^{-1}$  [11]; na L-metionina [46], em  $543\text{ cm}^{-1}$ ; na L-valina [45], em  $542\text{ cm}^{-1}$ ; na L-histidina clorohidrato monohidratada, em  $530\text{ cm}^{-1}$ ; na L-isoleucina (forma monoclinica) [23], em  $536$  e  $556\text{ cm}^{-1}$ , etc. Note-se que na forma monoclinica da L-isoleucina esta vibração é representada por duas bandas, mas naqueles cristais que são representados apenas por uma banda, eventualmente ela pode ser separada em duas sob uma diferente condição termodinâmica. Assim, por exemplo, quando a L-valina [45] é submetida a condições de pressões superiores a  $1,8\text{ GPa}$ , ocorre um "splitting" de banda associada ao  $r(\text{CO}_2^-)$ . Na  $\alpha$ -glicina também é observado um "splitting" com a pressão, mas apenas no intervalo entre aproximadamente  $6$  e  $13\text{ GPa}$ . Já num estudo levado a cabo na L-metionina [46] observou-se que o modo  $r(\text{CO}_2^-)$  se separa em dois para pressões acima de  $2,1\text{ GPa}$ . Finalmente, na L-leucina [22], com o aumento da pressão acima de  $4\text{ GPa}$  observou-se um alargamento da banda associada ao modo  $r(\text{CO}_2^-)$ , embora não tenha sido possível enxergar-se o "splitting" da referida banda. O comportamento da banda  $r(\text{CO}_2^-)$  da LARDH com a pressão será discutida numa seção mais a frente. Para finalizar esta região, a banda em torno de  $564\text{ cm}^{-1}$  foi associada a um *rocking* da unidade  $\text{NH}_2$ ,  $r(\text{NH}_2)$ , [56].

Na Figura 23 temos o espectro Raman da LARDH na região entre  $600$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  em condição ambiente de temperatura e pressão, onde podemos ver nitidamente 14 bandas. A banda em torno de  $613\text{ cm}^{-1}$  é identificada como uma vibração do tipo *wagging* da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\omega(\text{CO}_2^-)$  [57]. Vemos uma banda em torno de  $655\text{ cm}^{-1}$  que foi identificada como um "bending" da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\omega(\text{CO}_2^-)$  [57,59]. Temos uma banda em torno de  $754\text{ cm}^{-1}$  que pode ser associado a uma vibração do tipo *bending* da unidade  $\text{CO}_2^-$ ,  $\delta(\text{CO}_2^-)$  [56]. Uma banda em torno de  $805\text{ cm}^{-1}$  foi identificada como uma vibração do tipo *rocking* da unidade  $\text{NH}_2$ ,  $r(\text{NH}_2)$  [59]. A banda em torno de  $844\text{ cm}^{-1}$  corresponde a uma vibração da unidade C-C [59]. A banda em torno de  $870\text{ cm}^{-1}$  corresponde a uma vibração do tipo *estiramento* da unidade C-C,  $\nu(\text{C}-\text{C})$  [56]. Na verdade, na região compreendida entre  $800$   $1000\text{ cm}^{-1}$  aparecem modos relacionados a vibração C-C do esqueleto da estrutura em praticamente todos os cristais de aminoácidos estudados até hoje. Na L-asparagina monohidratada os modos de estiramento C-C,  $\nu(\text{C}-\text{C})$ , são encontrados entre  $890$  e  $1008\text{ cm}^{-1}$  [53]. Na L-treonina, estes são observados entre  $910$  e  $946\text{ cm}^{-1}$  [60]. No cristal de L-valina os modos  $\nu(\text{C}-\text{C})$  foram encontrados entre  $904$  e  $906\text{ cm}^{-1}$  [54]; na L-leucina,

entre 919 e 1004  $cm^{-1}$  [21]; na L-isoleucina, entre 872 e 1018  $cm^{-1}$  [23], e na L-alanina em 852 e 917  $cm^{-1}$ . Como será visto nos estudos realizados com a temperatura e com a pressão, as frequências destes modos possuem um comportamento bastante linear com estes dois parâmetros termodinâmicos.

Temos no mesmo espectro bandas em torno de 924 e 984  $cm^{-1}$  que foram associadas a vibrações do tipo *rocking* da unidade  $CH_2$ ,  $r(CH_2)$ . Esta classificação tentativa está baseada no fato de que no nitrato de L-arginina semihidratado a vibração associada ao  $r(CH_2)$  é encontrada entre 965 e 1065  $cm^{-1}$  [56], embora num outro cristal de aminoácido, a L-asparagina monohidratada, a mesma vibração tenha sido observada em 800  $cm^{-1}$  [53]. De fato, nessa região, há uma certa ambiguidade na classificação entre modos de estiramento C-C e modos *rocking* do  $CH_2$ , eventualmente podendo haver contribuição dos dois tipos de vibração. Por esta razão, na classificação tentativa das bandas nessa região espectral, as vezes nem a todos eles é atribuída uma classificação, como no caso da L-hisitidina clorohidrato monohidratada [38]. Já a banda em 1420  $cm^{-1}$  foi associada a um "bending" do  $NH_3^+$ ,  $\delta_s(NH_3^+)$ , em analogia com a Ref. [56]. Vemos a ocorrência de uma banda em torno de 1011  $cm^{-1}$  no espectro da LARDH que foi classificada como um *rocking* da unidade  $CH_3$ ,  $r(CH_3)$  [56]. Observamos, a seguir, uma banda em torno de 1065  $cm^{-1}$  que corresponde a uma vibração do tipo *wagging* da unidade  $NH_3^+$ ,  $\omega(NH_3^+)$ . Tal classificação está baseada principalmente no fato de que no nitrato de L-arginina semihidratado uma vibração em 1051  $cm^{-1}$  foi associada ao  $\omega(NH_3^+)$  [56]. É interessante destacar que nessa região 1100 - 1300  $cm^{-1}$  pode-se observar entre os aminoácidos vibrações do tipo  $r(NH_3^+)$ , como na L-leucina [21], na L-valina [54] e na L-isoleucina [23], entre outros. Observa-se ainda uma banda em torno de 1081  $cm^{-1}$  que, juntamente com uma banda que aparece em torno de 1099  $cm^{-1}$  correspondem a vibração do tipo *estiramento* da unidade C-N,  $\nu(C - N)$  [59]. De fato, vibrações do tipo estiramento do C-N,  $\nu(C - N)$ , foram observadas na L-asparagina monohidratada em 1075  $cm^{-1}$  [53]; na L-valina entre 1029 e 1068  $cm^{-1}$  [57]; na L-isoleucina, entre 1033  $cm^{-1}$  e 1091  $cm^{-1}$  [23]; na L-leucina, entre 1033 e 1082  $cm^{-1}$  [21] e na L-alanina, em 1114  $cm^{-1}$  [61]. Podemos observar também a ocorrência de uma banda em torno de 1102  $cm^{-1}$  que devido a discussão anterior foi identificada como um  $\nu(C - N)$ . Para finalizarmos esta região do espectro observamos uma última banda em torno de 1138  $cm^{-1}$  que corresponde a um *rocking* da unidade unidade  $CH_3$ ,  $r(CH_3)$  [57].

Na Figura 24 apresentamos o espectro Raman da LARDH na região espectral entre 1100  $cm^{-1}$  e 1600  $cm^{-1}$ , tomados em condições de pressão e de temperatura ambiente, onde se verifica a existência de dez a doze bandas. Para começar a identificação dos modos

vibacionais desta região espectral, podemos observar uma banda em torno de  $1183\text{ cm}^{-1}$  que é a terceira banda mais intensa do espectro. Podemos associar a esta banda um modo de vibração do tipo *wagging* da unidade  $NH_2$ ,  $\omega(NH_2)$ . Vibração do tipo  $\omega(NH_2)$  foi observada na Ref. [56] entre  $1170\text{ cm}^{-1}$  e  $1215\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que no cristal de L-asparagina monohidratado o valor de frequência tenha sido um pouco superior, qual seja,  $1300\text{ cm}^{-1}$  [53]. Podemos observar uma banda pouco intensa em torno de  $1281\text{ cm}^{-1}$  que associamos a uma vibração do tipo *wagging* da unidade  $CH_2$ ,  $\omega(CH_2)$  [56]. Temos uma banda que aparece em torno de  $1309\text{ cm}^{-1}$ , que não foi possível fazer a sua identificação apesar da possibilidade de ser outra vibração  $\omega(CH_2)$ . Vamos agora tentar identificar a banda observada com frequência de  $1381\text{ cm}^{-1}$ . No nitrato de L-arginina semihidratado foi observada uma banda Raman de baixa intensidade em  $1408\text{ cm}^{-1}$  que foi associada a um estiramento simétrico do  $CO_2^-$ ,  $\nu_s(CO_2^-)$  [56]. Na L-metionina [62] um modo em  $1410\text{ cm}^{-1}$  foi associado tanto com um  $\nu(C-C)$  quanto com  $\nu_s(C-O)$  do grupamento  $CO_2^-$ ; de fato, através de um cálculo do tipo *potential energy distribution* (PED) percebeu-se que a distribuição é 38 por cento  $\nu(C-C) + 35$  por cento  $\nu_s(C-O)$ . Em outras palavras, é um modo que tem contribuição de várias partes da molécula. Assim, a banda  $1381\text{ cm}^{-1}$  na L-arginina. $2H_2O$  vai ser classificada tentativamente como  $\nu_s(CO_2^-)$ . Vemos a existência de uma banda em torno de  $1439\text{ cm}^{-1}$  que tentativamente foi classificado como  $sci(CH_2)$ . Temos na mesma região a ocorrência de um modo em torno de  $1451\text{ cm}^{-1}$  que é o segundo mais intenso desta região do espectro. Quanto à classificação, ele também foi associado a uma vibração do tipo *scissoring* da unidade unidade  $CH_2$ ,  $sci.(CH_2)$  [56]. A banda em torno de  $1491\text{ cm}^{-1}$  corresponde a um modo vibracional do tipo *bending* simétrico da unidade  $H_2O$ ,  $\delta_s(H_2O)$  [56]. Temos um modo em torno de  $1557\text{ cm}^{-1}$  não identificado e por último vemos uma banda em torno de  $1587\text{ cm}^{-1}$  que foi classificada como uma deformação assimétrica da unidade  $(NH_3^+)$ ,  $\delta_{as}(NH_3^+)$  [56]. Num outro cristal de aminoácido hidratado, no caso a L-asparagina monohidratada [53], as vibrações associadas à deformação assimétrica da unidade  $NH_3^+$ ,  $\delta_a(NH_3^+)$ , foram observadas bandas entre  $1670\text{ cm}^{-1}$  e  $1694\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que uma vibração associada à deformação da água,  $\delta(H_2O)$ , foi observada em  $1600\text{ cm}^{-1}$ .

Na Figura 25 temos os modos da LARDH na região espectral entre  $2700\text{ cm}^{-1}$  e  $3000\text{ cm}^{-1}$  tomados em condições de pressão e temperatura ambiente. Esta região é caracterizada por modos de estiramento do CH e do  $CH_2$ , conforme pode-se verificar analisando-se os espectros Raman da  $\alpha$ -glicina [11], da L-alanina [63], da L-valina [54], da L-leucina [21], da L-isoleucina [23], da L-treonina [60], da L-metionina [46], e da L-asparagina monohidratada [53], entre outros. Para início de caracterização dos modos,

vemos dois picos de baixa intensidade, um em torno de  $2707\text{ cm}^{-1}$  e outro em torno de  $2749\text{ cm}^{-1}$  que devido à intensidade e a relativamente grande largura podem estar associados a um modo de combinação ou a harmônicos. Vemos uma banda em torno de  $2867\text{ cm}^{-1}$ , e uma banda em torno de  $2893\text{ cm}^{-1}$ , que tentativamente foram classificados como estiramento simétrico da unidade  $CH_2$ ,  $\nu_s(CH_2)$  [56]. A banda em  $2915\text{ cm}^{-1}$  possivelmente está associada a uma vibração do tipo  $\nu_s(CH_2)$ , similarmente ao que foi identificado tentativamente para o cristal de L-isoleucina [23], que possui uma vibração deste tipo com o mesmo valor de frequência. É interessante ainda destacar que na L-leucina [21] vibrações do tipo estiramento do agrupamento  $CH_2$  foram observadas em  $2906$  e  $2928\text{ cm}^{-1}$ , o que torna o nosso assinalamento para essa banda bastante razoável. A banda em torno de  $2937\text{ cm}^{-1}$  está associada a um estiramento da unidade  $C - H$ ,  $\nu(C - H)$  [56]. Por último temos uma banda em torno de  $2955\text{ cm}^{-1}$  que foi classificada tentativamente como um estiramento do tipo C-H,  $\nu(C - H)$ , em analogia com resultados na L-leucina [21].

Na Figura 26 temos os espectros Raman para a LARDH na região espectral entre  $3000\text{ cm}^{-1}$  e  $3400\text{ cm}^{-1}$ , onde é possível observar apenas duas bandas. Nesta região espectral também são observados bandas que podem estar associadas a estiramentos da unidade  $NH_3^+$  e da unidade  $H_2O$ . Por exemplo na L-metionina são previstas vibrações do tipo estiramento simétrico do  $NH_3^+$ ,  $\nu(NH_3^+)$ , em aproximadamente  $3050\text{ cm}^{-1}$ . No trabalho da Ref.[62] a referida banda não foi observada no espectro Raman, mas uma banda de absorção no infravermelho foi observada em  $3040\text{ cm}^{-1}$ . Esta é, na verdade, uma das características das bandas associadas a vibrações envolvendo o estiramento do agrupamento amina: ser de muito baixa intensidade nos espectros Raman. Similarmente, o estiramento anti-simétrico do  $NH_3^+$ ,  $\nu_a(NH_3^+)$ , também não foi observado no espectro Raman da L-metionina, mas uma banda no infravermelho foi identificada associada a ela em  $3155\text{ cm}^{-1}$  [62]. No cristal de L-asparagina monohidratado bandas associadas ao estiramentos do  $NH_3^+$  foram observadas em todas as geometrias de espalhamento, embora todas de muito baixa intensidades [53]. Por outro lado, as bandas associadas a estiramentos da água são mais intensas, podendo ser relativamente finas, como no próprio caso da L-asparagina monohidratada [53] ou um pouco mais largas, como na L-arginina clorohidrato monohidratada, discutida na seção anterior. Entretanto, na L-asparagina monohidratada, as vibrações de estiramento simétrico e anti-simétrico,  $\nu_s(H_2O)$  e  $\nu_a(H_2O)$ , foram observadas em aproximadamente  $3400$  e  $3440\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Na própria L-arginina.HCl. $H_2O$ , as vibrações de estiramento da água encontram-se acima de  $3300\text{ cm}^{-1}$  [43]. Isto mostra que, no mínimo, a banda em  $3347\text{ cm}^{-1}$  observada na L-arginina. $2H_2O$  pode ser atribuída

a um estiramento da unidade  $H_2O$ . Como a outra banda a ser identificada está localizada em  $3291\text{ cm}^{-1}$ , vamos fazer a seguinte identificação tentativa: a banda com este último valor de frequência é devida a um estiramento simétrico da água,  $\nu_s(H_2O)$ , e a outra, em  $3347\text{ cm}^{-1}$ , é devida a um estiramento anti-simétrico,  $\nu_a(H_2O)$ . Com isso, encerramos a identificação tentativa dos modos normais da LARDH e apresentamos um resumo na Tabela 5.

Na figura 27 temos o difratograma de raio-X da LARDH feito no Laboratório de raios-x do Departamento de Física da UFC. Através da comparação com um banco de dados foi possível identificar o cristal de l-arginina como sendo do tipo dihidratado

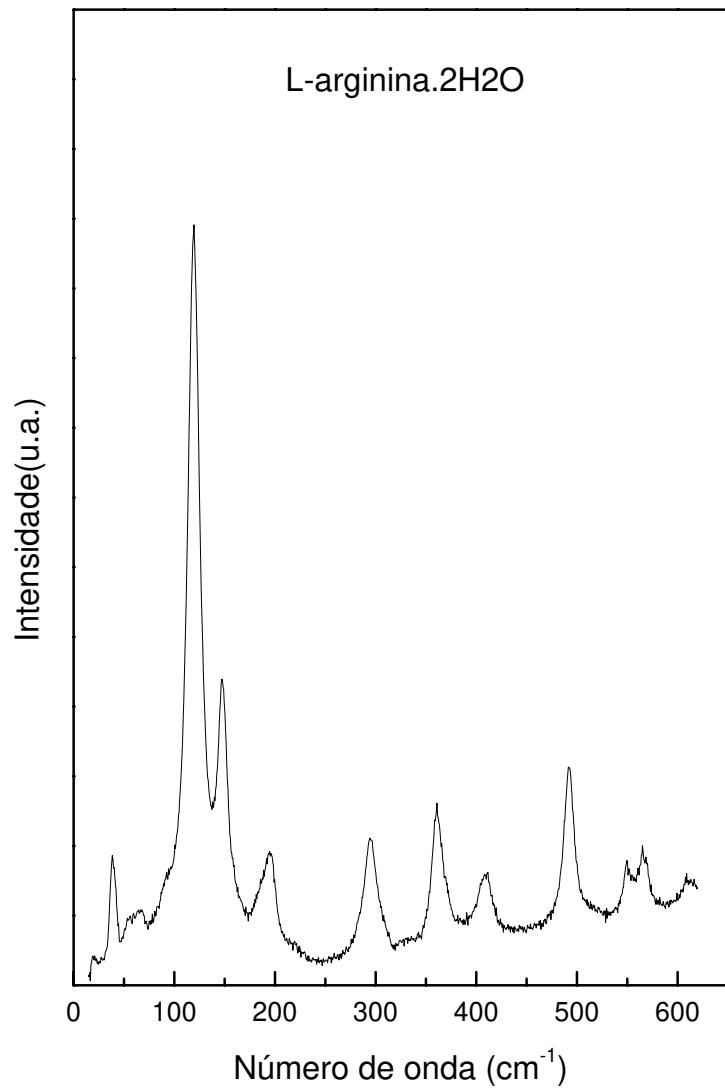


Figura 22: Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 0 e 600  $\text{cm}^{-1}$ .

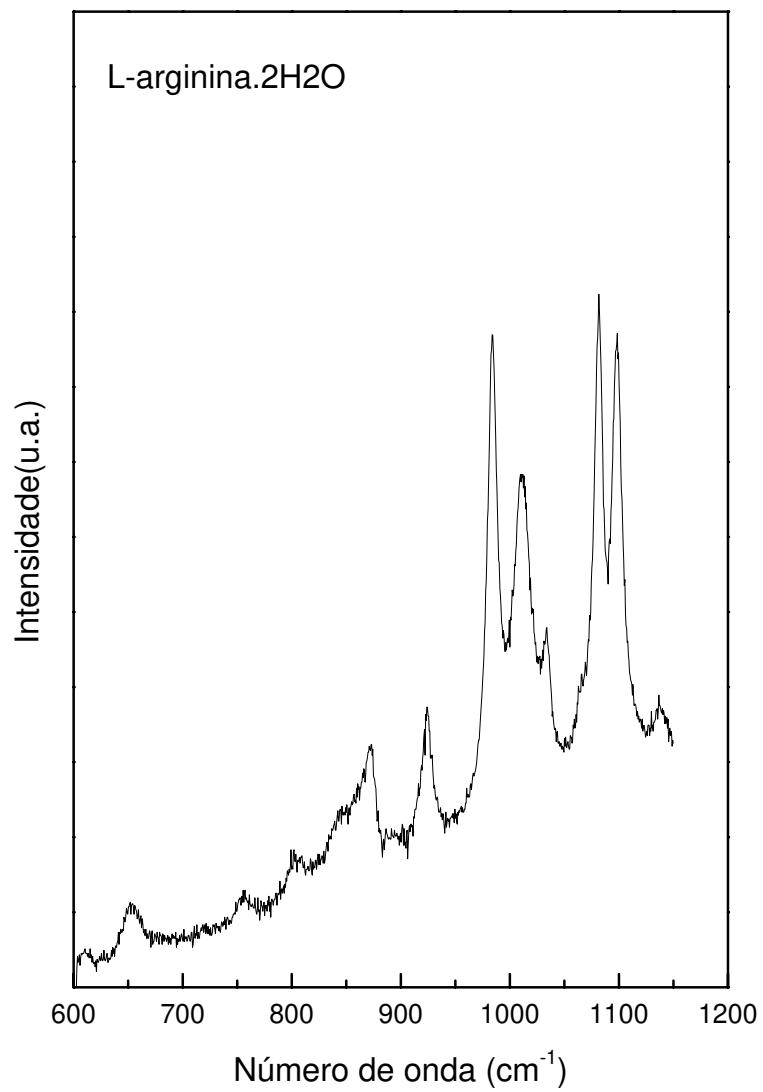


Figura 23: Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 600 e 1200  $cm^{-1}$ .

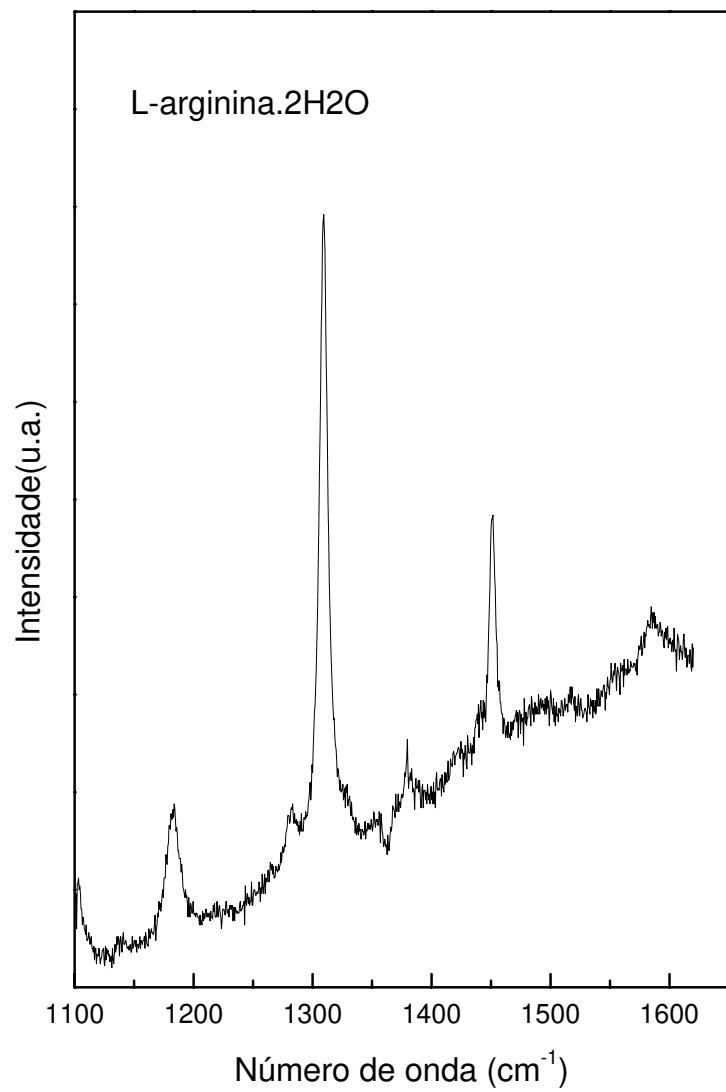


Figura 24: Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 1100 e 1650  $cm^{-1}$ .

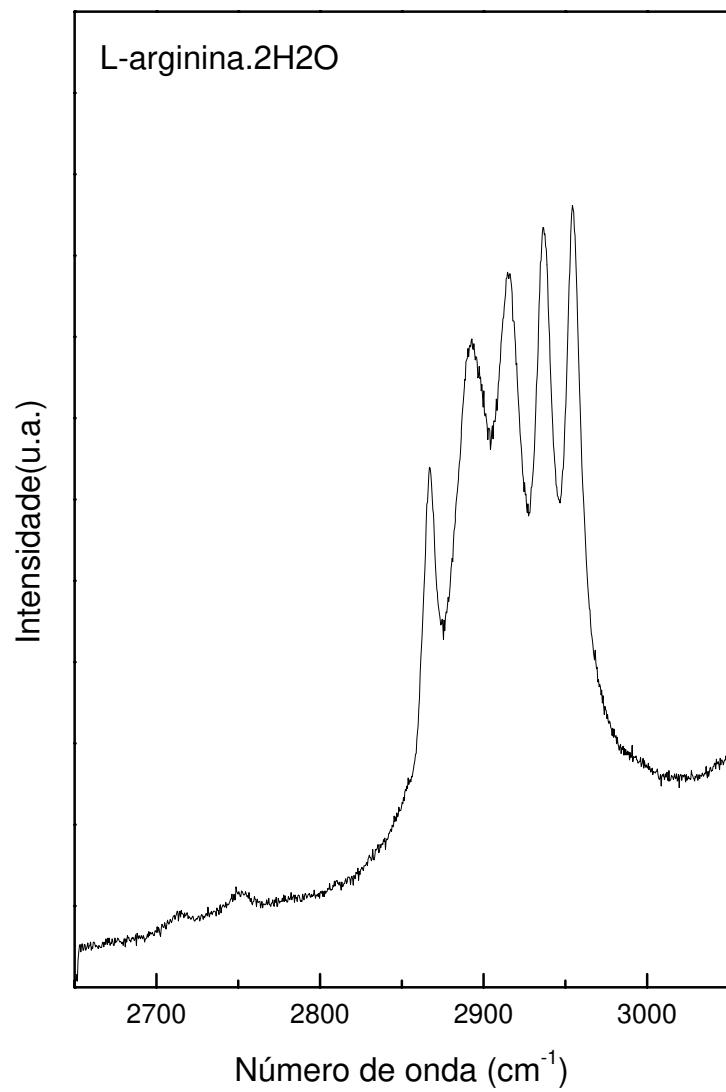


Figura 25: Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 2650 e 3050  $cm^{-1}$ .

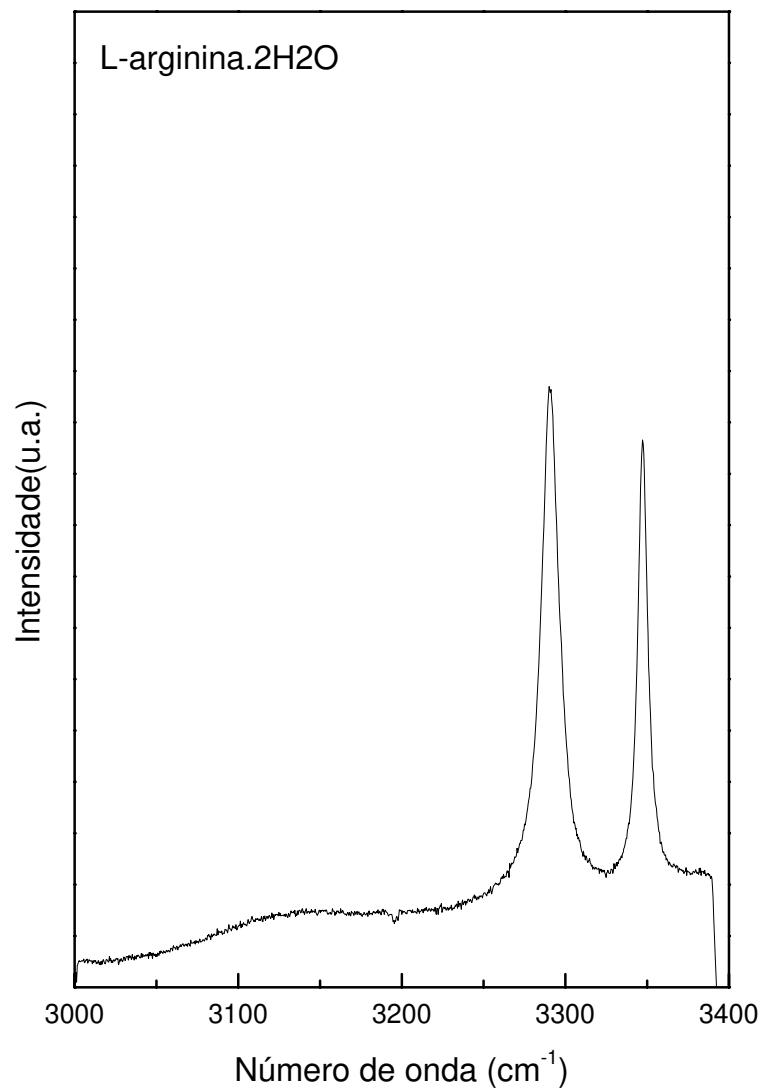


Figura 26: Espectro Raman da LARDH em condições ambiente para a região espectral entre 3000 e 3400  $cm^{-1}$ .

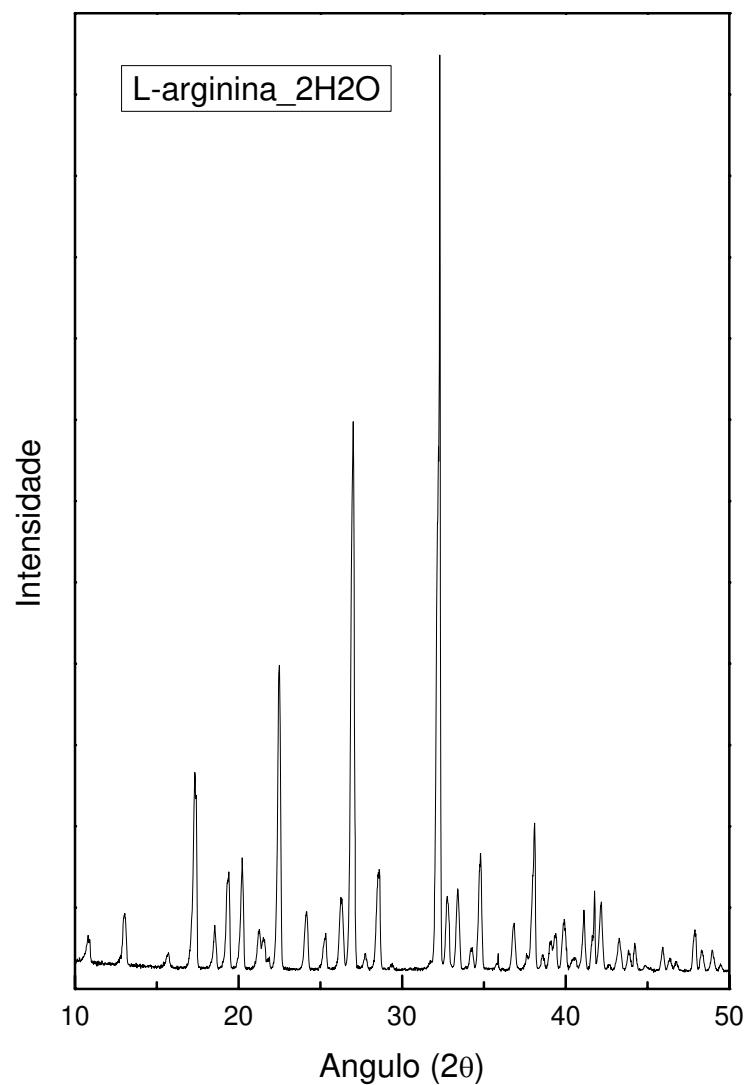


Figura 27: Difratograma de raio-x da amostra de LARDH.

Tabela 7: Identificação tentativa dos modos vibracionais da LARDH.

Freqüência ( $cm^{-1}$ )	Identificação
39	<i>rede</i>
61	<i>rede</i>
97	<i>rede</i>
119	<i>rede</i>
191	$\tau(CO_2^-)$
295	$\tau(H_2O)$
362	$\tau(COO^-)$
408	$\tau(NH_3^+)$
492	$r(NH_2)$
549	$r(COO^+)$
564	$\tau(NH_2/NH_2^+)$
613	$\omega(CO_2^-)$
655	$\delta(CO_2^-)$
754	$\delta(CO_2^-)$
805	$r(NH_2^+)$
844	$\nu(C - C)$
870	$\nu(C - C)$
924	$r(CH_2)$
984	$r(CH_2)$
1011	$r(CH_3)$
1033	
1065	$\omega(NH_3^+)$
1081	$\nu(C - N)$
1099	$\nu(C - N)$
1102	$\nu(C - N)$
1138	
1183	$\omega(NH_2^-/NH_2)$
1281	$\omega(CH_2)$
1309	$\omega(CH_2)$
1381	$\nu_s(COO^-)$
1420	
1439	<i>sci.</i> ( $CH_2$ )
1451	<i>sci.</i> ( $CH_2$ )
1491	$\delta_s(H_2O)$
1557	
1587	$\delta_{as}(NH_3^+)$
2707	<i>combinação</i>
2749	<i>combinação</i>
2867	$\nu_s(CH_2)$
2893	$\nu_s(CH_2)$
2915	$\nu_s(CH_2)$
2937	$\nu(C - H)$
2955	$\nu(C - H)$
3291	$\nu_s(H_2O)$
3347	$\nu_a(H_2O)$

## ***6 Espalhamento Raman da LARDH sob altas temperaturas***

### **6.1 Introdução**

Neste capítulo iremos discutir as principais características dos espectros Raman da LARDH sob condição de altas temperaturas, além de discutir a possibilidade da ocorrência de uma possível transição de fase sofrida pelo material.

O fato do cristal possuir água em sua estrutura aponta para a possibilidade da ocorrência de transições de fase a altas temperaturas, ou seja, acima de aproximadamente  $60^{\circ}C$ . Tais transições de fase são caracterizadas pela perda parcial ou total das moléculas de água existentes na estrutura. São vários os exemplos que podem ser citados. A metoclopromida. $HCl.H_2O$  começa a perder água no aquecimento em torno de  $78^{\circ}C$ , [64]. Muitas substâncias orgânicas, na verdade, perdem água entre  $50^{\circ}$  e  $138^{\circ}C$  [65]. Quando a água entra como impureza, ela começa a sair a temperaturas mais baixas, como ocorre no composito  $LiFePO_4/C$ , que perde água entre  $35^{\circ}$  e  $150^{\circ}C$  [66]. Quando a água é estrutural, a temperatura em que ocorre a perda pode ser bem mais alta, como no fosfato de cálcio dihidratado, em que o fenômeno ocorre entre  $385$  e  $428K$  [67]. Entre os cristais de aminoácidos uns poucos já foram investigados a altas temperaturas. Entre eles podemos citar a L-asparagina. $H_2O$ , que foi estudada entre  $300$  e  $383K$  [68]. Desse estudo concluiu-se que em torno de  $363K$  o cristal sofre uma transição de fase, com modificações em praticamente todas as regiões do espectro Raman do material incluindo o desaparecimento de bandas relacionadas ao estiramento da água. Finalmente, como exemplos de cristais de aminoácidos que não apresentam transições de fase a altas temperaturas podemos citar a L-alanina e a L-valina [59], além da L-treonina [60], que atingem a temperatura de fusão mantendo a mesma estrutura da pressão e temperatura ambientes.

## 6.2 Principais características dos espectros Raman da LARDH sob altas temperaturas

Na Figura 28 apresentamos os espectros Raman da LARDH na região espectral entre 0 e  $600\text{ cm}^{-1}$ . Os picos nos espectros de mais baixas temperaturas possuem mais alta intensidades e à medida que o cristal é aquecido as intensidades de todas as bandas vão diminuindo. Além disso, com o aumento da temperatura observam-se mudanças nas intensidades relativas de todas as bandas, em particular daquelas entre 0 e  $200\text{ cm}^{-1}$ . Por exemplo, a banda de mais baixa frequência possui cerca de 1/10 da intensidade da banda localizada em  $119\text{ cm}^{-1}$  no espectro obtido em  $T = 25^{\circ}\text{C}$ . No espectro registrado em  $T = 85^{\circ}\text{C}$  observa-se que a intensidade das duas bandas é praticamente a mesma.

Mudanças de intensidade relativas de bandas associadas a modos de baixa energia já foram anteriormente reportadas na literatura. O primeiro caso talvez tenha sido o da L-alanina que foi estudada em função da temperatura através de espectroscopia Raman [14]. No referido estudo observou-se a ocorrência de variações de intensidade entre os picos de 41 e  $48\text{ cm}^{-1}$ . Tal variação de intensidade foi associada à localização de energia vibracional no modo de  $41\text{ cm}^{-1}$ . O interessante é que num estudo de pressão realizado no mesmo material uma variação de intensidade bastante grande entre duas bandas também foi observada pela mesma técnica espectroscópica [15]. Voltando às situações de inversão de intensidades com a temperatura também podemos citar o caso da L-valina, que apresentou este fenômeno para modos de baixa frequência entre as temperaturas de 12 e 300K [54].

Nesta região podemos verificar a existência de doze bandas à temperatura ambiente. Observamos duas bandas mais intensas, uma em torno de  $127\text{ cm}^{-1}$  e outra em torno de  $149\text{ cm}^{-1}$ . Observa-se que em torno de  $40^{\circ}\text{C}$  estas duas bandas perdem intensidade, e ao aumentarmos a temperatura estas bandas se transformam em uma só. A banda em torno de  $41\text{ cm}^{-1}$  perde intensidade a partir de  $40^{\circ}\text{C}$  e a partir de  $50^{\circ}\text{C}$  começa novamente a ganhar intensidade até a temperatura de  $175^{\circ}\text{C}$ . Similarmente a banda vizinha a ela, que ocorre em torno de  $63\text{ cm}^{-1}$ , perde intensidade até  $45^{\circ}\text{C}$  e ganha novamente até a temperatura de  $175^{\circ}\text{C}$ .

As quatro bandas em torno de 192, 301, 358 e  $411\text{ cm}^{-1}$ , perdem intensidade a partir de  $40^{\circ}\text{C}$  e assim continuam até a temperatura de  $175^{\circ}\text{C}$ . As três bandas em torno de 495, 550 e  $564\text{ cm}^{-1}$  perdem intensidade próximo de  $40^{\circ}\text{C}$  e assim permanecem até a temperatura de  $175^{\circ}\text{C}$ . A última banda, que está localizada em torno de  $611\text{ cm}^{-1}$ ,

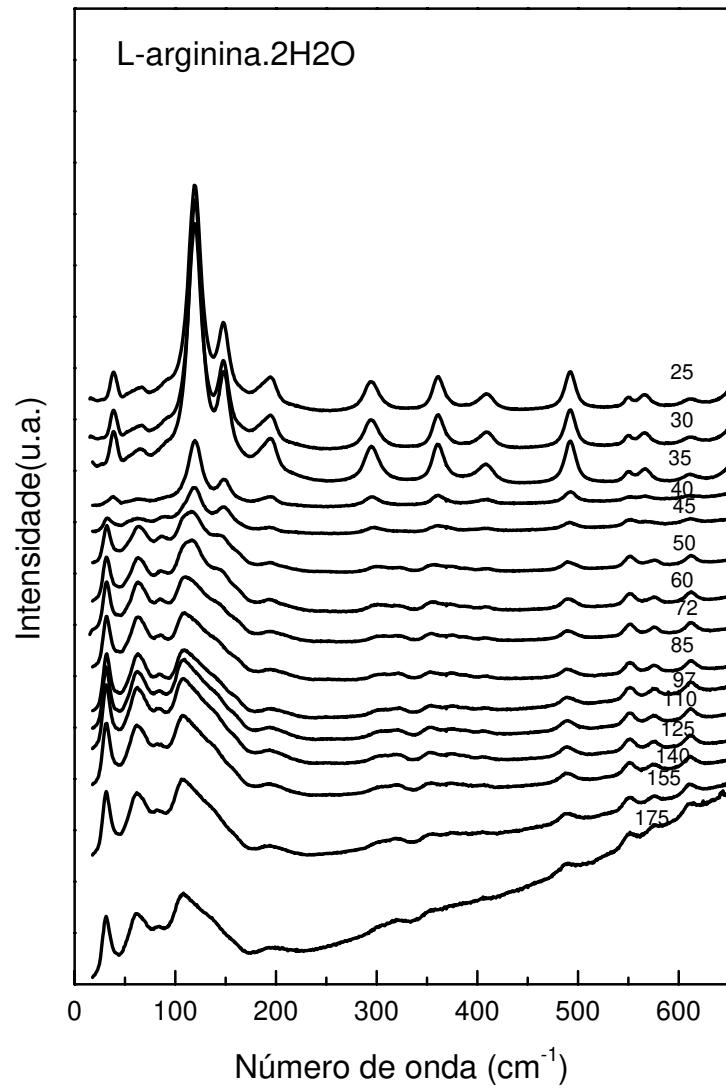


Figura 28: Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 0 e 650  $cm^{-1}$ .

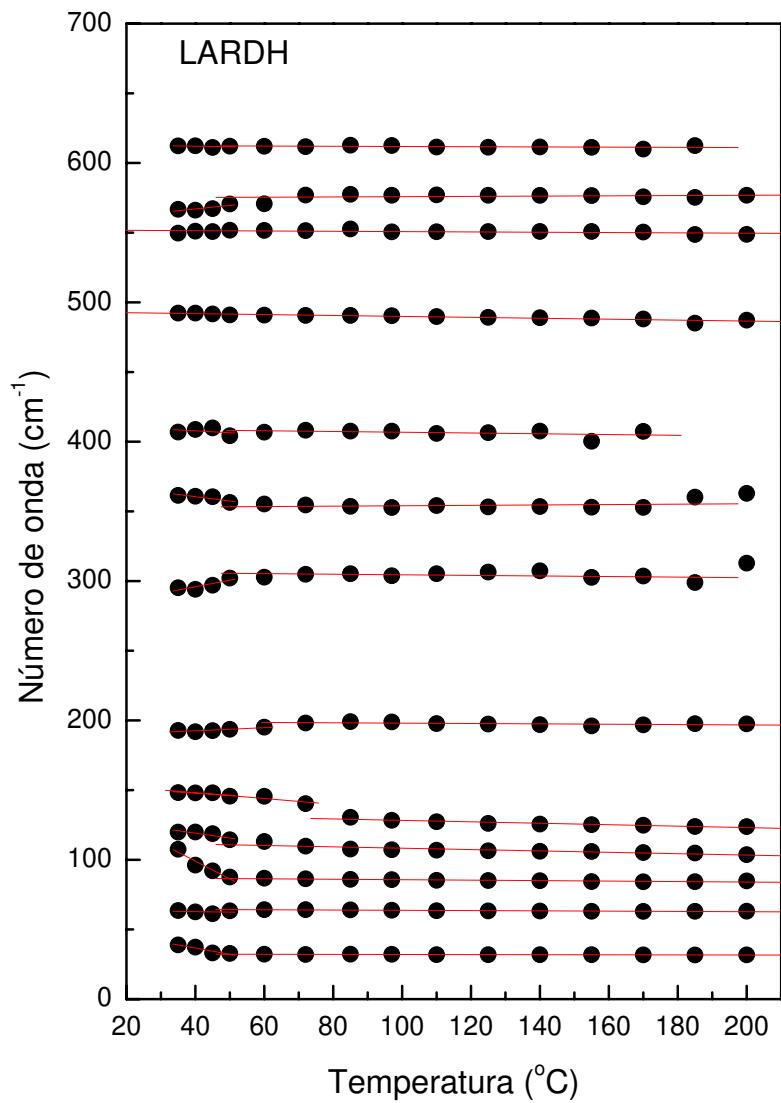


Figura 29: Gráfico de  $\omega$  x T dos experimentos de espalhamento Raman na LARDH.

permanece praticamente inalterada durante todo o processo. Como podemos observar, estes modos possuem um comportamento bastante peculiar com a temperatura o que pode indicar algum tipo de modificação na estrutura.

Um gráfico das frequências das bandas entre 20 e 320  $cm^{-1}$  é apresentado na Figura 29. Nesta figura observa-se claramente que a partir de aproximadamente 45 $^{\circ}C$  mudança de inclinação nas curvas  $\frac{d\omega}{dT}$  são observadas. Por exemplo, a banda originalmente em torno de 100  $cm^{-1}$  vai diminuindo de frequência com o aumento da temperatura e a partir de 50 $^{\circ}C$  começa a se manter constante até o mais alto valor de temperatura. De uma forma geral com as outras frequências apresentadas na figura 29, o comportamento é o mesmo, ou seja, mudanças são observadas a partir de 45 $^{\circ}C$ , se estendendo até o intervalo 60 $^{\circ}$  – 80 $^{\circ}C$ . Tais mudanças nas frequências dos modos externos, e mesmo do modo em torno de 300  $cm^{-1}$ , indica a ocorrência de uma transição de fase sofrida pelo cristal de LARDH.

Na Figura 30 apresentamos os espectros Raman da LARDH na região espectral compreendida entre 600 e 1200  $cm^{-1}$ . A banda em torno de 612  $cm^{-1}$  apresenta pouca modificação com o aumento da temperatura. Já a banda em torno de 654  $cm^{-1}$ , que está associada a um bending do  $CO_2^-$ , tem uma queda abrupta de intensidade em torno de 40 $^{\circ}C$  e desaparece completamente para temperaturas maiores. As bandas em torno de 754  $cm^{-1}$  e 804  $cm^{-1}$  diminuem suas intensidades e assim continuam durante todo o processo. A banda em torno de 870  $cm^{-1}$  tem sua intensidade diminuída na temperatura de 40 $^{\circ}C$  e assim continua durante todo o aquecimento. Já a banda em torno de 844  $cm^{-1}$ , que aparece no ombro da anterior, diminui sua frequência em torno de 40 $^{\circ}C$  e não apresenta nenhuma outra variação. A banda em torno de 918  $cm^{-1}$  também não apresenta nenhuma mudança significativa a não ser uma diminuição na sua intensidade a partir de 40 $^{\circ}C$  e um aumento da largura de linha. A banda intensa em 984  $cm^{-1}$  similarmente não apresenta grande mudança na sua intensidade e em sua frequência. Já o modo vizinho a este modo, que aparece em torno de 1013  $cm^{-1}$ , perde intensidade até desaparecer completamente e a banda em torno de 1034  $cm^{-1}$  aumenta sua frequência, assim permanecendo durante todo o processo de aquecimento. As bandas intensas em torno de 1081  $cm^{-1}$  e 1097  $cm^{-1}$  sofrem mudanças significativas em torno da temperatura de 40 $^{\circ}C$ . Adicionalmente em torno de 50 $^{\circ}C$  estas duas bandas ganham novamente intensidade e assim permanecem até 170 $^{\circ}C$ ; entretanto, há uma clara inversão de intensidade entre as bandas observadas em 1081 e 1065  $cm^{-1}$ . A banda em torno de 1141  $cm^{-1}$  sofre uma mudança pouco significativa e assim continua durante todo o processo. Por último a banda intensa em torno de 1184  $cm^{-1}$  perde intensidade entre 40 $^{\circ}C$  e 50 $^{\circ}C$  sendo desmembrada em duas bandas a partir desta última temperatura. Tal comportamento geral sugere que alguma mudança

esteja ocorrendo com a estrutura entre  $40^{\circ}C$  e  $50^{\circ}C$ .

Com o objetivo de explicitar melhor o comportamento das frequências dos modos normais de vibração de LARDH no intervalo entre 600 e  $1200\text{ cm}^{-1}$ , na Figura 31 apresentamos um gráfico de frequência em função da temperatura. Para a maioria dos modos, as frequências não sofrem grandes variações a altas temperaturas. Entretanto, para duas bandas entre  $800$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  observam-se variações significativas. Adicionalmente observam-se grandes mudanças nas frequências das bandas observadas entre  $1100$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ , tanto com um salto na frequência de uma das bandas como a formação de um dubleto a partir da banda de mais alta frequência neste intervalo. Uma vez que as modificações descritas acima ocorrem no intervalo de temperatura entre  $45$  e  $60^{\circ}\text{C}$  afirmar que as mudanças observadas nas Figuras 30 e 31 corroboram a existência de uma transição de fase na LARDH no intervalo de temperatura descrito.

A Figura 32 apresenta os espectros Raman da LARDH na região compreendida entre  $1150$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Nesta região vemos um pico de grande intensidade e outros dois de intensidades intermediárias. A primeira banda nesta região espectral aparece em torno de  $1184\text{ cm}^{-1}$  que a partir de  $40^{\circ}\text{C}$  perde intensidade e aumenta a frequência conforme já discutido. A partir do espectro registrado com o cristal em  $T = 45^{\circ}\text{C}$ , observa-se que a banda é separada em duas outras de baixas intensidades conforme discussão anterior. Há uma banda em torno de  $1261\text{ cm}^{-1}$  que à temperatura ambiente é pouco expressiva, porém com o aumento da temperatura esta banda se torna um pouco mais intensa mas não varia sua frequência. Interessante nesta região é o pico de grande intensidade que ocorre em torno de  $1309\text{ cm}^{-1}$ ; ao aumentarmos a temperatura a sua intensidade cai bruscamente sendo que em torno de  $45^{\circ}\text{C}$  podemos ver nitidamente o aparecimento de uma outra banda. Vizinhas à banda anterior temos duas bandas uma à esquerda, em torno de  $1281\text{ cm}^{-1}$ , e outra à direita, em torno de  $1333\text{ cm}^{-1}$ . A primeira pode ser vista à temperatura ambiente, e ao aumentarmos a temperatura sua intensidade é diminuída; já a segunda, à temperatura ambiente, mal pode ser identificada, e ao aumentarmos a temperatura se torna mais nítida. A segunda banda mais intensa desta região, que aparece em torno de  $1449\text{ cm}^{-1}$ , diminui drasticamente sua intensidade com o aumento da temperatura e assim permanece durante todo o processo. A banda à esquerda da banda anterior, que aparece em torno de  $1438\text{ cm}^{-1}$ , tem sua intensidade aumentada em torno de  $45^{\circ}\text{C}$  embora sua frequência permaneça invariante. Temos ainda uma banda em torno de  $1479\text{ cm}^{-1}$  que à temperatura ambiente é imperceptível, sendo vista somente a partir da temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$ .

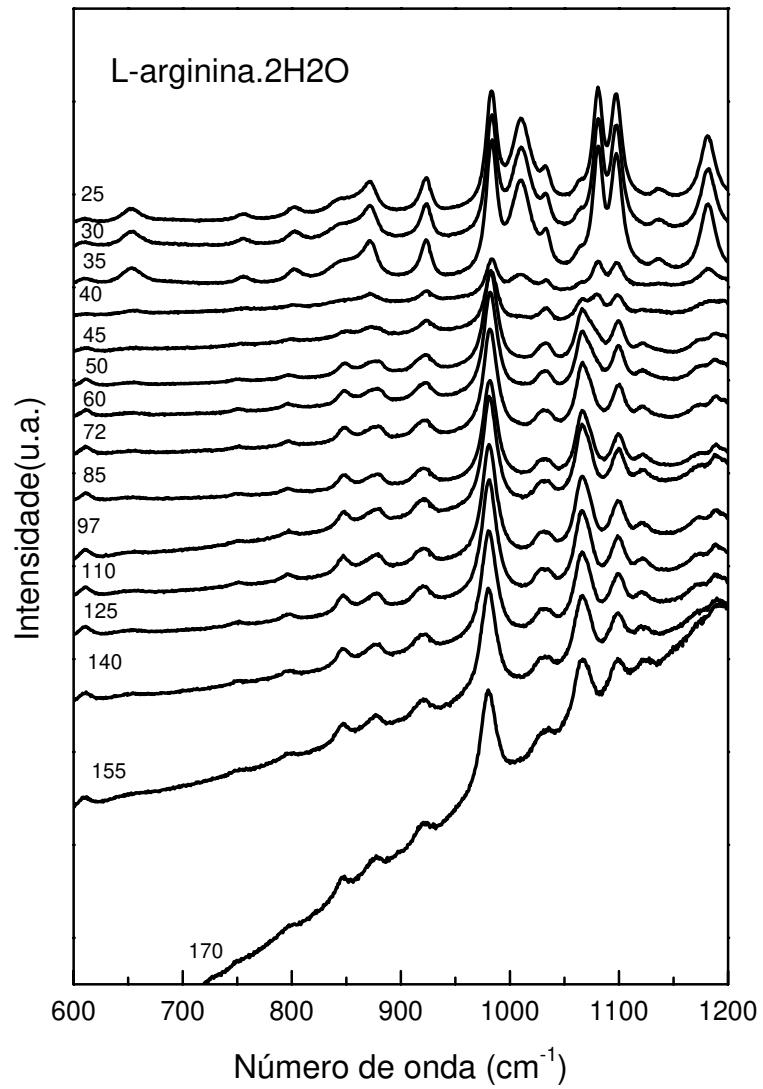


Figura 30: Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 600 e 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

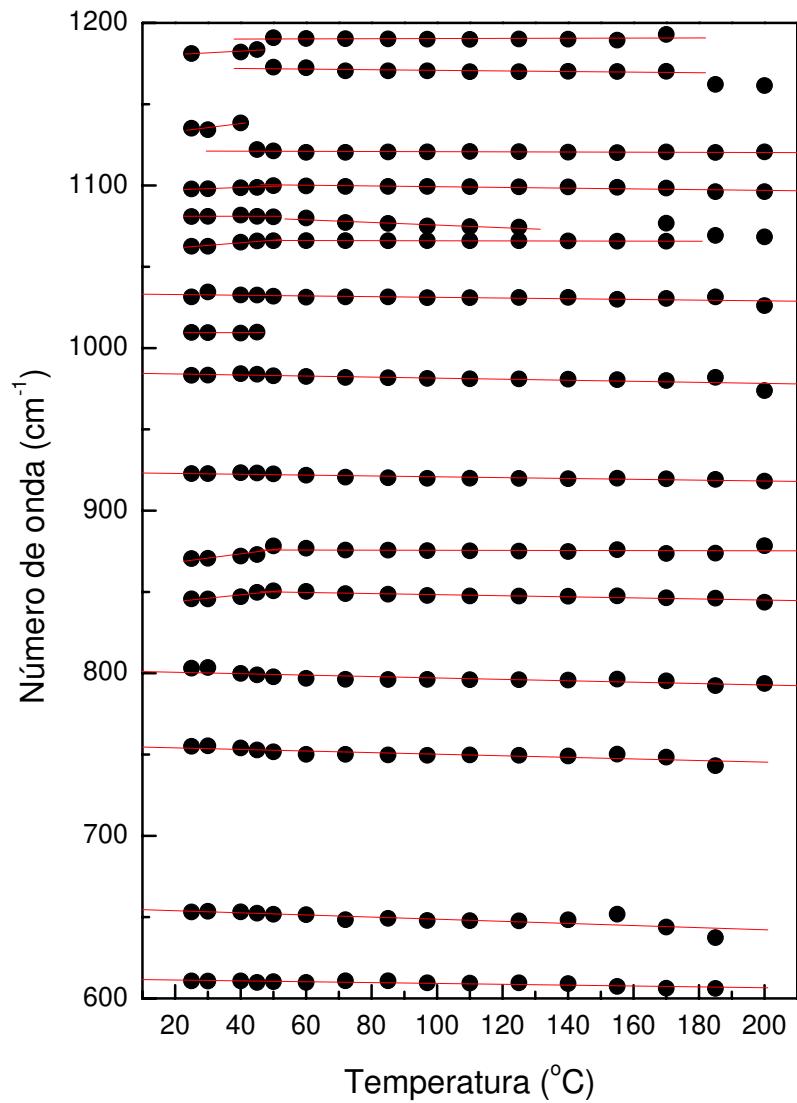


Figura 31: Gráfico de  $\omega$  x T dos experimentos de espalhamento Raman para um cristal de LARDH.

A Figura 33 apresenta a evolução das frequências dos modos vibracionais da LARDH no intervalo entre 1150 e 1630  $cm^{-1}$ . Aqui, claramente, uma série de modificações é observada nas frequências, em destaque o aumento do número de bandas entre 45 e 60°C. Este fato corrobora os indícios apresentados anteriormente que mostram que o cristal de LARDH sofre uma transição de fase no intervalo de temperatura já especificado. Um detalhe que se destaca no gráfico da Fig.33 é o fato de que várias bandas se separam em duas, além da ocorrência do surgimento de novas bandas. Embora na região dos modos externos ( $\omega < 200cm^{-1}$ ) não tenha sido observado o dobramento de modos internos pode significar que após a transição de fase as moléculas (ou algumas delas) passem a ocupar sítios de simetria não equivalentes. Esta hipótese será revisitada quando estivermos discutindo o comportamento das bandas associadas às vibrações de estiramento de água.

Na Figura 34 temos os espectro Raman da LARDH na região espectral compreendida entre 2650 e 3000  $cm^{-1}$ . É importante destacar que esta região é conhecida por fornecer importantes informações relacionadas à conformações das moléculas na célula unitária. De fato, de acordo com a Ref. [48], diferentes bandas e diferentes intensidades de picos na região 2800 - 3100  $cm^{-1}$ , implicaria em diferentes conformações da molécula de aminoácido na célula unitária. Na verdade, a Ref. [48] apresentou resultados para o caso específico da L-metionina, via cálculos de primeiros princípios, mas pode-se supor que os resultados valham para qualquer cristal de aminoácido. De fato, aplicando-se esta suposição aos resultados de espalhamento Raman num cristal de L-leucina, já foi possível entender o comportamento "conformacional" das moléculas na célula unitária, à medida que a pressão era aumentada [22]. Assim, mudança na forma das linhas nesta região pode ser associada a alguma mudança conformacional. Para começar a nossa discussão podemos ver duas bandas de baixas intensidades, uma em torno de 2717  $cm^{-1}$  e a outra em torno de 2751  $cm^{-1}$ . Tais bandas, com o aumento da temperatura, perdem intensidade e assim permanecem durante todo o aquecimento. As duas bandas em torno de 2865  $cm^{-1}$  e 2890  $cm^{-1}$  têm suas intensidades diminuídas com o aumento de temperatura, sendo que a primeira permanece com uma intensidade razoável e a segunda perde sua intensidade até fazer parte do "ombro" do modo anterior. O mesmo processo ocorre nas duas bandas seguintes localizadas em torno de 2914  $cm^{-1}$  e a outra em torno de 2936  $cm^{-1}$ , onde a primeira continua com sua intensidade inalterada e a outra se torna parte do "ombro" da outra. Observa-se ainda uma banda em torno de 2954  $cm^{-1}$  que também, como as outras bandas, perde intensidade com o aumento de temperatura e não sofre mais nenhuma alteração durante o processo. O importante, entretanto, é que embora aconteça uma

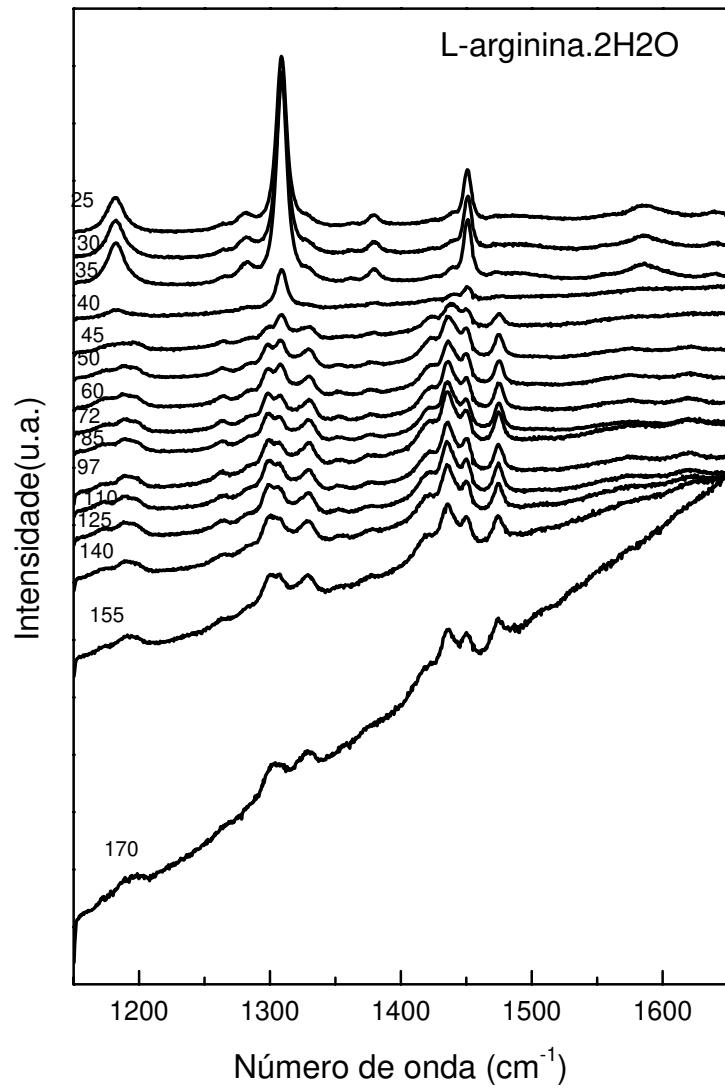


Figura 32: Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 1150 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

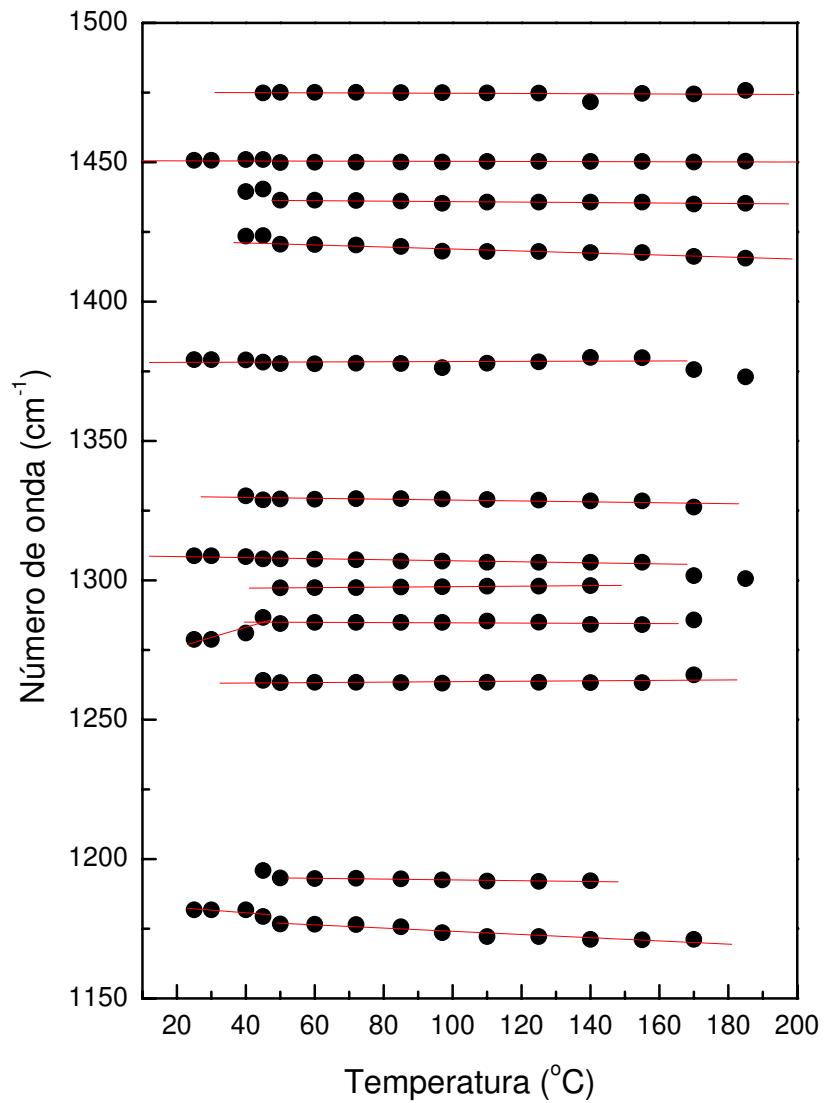


Figura 33: Gráfico de  $\omega$  x T dos experimentos de espalhamento Raman para um cristal de LARDH.

mudança de intensidade nas bandas a partir de  $40^{\circ}C$ , apenas a partir de  $45^{\circ}C$  é que as intensidades relativas são modificadas.

A Figura 35 apresenta as frequências das bandas Raman da LARDH no intervalo 2700 -  $2950\text{ cm}^{-1}$  para temperaturas entre 20 e  $200^{\circ}C$ . Como nas outras regiões, observam-se mudanças nas frequências de todos os modos em torno de  $45^{\circ}C$ . Este fato também fortalece a hipótese de que o cristal de LARDH sofre uma transição de fase entre 45 e  $60^{\circ}C$ .

Na Figura 36 apresentam-se os espectros Raman da LARDH na região espectral compreendida entre 3000 a  $3400\text{ cm}^{-1}$  onde são esperados os modos de estiramento da água. Podemos ver à temperatura ambiente duas bandas, uma em torno de  $3290\text{ cm}^{-1}$  e outra em  $3346\text{ cm}^{-1}$ . Estas duas bandas, como os outros modos da LARDH sob altas temperaturas, sofrem redução em suas intensidades. O mais intrigante destes espectros é o aparecimento de uma banda em torno da segunda banda. Observa-se que ao lado desta nova banda uma banda pouco intensa que se encontra exatamente na posição da banda originalmente em  $3346\text{ cm}^{-1}$  permanece num intervalo de  $15^{\circ}C$  (entre  $45^{\circ}C$  e  $60^{\circ}C$ ). Isto pode significar que neste intervalo de temperatura as duas fases estejam presentes no cristal, ou seja, ocorra uma coexistência das fases da temperatura ambiente e de alta temperatura.

A coexistência de fases é um tema que acompanha algumas discussões acerca das transições de fase. De uma forma geral, quando ocorre uma transição de fase de primeira ordem, não existe a possibilidade de coexistência de fases. Por outro lado, em transições de fase de segunda ordem, que são mais suaves, eventualmente parte da estrutura cristalina pode ser encontrada numa fase e parte da estrutura cristalina pode ser encontrada em outra. Na maioria das vezes, mesmo nos casos de transição de segunda ordem, não é fácil observar-se indícios de coexistência de fases.

Um exemplo que pode ser citado para exemplificar a coexistência de fases é o do cristal de L-metionina quando submetido a altas pressões. Num estudo realizado através de espectroscopia Raman verificou-se que o cristal de L-metionina sofre uma transição de fase em torno de 2,1 GPa [25]. Nesta transição, no espectro de 2,1 GPa são observadas três bandas entre 650 e  $700\text{ cm}^{-1}$ . Entretanto, na pressão de 1,8 GPa apenas duas bandas são observadas enquanto que no espectro de 2,7 GPa apenas uma banda foi observada. Claramente, as três bandas vislumbradas simultaneamente na pressão de 2,1 GPa apontam para a ocorrência simultânea das fases de baixa e alta pressão na L-metionina.

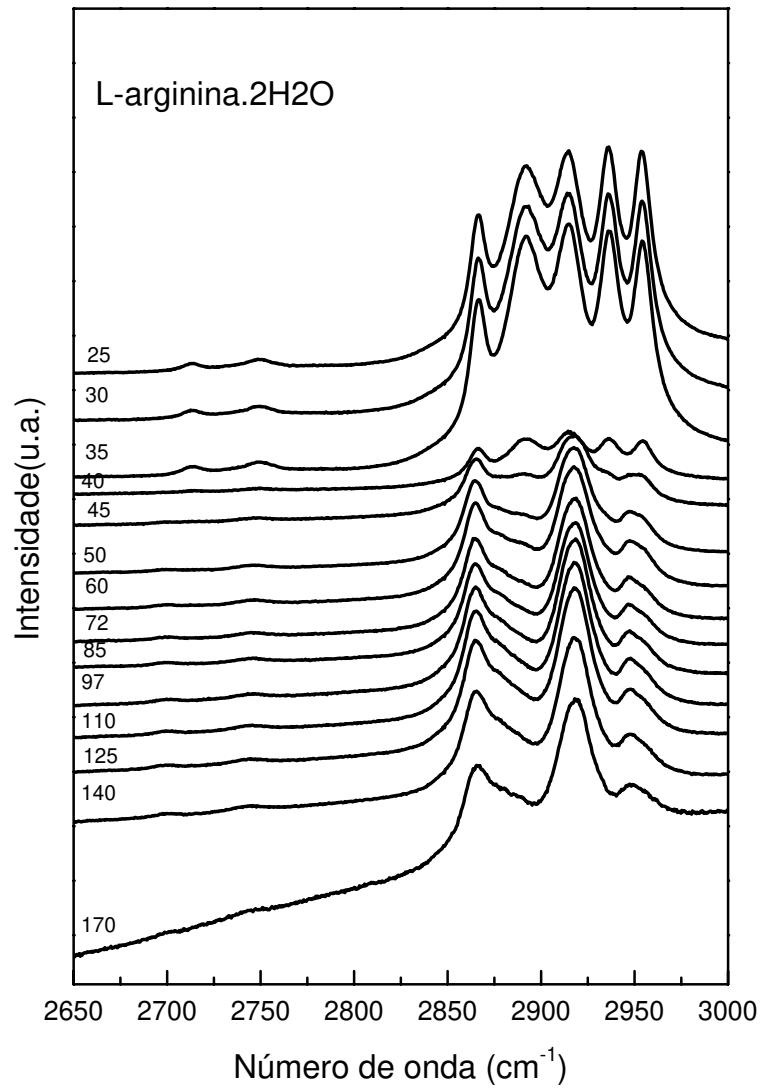


Figura 34: Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 2650 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ .

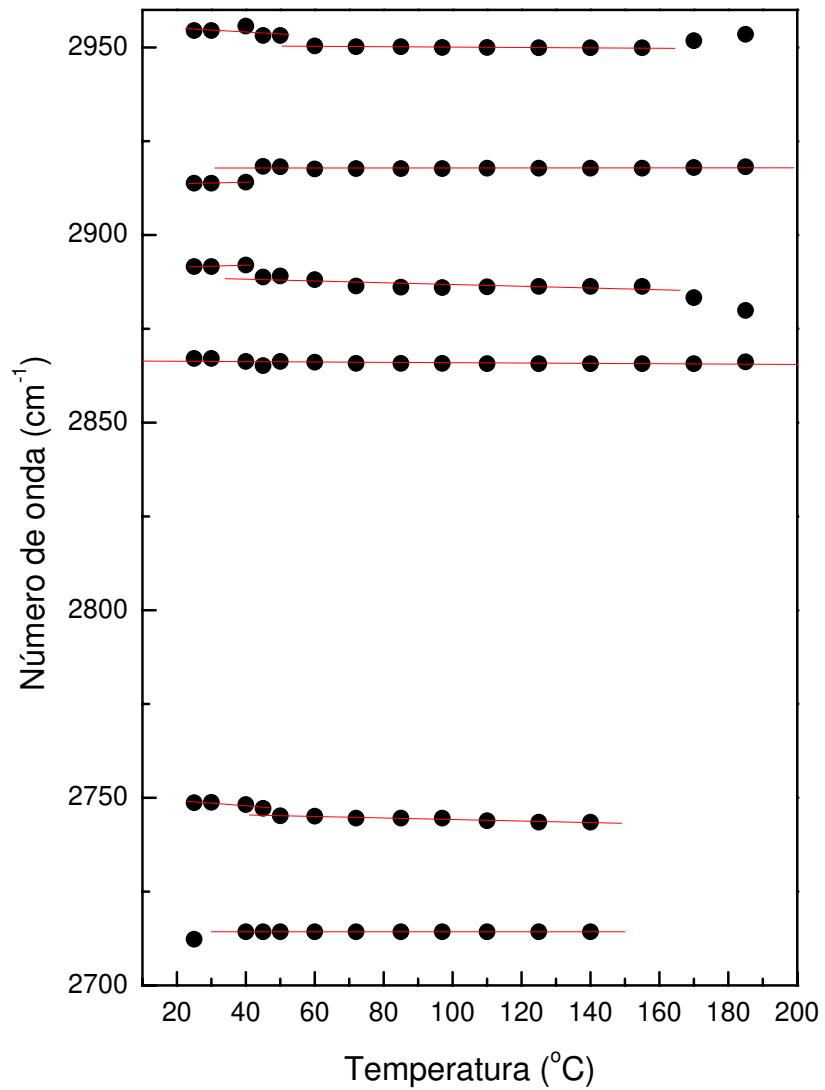


Figura 35: Gráfico de  $\omega$  x T dos experimentos de espalhamento Raman num cristal de LARDH.

Para além da coexistência de fases, existe uma outra hipótese que também poderia explicar o comportamento das bandas na Fig.36. Pode-se imaginar que o cristal sofre uma transição de fase em  $45^{\circ}C$  ficando nesta nova fase até a temperatura de  $60^{\circ}C$ ; para mais altos valores de temperatura o cristal de LARDH sairia da fase metaestável ( $45 - 60^{\circ}C$ ) e passaria para uma nova fase. Observa-se que, inicialmente, existem duas bandas associadas aos estiramentos da água. Admitindo que uma delas esteja associada ao estiramento simétrico e a outra ao estiramento anti-simétrico, pode-se afirmar que as moléculas de água ocupam um único sítio de simetria. Depois de  $45^{\circ}C$  observa-se a ocorrência de no mínimo três bandas, o que implica dois sítios de simetria não-equivalentes para a água. Isto porque a banda de mais alta frequência, que corresponde ao estiramento antissimétrico da água apresenta-se dobrado, conforme as Figs.36 e 37, esta última apresentando as frequências dos modos de estiramento  $H_2O$  em função da temperatura. Acima de  $60^{\circ}C$  novamente são observados um modo relativo ao estiramento simétrico e um modo relativo ao estiramento antissimétrico da água, implicando que novamente, as moléculas de água estão ocupando um único sítio de simetria. Estas duas bandas de estiramento (simétrico e antissimétrico) permanecem até cerca de  $200^{\circ}C$ , embora, claramente as bandas diminuam bastante de intensidade.

Com o objetivo de lançar luz a este problema resolveu-se realizar medidas térmicas no cristal de LARDH no intervalo de temperatura entre 30 e  $350^{\circ}C$ . Mais especificamente, o cristal investigado foi submetido às técnicas de análise térmica diferencial (DTA) e análise termogravimétrica (TG). A primeira técnica permite calcular a energia envolvida nas reações químicas e nas transições de fase que ocorrem num determinado material, enquanto que a segunda técnica fornece a massa perdida pela amostra nas reações e transformações pelas quais ela passa.

Vamos começar discutindo o gráfico de DTA da amostra de LARDH, que é apresentado na Figura 39. Na prática, a técnica DTA permite a medida contínua das temperaturas da amostra e de um material de referência, ao mesmo tempo em que eles são aquecidos numa taxa constante. Registra-se, então, a diferença de temperatura entre a referência e a amostra ( $dT$ ) em função da temperatura ou do tempo. No gráfico da Figura 39 observa-se que à medida que o cristal é aquecido, verifica-se a ocorrência de um evento endotérmico que começa pouco antes de  $50^{\circ}C$  e termina em aproximadamente  $84^{\circ}C$ . Logo a seguir um segundo evento endotérmico inicia-se, terminando em  $109^{\circ}C$ .

Lembrando que através da medida de espalhamento Raman foram observados modificações a partir de  $45^{\circ}C$ , é de se supor que o evento começa pouco antes de  $50^{\circ}C$  na

medida de DTA é o mesmo vislumbrado pelo Raman. A diferença é que na medida de espectroscopia Raman as modificações ocorrem num menor intervalo de temperatura.

Para melhorar o entendimento desta transição de fase que ocorre a partir de  $45^{\circ}\text{C}$ , fez-se uma medida TG na amostra de LARDH, que é apresentada na Figura 38. Desta figura observa-se que a partir de aproximadamente  $50^{\circ}\text{C}$  o cristal de LARDH começa a perder massa, processo este que continua até cerca de  $130^{\circ}\text{C}$ . Neste intervalo de temperatura aproximadamente 15 por cento da massa do cristal LARDH é perdida, o que corresponde à massa de duas unidades de água. Em outras palavras, de acordo com as medidas de TG, quase toda a água está sendo expulsa do cristal no intervalo entre 50 e  $130^{\circ}\text{C}$ . Retornando ao gráfico de DTA observa-se que a saída de água ocorre em duas etapas, uma entre  $\sim 52^{\circ}\text{C}$  e  $84^{\circ}\text{C}$ , consumindo 91,5 J/g, e outra entre  $84^{\circ}\text{C}$  e aproximadamente  $110^{\circ}\text{C}$ , consumindo 157 J/g. Admitindo que metade da água está saindo até  $84^{\circ}\text{C}$  e a outra metade até  $110^{\circ}\text{C}$  (ou até  $130^{\circ}\text{C}$  de acordo com a medida de TG) isso significa que menos energia é necessária para a saída inicial da água. Isso pode ser entendido supondo-se que a saída da segunda metade de moléculas de água envolve a difusão das moléculas do interior até a superfície, o que exigiria mais energia.

Observa-se ainda no gráfico de TG que mesmo após  $130^{\circ}\text{C}$  a massa da amostra continua diminuindo, o que implica que as moléculas de água continuam saindo da amostra mesmo após  $130^{\circ}\text{C}$ . Isto é confirmado pelos espectros Raman apresentados na Figura 36, onde se observam claramente bandas associadas aos estiramentos O - H da água até a temperatura de  $185^{\circ}\text{C}$ . Poder-se-ia pensar que acima de  $130^{\circ}\text{C}$  não existisse mais água na estrutura cristalina, mas os espectros Raman apontam para a ocorrência, mesmo em pequena quantidade, destas moléculas no cristal. Em suma, pode-se entender a transição de fase sofrida pela LARDH como a saída das moléculas de água em duas etapas, entre  $45^{\circ}\text{C}$  e cerca de  $135^{\circ}\text{C}$ , embora uma pequena parte continue presente até aproximadamente  $185^{\circ}\text{C}$ .

Acima de  $220^{\circ}\text{C}$  a amostra de LARDH começa a se decompor pois a massa vai diminuindo sucessivamente até cerca de 50 por cento em  $350^{\circ}\text{C}$ . Isso pode ser visto tanto no gráfico TG quanto no gráfico DTA, onde aparece um pico endotérmico centrado em  $231^{\circ}\text{C}$ .

Nas Tabelas 8 e 9 temos os parâmetros  $\omega$ ,  $\omega_0$  e  $\alpha = d\omega/dT$  como também a identificação destes modos para a LARDH.

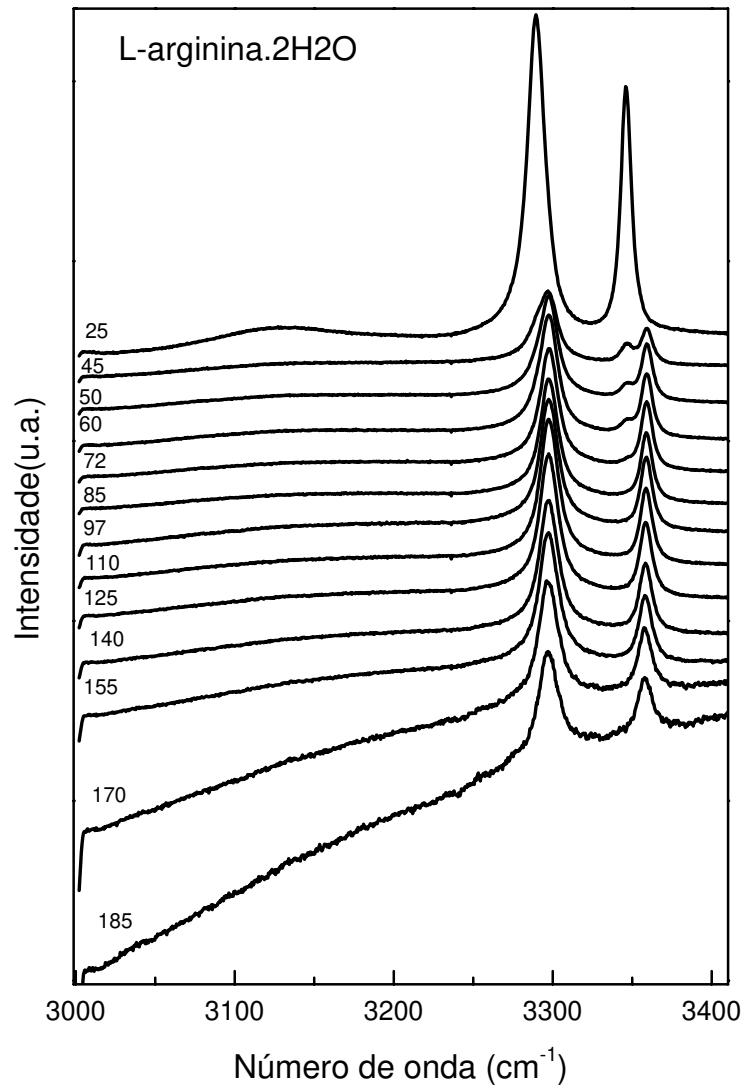


Figura 36: Espectros Raman da LARDH em função da temperatura para a região espectral entre 3000 e 3400  $\text{cm}^{-1}$ .

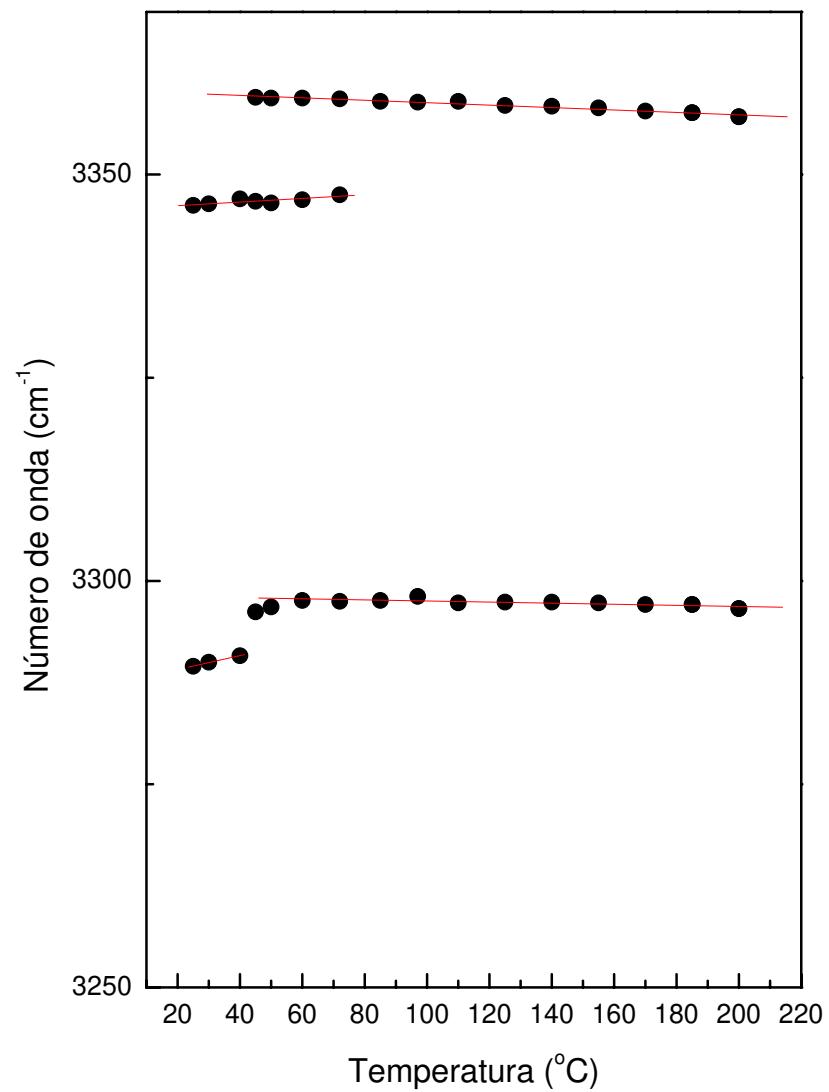


Figura 37: Gráfico de  $\omega$  x T dos experimentos de espalhamento Raman realizadas na LARDH.

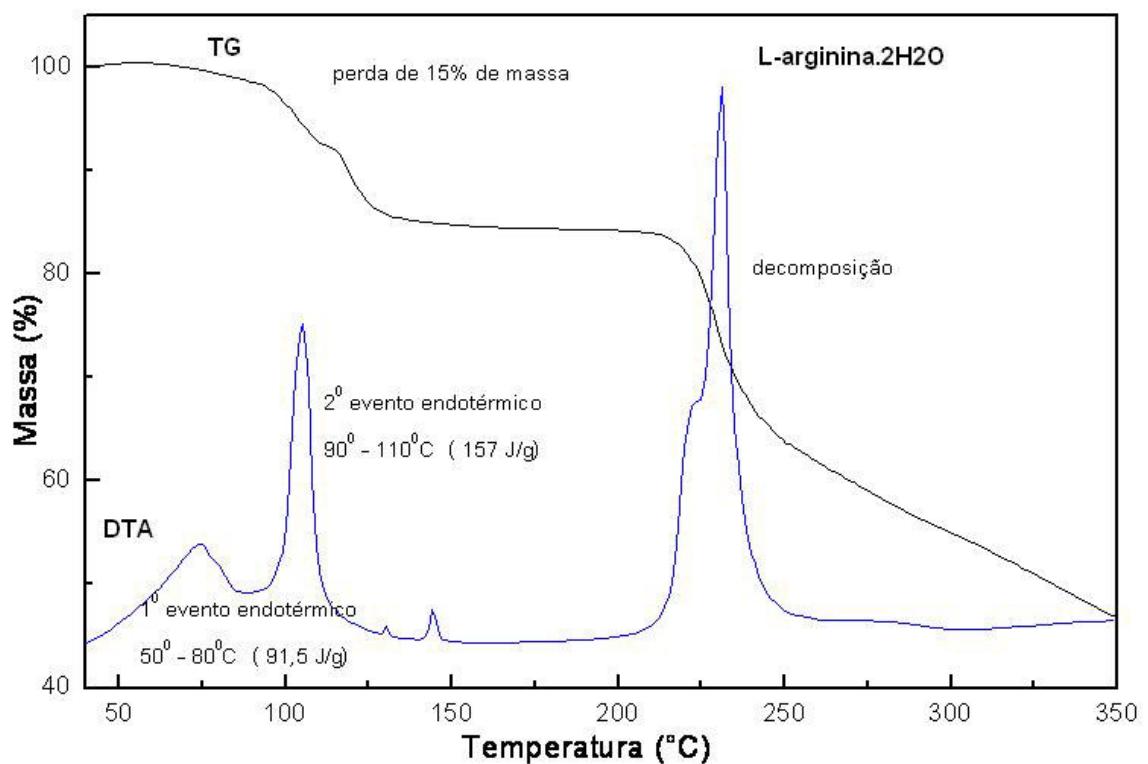


Figura 38: Medida de análise térmica diferencial da amostra LARDH.

Tabela 8: Valores de  $\omega$ ,  $\omega_0$  e  $\alpha$  para os ajustes lineares do tipo  $\omega = \omega_0 + \alpha T$  dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 32 a  $1099\text{ cm}^{-1}$ .

$\omega(\text{cm}^{-1})$	$\omega_0(\text{cm}^{-1})$	$\alpha(\text{cm}^{-1}/\text{GPa})$
32	32,45	0,00
39	54,56	-0,44
63	64,30	-0,03
64	64,70	0,00
86	87,35	-0,01
107	150,05	-1,27
113	113,24	-0,04
119	133,14	-0,35
130	133,44	-0,05
148	156,35	-0,20
192	188,08	0,11
198	199,32	-0,01
295	277,03	0,47
302	306,58	-0,02
355	352,60	0,01
361	372,94	-0,30
406	413,22	-0,13
492	493,25	-0,03
549	551,85	-0,01
566	556,95	0,25
570	574,79	0,01
610	611,88	-0,02
612	613,60	-0,03
653	655,24	1,41
755	755,10	-0,04
803	801,45	-0,04
845	839,86	0,20
850	851,69	-0,03
870	862,96	0,26
876	875,93	0,00
922	923,44	-0,02
983	984,75	-0,03
1009	1009,45	0,00
1031	1033,39	-0,02
1062	1058,35	0,16
1066	1066,38	0,00
1080	1081,14	0,00
1097	1095,90	0,07
1099	1101,53	-0,02

Tabela 9: Valores de  $\omega$ ,  $\omega_0$  e  $\alpha$  para os ajustes lineares do tipo  $\omega = \omega_0 + \alpha T$  dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 1222 a 3359  $cm^{-1}$ .

$\omega(cm^{-1})$	$\omega_0(cm^{-1})$	$\alpha(cm^{-1}/GPa)$
1122	1121,3	0,00
1135	1128,12	0,24
1172	1172,69	-0,01
1176	1179,87	-0,05
1181	1178,40	0,10
1182	1184,56	-0,09
1190	1189,89	0,00
1193	1193,95	-0,01
1263	1262,84	0,00
1277	1268,68	0,36
1284	1285,18	0,00
1297	1296,83	0,00
1308	1308,89	0,00
1330	1330,39	-0,01
1378	1378,12	0,00
1420	1422,51	-0,03
1436	1436,73	0,00
1450	1450,7	0,00
1474	1475,15	0,00
2712	2714,3	0,00
2745	2746,25	-0,02
2748	2750,77	-0,07
2867	2866,45	0,00
2888	2889,17	-0,02
2891	2890,82	0,02
2913	2913,22	0,02
2917	2917,86	0,00
2950	2950,59	0,00
2954	2956,19	-0,05
3289	3287,38	0,08
3297	3298,21	0,00
3346	3345,71	0,02
3359	3360,32	-0,01

## 7 *Medidas de espalhamento Raman na LARDH sob altas pressões*

### 7.1 Introdução

O estudo de propriedades vibracionais de cristais de aminoácidos submetidos a altas pressões foi inaugurado há cerca de 16 anos quando os autores da Ref.[70] mostraram que o cristal de L-asparagina monohidratado sofre três transições de fase entre 0,0 e 1,3 GPa. Mais recentemente o trabalho da Ref.[34] mostrou que entre 2,0 e 30,0 GPa a própria L-asparagina monohidratada apresenta mais cinco diferentes transições de fase (entre 2,1 e 3,1 GP; entre 5,3 e 6,6 GPa; entre 9,3 e 9,9 GPa; entre 15,0 e 17,0 GPa; entre 25,1 e 28,2 GPa), algumas das quais envolvendo mudanças conformacionais, outras envolvendo modificações nas ligações de hidrogênio e outras ainda envolvendo mudança estrutural com modificação do grupo espacial.

Com exceção da  $\alpha$ -glicina [11], que parece ser estável entre 0,0 e 23,0 GPa, pelo menos tal como revelado pela espectroscopia Raman, todos os outros cristais de aminoácidos estudados até hoje sofrem alguma transição de fase sob condições de altas pressões. Assim, a L-alanina aparentemente apresenta uma transição de fase em aproximadamente 2,3 GPa [15], quando ela passaria de uma estrutura ortorrômbica para uma estrutura tetragonal [71]. Além disso, acredita-se que em cerca de 15 GPa a L-alanina sofra amorfização [16], ou seja, perde a ordem de longo alcance.

Os outros aminoácidos alifáticos já investigados através de medidas de altas pressões foram a L-valina, a L-leucina e a L-isoleucina. No que diz respeito à L-valina [45], verificou-se que o cristal sofre transições de fase em 3 e em 5,3 GPa. Já a L-leucina apresenta modificações entre 0 e 0,46 GPa, entre 0,8 e 1,4 GPa e em 3,6 GPa [45], enquanto que a L-isoleucina apresenta modificações em torno de 2,3 e 5,0 GPa [63].

Na lista de cristais de aminoácidos investigados sob altas pressões muitos outros exemplos poderiam ser dados. Um outro que revelou uma transição de fase de uma forma

muito clara na espectroscopia Raman foi o cristal de L-metionina [46]. Neste aminoácido observou-se que em torno de 2,1 GPa o cristal sofre uma transição de fase, com o aparecimento de uma banda bastante intensa entre as bandas originalmente associadas ao estiramento S - C,  $\nu(SC)$  e ao *wagging* do  $CO_2^-$ ,  $\omega(CO_2^-)$ . Além disso, ocorre o desaparecimento destas duas bandas, bem como a separação em dois picos da banda associada ao *rocking* do  $CO_2^-$ ,  $r(CO_2^-)$ . Outro aspecto interessante desta transição de fase é que ela é reversível, mas com uma histerese de cerca de 0,8 GPa, que é uma valor bem grande quando comparado com os valores de histerese de outras transições com pressão. Esta questão, aliás, pode ser bem complexa quando se investiga, por exemplo, a  $\gamma$ -glicina: ela apresenta uma transição de fase que começa em 2,7 GPa e se estende até 7,8 GPa, se transformando na fase  $\delta$ . Ao se descomprimir o cristal completamente até 1 atm, uma parte da fase  $\delta$  permanece, apesar da maioria do cristal retornar para a fase  $\gamma$ . Além disso, decrescendo a pressão, uma nova fase, denominada de  $\varsigma$ , aparece em cerca de 0,62 GPa [72]. Tal quadro mostra quão complexo pode ser o comportamento de cristais de aminoácidos submetidos a altas pressões.

Nesta seção iremos abordar o estudo realizado no cristal de LARDH pelo método de espalhamento Raman sob altas pressões. Para estas medidas a variação de pressão na compressão foi de 0,0 GPa até 8,12 GPa. O tempo de acomodação para cada medida na compressão foi de aproximadamente 15 minutos, enquanto que para a descompressão foi de aproximadamente meia hora. A seguir discutiremos as principais características dos espectros Raman neste experimento.

## 7.2 A amostra de LARDH sob altas pressões

Na Figura 39 apresentamos os espectros Raman da amostra de LARDH para a região espectral entre  $50\text{ cm}^{-1}$  e  $600\text{ cm}^{-1}$ . Como já especificado anteriormente esta região comprehende os modos externos e parte dos modos internos. Podemos notar algumas mudanças nas intensidades e frequências das bandas. Umas das características mais interessantes dessas mudanças estão relacionadas à banda representada pela letra *A*. Como comentado no Capítulo 5, tal banda pode estar associada a uma vibração do tipo N...O, mas estudos mais precisos serão necessários para descobrir a origem destas bandas de baixa frequência. De qualquer maneira, é uma banda que deve estar associada a modos externos. Ao aumentarmos a pressão, vemos a partir de 2,76 GPa o aparecimento de uma outra banda marcada com asterisco dando origem a um *dublet*; esta nova banda ganha intensidade ao aumentarmos a pressão. Ao mesmo tempo em que a banda vai ganhando

intensidade, a banda *A* original vai perdendo intensidade. No espectro em 4,13 GPa percebe-se que a intensidade das duas bandas é equivalente. Com o aumento adicional da pressão a intensidade da banda *A* original vai praticamente a zero.

A banda *B*, que corresponde a um modo externo, perde intensidade com o aumento da pressão. Entretanto esta diminuição de intensidade é muito mais suave do que a diminuição da banda *A*. Na verdade, parecem existir três picos que já estariam presentes no espectro obtido à temperatura ambiente. De fato, observando-se o espectro Raman da LARDH à temperatura ambiente (Figura 22) observa-se que antes do pico mais intenso (que corresponderia à banda *A* na Figura 40) existem três picos de baixa intensidade. Assim devido ao grande espalhamento quase-elástico no espectro tomado em 0,0 GPa (Figura 22) não foi possível vislumbrá-los dentro da célula de pressão. Mais interessante é o fato de que a partir de 0,2 GPa essas três bandas podem ser acompanhadas até um determinado valor de pressão, cerca de 4,0 GPa. Entretanto o aparecimento destas três bandas em 0,2 GPa e o desaparecimento em torno de 4,0 GPa não pode ser associado a mudança de simetria e a ocorrência de transições de fase, haja vista que a intensidade das bandas é bastante baixa.

É interessante destacar que embora nada possa ser dito à respeito da estabilidade da estrutura olhando-se estas bandas de baixa intensidade, a separação da banda *A* em duas diferentes bandas é um forte indicativo de que o cristal LARDH sofra uma transição de fase em torno de 2,7 GPa. A Figura 42 apresenta um gráfico da frequência das bandas de menor energia da LARDH em função da pressão, onde mais claramente se nota a separação da banda *A* em duas outras bandas. A linha tracejada na figura ilustra exatamente a separação entre as duas fases do cristal.

Um ponto de interesse no estudo das transições de fase diz respeito à reversibilidade ou não das mesmas. Geralmente, transições de fase irreversíveis são transições de fase de primeira ordem. Transições de fase reversíveis podem ser de primeira ou de segunda ordem. Geralmente quando a transição de fase ocorre com histerese, ela é classificada como de primeira ordem. Apenas por recordação, numa transição de primeira ordem o parâmetro de ordem varia descontinuamente na temperatura de transição, ou como é definido na teoria de Landau das transições de fase, as derivadas primeiras da energia livre de Gibbs ( $G$ ) em torno do ponto de transição:

$$\begin{aligned} S &= -\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P \\ V &= \left(\frac{\partial G}{\partial P}\right)_T \\ H &= \left(\frac{\partial(G/T)}{\partial(1/T)}\right)_P \end{aligned}$$

apresentam descontinuidade. Já numa transição de fase de segunda ordem a descontinuidade é nas derivadas segunda da energia livre de Gibbs.

Observando-se os espectros Raman das Figuras 40 (compressão) e 41 (descompressão) nota-se que (i) o aparecimento e o desaparecimento da nova banda separada de *A* durante, respectivamente, a compressão e a descompressão, ocorre ao longo de um grande intervalo de pressão e (ii) não ocorre histerese detectável neste ciclo. Embora não conheçamos quem seja o parâmetro de ordem de transição de fase e não tenhamos estudado o comportamento das derivadas da função de Gibbs para este cristal, podemos fazer a suposição de que a transição de fase apresentada pelo LARDH seja de segunda ordem.

Em resumo, da análise das bandas de baixa frequência (30 a 150  $cm^{-1}$ ) podemos inferir que o cristal sofre uma transição de fase em aproximadamente 2,7 GPa, com características do tipo segunda ordem.

Vamos agora analisar o comportamento das bandas *C*, que é associada à  $\tau(H_2O)$ , e *D*, que é associada à  $\tau(COO^-)$ . Destaca-se inicialmente que na verdade também existe uma banda associada à  $\tau(COO^-)$ , que à pressão atmosférica é observada em 191  $cm^{-1}$ , mas que mal é vista nos espectros do material dentro da célula de pressão.

Da análise da Figura 39 observa-se que à medida que a pressão é aumentada as bandas *C* e *D*, à semelhança do já discutido com as bandas *A* e *B*, vão perdendo intensidade. Entretanto, a perda de intensidade da banda *C* parece apresentar um ponto crítico em cerca de 2,76 GPa, onde a banda apresenta-se bastante alargada. Já no espectro obtido na pressão de 3,12 GPa, novamente a largura da banda é semelhante ao resto do experimento.

Este fato sugere que em 2,76 GPa a estrutura deva estar sofrendo alguma modificação. Recorde-se nesse ponto que nos estudos realizados na L-metionina submetida a altas pressões verificou-se que na pressão da transição de fase o cristal apresenta características espectrais das duas fases, ou seja, da fase da pressão atmosférica e da fase de alta pressão. Pode-se, então, imaginar que a largura de linha anormal da banda *C* esteja refletindo esta

coexistência de duas fases.

Por outro lado, esta banda está associada a uma vibração da água, uma unidade que forma ligações de hidrogênio. É provável que num valor de pressão próximo ao ponto em que o material sofre uma transição de fase, as ligações de hidrogênio estejam mudando, implicando em diferentes valores para a energia de vibração de torção da água.

A banda *E* que corresponde a uma *torção* da unidade  $NH_3^+$  e que no nosso espectro aparece em torno de  $492\text{ cm}^{-1}$ , não sofre nenhuma modificação significativa. Isto é curioso, já que seria esperado que uma banda associada à torção da unidade  $NH_3^+$  sofresse grandes mudanças com a variação de pressão. Isto sugere porque em todos os cristais de aminoácidos as unidades  $NH_3^+$  participam de ligações de hidrogênio, geralmente com unidades  $CO_2^-$  de moléculas vizinhas. No caso de cristais de aminoácidos com água em sua estrutura, ou seja, cristais hidratados ou dihidratados, as ligações de hidrogênio entre os hidrogênios do grupamento amônia podem ser feitas com os oxigênios das moléculas de água. Uma observação que se faz necessária nesse ponto é a seguinte. Diferentemente do que acontece com a maioria dos aminoácidos na forma zwiteriônica, a molécula de arginina na LARDH forma ligação de hidrogênio com o  $NH_2$  do grupo guanidil, da extremidade da molécula, e não com o  $NH_2$  do grupo amina que está ligado ao carbono alfa. Isto será discutido mais a frente. De qualquer forma, uma ligação de hidrogênio entre um  $NH_3^+$  de uma molécula e um grupo caboxílico de uma outra molécula é sempre possível de ser formada no cristal.

Uma vez que as ligações de hidrogênio são bastante afetadas pela variação da pressão, isso se reflete muitas vezes na frequência da vibração da torção do  $NH_3^+$ . Inclusive, existe uma hipótese de que o comportamento das frequências de torção do  $NH_3^+$  com a pressão estejam correlacionados com as dimensões médias das ligações de hidrogênio na célula unitária [10]. De fato, descobriu-se que parece existir um limite, em torno de 2,83, acima do qual os cristais de aminoácidos apresentam uma variação positiva de  $(d\omega/dP)$  enquanto que cristais com valores de hidrogênio inferiores aquele limite apresentam um  $(d\omega/dP)$  negativo, como é o caso da L-alanina [10].

No caso do cristal de L-arginina. $2H_2O$ , claramente a variação da frequência com a pressão é positiva, ou seja, à medida que o cristal é comprimido verifica-se que a frequência da vibração de torção  $NH_3^+$  aumenta. Isto coloca a L-arginina. $2H_2O$  na mesma classe dos cristais de L-treonina, taurina e  $\alpha$ -glicina, que apresentam  $d\omega(\tau(NH_3^+))/dP > 0$ .

A banda *F* ( $r(COO^+)$ ) consegue manter a sua intensidade e sua frequência quase inalteráveis durante toda o processo do aumento de pressão. É interessante destacar que

em alguns cristais de aminoácidos, ocorre a separação desta banda quando o material é comprimido. Para pressões abaixo da pressão de transição claramente só é observada uma banda no espectro Raman associada ao  $r(COO^-)$ , enquanto que para pressões superiores duas bandas são observadas. No caso da LARDH durante todo o intervalo de pressão no qual o cristal é estudado, não é observado nenhum desdobramento da banda, significando que mesmo após a ocorrência da transição de fase o ambiente no qual se encontra a unidade  $CO_2^-$  é similar ao do ambiente à pressão atmosférica. Isto, de certa forma, reforça o fato de que a transição de fase não modifica bastante o ambiente no qual a molécula se encontra.

A banda  $G$  ( $\omega(CO_2^-)$ ) sofre pouca modificação durante toda a variação de pressão. Para finalizar o estudo desta região podemos observar que a maioria das bandas aumenta sua freqüência com a variação de pressão. O mais importante em toda essa discussão é a separação da banda  $A$  em duas outras, indicando que a partir de 2,79 GPa, o cristal LARDH começa a sofrer uma transição de fase induzida por pressão.

Na Figura 40 apresentamos o gráfico de descompressão, onde vemos a presença das mesmas bandas observadas durante o processo de compressão. Isto nos diz que o efeito da aplicação de pressão no cristal de LARDH é um processo reversível. Para completar a análise, na Figura 41 temos a evolução das freqüências dos modos Raman da LARDH em função da pressão para o intervalo de freqüência apresentado na Figura 40.

Na Figura 42 temos o espectro da amostra de LARDH para a região espectral entre  $600\text{ }cm^{-1}$  e  $1200\text{ }cm^{-1}$ . A região em torno de  $1300\text{ }cm^{-1}$  não é apresentada porque centrada em  $1322\text{ }cm^{-1}$  existe uma banda bastante intensa oriunda do diamante da célula de pressão. Embora o laser esteja focalizado na amostra, uma vez que ele atravessa completamente um dos diamantes, então a gema contribui para a luz espalhada. Esta contribuição é na verdade provocada pela vibração de estiramento C-C onde os carbonos estão ligados por ligações  $\sigma$ . Vemos nesta região, como na região anterior, uma forte dependência da intensidade e freqüência das bandas com a variação de pressão. Em particular como as bandas vão perdendo intensidade, o perfil do espectro que é bem definido em  $P = 0,2\text{ GPa}$ , vão se tornando bastante difuso, de tal modo que no espectro de  $8,12\text{ GPa}$  o perfil do espectro guarda apenas uma leve lembrança do espectro original. A banda  $H$  quase não sofre alteração de intensidade durante o aumento de pressão. Já as bandas  $I$  e  $J$  que à pressão ambiente aparecem no espectro como um *dublet*, fundem-se numa só banda, exatamente na pressão de  $2,79\text{ GPa}$ . A banda  $L$  tem a sua intensidade lentamente diminuída e da pressão de  $5.34\text{ GPa}$  em diante desaparece completamente do espectro. A banda  $M$  que aparece como a banda mais intensa do espectro nesta região

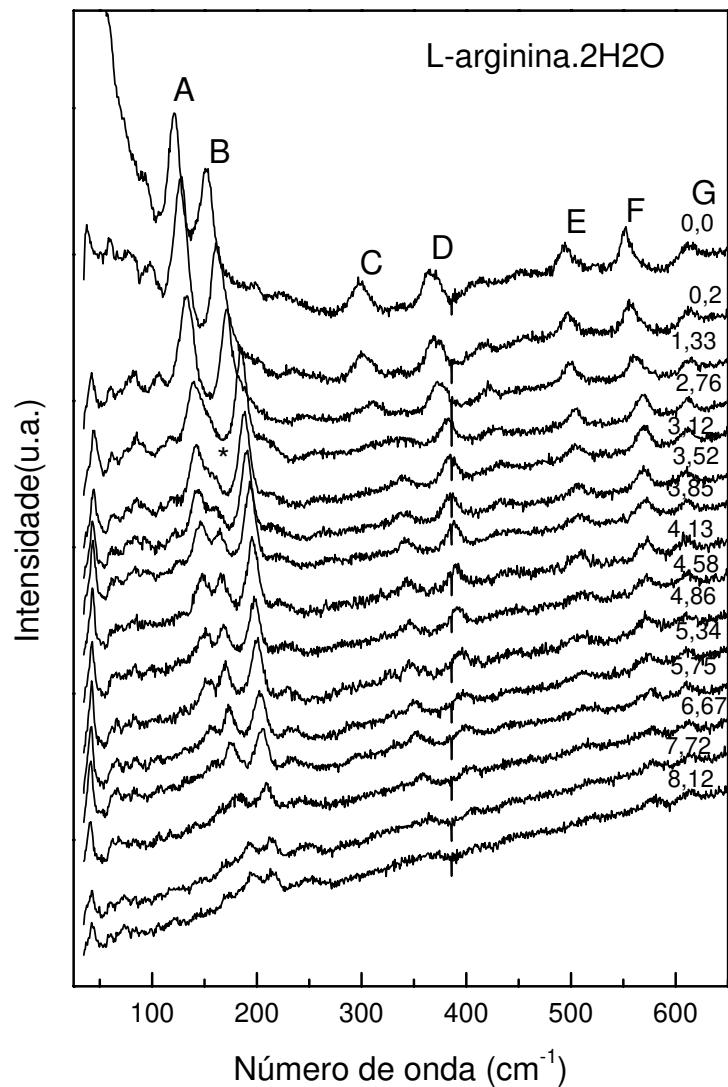


Figura 39: Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 50 e  $600 \text{ cm}^{-1}$ .

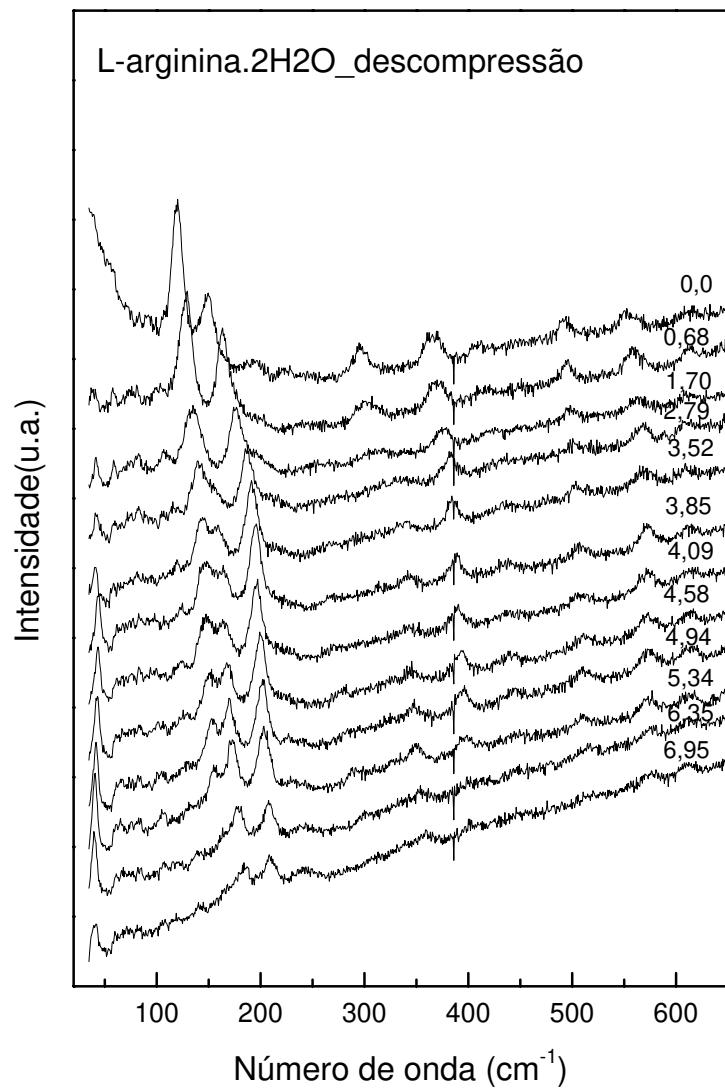


Figura 40: Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 50 e 600  $cm^{-1}$  para o processo de descompressão da amostra.

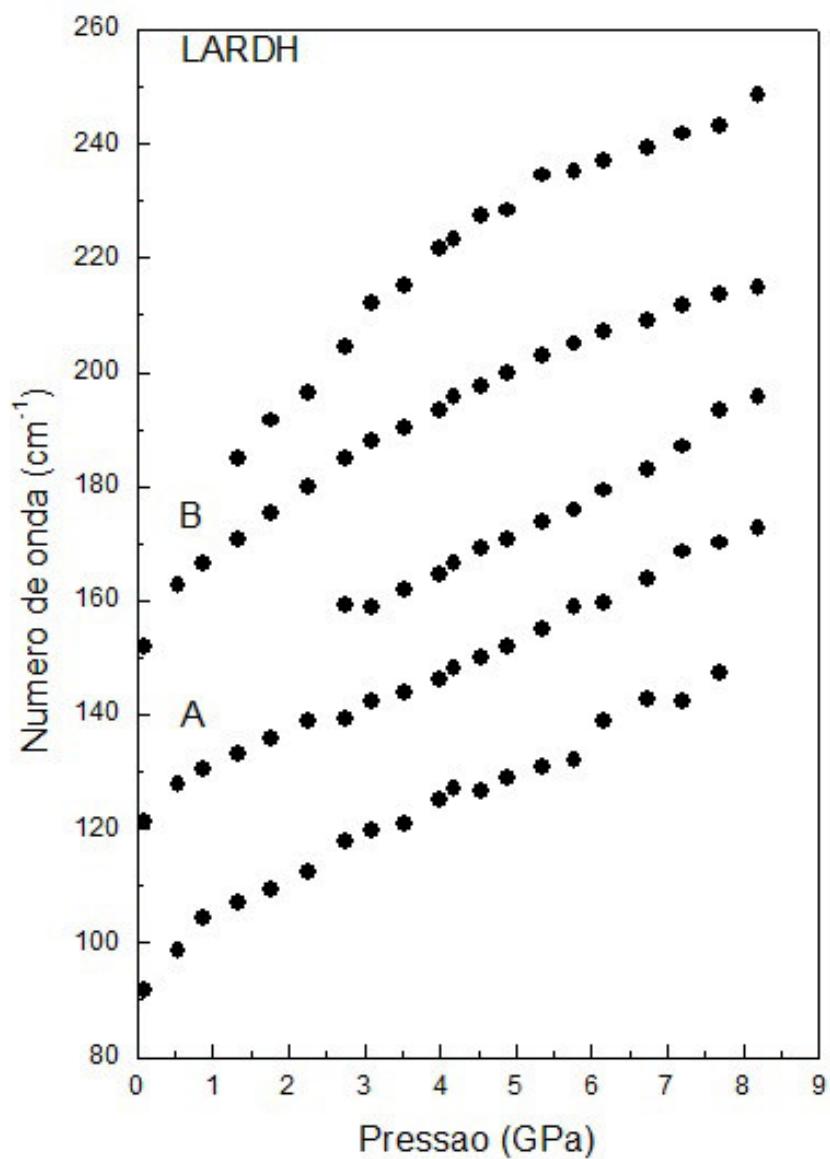


Figura 41: Gráfico de  $\omega$  x P dos experimentos de espalhamento Raman.

espectral, diminui de intensidade, porém continua presente no espectro até o último ponto de pressão. A banda  $N$  sofre o mesmo processo que a banda anterior. As três bandas  $O$ ,  $P$  e  $Q$ , que à pressão ambiente aparecem como três bandas, diminuem suas intensidades até serem fundidas numa só banda como mostra a Figura 42. Por último a banda marcada com um asterisco, que não é vista à pressão ambiente, tem sua intensidade diminuída até desaparecer do espectro. Podemos ainda observar que todas as bandas têm suas freqüências deslocadas para valores maiores. Isto se deve as ligações no cristal serem rígidas, mantendo a estrutura estável.

Na Figura 43 apresentamos os espectros no processo de descompressão para esta região espectral onde vemos novamente que adquirimos as mesmas bandas como no processo de compressão. Completando a análise nessa região espectral na figura 44 temos o gráfico de  $\omega$  x  $P$  para esta região espectral.

Apresentamos na Figura 45 os espectros Raman da amostra LARDH na região espectral compreendida entre  $1350\text{ cm}^{-1}$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$  com o aumento de pressão, onde são vistas nitidamente 3 bandas. A banda marcada com um asterisco aparece para a pressão de 0,5 GPa e em torno de 2,76 GPa ela não é mais observada no espectro. Observamos ainda que esta banda sofre um deslocamento para os números de ondas menores, tendo neste caso um comportamento de um *softmode*. Esta banda corresponde ao *estiramento simétrico* da unidade  $CO_2^-$ , pois da mesma forma que aqui ele se desloca para os números de onda mais baixos [24]. As bandas  $R$  e  $S$  são devidas ao óleo mineral nujol que foi utilizado como líquido compressor. Na Figura 46 temos o gráfico de  $\omega$  x  $P$  para a região espectral entre  $1400$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$ .

Na Figura 47 apresentamos os espectros Raman da LARDH compreendido na região espectral entre  $2600\text{ cm}^{-1}$  e  $3050\text{ cm}^{-1}$  para o processo de compressão. A banda  $T$  tem sua intensidade diminuída e sua frequência, como esperado, aumentada com o aumento de pressão. A banda  $U$  aparece no espectro como uma pequena saliência e com o aumento da pressão desaparece completamente do espectro. As bandas  $V$ ,  $X$ ,  $Y$  e  $Z$  que são muito nítidas na pressão ambiente embora possivelmente estejam associadas ao nujol e, consequentemente, não serão analisadas aqui. Na Figura 48 apresentamos o gráfico de  $\omega$  x  $P$  para a região espectral entre  $2650 - 2750\text{ cm}^{-1}$ , onde aparecem duas bandas que são realmente identificadas como pertencentes a LARDH.

Na Figura 49 apresentamos os espectros Raman da LARDH para a região espectral compreendida entre  $3100\text{ cm}^{-1}$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$  para o processo de compressão, enquanto que para a descompressão é apresentado na Figura 50. Vemos somente duas bandas

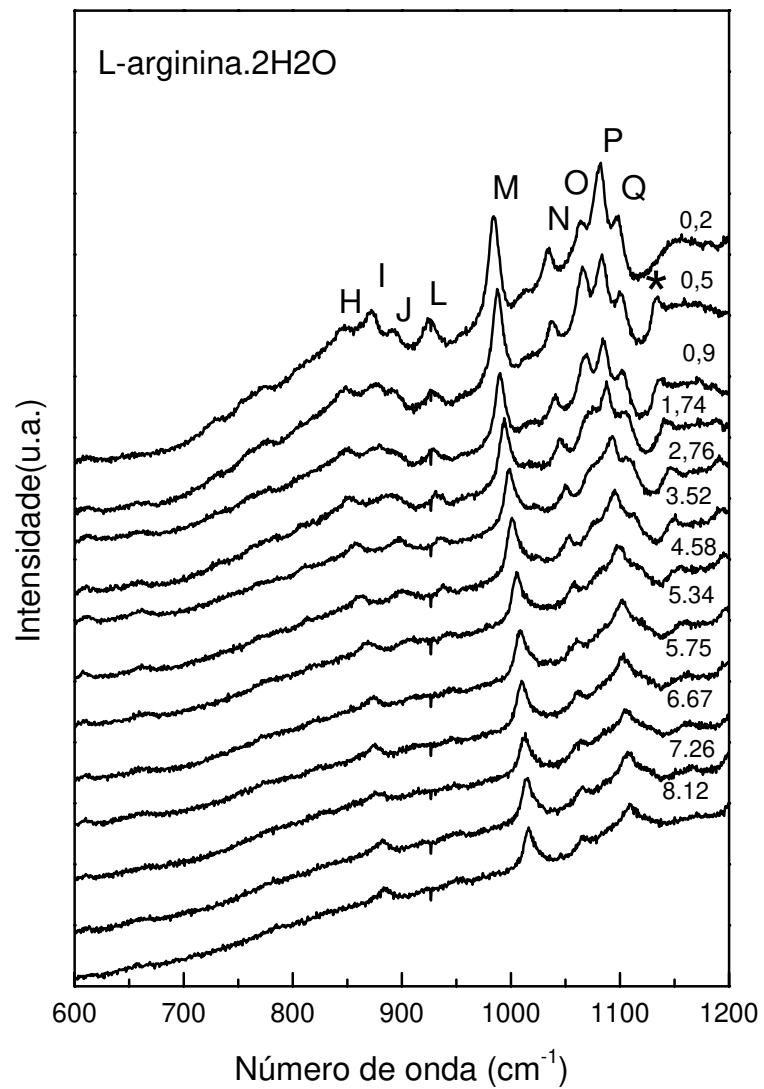


Figura 42: Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 600 e 1200  $cm^{-1}$ .

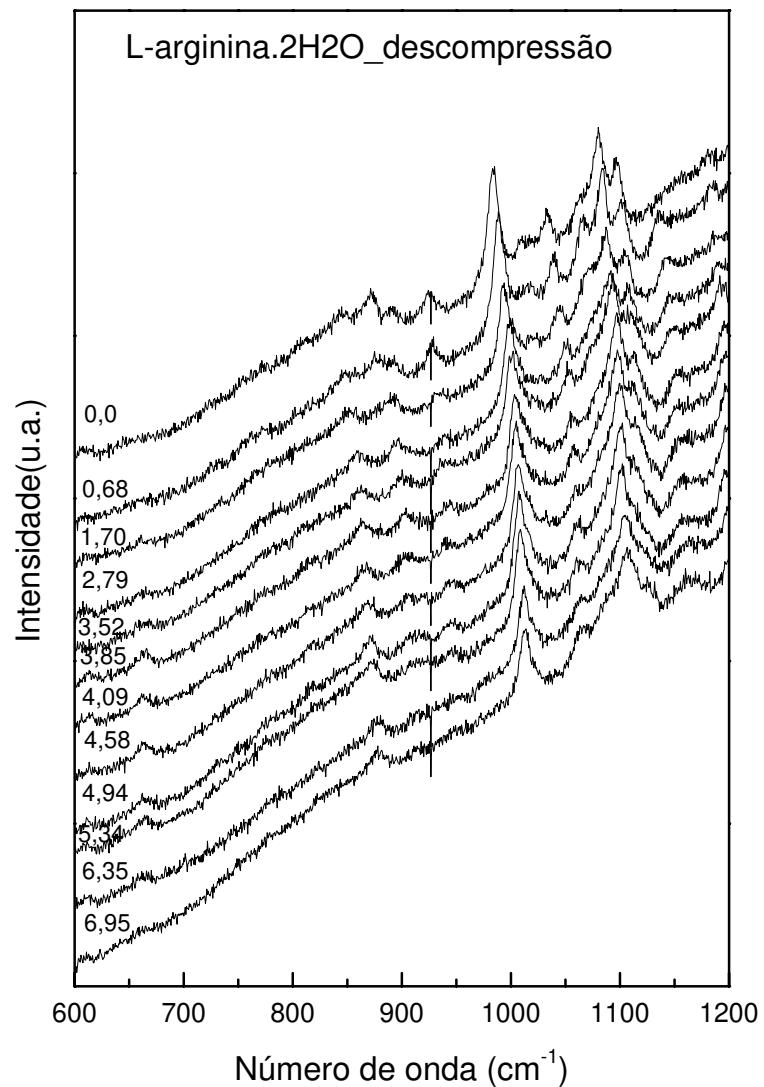
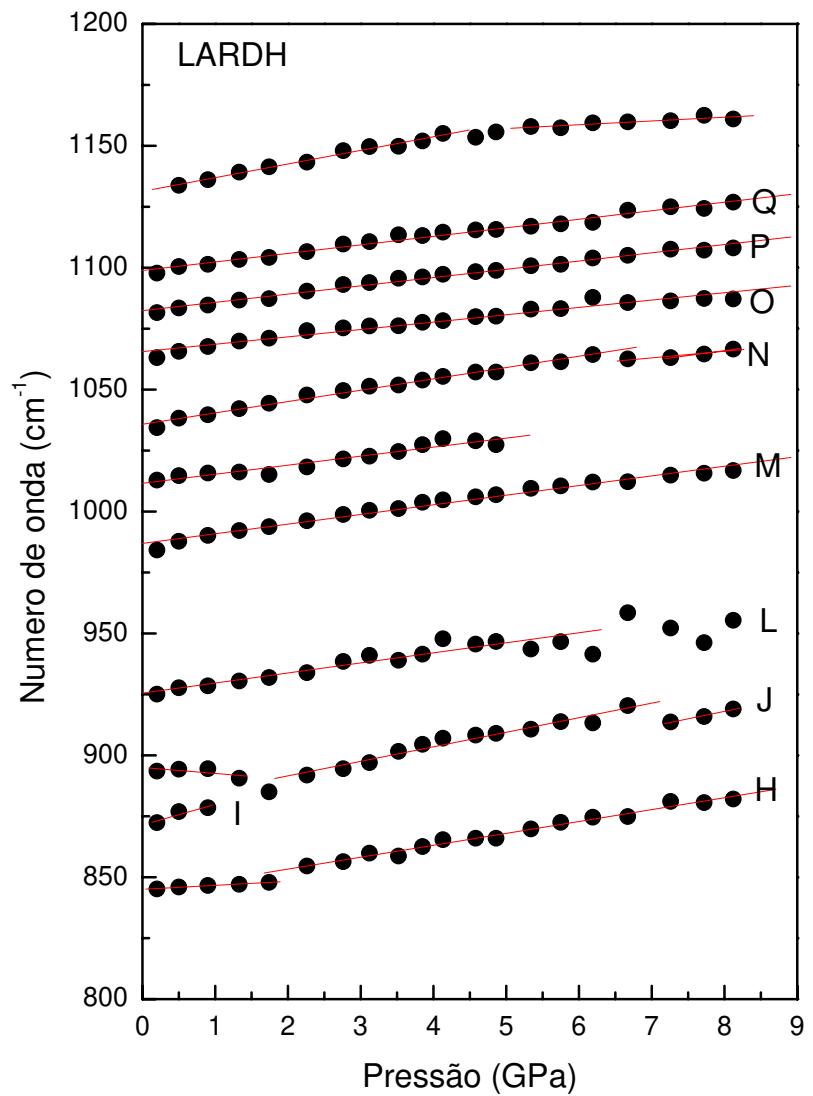


Figura 43: Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 600 e 1200  $cm^{-1}$  para o processo de descompressão da amostra.

Figura 44: Gráfico de  $\omega$  x P dos experimentos de espalhamento Raman.

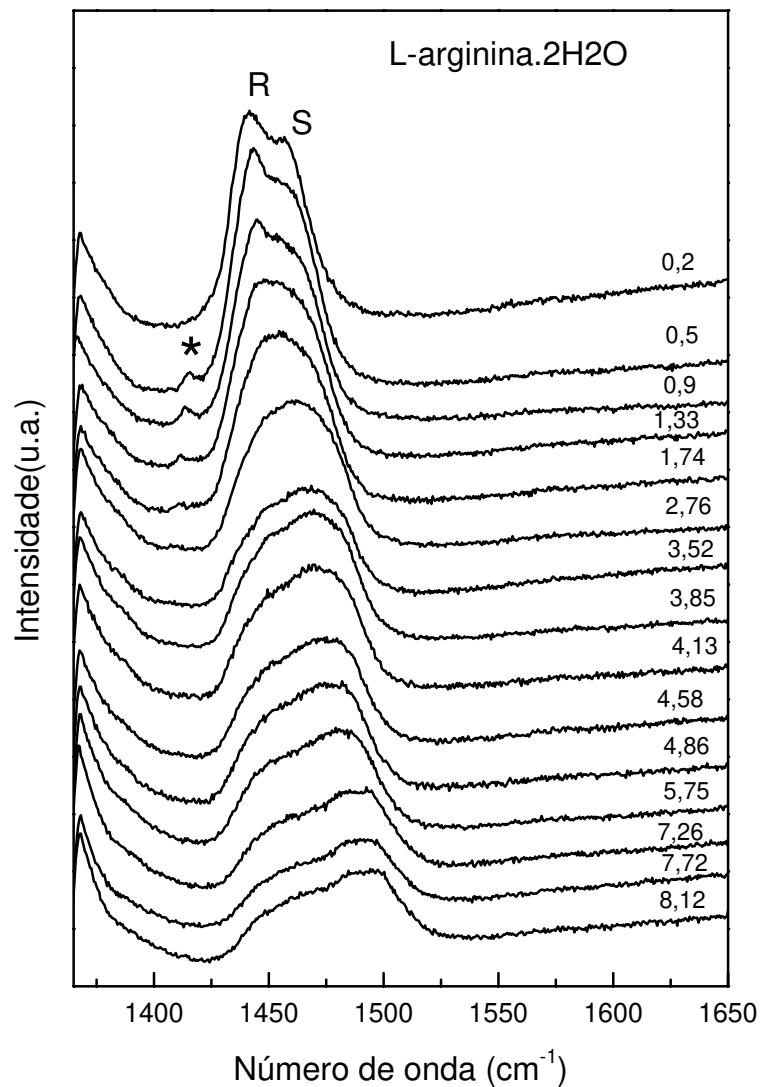


Figura 45: Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 1350 e 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

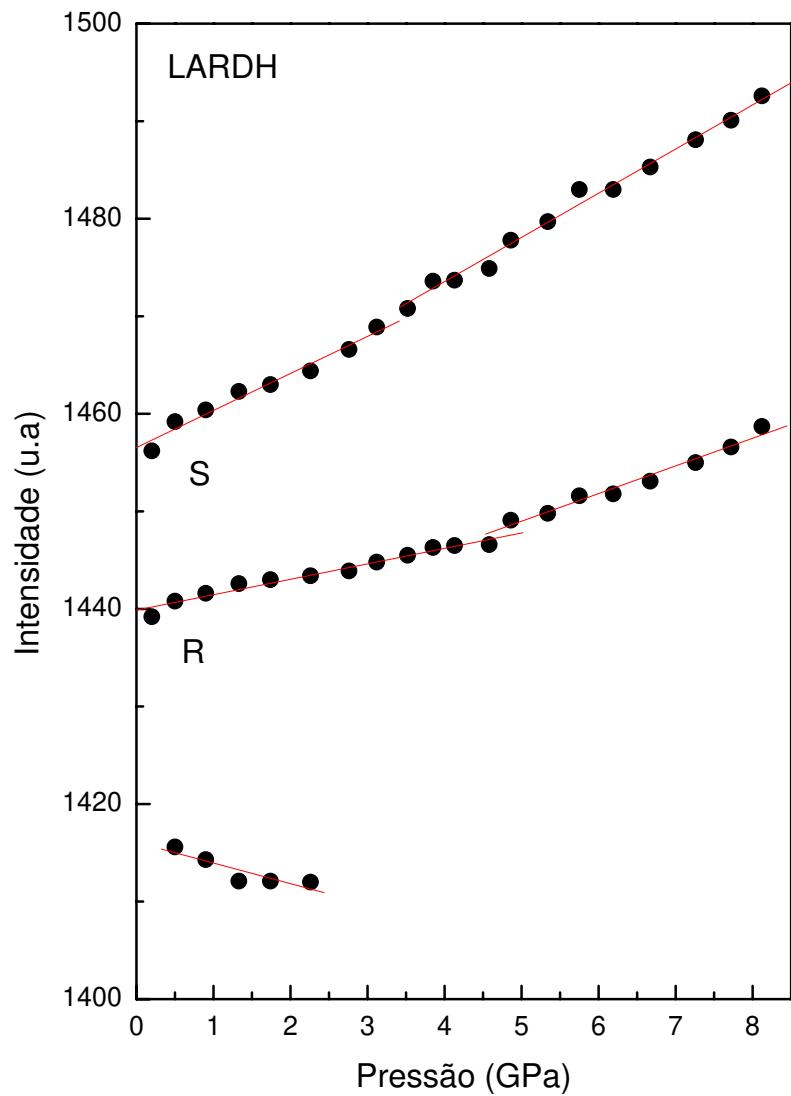


Figura 46: Gráfico de  $\omega$  x P dos experimentos de espalhamento Raman.

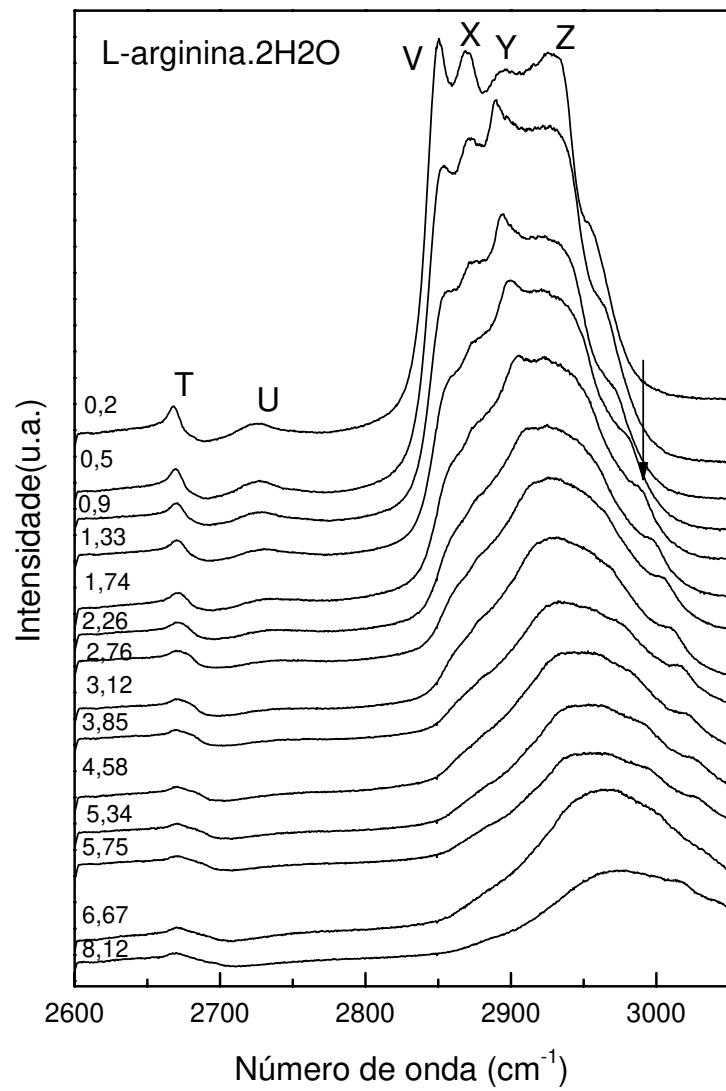


Figura 47: Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 2600 e 3050  $cm^{-1}$ .

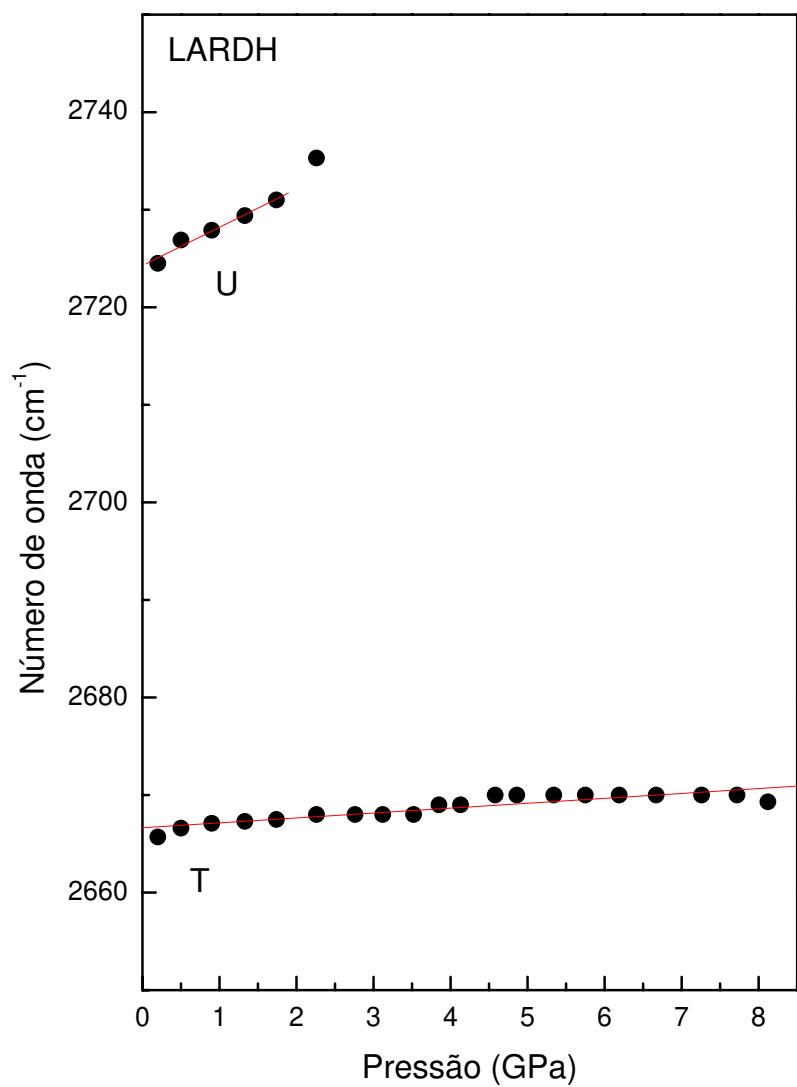


Figura 48: Gráfico de  $\omega$  x P dos experimentos de espalhamento Raman.

nesta região espectral que são bandas associadas a vibrações das duas moléculas de água presentes na amostras. Podemos notar que não houve nenhuma mudança significativa nesta região do espectro, sendo a única mudança a diminuição das intensidades de ambas as bandas, marcadas com as letras do alfabeto grego  $\Gamma$  e  $\Delta$ .

Na Figura 51 apresenta-se o gráfico da frequência em função de pressão para as duas bandas que aparecem na região de mais alta frequência.

Encerrando este capítulo podemos tecer alguns comentários sobre a transição de fase apresentada pela LARDH a altas pressões. Em primeiro lugar vale a pena uma comparação com o comportamento de um outro cristal de aminoácido hidratado submetido a condições de altas pressões. Trata-se da L-asparagina monohidratada, que foi estudada no intervalo de pressão entre 0 e 30 GPa [34]. Nestes estudos mostrou-se que no intervalo de pressão coberto pelo experimento apresentado nesta Tese, a L-asparagina monohidratada apresenta nada menos que cinco transições de fase, três delas abaixo de 1,3 GPa. Ou seja, a LARDH é muito mais estável do que a L-asparagina monohidratada, pelo menos no intervalo de 0 a 8 GPa. Como entender este fato?

A resposta pode estar na forma como as ligações de hidrogênio se distribuem entre as moléculas dos aminoácidos e as moléculas da água na célula unitária do cristal. Sabe-se que sob variação de temperatura (ou de pressão) as ligações de hidrogênio podem se tornar mais curtas ou mais longas dependendo da ligação específica [73]. Inclusive, a competição entre as diferentes interações numa estrutura pode produzir a compressão das interações mais fracas e o alongamento das ligações de hidrogênio mais fortes. No caso dos aminoácidos e de outras moléculas orgânicas a situação pode se tornar mais complexa porque a molécula pode girar em torno de um determinado eixo, sofrer mudança conformacional, etc.

Na L-arginina dihidratada a molécula de arginina é caracterizada por dois planos, um que contém o grupo carboxílico e o outro que contém a cadeia lateral que termina com o grupo guanidil [41]. O interessante é que a fórmula zwiteriônica da molécula de arginina é conseguida com o grupo guanidil, ou seja,  $NH_3^+ - C(NH)_2 - (CH_2)_3 - CH - NH_2 - CO_2^-$ , ao invés do grupo amina ligado ao carbono alfa, ou seja, ao invés de ficar na forma  $NH_2 - C - (NH_2) - (CH_2)_3 - CH - NH_3^+ - CO_2^-$ . Sabe-se que nos outros de aminoácidos a forma zwiteriônica é conseguida com os grupos carboxílico e amina ( $RCHNH_3^+CO_2^-$ ), onde R apresenta o radical.

Dos resultados de difração de raios-X sabe-se que o empacotamento das moléculas na LARDH é caracterizado por uma complexa rede de ligações de hidrogênio (ver figura

52) [41]. As moléculas de arginina estendem-se ao longo do eixo c formando infinitas cadeias em virtude de ligações de hidrogênio entre dois NH do grupo guanidil e dois oxigênios do grupo carboxílico. O grupo guanidil e o grupo carboxílico envolvidos na ligação de hidrogênio, de acordo com a Ref.[41], são aproximadamente coplanares. Além disso, ligações de hidrogênio entre moléculas de arginina ocorrem paralelos ao eixo b.

No que diz respeito às moléculas de água, elas formam infinitas cadeias perpendiculares às cadeias da arginina, mas paralelas ao eixo a por meio de ligações de hidrogênio. Adicionalmente, as moléculas de água formam ligações de hidrogênio laterais com as moléculas de arginina [41]. Uma visão geral da estrutura da L-arginina dihidratada, mostrando em destaque as ligações de hidrogênio no plano bc, é apresentada na Figura 52.

Esta estrutura, portanto, é toda amarrada nas três direções pelas ligações de hidrogênio, de tal modo que sobra pouca possibilidade de mudança de posição relativa das moléculas de arginina na célula unitária. Apesar disso, é possível que a própria molécula sofra uma mudança conformacional, sem necessariamente destruir ou criar alguma ligação de hidrogênio. Isto acontencendo, ou seja, apenas uma mudança conformacional da molécula, seriam esperadas unicamente pequenas mudanças nos espectros Raman do cristal. De fato, conforme apresentado nos espectros da LARDH com pressão, durante a compressão do cristal, as mudanças que ocorrem são bastante pequenas. Este quadro, portanto, aponta para a ocorrência de uma transição de fase conformacional da LARDH em função da pressão.

Finalmente vamos revisitar a questão relativa ao comportamento com a pressão do modo de vibração associada à torção do  $NH_3^+$ . Lembramos novamente que o agrupamento  $NH_3^+$  que participa das ligações de hidrogênio no cristal de LARDH encontra-se na extremidade da molécula de arginina (na porção guanidil) e não ligado ao carbono alfa do aminoácido. Lembramos também que o comportamento de  $(\frac{d\omega}{dP})$  depende das dimensões das ligações de hidrogênio conforme suposição dos autores da ref.[10]. Assim, foi visto que os cristais de L-treonina, taurina, e  $\alpha$ -glicina apresentam  $(\frac{d\omega}{dP})$  positivo, enquanto que o cristal de L-alanina apresenta  $(\frac{d\omega}{dP})$  negativo para o modo de torção do  $NH_3^+$ . Por outro lado, sabe-se que para os três primeiros aminoácidos, a dimensão média das ligações de hidrogênio é maior ou igual a 2,86 Å, enquanto que para a L-alanina esta dimensão média é de 2,83 Å. Supõe-se, então, que haveria um limite entre 2,83 Å e 2,86 Å que separaria o comportamento das bandas de torção do  $NH_3^+$  em  $(\frac{d\omega}{dP})$  negativo e positivo [41]. Destaca-se, adicionalmente, que num estudo bastante recente realizado na L-asparagina monihidratada, que possui dimensão média de suas ligações de hidrogênio de 2,87 Å,  $(\frac{d\omega}{dP})$

do modo de torção do  $NH_3^+$  também é positivo [34]. Seria, então, o comportamento da L-arginina dihidratada compatível com a hipótese do limite entre as dimensões de 2,83 Å e 2,86 Å?

Dos dados anteriormente apresentados vimos que para a banda associada ao modo de torção do  $NH_3^+$ , presente no grupo guanidil,  $(\frac{d\omega}{dP}) > 0$ . Isto implicaria que as dimensões médias das ligações de hidrogênio estariam próximas de 2,86 Å. Ora, da Ref.[41], onde se apresentam os dados de difração de raios-X da LARDH temos como dimensões das ligações de hidrogênio os dados apresentados na Tabela 10.

A partir destas dimensões descobre-se que a distância média das ligações de hidrogênio é 2,86 Å, o que significa que o exemplo da LARDH se encaixa perfeitamente na hipótese da existência de uma correlação entre as dimensões médias das ligações de hidrogênio na célula unitária do cristal e o comportamento da frequência do modo associado à torção do  $NH_3^+$  com a pressão.

Resumindo, podemos afirmar (i) que a LARDH se enquadra na hipótese de que ligações de hidrogênio com dimensões médias da ordem de 2,86 Å ou maiores terão a frequência da banda associada à vibração de torção do  $NH_3^+$  crescente com a pressão e (ii) que a transição de fase induzida pela pressão em aproximadamente 2,6 GPa é do tipo conformacional. Como sugestão de trabalho futuro fica a idéia de realizar medidas de difração de raios-X a altas pressões para confirmar a mudança conformacional observada neste trabalho através da técnica de espalhamento Raman.

Finalmente, complementando a análise quantitativa dos resultados a altas pressões na Tabela 11 fornecemos os parâmetros  $\omega$ ,  $\omega_0$  e  $\alpha = d\omega/dP$  como também a identificação destes modos para a LARDH.

Tabela 10: Dimensões dos comprimentos das ligações de hidrogênio da LARDH.

Ligaçāo	dimensão
N(9)H(10)...N(5')	2,888
N(12)H(14)...O(2')	2,897
N(11)H(13)...O(1'')	2,869
N(11)H(12)...O(2'')	2,887
W(1)H(15)...O(1')	2,739
N(11)H(11)...W(1)	2,912
W(2)H(18)...W(1)	2,954
W(1)H(16)...W(2')	2,709
W(2)H(17)...O(1)	2,890

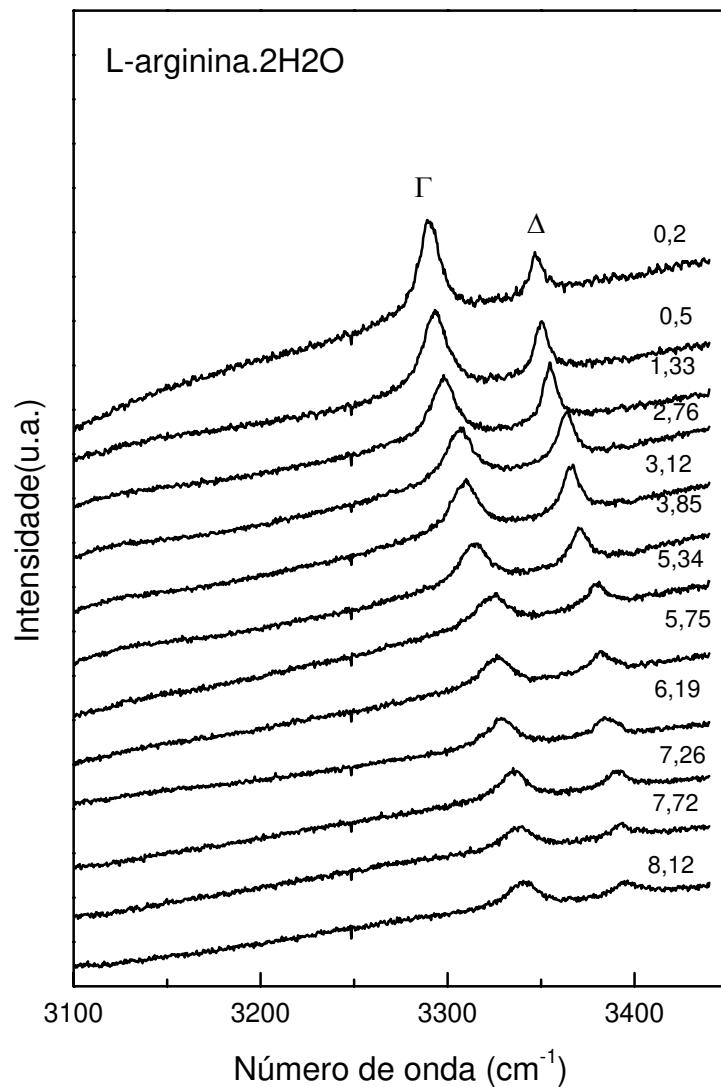


Figura 49: Espectros Raman da LARDH em função da compressão para a região espectral entre 3100 e 3450  $cm^{-1}$ .

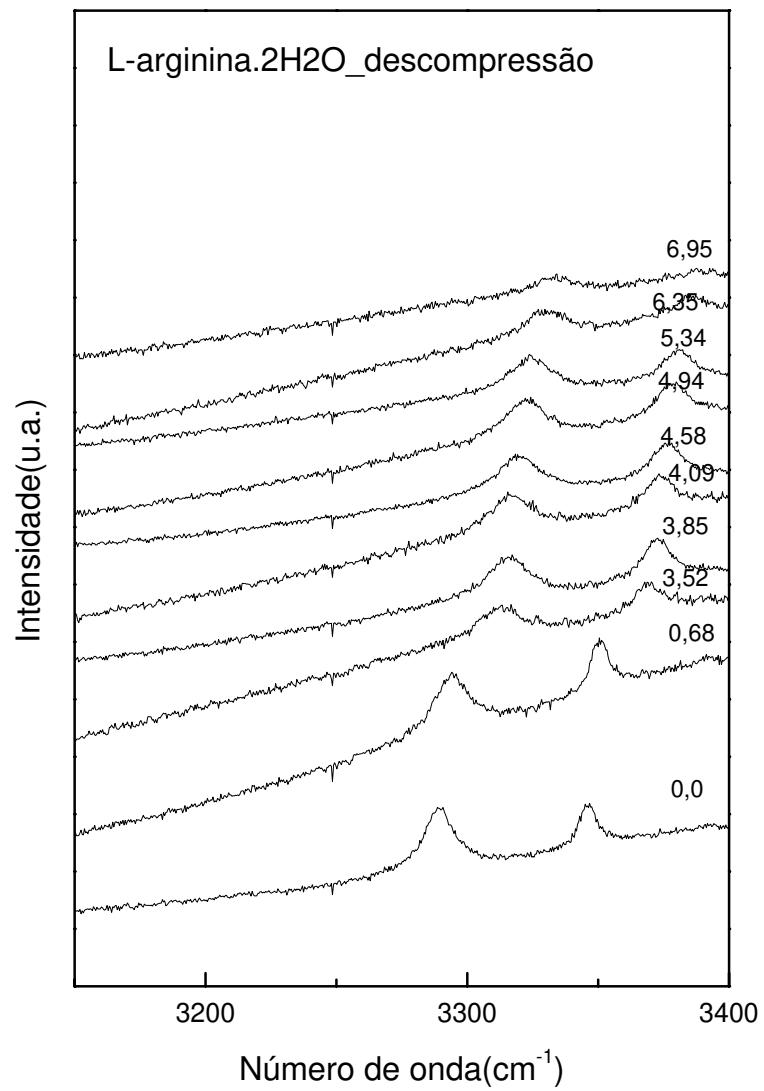
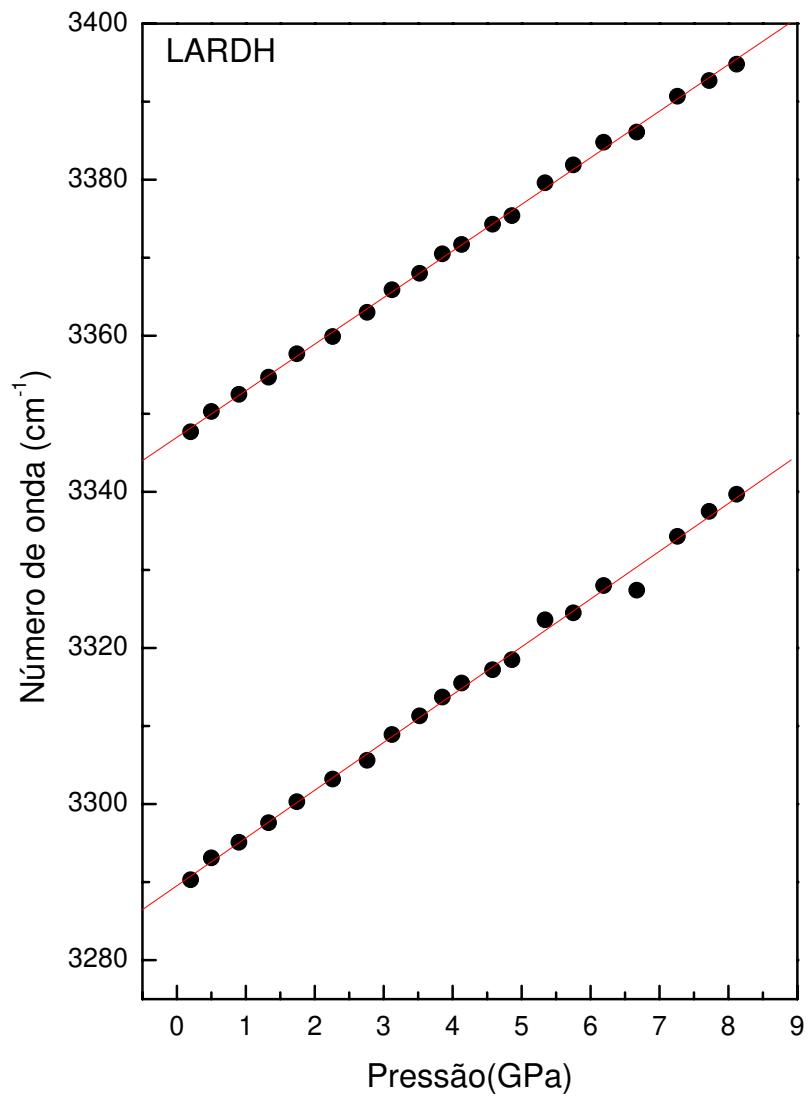


Figura 50: Espectros Raman da LARDH para a região espectral entre 3100 e 3400  $cm^{-1}$  para o processo de descompressão da amostra.

Figura 51: Gráfico  $\omega$  x P dos experimentos de espalhamento Raman.

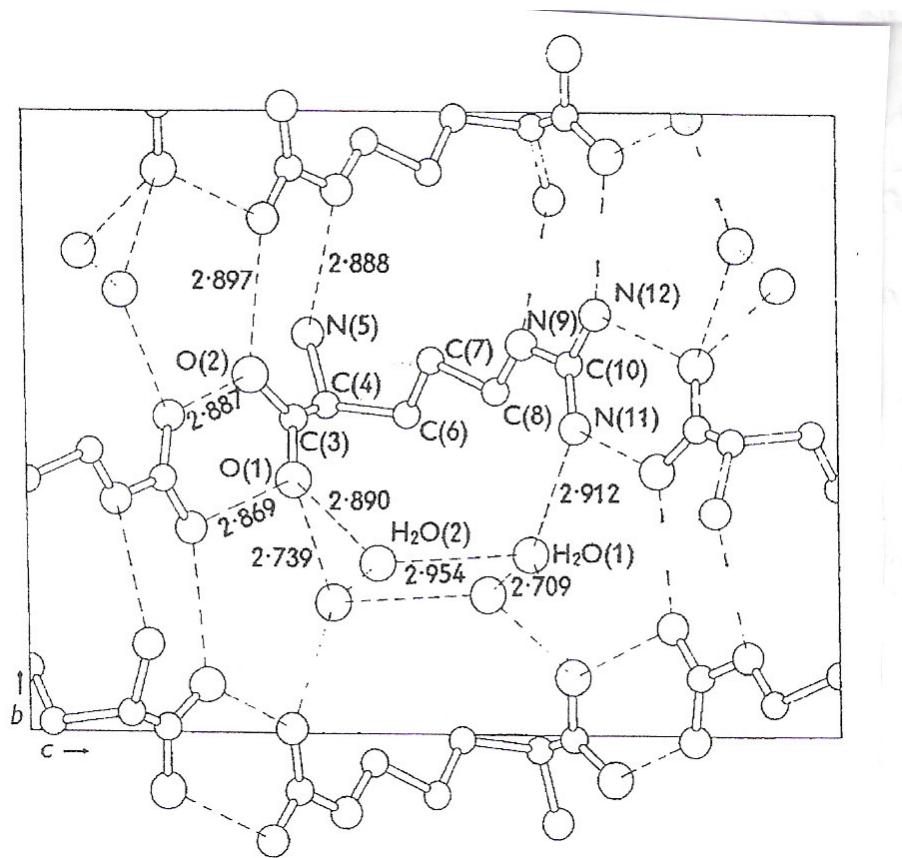


Figura 52: comprimentos das ligações de hidrogênio da LARDH.

Tabela 11: Valores de  $\omega$ ,  $\omega_0$  e  $\alpha$  para os ajustes lineares do tipo  $\omega = \omega_0 + \alpha P$  dos modos Raman da LARDH na região espectral entre 104 a  $3347\text{ cm}^{-1}$ .

$\omega(\text{cm}^{-1})$	$\omega_0(\text{cm}^{-1})$	$\alpha(\text{cm}^{-1}/\text{GPa})$
104	99,32	6,17
128	124,59	6,34
139	121,97	6,23
158	136,13	7,13
162	158,19	9,47
196	176,08	4,87
185	169,07	12,82
200	199,5	2,60
845	845,01	1,65
855	843,57	4,88
873	871,42	8,45
885	879,62	5,96
894	895	-2,42
913	869,01	6,12
925	925,51	4,12
984	986,92	3,95
1012	1011,58	3,70
1034	1035,80	4,65
1063	1043,96	2,72
1081	1082,40	3,38
1097	1098,86	3,50
1134	1131,34	5,59
1157	1149,42	1,53
1414	1416,06	-2,11
1440	1439,87	1,58
1448	1434,79	2,83
1456	1456,54	3,79
1474	1455,44	4,52
2665	2666,64	0,50
2724	2724,27	3,92
3290	3289,52	6,12
3347	3346,99	5,96

## 8 Conclusões e Perspectivas

Nesta Tese foram estudados dois cristais que possuem o aminoácido L-arginina em sua constituições: (i) L-arginina cloridrato monohidratado; (ii) L-arginina dihidratada (LARDH).

Na primeira parte do trabalho foram discutidos aspectos estruturais gerais da LARHCL e da LARDH, em particular a distribuição dos modos normais do material em termos das representações irreduutíveis do grupos fatores  $C_2$  e  $D_2$ , respectivamente. A seguir foi realizado um estudo detalhado dos modos normais de vibração da LARHCL à temperatura ambiente através de espesctroscopia Raman polarizada. Diversos modos normais de vibração do material foram observados em nove diferentes geometrias de espalhamento, cobrindo desta forma as quatro representações irreduutíveis do grupo fator  $D_2$ . Com o auxílio de cálculo "ab initio" e o conhecimento de diversas vibrações similares em outros cristais de aminoácidos foi feita a classificação tentativa dos modos normais de vibração da LARHCL ativos no Raman.

Numa outra etapa do trabalho analisou-se os espectros Raman da LARDH sob diversas condições termodinâmicas. Inicialmente fez-se a identificação tentativa dos modos normais de vibração do material sob codições de temperatura ambiente e pressão atmosférica. A seguir realizou-se um estudo dos modos normais do cristal através da espectroscopia Raman no intervalo entre  $30^0$  e  $200^0C$ . Deste estudo observou-se a existência de algumas anomalias nos espectros Raman. Por exemplo, observou-se que as curvas  $\frac{d\omega}{dT}$  para modos de baixa frequênciia mudam de inclinação em torno de  $45^0C$ , além do fato de que a partir de  $50^0C$  algumas bandas vão perdendo intensidade. Estes fatos foram interpretados como uma transição de fase sofrida pelo cristal entre  $45^0$  e  $50^0C$ . Além disso, o fato de que os espectros Raman entre  $45^0$  e  $60^0C$  eram diferentes dos espectros Raman para  $T < 45^0C$  e para  $T > 60^0C$  sugeriam, a princípio, a coexistênciia de fases neste intervalo de temperatura. Uma outra hipótese aventada seria que o cristal sofreria uma transição de fase em  $45^0C$ , ficando nesta fase até a temperatura de  $60^0C$ . Para dirimir esta dúvida foram realizadas medidas térmicas do tipo análise térmica diferencial (DTA)

e análise termogravimétrica (TG). Da análise de DTA observou-se que entre  $45^0C$  e  $50^0C$  começa um evento endotérmico que se prolonga até cerca de  $84^0C$ . A seguir, um segundo evento endotérmico se inicia, prolongando-se até  $109^0C$ . Com o auxílio das medidas de TG compreendeu-se que estes dois eventos endotérmicos estão associados à expulsão das moléculas de água, embora uma pequena quantidade permaneça no cristal, haja vista que a espectroscopia Raman aponta para a existência de vibrações de estiramento da água até cerca de  $190^0C$ .

Como parte final do trabalho estudou-se cristais de LARDH sob condições de altas pressões até cerca de 8 GPa. Desta investigação inferiu-se, principalmente pela análise da região dos modos externos, que o cristal sofre uma transição de fase em torno de 2,5 GPa. Entretanto para pressões no intervalo entre 2,5 e 8,0 GPa nenhuma outra transição de fase foi percebida, o que aponta para uma grande estabilidade do cristal quando comparado a outros cristais hidratados de aminoácidos. Além disso, nas regiões dos modos internos não foram observadas grandes mudanças nos espectros Raman, sugerindo que talvez a transição de fase com a pressão seja do tipo conformacional.

Como perspectiva de trabalhos futuros está a investigação das características estruturais dos novos polimorfos a altas pressões e a altas temperaturas, com os objetivos de confirmar os resultados de espectroscopia Raman, bem como o de identificar as novas estruturas da LARDH. Para isso medidas de difração de raios-X, em particular com radiação síncrotron associadas a medidas de altas pressões, são sugeridas neste trabalho.

Fica também como sugestão de trabalho futuro o estudo da dinâmica da água no processo que ocorre a partir de  $45^0C$  na LARDH. Em amostras comuns (não-deuteradas) será importante o estudo de difração de raios-X e numa eventual amostra deuterada, o estudo de espalhamento de nêutrons, além da identificação das modificações nas temperaturas e pressões críticas das transições de fase induzidas pelas diferentes dimensões das ligações de hidrogênio nas amostras hidrogenadas e deuteradas.

## *Referências*

- [1] S.A. Moggach, Simon Parsons, P.A. Wood, Cryst. Reviews 14, 143-184 (2008).
- [2] S. Datta, D.J.W. Grant, Nature Rev. Drug Disc. 3, 42- 53 (2004).
- [3] M. Wierzbowska, J.A. Majewski, Phys. Rev. B 84, 245129 (2011).
- [4] T. Frauenheim, G. Seifert, M. Elstner, Z. Hajnal, G. Jungnickel, D. Porezag, S. Suhai, R. Scholz, Phys. Status Sol. B 217, 41-62 (2000).
- [5] R. Hilfiker, (Ed.) Polymorphism in the Pharmaceutical Industry. Wiley-VCH: Weinheim, 2006.
- [6] A.C. Williams. In Handbook of Raman Spectroscopy: from the research laboratory to the Process Line, Practical Spectroscopy Series, vol. 28, I.R. Lewis, E.M.G. Howell (eds.) Marcel Dekker: New York, 2001; 575.
- [7] S.C. Pînzaru, I. Pavel, N. Leopold, W. Kiefer, J. Raman Spectrosc. 35, 338 (2004).
- [8] E.V. Boldyreva, Cristalline Amino Acids : A Link between Chemistry, Materials Science and Biology, In: Models, Mysteries, and Magic of Molecules, J.C.A. Boeyens, J.F. Ogilvie, 167-192, Springer: Netherlands (2007).
- [9] P.T.C. Freire, Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline Amino Acids, In: High Pressure Crystallography - From Fundamental Phenomena to Technological Applications, E.Boldyreva, P. Dera, 559-572, Springer: New York (2010).
- [10] P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira, Vibrational Spectroscopy 45, 99 (2007).
- [11] C. Murli, S.K. Sharma, S. Karmakar, S.K. Sikka, Physica B: Condensed Matter, Vol. 339, pp. 23-30 (2003).
- [12] S.V. Goryainov, E.N. Kolesnik, E.V. Boldyreva, Chemical Physics Letters 419, 496 (2006).
- [13] Destro, R.; Marsh, R.E. Bianchi, R. Journal of Physical Chemistry, 92, 966, 1988.
- [14] Migliori, A.; Maxton, P.M.; Clogston, A.M.; Zirngiebl, E. Lowe, M. Physical

- Review B, 38, 13464 (1988).
- [15] A.M.R. Teixeira, P.T.C. Freire, A.J.D. Moreno, J.M. Sasaki, A.P. Ayala, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, Solid State Commun. 116(2000) 405.
- [16] J.S. Olsen, L. Gerward, , P.T.C. Freire, J.M. Filho, F.E.A. Melo, A.G. Souza Filho Journal of Physics and Chemistry of Solids 69, 1641-1645 (2008).
- [17] Funnel, N.P.; Dawson, A.; Francis, D.; Lennie, D.R.; Marshall, W.G.; Moggach, S.A.; Warren, J.E. Parsons, S. CrystEngComm, 12, 2573, 2010.
- [18] Tumanov, N.A.; Boldyreva, E.V.; Kolesov, B.A.; Kurnosov, A.V. and Quesada Cabrera, R. Acta Crystallogr. B 66, 458, 2010.
- [19] J.A. Lima Jr, P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, A.J.D. Moreno, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, J. Raman Spectrosc. 36, 1076-1081, Issue 11 (2005).
- [20] J. Hermínio da Silva, V. Lemos, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, J. A. Lima Jr., P. S. Pizani, Physica Status Solidi (b) 246, 553-557 (2009).
- [21] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, K.C.V. Lima, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, P.S. Pizani, Brazilian Journal of Physics 38, 131-137 (2008).
- [22] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P.S. Pizani, D.Z. Rossatto, J. Raman Spectrosc. 40, 46 (2009).
- [23] F.M. Almeida, P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, C.M.R. Remédios, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, J. Raman Spectrosc. 37, 1296 (2006).
- [24] A.S.Sabino, G.P. De Sousa, C. Luz-lima, P.T.C.Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, Solid State Commun. 149, 1553 (2009).
- [25] J. A. Lima, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani, J. Raman Spectrosc. 39, 1356 (2008).
- [26] Moggach, S.A.; Allan, D.R.; Morrison, P.A.; Parsons, S. Sawyer, L. Acta Crystallogr. . B 61, 58 (2005).
- [27] Moggach, S.A.; Marshall, W.G. Parsons, S. Acta 5 Crystallogr. B 62, 815 (2006).
- [28] Boldyreva, E.V.; Kolesnik, E.N.; Drebushchak, T.N.; Ahsbahs, H.; Beukes, J.A. Weber, H.- Zeitschrift Kristallogr. 220, 58 (2005).
- [29] Boldyreva, E.V.; Kolesnik, E.N.; Drebushchak, T.N.; Ahsbahs, H. Seryotkin, Y.V. Zeitschrift Kristallogr 221, 150 (2006).

- [30] Boldyreva, E.V.; Sowa, H.; Seryotkin, Y.V.; Drebushchak, T.N.; Ahsbahs, H.; Chernyshev, V. Dmitriev, V. Chem. Phys. Lett. 429, 474 (2006).
- [31] B.L. Silva, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, M.A. Pimenta, M.S.S. Dantas, J. Raman Spectrosc. 31, 519 (2000).
- [32] Minkov, V.S.; Goryainov, S.V. ;Boldyreva, E.V. Görbitz, C.H, J. Raman Spectrosc. 41, 1458 (2010).
- [33] Moreno, A.J.D.; Freire, P.T.C.; Melo, F.E.A.; Araújo-Silva, M.A.; Guedes, I.; Mendes Filho, J., Solid State Commun. 103, 655 (1997).
- [34] J.A.F. Silva, Tese de Doutorado, Departamento de Física - Universidade Federal do Ceará (2012).
- [35] R.O. Holanda, Dissertação de Mestrado, Departamento de Física - Universidade Federal do Ceará (2010).
- [36] P.T.C. Freire, J.A. Lima Jr, B.T.O. Abagaro, G.S. Pinheiro, J.A.F. Silva, J. M. Filho, F.E.A. Melo, in Vibrational Spectroscopy, Dominique de Caro (Ed.) InTech, 2012, p. 37 - 58.
- [37] C. Luz-Lima, G.P. De Sousa, J.A. Lima Jr., F.E.A. Melo, J. M. Filho, A. Polian, P.T.C. Freire, Vib. Spectrosc. 58, 181 (2012).
- [38] J. L. B. Faria, F. M. Almeida, O. Pilla, F. Rossi, J. M. Sasaki, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, P. T. C. Freire, J. Raman Spectrosc. 35, 242 (2004).
- [39] G.P. De Sousa, P.T.C. Freire, J.A. Lima Jr., J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, Vib. Spectrosc. 57, 102 (2011).
- [40] Rousseau, D.L; Bauman, R.P; Porto, S.P.S. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 10, p. 253, 1981.
- [41] I. L. Karle and J.Karle, Acta Cryst. B 17, 835 (1964).
- [42] Tapati Mallik; Tanusree Kar; Gabriele Bocelli; Amos Musatti. Crystal Research Technology. 41, No.3, 289-284 (2006).
- [43] Tapati Mallik; Tanusree Kar; Gabriele Bocelli; Amos Musatti. Crystal Research Technology. 41, No.3, 289-284 (2006).
- [44] J.L.B. Faria, P.T.C. Freire, R.O. Gonçalves, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, R.J.C. Lima, A.J.D. Moreno, Braz. J. Phys. 40, 288 (2010).

- [45] J. H. da Silva et al., Phys. Status Solidi B 246, 553 (2009).
- [46] J. A. Lima Jr. et al., J. Raman Spectroscopy 39, 1356 (2008).
- [47] H. Susi, D.M. Byler, J. Mol. Struct. 63, 1 (1980).
- [48] X. cao, G. Fisher, J. Phys. Chem. A 106, 41 (2002).
- [49] R. R. França Bento, Propriedades vibracionais de cristais de seselina por espectroscopia Raman e F-T Raman. Disertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2003.
- [50] E. Deplazeo, W. van Bronswijk, F. Zhu, L. D. Barron, S. Ma, L. A. Nafie, K. J. Jalkinen, Theor. Chem. Account 119: 155 (2008).
- [51] B. Z. Chowdhry, T. J. Dines, S. Jabeen, R. Withnall, J. Phys. Chem. A 112, 10333 (2008).
- [52] R.J.C. Lima, P.T.C Freire, J.M. Sasaki, F.E.A. Melo, J.Mendes Filho, J. Raman Spectrosc. 33, 625 (2002).
- [53] A.J.D. Moreno, P.T.C. Freire, I. Guedes, F.E.A. Melo, J.M. Filho, J.A. Sanjurjo, Braz. J. Phys. 29, 380 (1999).
- [54] J.A. Lima Jr., P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, A.J.D. Moreno, J.M. Filho, F.E.A. Melo, J. Raman Spectrosc. 36, 1076 (2005).
- [55] P. Corio, P. S. Santos, V. W. Brar, Ge. G. Samsonidze, S. G. Chou, M. S, Dreselhaus, Chem. Phys. Lett. 370, 675 (2003).
- [56] T. Vijayakumar, I. Hubert Joe, C. P. Reghunadhan Nair, V. S. Jayakumar. Journal of Raman Spectroscopy. 2009, 40, 18 - 30.
- [57] J. A. L. Júnior. Espectroscopia Raman de dos aminoácidos L-metionina, DL-alanina, e de nanotubos de carbono. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [58] S. Forss, J. Raman Spectrosc. 12, 266 (1982).
- [59] Z. H. Sun, L. Zhang, D. Xu, X. Q. Wang, X. J. Liu, G. H. Zhang. Spectrochimica Acta Parte A 71. 2008, 40, 663 - 668.
- [60] B. Lopes da Silva, Estudo por meio de espalhamento Raman de cristais de L-treonina com temperatura e pressão hidrostática. Tese de Doutorado, Universidade Federal do ceará, 1997.

- [61] K. Machida, A. Kagayana, Y. Saito, T. Uno, Spectrochim. Acta A 34, 909 (1978).
- [62] A. Grunemberg, D. Bougeard, J. Mol. Struct. 160, 27 (1987).
- [63] A. S. Sabino et al. Solid State Commun. 149, 1353 (2009).
- [64] S. L. Wang, Y. C. Wong, W. T. Cheng, S. Y. Lin, J. Therm. Anal. Calorim. 104, 261 (2011).
- [65] C. Tanase, L. Odochian, N. Apostolescu, A. Pui, J. Therm. Anal. Calorim 103, 1079 (2011).
- [66] M. Yang, Q. Gao, J. Alloys Compd. 509, 3690 (2011).
- [67] M. J. Peres-Filho, M. P. N. Gaeti, S. R. Oliveira, R. N. Marreto, E. M. Lima, J. Therm. Anal. Calorim. 104, 255 (2011).
- [68] I. C. V. Bento et al. Solid State Commun. 141, 29 (2007).
- [69] J. H. da Silva et al. J. Phys. Condens. Matter 21, 415404 (2009).
- [70] A. J. D. Moreno et al., Solid State Commun. 103, 655 (1997).
- [71] T. Arakawa, K. Tsumoto, Biochem. Biophys. Res. Commun. 304, 148 (2003).
- [72] S. V. Goryainov, E. N. Kolenisk, E. V. Boldyreva. Chem. Phys. Lett. 419, 496 (2006).
- [73] M.-L Putkonem, R. Feld, C. Vettier, M. S. Lehmann, Acta Cryst. B 41, 77 (1985).
- [74] N. P. Funnell, W. G. Marshall, S. Parsons, Cryst. Eng. Comm. 13, 5841 (2011).
- [75] J. M. de Souza. Espalhamento Raman em cristais de taurina parcialmente deuterado e de policristais de L-alanina parcial e totalmente deuterados em função da temperatura. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, 2005.
- [76] Santos Kumar, S. B. Rai. Indian Journal of Pure and Applied Physics, vol. 48, April 2010, pp. 251-255.
- [77] E. V. Boldyreva, H. Sowa, Yu. V. Seryotkin, T. N. drebushchak, H. Ahsbahs, V. Chernyshev, V. Dmitriev, Chem. Phys. Lett. 429, 474 (2006).
- [78] V. S. Minkov, A. S. Krylov, E. V. Boldyreva, S. V. Goryainov, S. N. Bizayev, A. N. Vtyurin, J. Phys. Chem. B 112, 8851 (2008).
- [79] P. F. Façanha Filho, Estudo de espalhamento Raman em cristais de L-leucina submetidos a altas temperaturas e a altas pressões. Tese de Doutorado, Universidade

Federal do Ceará, 2007.

- [80] J. M. Sousa, P. T. C. Freire. H. N. Bordallo, D. N. Argyriou, *J. Phys. Chem. B* 111, 5034 (2007).
- [81] S. Mukerji, T. Kar. *Mater. Chem. Phys.* 57, 72 (1998).
- [82] S. Haussuhe, J. Chrosch, F. Gnamam, E. Fiorentini, K. Recker, F. Wallrafen, *Cryst. Res. Technol.* 25, 617 (1990).
- [83] S. B. Monaco, L. E. Davis, S. P. Velsko, F. T. Wang, D. Eimerl, A. Zalkin, *J. Crystal Growth* 85, 252 (1987).
- [84] C. C. Hsu, H. M. Hguyen, D. A. Yeung, D. A. Brooks, G. S. Koe, T. A. Bewlwy, R. Pearlman, *Pharm. Res.* 12, 69 (1994).
- [85] M. Mumenthaler, C. C. Hsu, R. Pearlman, *Pharm. Res.* 11, 12 (1994).
- [86] K. Seguro, T. Tamiyam, T. Tsuchiya, J. J. Matsumoto, *Cryobiology* 27, 70 (1990).