



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

CICERO MOEZIO DA SILVA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES VIBRACIONAIS E ESTRUTURAIS DO
ÁCIDO GAMA-AMINO BUTÍRICO EM CONDIÇÕES EXTREMAS DE
TEMPERATURA E DE PRESSÃO.

FORTALEZA

2017

CICERO MOEZIO DA SILVA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES VIBRACIONAIS E ESTRUTURAIS DO ÁCIDO
GAMA-AMINO BUTÍRICO EM CONDIÇÕES EXTREMAS DE TEMPERATURA E
DE PRESSÃO.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Física. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada.

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

Coorientadora: Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro.

FORTALEZA
2017

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)

S579e Silva, Cicero Moezio da.

Estudo das Propriedades Vibracionais e Estruturais do Ácido Gama-aminobutírico em Condições Extremas de Temperatura e de Pressão / Cicero Moezio da Silva. – 2017.
105 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física, Fortaleza, 2017.

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

Coorientação: Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro.

1. Ácido Gama-aminobutírico. 2. Espectroscopia Raman e infravermelho. 3. Difração de raios-X. 4. Transição de fase. I. Título.

CDD 530

CICERO MOEZIO DA SILVA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES VIBRACIONAIS E ESTRUTURAIS DO ÁCIDO
GAMA-AMINO BUTÍRICO EM CONDIÇÕES EXTREMAS DE TEMPERATURA E
DE PRESSÃO.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Física. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada.

Aprovada em 04/09/17.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire
(Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro
(Coorientadora)
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. José Alves de Lima Junior
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues Teixeira
Universidade Regional do Cariri (URCA)

Prof. Dr. Gilberto Dantas Saraiva
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

*Aos meus pais,
José Valdemiro da
Silva (Em memória) e
Maria Cândido da Silva,
minha avó Laurentina,
meu tio Pedro por ter
dedicado toda sua vida a
minha pessoa.*

AGRADECIMENTOS

Dedico meus sinceros agradecimentos acima de tudo a Deus só é digno de toda honra, a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a minha formação acadêmica;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, a minha total gradidão por me oportunizar a realização de um curso de doutorado, pela paciência, confiança, dedicação e prazer em dividir os seus conhecimentos em todas as etapas deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Josué Mendes Filho (*in memoriam*) pelo entusiasmo e liderança na pesquisa científica;

Ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará que me proporcionou a oportunidade de realizar mais esta etapa da minha formação;

Aos Coordenadores da Pós-Graduação Prof. Dr. Antonio Gomes e Prof. Dr. Alejandro Ayala por terem proporcionado excelentes condições de estudo aos alunos;

Ao colega e amigo Gadelha, por ter ajudado sem medir esforços sempre disposto a ajudar nas muitas técnicas no laboratório;

À Professora Dra Gardênia Pinheiro pela sua co-orientação, por sua amizade e colaboração eficaz ao longo deste trabalho;

Aos professores que compõem a banca examinador por aceitar participar da avaliação, correção e pelo interesse e contribuição para este trabalho: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro, Prof. Dr. José Alves de Lima Junior, Prof. Dr. Alexandre Magno, Prof. Dr. Gilberto Dantas;

A todos os Professores que participaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho. A todos os Professores do programa com os quais tive oportunidade de ter contato durante as aulas pelos aprendizados e ensinamento repassados;

Aos funcionários do Departamento de Física Jailson e Creuza e às secretárias do Programa de Pós-Graduação Rejane e Ana Cleide por sempre estarem dispostas a ajudar;

Ao amigos do Laboratório do Departamento de Física: Gadelha, Felipe Moreira, Felipe Rego, Cesar Barreto. À todos os colegas de pós-graduação, pela convivência;

Aos professores Dr. João Hermínio, Dr. José de Arimatéa pela amizade e momentos de descontração;

A todos os colegas de pós-graduação pela boa convivência Diassis, Ian Amaral, Neudson, Joel, Raul, Izael, Rubens, Mauricélio, Cristiano Balbino, João Victor, Naiara, Holanda, Tiago Muniz, Fernando Martins, Cardoso, Bruno Abagaro;

Ao corpo técnico da Oficina da Física na pessoa do Senhor Ismael e Johny pela atenção e alta qualidade dos serviços realizados e pela presteza com que atendeu;

Aos funcionários da secretaria do curso de pós-graduação e do Departamento de Física pela eficiência em suas funções;

Aos meus pais, José Valdemiro (*in memoriam*) e Maria Cândido, por tudo que fizeram por mim durante todos estes anos para que eu pudesse estudar;

À agência de fomento FUNCAP pelo apoio financeiro;

E finalmente, àqueles que não estão citados aqui, mas que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com minha formação;

A todos, muito obrigado!

RESUMO

Este trabalho apresenta um estudo das propriedades vibracionais de cristais de ácido γ -aminobutírico sob condições extremas. Inicialmente os modos normais de vibração do cristal foram identificados à temperatura ambiente no intervalo espectral entre 20 e 3000 cm^{-1} . Para temperaturas entre 20 e 440 K os espectros Raman do material foram investigados, bem como os difratogramas de raios-X entre 110 e 440 K juntamente com a análise Rietveld. Dessas medidas e análises foi possível inferir que para temperaturas acima da temperatura ambiente a estrutura monoclinica $P2_1/c$ original se mantém. Para temperaturas abaixo da temperatura ambiente, observou-se que o parâmetro a anormalmente aumenta com a diminuição da temperatura, enquanto que os parâmetros b , c e o volume diminuem. Além disso observou-se mudança na inclinação das curvas dimensão *versus* temperatura dos parâmetros b e c da célula unitária em aproximadamente 220 K. A anomalia no comprimento da dimensão do eixo c foi associada a pequenas modificações nas ligações de hidrogênio ao longo da direção (001). Medidas de espectroscopia Raman no cristal de ácido γ -aminobutírico foram realizadas para pressões de até 7,1 GPa. Descobriu-se que o cristal sofre uma séria de três transições de fase em 0,1; 2,0 e 4,0 GPa durante o ciclo de compressão. As mudanças nos espectros Raman foram interpretadas principalmente em termos de mudanças conformacionais das moléculas na célula unitária. Na transição de fase ocorrida em 4,0 GPa modificações espectrais surgidas na região de modos de estiramento CC e dobramentos CH_2 sugerem mudança conformacional; além disso mudanças em modos de torção e *rocking* do NH_3^+ indicam mudança da rede de ligações de hidrogênio que une as várias moléculas na célula unitária. Uma vez que os microcristais durante os experimentos de pressão se mantêm intactos em todo o ciclo de compressão-descompressão, então pode-se considerar que a mudança conformacional não é tão severa quanto aquela que acontece em aminoácidos nos quais diversas rupturas são observadas. Nenhum indício de amortização induzida pela pressão foi obtido.

Palavras-chave: Ácido Gama-aminobutírico. Espectroscopia Raman e infravermelho. Difrração de raios-X. Transição de fase.

ABSTRACT

This work shows a study of the vibrational properties of γ -aminobutyric acid crystals under extreme conditions. The vibrational normal modes of the crystal were assigned at ambient conditions in the spectral range 20-3000 cm^{-1} . Raman spectra were investigated for temperatures between 20 and 440 K; X-ray diffractogram and Rietveld analysis were obtained for crystal in the temperature range 110-440 K. From this analysis it was possible to infer that above room temperature the original monoclinic $P2_1/c$ is verified. For low temperatures it was noted that the a parameter increasing anomalously with cooling, while the b and c parameters as well as the volume of the unit cell diminishes. Additionally, it was observed change in the dimension versus pressure curves of the b and c parameters at 220 K. The anomaly in the c-axis was associated with small changes in the hydrogen bonds along the (001) direction. Also, pressure Raman measurements were performed on γ -aminobutyric acid crystal up to 7.1 GPa. Three different phase transition (at 0.1, 2.0 and 4.0 GPa) during the compression run were observed. Changes in the Raman spectral were interpreted mainly as change of molecular conformations. In the phase transition occurring at 4.0 GPa it was observed modification in the CC-stretching, CH_2 -bending, torsion of NH_3^+ and rocking of NH_3^+ . These two last points suggest modifications in the hydrogen bond network linking the various molecules into the unit cell. It was observed no cracking of the sample during the compression - decompression run, suggesting a soft conformational change. No indication of pressure-induced amorphization was observed.

Keywords: Gamma-aminobutyric acid. Raman and infrared spectroscopy. X-ray diffraction. Phase transition.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados cristalográficos para o cristal GABA.	29
Tabela 2 – Principais técnicas espectroscópicas, com os números de ondas e os tipos de transições quânticas.	32
Tabela 3 – Classificação dos modos ativo no Raman do GABA observados no intervalo entre 40 e 3000 cm^{-1}	48
Tabela 4 – Ajuste linear para a frequência dos modos normais do GABA em função de temperatura.	58
Tabela 5 – Ajuste linear do número de onda dos modos normais do GABA em função de altas temperatura.	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da estrutura básica dos aminoácidos na forma neutra.	20
Figura 2 – Estrutura básica dos aminoácidos: O carbono central é chamado de α . (a) aminoácido não ionizado(ou forma neutra), (b)aminoácido ionizado (ou forma zwitteriônica) [15].	20
Figura 3 – Aminoácido enantiômeros [16].	21
Figura 4 – Ilustração da classificação dos aminoácidos segundo a posição da amina [16].	21
Figura 5 – Ligações peptídicas.	21
Figura 6 – Reação entre dois mono-peptídeos para formar um dipeptídeo [16].	22
Figura 7 – Aminoácidos apolares alifáticos.	22
Figura 8 – Aminoácidos apolares aromáticos.	23
Figura 9 – Aminoácidos polares não carregados.	23
Figura 10 – Aminoácidos polares positivos.	24
Figura 11 – Aminoácidos polares negativos.	24
Figura 12 – Estiramento simétrico [19].	25
Figura 13 – Estiramento antissimétrico [19].	25
Figura 14 – Deformação do tipo tesoura <i>scissoring</i> [19].	26
Figura 15 – a) Vibração de flexão para dentro da página \otimes ; b) Vibração de flexão para fora da página \odot [19].	26
Figura 16 – Balanço fora de fase [19].	26
Figura 17 – Deformação angular antissimétrica [19].	27
Figura 18 – Vibração de torção [19].	27
Figura 19 – Estrutura molecular do GABA na forma neutra.	28
Figura 20 – Molécula do GABA.	29
Figura 21 – Célula unitária do GABA.	29
Figura 22 – Ilustração esquemática do processo Raman Stokes, Raman anti-Stokes e espalhamento Rayleigh [21].	30
Figura 23 – Reflexão de um feixe de raios-X por planos de um cristal.	37
Figura 24 – Amostra GABA.	38
Figura 25 – (a) Espectrômetro T64000 triplo monocromador da Jobin Yvon; (b) Cri- ostato da APD Cryogenics modelo THMS 600.	39
Figura 26 – Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) utilizado.	39

Figura 27 –Célula a extremo de diamante com membranas.	40
Figura 28 –Espectro Raman do GABA registrado à temperatura ambiente na região espectral entre 20 a 400 cm^{-1}	43
Figura 29 –Espectro Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 400 a 1200 cm^{-1}	44
Figura 30 –Espectros Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 1200 a 1800 cm^{-1}	46
Figura 31 –Espectros Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 2600 a 3500 cm^{-1}	47
Figura 32 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 20 a 350 cm^{-1}	49
Figura 33 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 20 a 350 cm^{-1}	50
Figura 34 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura entre 20 e 300 K na região espectral entre 380 e 680 cm^{-1}	51
Figura 35 –Número de onda das principais bandas Raman do GABA em função da temperatura observadas entre 380 a 670 cm^{-1}	52
Figura 36 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 770 a 1100 cm^{-1}	53
Figura 37 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura na região espectral entre 770 a 1100 cm^{-1}	53
Figura 38 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 1100 a 1370 cm^{-1}	54
Figura 39 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1100 a 1370 cm^{-1}	55
Figura 40 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura entre 20 e 300 K na região espectral entre 1370 a 1700 cm^{-1}	56
Figura 41 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1370 a 1700 cm^{-1}	56
Figura 42 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 2800 a 3000 cm^{-1}	57
Figura 43 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 2800 a 3000 cm^{-1}	57
Figura 44 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 à 403 K na região espectral entre 20 a 240 cm^{-1}	60

Figura 45 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 20 a 240 cm^{-1}	61
Figura 46 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 270 a 810 cm^{-1}	62
Figura 47 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 270 a 810 cm^{-1}	62
Figura 48 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 840 a 1190 cm^{-1}	63
Figura 49 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 840 a 1190 cm^{-1}	64
Figura 50 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 1240 a 1360 cm^{-1}	64
Figura 51 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1230 a 1360 cm^{-1}	65
Figura 52 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 1380 a 1500 cm^{-1}	65
Figura 53 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1380 a 1600 cm^{-1}	67
Figura 54 –Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 2740 a 3000 cm^{-1}	67
Figura 55 –Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 2740 a 3000 cm^{-1}	68
Figura 56 –Difratogramas de raios-X para altas temperaturas.	69
Figura 57 –Parâmetro a em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.	70
Figura 58 –Parâmetro b em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.	70
Figura 59 –Parâmetro c em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.	71
Figura 60 –Parâmetro β em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.	71
Figura 61 –Volume da célula unitária do GABA em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.	72
Figura 62 –Difratogramas de raios-X do cristal de GABA em função da temperatura no intervalo entre 113 e 303 K.	73
Figura 63 –Parâmetro a em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.	75
Figura 64 –Parâmetro b em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.	75
Figura 65 –Parâmetro c em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.	76
Figura 66 –Parâmetro β , ângulo monoclinico, em função da temperatura.	77
Figura 67 –Parâmetro V em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.	77

Figura 68 –Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 30 a 220 cm^{-1} para vários valores de pressão.	79
Figura 69 –Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 30 - 220 cm^{-1}	80
Figura 70 –Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 200 a 650 cm^{-1} para vários valores de pressão.	82
Figura 71 –Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 200 - 650 cm^{-1}	84
Figura 72 –Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 630 a 1220 cm^{-1} para vários valores de pressão.	86
Figura 73 –Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 630 - 1220 cm^{-1}	87
Figura 74 –Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 1380 a 1700 cm^{-1} para vários valores de pressão.	90
Figura 75 –Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 1380 - 1700 cm^{-1}	91
Figura 76 –Artigo publicado referente a tese	99

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Comprimento de onda
mm	Milímetro
KBr	Brometo de potássio
mA	Miliampere
Γ	Largura de banda
E_a	Energia de ativação

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COOH	Radical carboxila
grupo -R	Grupo radical (cadeia lateral)
D	Destrógiro
L	Levógiro
NMR	Ressonância Magnética Nuclear
pH	Potencial hidrogeniônico
GABA	Ácido gama-aminobutírico
DRX	Difração de raios-X
T64000	espectrômetro da Jobin Yvon
CCD	Charge-Coupled Device
FT-IR	Infravermelho por transformada de Fourier

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	19
2.1	Aminoácidos	19
2.1.1	Classificação dos aminoácidos quanto às propriedades do grupo radical	22
2.2	Tipos de vibrações moleculares	24
2.2.1	<i>Stretching</i> (estiramento)	25
2.2.2	<i>Bending</i> (dobramento ou deformação)	26
2.2.3	Torção	26
2.3	Transição de fase	27
2.4	Abordagem geral sobre o ácido gama-aminobutírico (GABA)	28
2.5	Espectroscopia Raman	30
2.5.1	Aplicações da célula de pressão hidrostática	33
2.6	Espectroscopia Infravermelho	35
2.7	Difração de raios-X	36
3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	38
3.1	A amostra ácido gama-aminobutírico	38
3.2	Sistema de experimentos de espectroscopia Raman	38
3.3	Sistema de experimentos de espectroscopia de infravermelho .	39
3.4	Experimentos de Difração de Raios-X	39
3.5	Sistema de medidas de pressão	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
4.1	Espectroscopia Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente	42
4.2	Espectroscopia Raman do GABA à baixas temperaturas . . .	49
4.3	Espectroscopia Raman do GABA à altas temperaturas	59
4.4	Experimento de difração de raios-X	68
4.4.1	Difração de raios-X a altas temperaturas	69
4.4.2	Difração de raios-X a baixas temperaturas	72
4.5	Experimento de espectroscopia Raman do GABA em altas pressões	77
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	93

REFERÊNCIAS	95
ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO	99

1 INTRODUÇÃO

O ácido γ -aminobutírico (GABA), cuja fórmula molecular é $C_4H_9NO_2$, é um aminoácido que desempenha um importante papel no sistema nervoso central dos mamíferos. Funciona como um neurotransmissor inibidor no controle de excitação neuronal, tendo um papel fundamental no equilíbrio entre excitação e inibição neuronal, sendo, portanto, essencial para o funcionamento do cérebro e para os seres humanos [1,2]. Uma inibição anormal pode levar a sedação, sono, ansiedade, depressão, convulsão ou coma. Como consequência, o uso farmacêutico do GABA no tratamento de certos distúrbios neurológicos, como doença de Parkinson e epilepsia, tendo sido relatado [3,4]. Portanto o GABA tornou-se um importante ingrediente farmacêutico ativo (API) usado no controle de alguns distúrbios neurológicos [5]. A descoberta de novos polimorfos de um API é importante para a indústria farmacêutica, visto que dois polimorfismos podem ter propriedades físicas substancialmente diferentes (por exemplo, solubilidade, ponto de fusão, densidade ou dureza) [6]. Além disso, do ponto de vista biológico, um estudo detalhado da estrutura do GABA e suas conformações moleculares são fundamentais na compreensão de sua função como neurotransmissor [7].

Trabalhos anteriores relataram três estruturas cristalinas diferentes de GABA: (i) monoclinico, uma forma estável [8]; (ii) tetragonal, uma forma metaestável [7]; e (iii) forma monohidratada, que é termodinamicamente estável apenas à altas pressões, sendo obtido a partir da forma monoclinica sob pressões de 0,4 a 0,8 GPa [9]. Curiosamente, se uma semente recuperada de uma experiência de altas pressões é usada em uma solução mantida à pressão atmosférica, é possível cristalizar a forma monohidratada mesmo em condições atmosféricas [9].

A importância do uso de altas pressões no estudo de estruturas cristalinas está além da formação de novos materiais, conforme descrito no último parágrafo. Na verdade, é importante prever a estabilidade mecânica em muitas aplicações práticas, uma vez que os cristais orgânicos são amplamente utilizados em drogas e dispositivos baseados em cristais moleculares [10,11]. Além disso, a variação de pressão é uma ferramenta importante na investigação de novos polimorfos e transições de fase em cristais orgânicos, mais especificamente no desenho de dispositivos supramoleculares e na engenharia de cristais. Uma questão-chave no estudo de estabilidade de um cristal em condições de altas pressões é: como a estrutura cristalina responde a compressão? A resposta para isso está relacionada aos vários tipos de interações intermoleculares nas estruturas cristalinas (ligações de hidrogênio e interações de empilhamento, por exemplo), bem como a

flexibilidade conformacional das moléculas individuais ou de uma parte delas [12].

Embora uma série de estudos tenha investigado o comportamento de α -aminoácidos sob altas pressões bem como a formação de polimorfos sob esta condição [10, 13], poucos trabalhos foram direcionados para estudar cristais de γ -aminoácidos. Diferentemente de aminoácidos proteicos, onde os grupos COOH e NH_2 estão ligados ao mesmo carbono (carbono alfa). Nos γ -aminoácidos, incluindo GABA, o grupo NH_2 está ligado ao carbono gama, isto é, o NH_2 e o COOH são separados um do outro por três átomos de carbono. No presente trabalho, investigamos o comportamento vibracional do GABA sob altas pressões e baixas temperaturas, comparando-se com algumas investigações realizadas em outros cristais de aminoácidos, tendo especial atenção aos modos que modificam durante o experimento.

O objetivo desse trabalho é estudar as propriedades estruturais e vibracionais do ácido gama-aminobutírico em função da temperatura e da pressão utilizando as técnicas de espectroscopia Raman e infravermelho, e difração de raios-X. Desta forma espera-se contribuir para um conhecimento mais profundo acerca das propriedades vibracionais do cristal de ácido γ -aminobutírico sob condições extremas de pressão e de temperatura.

Este trabalho está dividido em cinco capítulos. No capítulo 1 são apresentados aspectos gerais da organização e objetivo do trabalho desenvolvido.

No capítulo 2 apresentamos uma abordagem geral dos fundamentos teóricos sobre os aminoácidos, onde fazemos uma abordagem do ácido γ -aminobutírico. Discutimos o espalhamento Raman, que foi a principal ferramenta experimental utilizada no desenvolvimento deste trabalho, bem como absorção no infravermelho, difração de raios-X, e a metodologia utilizada na aplicação da pressão hidrostática.

No capítulo 3 apresentamos o procedimento experimental usado nas medidas realizadas nesta tese. Discutimos os equipamentos que permitiram fazer os experimentos à baixas e à altas temperaturas, descrição da célula de pressão a extremos de diamantes e equipamentos para análise térmica.

No capítulo 4 são apresentados os resultados experimentais. Destaca-se a espectroscopia Raman e infravermelho à temperatura ambiente, bem como a baixas e altas temperaturas. Análise de difração de raios-X com a temperatura também é fornecida. Finalmente, medidas de espectroscopia Raman em função da pressão e as transições de fase que aparecem.

No capítulo 5 são apresentadas as conclusões dos resultados obtidos e, finalmente, as perspectivas de futuros trabalho para sugestões para aprofundamento na pesquisa.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Nesse capítulo apresentaremos os principais fundamentos teóricos para o entendimento do material em estudo e para a interpretação dos resultados experimentais mostrados mais adiante. Faremos uma apresentação dos aminoácidos em geral, do ácido gama-aminobutírico, dos modos normais de vibrações, das espectroscopias Raman e infravermelho e da difração de raios-X [14].

2.1 Aminoácidos

Um aminoácido é uma molécula orgânica que, quando ligado em conjunto com outros aminoácidos numa certa sequência, forma uma proteína. Assim, os aminoácidos podem ser vistos como desempenhando um papel fundamental na construção das proteínas e como intermediários no metabolismo. As propriedades químicas dos aminoácidos são determinantes nas atividades biológicas destes nas proteínas.

Os seres humanos não possuem todas as enzimas necessárias para produzir todos os aminoácidos necessários na síntese das proteínas. Assim, 9 dos 20 aminoácidos devem ser fornecidos através de alimentos. Curiosamente, ao contrário dos seres humanos, as plantas são capazes de sintetizar todos os 20 aminoácidos, daí porque, em última análise, boa parte da dieta animal seja de origem vegetal.

São conhecidos mais de 200 aminoácidos, mas apenas 20 deles são formadores de proteínas. Desses vinte, nove são considerados essenciais e, os outros podem ser sintetizados por um organismo adulto. Os aminoácidos não-essenciais (naturais) são glicina, alanina, serina, cisteína, tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico, arginina (essencial para as crianças, não em adultos), histidina, asparagina, glutamina e prolina. Os aminoácidos essenciais são fenilalanina, valina, triptofano, treonina, lisina, leucina, isoleucina e metionina. Em certos compêndios, a arginina e a histidina são considerados semi-essenciais, pois a sua síntese orgânica ocorre em quantidades insuficientes para garantir o crescimento.

À exceção da glicina, onde o hidrogênio (H) de um lado equilibra-se com o H do outro, os demais aminoácidos naturais possuem um átomo de carbono assimétrico que os torna opticamente ativos, podendo desviar o plano da luz polarizada.

Os aminoácidos são constituídos de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e, no caso da metionina e da cisteína, também de enxofre. Cada aminoácido tem dois grupos principais: um grupo amina e um grupo carboxílico, como mostra a Fig. 1. O grupo carboxílico contém um carbono ligado a um átomo de oxigênio e ligado a uma hidroxila

formando o grupo $-(\text{COOH})$. Desta forma, o grupo amina e o grupo carboxílico são ligados ao átomo de carbono (conhecido como carbono alfa) com um átomo de hidrogênio e ao radical R (ou cadeias laterais) formando as moléculas dos aminoácidos. O grupo $-R$ pode variar amplamente e é responsável pelas diferenças nas propriedades químicas dos aminoácidos.

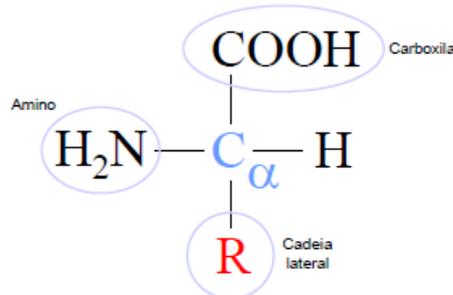


Figura 1: Esquema da estrutura básica dos aminoácidos na forma neutra.

O termo “*zwiteri*” provém de uma palavra alemã que significa “híbrido” e é usado para descrever compostos com carga positiva e negativa cada um em diferentes átomos. A fórmula geral de um aminoácido nas formas neutra e zwitteriônica é mostrada na Fig. 2.

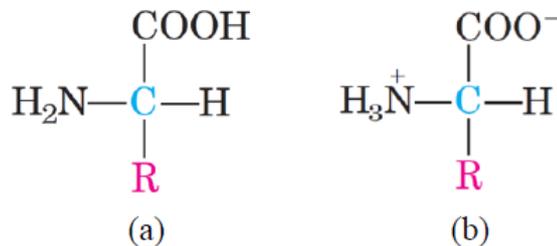


Figura 2: Estrutura básica dos aminoácidos: O carbono central é chamado de α . (a) aminoácido não ionizado(ou forma neutra), (b)aminoácido ionizado (ou forma zwitteriônica) [15].

Quanto à isomeria, os aminoácidos podem ser apresentados como imagens especulares um do outro sem sobreposição e são chamados de enantiômeros. São eles, o levógiro, que desvia a polarização da luz para a esquerda, e o dextrógiro, que desvia a polarização da luz para a direita; L-aminoácidos e D-aminoácidos (Fig. 3). Somente aminoácidos de tipo L são encontrados em proteínas. Os D-aminoácidos são encontrados em outros locais da natureza como em organismos mais simples ou mesmo no citoplasma de diversas células.

Os aminoácidos podem ser classificados quanto à posição do grupo amina em relação ao grupo carboxílico (Fig. 4). O primeiro carbono após a carboxila é denominado α , o segundo β e assim por diante.

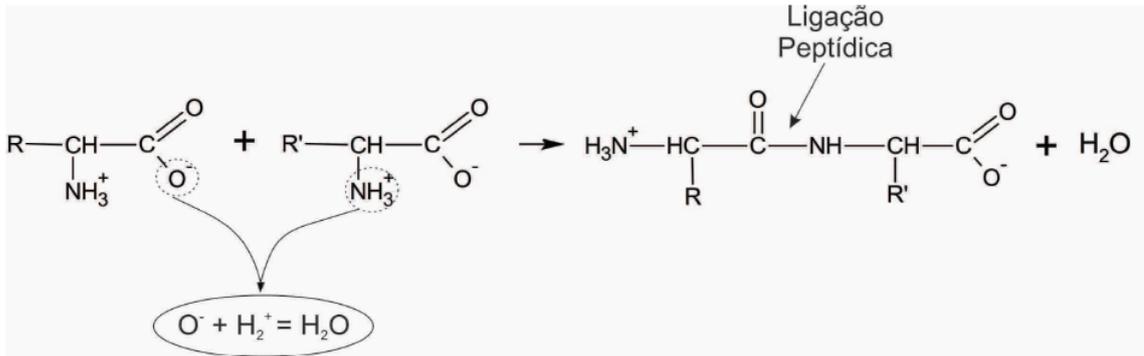


Figura 6: Reação entre dois mono-peptídeos para formar um di-peptídeo [16].

2.1.1 Classificação dos aminoácidos quanto às propriedades do grupo radical

Uma das principais características de uma molécula de aminoácido é o grupo lateral. Os grupos lateral radical são o que torna cada aminoácido diferentes uns dos outros. Quanto à polaridades existem dois tipos de grupos principais: polares e apolares. Estes nomes se referem à forma como os grupos laterais (grupo R) interagem com o ambiente. As ligações químicas polares e não polares permitem os aminoácidos apontar em direção à água (hidrofílico) ou afastando-se da água (hidrofóbico).

a) Apolares, alifáticos: Dentre os aminoácidos apresentados na Fig. 7 podemos destacar: a glicina possui a estrutura mais simples permitindo uma flexibilidade maior; a prolina é o oposto por possuir uma conformação rígida que reduz a flexibilidade estrutural da cadeia proteica; e a metionina é um aminoácido que contém enxofre.

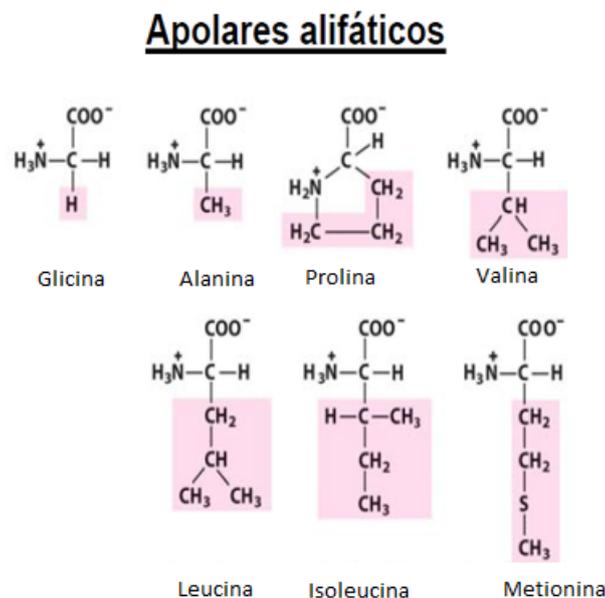


Figura 7: Aminoácidos apolares alifáticos.

b) Apolares, aromáticos: O triptófano absorve luz na região ultravioleta do

espectro (Fig. 8).

Apolares aromáticos

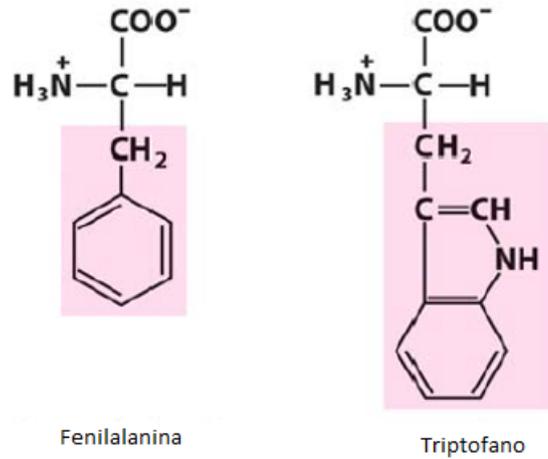


Figura 8: Aminoácidos apolares aromáticos.

c) Polares, não carregados: Contêm grupamentos funcionais que fazem ligações de hidrogênio com a água. A polaridade da serina e da treonina é devido ao grupo hidroxila, enquanto a da asparagina e da glutamina é devida ao grupo amina.

Polares não carregados

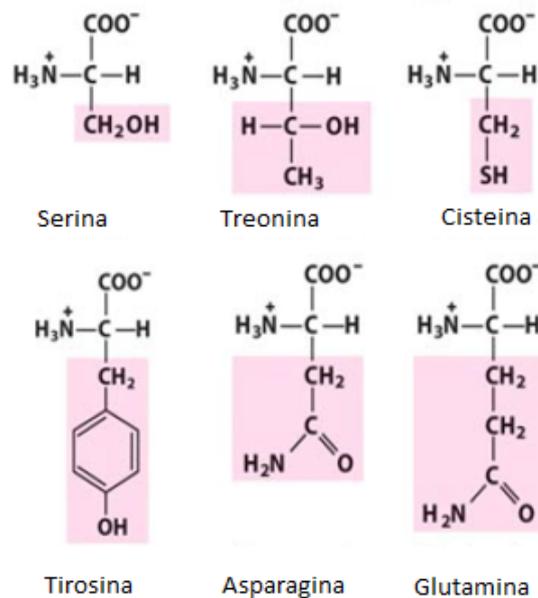


Figura 9: Aminoácidos polares não carregados.

d) Polares, carregado positivamente: Grupamentos R carregados positivamente a pH 7,0. A lisina e a arginina têm um segundo grupo carregado positivamente

Fig. 10.

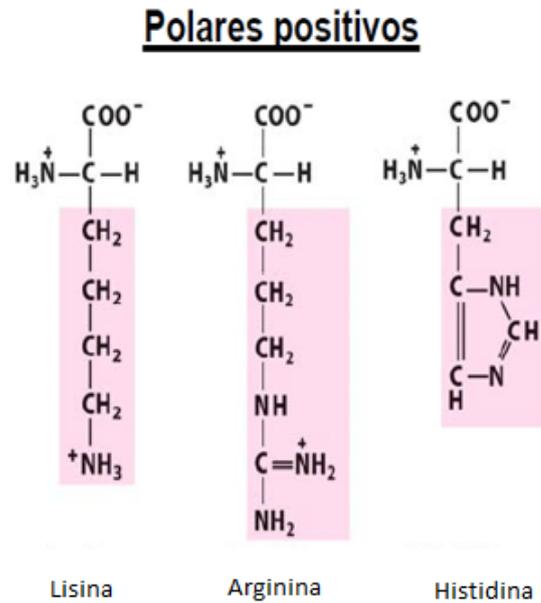


Figura 10: Aminoácidos polares positivos.

e) Polares, carregados negativamente: Grupos R carregados negativamente a pH 7,0. Os dois aminoácidos da Fig. 11 possuem um segundo grupo carboxílico.

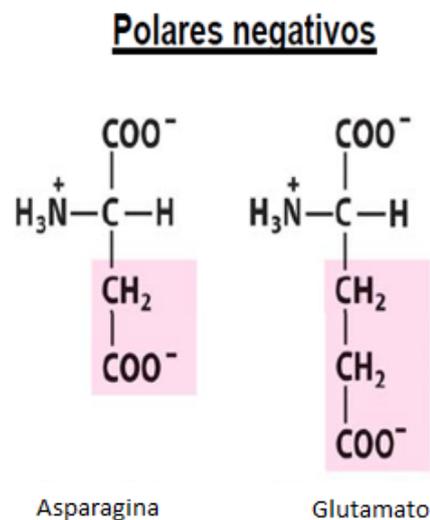


Figura 11: Aminoácidos polares negativos.

2.2 Tipos de vibrações moleculares

As frequências de vibrações moleculares dependem da energia de ligação atômica que determina a força para esticar ou comprimir uma ligação [17]. Todos os átomos de

uma molécula estão constantemente em movimento e a molécula tem, além disso, os movimentos de rotação e translação.

As posições relativas dos átomos em uma molécula não são fixas, variam continuamente em função de vários tipos de vibrações em torno das ligações da molécula [18]. Os átomos de uma molécula podem vibrar, girar ou fazer os dois movimentos simultâneos, podendo ser chamado de espectro vibracional, rotacional ou rotovibracional. Os modos normais de vibração são: estiramento (simétrico e antissimétrico), oscilação, dobramento (tesoura, balança em fase e em oposição de fase) e torção.

2.2.1 *Stretching* (estiramento)

Na vibração do tipo estiramento ocorre uma variação da distância interatômica no eixo de ligação entre os átomos. Os átomos se movem na direção da ligação. A vibração de estiramento em que a distância entre dois átomos em torno de uma ligação varia com o tempo são de dois tipos, simétricos e antissimétricos.



Figura 12: Estiramento simétrico [19].

O estiramento simétrico (Fig. 12) é o modo vibracional onde os dois átomos se aproximam e se afastam do átomo central ao mesmo tempo. Os átomos externos se aproximam e se afastam a distâncias iguais do átomo central, sem variação do momento de dipolo elétrico.

Por outro lado, o estiramento antissimétrico é o modo de vibração onde um átomo se afasta, enquanto o outro se aproxima do átomo central (Fig. 13). Quanto aos átomos externos, um se aproxima e o outro se afasta do átomo central havendo variação do momento de dipolo elétrico.



Figura 13: Estiramento antissimétrico [19].

2.2.2 *Bending* (dobramento ou deformação)

A vibração de deformação envolve a variação do ângulo entre os diferentes átomos. Para o sistema triatômico de átomos, os tipos de vibrações de flexões ou deformação no grupo, são classificadas como *scissoring*, *wagging*, *twisting* e *rocking*.



Figura 14: Deformação do tipo tesoura *scissoring* [19].

Na vibração do tipo *wagging* os átomos se movimentam na mesma direção para frente e para trás do plano (Fig. 15). A unidade estrutural oscila de um lado para o outro em um plano perpendicular ao plano perpendicular da molécula.



Figura 15: a) Vibração de flexão para dentro da página \otimes ; b) Vibração de flexão para fora da página \odot [19].

Na vibração denominada balanço fora de fase os átomos se movimentam um para fora e outro para dentro do plano (Fig. 16).



Figura 16: Balanço fora de fase [19].

Na vibração conhecida por deformação angular do tipo *rocking* os átomos se movimentam angularmente no mesmo sentido em relação ao átomo central (Fig. 17).

2.2.3 Torção

A vibração de torção ocorre em torno do átomo central, os ângulos e as distâncias não se alteram (Fig. 18).

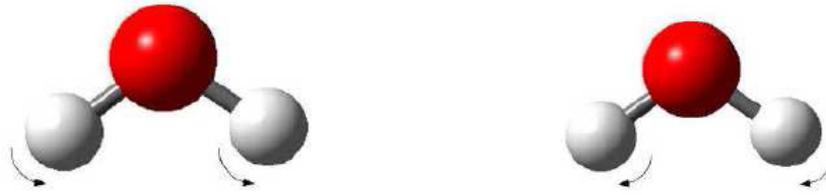


Figura 17: Deformação angular antissimétrica [19].

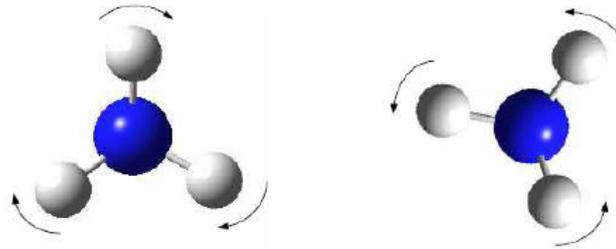


Figura 18: Vibração de torção [19].

2.3 Transição de fase

Estruturas cristalinas podem eventualmente sofrer transições de fase. As transições de fase podem ocorrer devido a fatores externos como variação de temperatura ou pressão. As transições podem ser classificadas de primeira ou de segunda ordem. Para os casos de transição de primeira ordem, o parâmetro de ordem (volume, ângulo monoclinico, polarização, etc.) varia descontinuamente na temperatura (ou pressão) de transição. Eventualmente, se existir um modo mole (*soft mode*), ele também exibirá uma descontinuidade na temperatura crítica. Em uma transição de fase de segunda ordem, o parâmetro de ordem vai continuamente a zero na temperatura crítica. Na verdade, pode-se generalizar as ideias sobre a ordem das transições de fase da seguinte maneira. Uma transição de fase de primeira ordem ocorre quando há descontinuidade em qualquer das três derivadas da energia livre de Gibbs em torno do ponto de transição:

$$S = - \left(\frac{\delta G}{\delta T} \right)_P ; \quad V = \left(\frac{\delta G}{\delta P} \right)_T ; \quad H = \left(\frac{\delta(G/T)}{\delta(1/T)} \right).$$

Adicionalmente, quando há continuidade nas grandezas acima e descontinuidade nas segundas derivadas da energia livre de Gibbs:

$$\frac{c_P}{T} = - \left(\frac{\delta^2 G}{\delta T^2} \right)_P ; \quad \beta V = - \left(\frac{\delta^2 G}{\delta P^2} \right)_T ; \quad c_P = \left(\frac{\delta H}{\delta T} \right)_P ,$$

então a transição de fase é dita ser de segunda ordem.

Uma classificação mais moderna separa as transições em contínua, que cor-

respondem às transições de segunda ordem, quando o calor latente se anula e a variação do parâmetro é contínua, e em descontínuas, que correspondem às transições de primeira ordem, que apresentam calor latente não nulo e variação descontínua no parâmetro de ordem.

2.4 Abordagem geral sobre o ácido gama-aminobutírico (GABA)

O ácido gama-aminobutírico também conhecido como GABA (*Gamma-Aminobutyric Acid*) é um aminoácido de baixo peso molecular e atua como neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central. Ele foi primeiramente sintetizado em 1883, e foi inicialmente conhecido apenas como um produto metabólico de plantas e micróbios. Em 1950, Eugene J. Roberts e Jorge Awapara descobriram que havia quantidades razoáveis de GABA no sistema nervoso central dos mamíferos. No entanto, o GABA não foi aceito como neurotransmissor até a década de 1960, após uma bateria intensa de experimentação fisiológica. Ernst Florey em 1953 demonstrou que o GABA sintetizado quimicamente pode inibir o receptor das lagostas. Esta observação levou Ernst Florey a propor que o GABA atuava como um neurotransmissor inibitório no cérebro. Del Castillo *et al.* demonstraram que o GABA agia espontaneamente nos músculos [20].

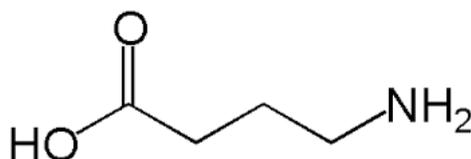


Figura 19: Estrutura molecular do GABA na forma neutra.

O GABA é um neurotransmissor inibitório que é distribuído nos neurônios do córtex e contribui para o controle motor, a visão, além de outras funções corticais. O GABA age como um freio para os neurotransmissores excitatórios que levam à ansiedade. Pequena quantidade de GABA nas pessoas pode causar transtornos de ansiedade. Além disso, em algumas espécies de insetos o GABA atua em receptores excitatórios nos nervos. Alguns medicamentos que aumentam o nível de GABA no cérebro são usados para tratar a epilepsia e para acalmar o tremor de pessoas que sofrem de doenças correlacionadas. Ou seja, de uma forma geral, o GABA induz a inibição do sistema nervoso central causando a sedação. Os neurônios que produzem o GABA são chamados de gabaérgico e têm ação inibitória. Receptores $GABA_C$ foram encontrados na medula espinhal dorsal e na retina de mamíferos. O neurotransmissor clássico ácido gama-aminobutírico (GABA) atua como maior transmissor inibitório no sistema nervoso central de mamíferos adultos [20].

No que diz respeito a estrutura cristalina, o GABA cristaliza-se numa estrutura monoclinica $P2_1/c$ (C_{2h}^5) com 4 moléculas por célula unitária, com parâmetros de rede

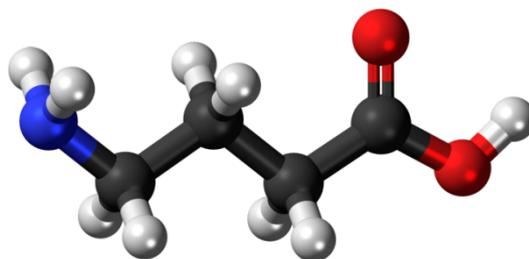


Figura 20: Molécula do GABA.

e outras características fornecidas na Tabela 1. Uma visão geral da célula unitária do cristal de GABA é apresentada na Fig. 21.

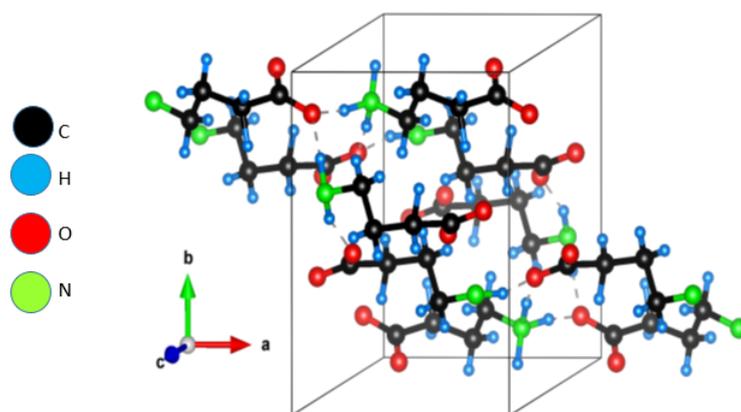


Figura 21: Célula unitária do GABA.

Tabela 1: Dados cristalográficos para o cristal GABA.

Fórmula molecular	$C_4H_9NO_2$
Massa molar	103,12 g/mol
Estrutura	monoclínica
Grupo espacial	$P2_1/c$
Parâmetros de rede	$a = 7,193 \text{ \AA}$ $b = 10,120 \text{ \AA}$ $c = 8,260 \text{ \AA}$
Volume da célula unitária	$601,271 \text{ \AA}^3$
Ângulo monoclinico	$\beta = 110,97^\circ$
pH	6,0 - 8,0 a 103,1 g/l a 25°C (298 K)
Ponto de fusão	195°C
Hidrossolubilidade	103,1 g/l a 20°C (293 K)
Forma	cristalino

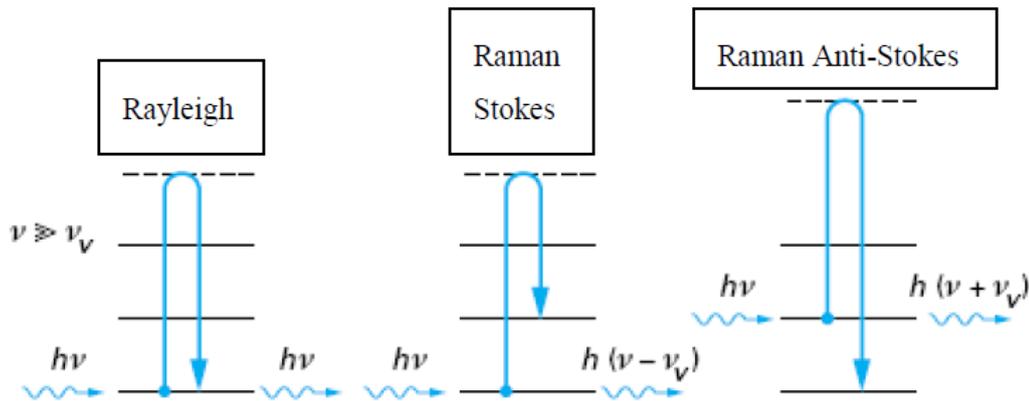


Figura 22: Ilustração esquemática do processo Raman Stokes, Raman anti-Stokes e espalhamento Rayleigh [21].

2.5 Espectroscopia Raman

Observamos na Fig. 22 que no espalhamento Stokes o fóton com energia $h\nu$, incide no estado fundamental da molécula, e é espalhada até um estado virtual de onde decai com energia $h(\nu - \nu_v)$. No espalhamento anti-Stokes o fóton com energia $h\nu$ incide em um estado excitado vibracional, e é espalhado até um estado virtual de onde decai com energia $h(\nu + \nu_v)$ atingindo o estado fundamental da molécula [22]. Em ambos os casos a diferença de energia dispersada, corresponde à diferença energética entre o estado vibracional fundamental e um dos seus estados excitados. No espalhamento Rayleigh, ou espalhamento elástico não há variação energética entre o fóton incidente e o espalhado [23].

A regra de seleção básica no efeito Raman é que a polarizabilidade varie durante a vibração. Ou seja, espera-se, que durante a vibração, a derivada do tensor de polarizabilidade em torno da posição de equilíbrio seja não-nula. A luz incidente (representada por um campo elétrico \vec{E}) atua sobre a distribuição de cargas podendo alterá-la. Como consequência, surge um momento de dipolo induzido (\vec{p}), o qual dependerá do que chamamos polarizabilidade α :

$$\vec{p} = \alpha \cdot \vec{E}. \quad (2.1)$$

A polarizabilidade pode ser expandida em série de Taylor, onde temos:

$$\alpha = \alpha_0 + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 + \dots, \quad (2.2)$$

Considerando que a coordenada q e o campo elétrico podem ser dados por

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_v t),$$

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t),$$

o momento de dipolo induzido será:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q_0 \vec{E}_0 \{ \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] + \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_v)t \}. \quad (2.3)$$

O primeiro termo contém somente a frequência da radiação incidente, correspondente ao espalhamento elástico (espalhamento Rayleigh). O termo com soma de frequência é relativo ao espalhamento anti-Stokes, e o com subtração é o espalhamento Stokes. Observa-se que para haver atividade Raman é preciso que a polarizabilidade varie em torno da posição de equilíbrio.

Para o modelo atômico, a molécula passa a um nível transitório de energia e depois decai para um estado excitado (espalhamento Stokes). O fóton espalhado tem energia igual a da radiação incidente menos a diferença de energia entre os níveis adjacentes. O momento de transição pode ser escrito como:

$$\begin{pmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix}.$$

De forma compacta temos que $\vec{P}_{nm} = (\alpha_{ij})_{nm} \cdot \vec{E}$, onde $(\alpha_{ij})_{nm}$ são as componentes do tensor de polarizabilidade.

Por sua sensibilidade em verificar transições de fases, esse tipo de espectroscopia tem sido usada para analisar materiais submetidos a condições extremas (altas pressões, baixas e altas temperaturas) para monitorar as transições de fases [18]. A grande vantagem desta técnica sobre as demais (infravermelho, espalhamento de nêutrons, etc) é o uso de luz visível, que entre outros, facilita a focalização da excitação sobre a amostra.

De acordo com a Tabela 2, a espectroscopia Raman atua na mesma região espectral que a espectroscopia de absorção no infravermelho. Portanto, a espectroscopia no infravermelho é uma técnica complementar a espectroscopia Raman [22], os modos que aparecem mais fracos em uma das técnicas costumam aparecer mais fortes na outra. Se o material for cristalino e possuir uma simetria de inversão este apresentará modos que se observados com espectroscopia Raman não serão observados no infravermelho, e maneira complementar, os modos observados no espectro infravermelho não será visto no espectro Raman.

Do ponto de vista quântico, o espalhamento Raman é visto como um processo

Tabela 2: Principais técnicas espectroscópicas, com os números de ondas e os tipos de transições quânticas.

Técnica Espectroscópica	Intervalo (cm^{-1})	Origem
Raios- γ	$10^{10} - 10^8$	Rearranjo de partículas elementares no núcleo.
Raios-X	$10^8 - 10^6$	Transições entre níveis de energia de elétrons internos e átomos e moléculas.
UV visível	$10^6 - 10^4$	Transições entre níveis de energia de elétrons de valência e átomos e moléculas.
Raman e Infravermelho	$10^4 - 10^2$	Transições entre níveis vibracionais.
Microondas	$10^2 - 1$	Transições entre níveis rotacionais.
Ressonância eletrônica de spin (RES)	$1 - 10^{-2}$	Transições entre níveis de spin de elétron em um campo magnético.
Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	$10^{-2} - 10^{-4}$	Transições entre níveis de spin nuclear em um campo magnético.

de terceira ordem no qual o fóton incidente excita um par elétron-buraco virtual; então o elétron é espalhado por um fônon e decai de volta ao buraco para emitir o fóton espalhado [24].

Os níveis de energia vibracional de um sistema molecular diatômico, tratado aproximadamente como oscilador harmônico quântico, é dado por:

$$E_\nu = h\nu \left(n + \frac{1}{2} \right). \quad (2.4)$$

Geralmente, os espectroscopistas usam unidades em cm^{-1} (número de onda) para visualizar as transições vibracionais.

$$\frac{E_n}{hc} = G(n) = \omega \left(n + \frac{1}{2} \right), \quad (2.5)$$

em que ω é a frequência do oscilador em cm^{-1} , definido da seguinte forma $\omega = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda}$. Embora a unidade cm^{-1} seja dada em número de onda, ainda é costume em espectroscopia vibracional denomina-la como frequência.

2.5.1 Aplicações da célula de pressão hidrostática

No fim da década de 1920 do século passado o físico americano P. W. Bridgman construiu a primeira célula de pressão com bigornas para gerar altas pressões. Embora o seu modelo não tenha sido com extremos de diamantes como são usados hoje, Bridgman recebeu o prêmio Nobel de Física por seu pioneirismo no campo da física de altas pressões.

De uma forma geral, a aplicação de altas pressões em uma amostra produz diminuição nas distâncias interatômicas de equilíbrio dos compostos, eventualmente modificando as propriedades das amostras, causando mudanças nas interações moleculares dentro de um sólido; como consequência, ocorrem alterações nos seus espectros Raman. As principais mudanças estão associadas com variações nas frequências, larguras de linha e intensidades das vibrações. As variações das frequências são produzidas pelas alterações nas constantes de forças, enquanto que as variações nas larguras de linha e intensidades são provocadas pela variação nas vidas médias dos fônons.

A anarmonicidade nos cristais é proveniente de duas contribuições distintas: (i) a contribuição implícita, que está associada com as variações nas dimensões dos parâmetros de rede, e (ii) a contribuição explícita que está associada com o número de ocupação dos fônons. As pressões sobre um cristal produzem anarmonicidade explícita enquanto que as variações de temperatura produzem simultaneamente variações implícitas e explícitas na anarmonicidade.

Bigornas de diamantes são usadas para gerar altas pressões porque o diamante

é a substância mais dura conhecida e por ser transparente a luz para uma ampla faixa de energia (infravermelho, visível, ultravioleta e raios-X). Aqui nós utilizamos a célula de pressão a fim de verificar mudanças estruturais em um cristal de aminoácido submetidos a altas pressões como será visto mais adiante.

Equipamentos de altas pressões em cristais de aminoácidos foram realizados pioneiramente no Laboratório de Altas Pressões do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará. O primeiro trabalho publicado na literatura apresentou uma investigação em cristais de L-asparagina monohidratada [25], que foi submetido a pressões de até 2,0 GPa. Deste estudo observou-se que até pressões de 1,3 GPa, o referido cristal apresenta três diferentes transições de fase conforme se pode inferir a partir da análise dos espectros Raman na região dos modos da rede. Esse resultado foi interpretado como consequência de uma série de perturbações na complexa rede de ligações de hidrogênio que ligam as moléculas de asparagina entre si e entre elas e as moléculas de água na estrutura do cristal. Na verdade, as novas estruturas de altas pressões do cristal de L-asparagina monohidratada ainda estão por serem identificadas.

Um outro trabalho realizado com aminoácido proteico no mesmo laboratório investigou a estrutura da L-alanina [26]. Nesse estudo os autores argumentaram, baseado em resultados de espectroscopia Raman que a L-alanina sofre uma transição de fase em aproximadamente 2,2 GPa. Essa transição é acompanhada por forte variação das intensidades das bandas Raman de mais baixa energia, isto é, as bandas localizadas em 42 e 48 cm^{-1} . Tal fato pode ser considerado bastante sugestivo, haja vista que já foram observadas anomalias com a temperatura exatamente nestes dois modos, e que foram considerados consequência da localização de energia vibracional. O aspecto mais curioso é que se imaginou que a transição levaria a simetria de ortorrômbica para tetragonal, mas trabalhos posteriores não confirmaram essa modificação de simetria. Essa questão, portanto, continua um ponto não completamente entendido.

A análise dos cristais de aminoácidos sob altas pressões foram feitas tanto utilizando-se espectroscopia Raman quanto difração de raios-X. Neste último caso o ideal é a utilização de radiação síncrotron, uma vez que as amostras colocadas no interior da célula de pressão são de dimensões bastante diminuídas. Assim, a espectroscopia Raman associada à técnica de altas pressões com bigorna de diamantes tem se revelado como o principal instrumento de investigação das propriedades vibracionais de cristais de aminoácidos. Para citar um exemplo paradigmático dessa junção de técnicas, lembra-se aqui do belo trabalho realizado no cristal de L-metionina [27]. No referido trabalho a evolução dos espectros Raman apresentaram uma impressionante transição de fase em 2,1 GPa. Essa transição foi notada através da observação do desaparecimento de duas bandas

de intensidade média localizadas ente 600 e 700 cm^{-1} e o concomitante aparecimento de uma banda de altíssima intensidade no mesmo intervalo de frequência. Após a transição de fase apenas a banda de alta intensidade fica presente no espectro Raman. Enfim, este é um exemplo que mostra que a técnica Raman pode apresentar de uma forma clara e contundente a ocorrência de mudanças de fase em cristais da família de moléculas que será o tema de pesquisa dessa Tese.

2.6 Espectroscopia Infravermelho

A espectroscopia infravermelho é uma importante ferramenta para análise e identificação de materiais e estruturas de moléculas. A espectroscopia na região do infravermelho determina a frequência e a intensidade de absorção, sendo uma técnica bastante utilizada na determinação das estruturas e na identificação de compostos orgânicos e inorgânicos devido à presença de diferentes grupos funcionais [28]. Grupos nessa região absorvem em comprimentos de onda específicos [29]. Os picos de absorção são mais acentuados quando comparados com picos de absorção do ultravioleta e do visível. A região de infravermelho do espectro eletromagnético varia em número de ondas no intervalo 2 – 15 μm ou 400 – 4000 cm^{-1} . Na prática, consideramos três regiões: *Near Infrared Region* (12500 - 4000 cm^{-1}), *Mid-Infrared Region* (4000 - 400 cm^{-1}) e a *Far-Infrared Region* (400 - 10 cm^{-1}).

A absorção no infravermelho ocorre quando a interação da molécula com a luz produz uma mudança no momento de dipolo durante a vibração normais. A título de comparação, o espalhamento Raman ocorre quando o movimento molecular produz uma mudança na polarizabilidade da molécula [17].

Existem algumas vantagens para a utilização da espectroscopia do infravermelho, entre elas podemos destacar:

- i) permite a análise de uma substância que não é muito estável, começando a análise antes de começar a decomposição;
- ii) a reflexão especular é aumentada e a perda de energia no processo é diminuída;
- iii) pode ser utilizada para analisar quase todos os compostos orgânicos e inorgânicos;
- iv) não tem restrição de fase, pode ser sólido, líquido e gás [30].

As espectroscopias Raman e infravermelho são necessárias para descrever completamente os movimentos vibratórios de moléculas [31] ou de cristais, quando os mesmos formam estruturas centrossimétricas. Podemos verificar, por exemplo, que vibrações

simétricas e grupos apolares são mais facilmente estudadas pelo Raman, enquanto que vibrações antissimétricas e grupos polares, por espectroscopia infravermelho [28].

A regra de seleção básica para ocorrência da absorção infravermelho é que o momento de dipolo varie durante a vibração, mais precisamente que durante a vibração a derivada do momento de dipolo em torno da posição de equilíbrio seja não-nula. A absorção altera a amplitude vibracional molecular. De uma forma geral, a técnica de absorção infravermelho possui bastantes aplicações no estudo de cristais de aminoácidos. Na presente Tese a técnica será utilizada auxiliarmente no estudo de espectroscopia Raman.

2.7 Difração de raios-X

O final do século XIX foi marcado por várias descobertas na Física. Nesse campo, muitos trabalhavam com um aparelho chamado válvula de Hittorf para estudar a emissão de raios catódicos tentando descobrir suas propriedades. No final de 1895, o físico W. C. *Röntgen* (1845-1923) estava realizando experimentos com o seu tubo de raios catódicos quando, por acaso, a folha de papel que era usada como chapa fotográfica coberta com uma substância química começou a brilhar. Ele supôs ser um raio que partia do tubo de raios catódicos [32]. Em virtude da sua natureza ser desconhecida, chamou de raios-X [14]. *Röntgen* repetiu o experimento várias vezes colocando objetos entre a válvula e a chapa. Todos pareciam ser transparentes, mas quando sua mão passou acidentalmente na frente da válvula surgiu uma fotografia de seus ossos, com o detalhe do anel que usava. Inspirado pelos raios-X, Becquerel procurou vê-los em minerais fluorescentes acabou descobrindo a radioatividade. *Röntgen* foi agraciado com o prêmio Nobel de Física em 1901 [33].

Por sua vez, os físicos ingleses Sir W. H. Bragg e seu filho W. L. Bragg desenvolveram em 1913 uma técnica para explicar as estruturas cristalinas, com o qual receberam o Prêmio Nobel em 1915 [32]. A análise de DRX (difração de raios-X) é baseada na interferência de raios-X e uma amostra cristalina na qual a radiação é filtrada e dirigida para a amostra. A interação dos raios com a amostra produz uma interferência construtiva que satisfaz à lei de Bragg [33]:

$$2d\sin\theta = n\lambda, \quad (2.6)$$

onde d é o espaçamento entre os planos de difração, θ é o ângulo de incidência, n é qualquer número inteiro, e λ é o comprimento de onda do feixe. A lei de Bragg é a condição para que ocorra interferência construtiva, uma lei simples mas muitíssimo poderosa, sendo utilizada até os dias de hoje.

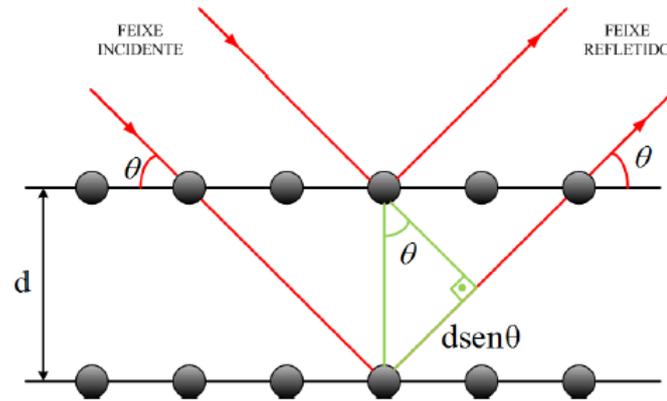


Figura 23: Reflexão de um feixe de raios-X por planos de um cristal.

A radiação utilizada nesta técnica possui um comprimento de onda da ordem de alguns ângstrons, ou seja, a mesma ordem do espaçamento entre os átomos em uma cristal. É por esta razão que a “luz” dos raios-X é difratada pelos materiais cristalinos.

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Neste capítulo apresentaremos informações sobre a amostra utilizada nos experimentos e uma descrição dos equipamentos utilizados nos experimentos de espectroscopia Raman e infravermelho e difração de raios-X.

3.1 A amostra ácido gama-aminobutírico

A amostra de GABA utilizada neste trabalho é pó comercial fabricado pela Sigma Aldrich (referência do produto: A5836 - 10g, lote: 1446172V na mostrado Fig. 24). Ela apresenta-se com pureza maior do que 98 %. A amostra foi usada na forma que foi obtida do fabricante.

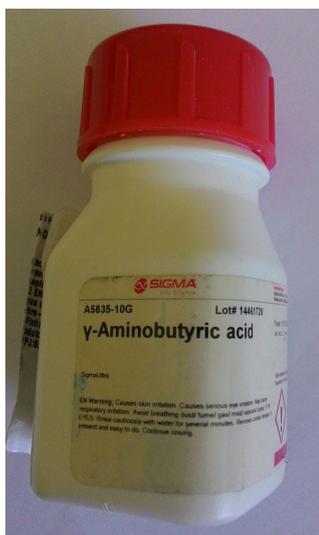


Figura 24: Amostra GABA.

3.2 Sistema de experimentos de espectroscopia Raman

Para a obtenção dos espectros Raman foi utilizado um espectrômetro T64000 da Jobin Yvon, um detector CCD (*Charge-Coupled Device*) resfriado a nitrogênio líquido (Fig. 25). Uma banda centrada em 521 cm^{-1} de uma amostra padrão de silício cristalino foi utilizado para aferir o equipamento. Para focalizar o laser sobre a amostra utilizamos um microscópio *Olympus* modelo BX40. O laser de argônio foi a fonte excitadora usando a linha 514 nm com uma potência típica de 0,18 W na saída do equipamento. Usamos uma lente com aumento de 20 vezes e uma distância focal de 20,5 mm para focaliza o laser sobre a amostra dentro do criostato ou da célula de pressão. Além dos equipamentos descritos anteriormente, foi utilizado o criostato modelo THMS da *Air Products and Chemicals Inc.*

O controle de temperatura foi feito por um controlador de temperatura da *Lake Shore* 330 usado para controlar o resfriamento da amostra submetida à vácuo.

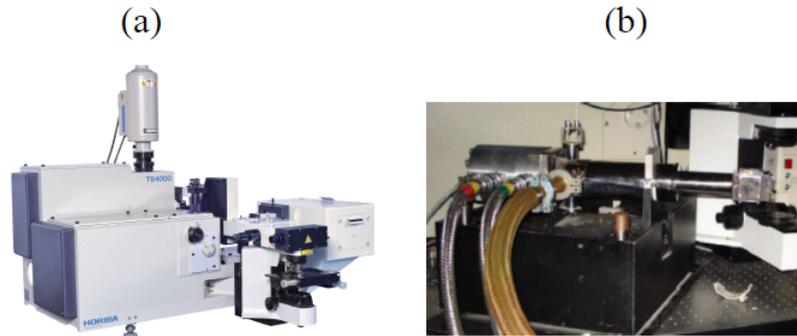


Figura 25: (a) Espectrômetro T64000 triplo monocromador da Jobin Yvon; (b) Criostato da APD Cryogenics modelo THMS 600.

3.3 Sistema de experimentos de espectroscopia de infravermelho

Para a realização de medidas de espectroscopia infravermelho a amostra foi macerada junto com KBr (brometo de potássio) e prensada com o intuito de forma de uma pastilha. A pastilha é colocada em um recipiente apropriado transformando-se em um disco, e realizando-se assim as medidas de absorção no infravermelho.

Foi utilizado um espectrômetro FT-IR da *Bruker Vertex 70 V* utilizando a técnica de transmitância com intervalo espectral compreendido entre 400 e 4000 cm^{-1} . Todas as medidas foram realizadas sob vácuo, com 256 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} (Fig. 26).

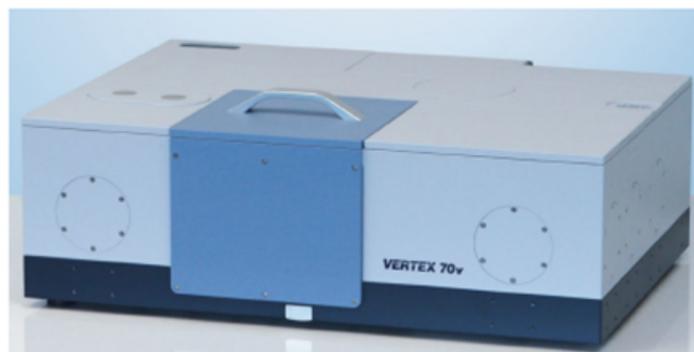


Figura 26: Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) utilizado.

3.4 Experimentos de Difração de Raios-X

Para confirmar a estrutura da amostra estudada e verificar possíveis mudanças estruturais com a temperatura foram realizados, o experimentos de difração de raios-X da

amostra em pó à temperatura ambiente e depois com variação de temperatura utilizando um difratômetro de raios-X, modelo D8 *Advance* da *Bruker* equipado com câmara de temperatura. Uma radiação Cu-K α ($\lambda = 1,540562 \text{ \AA}$) foi usada com o difratômetro operando a 40 kV/45 mA. Os padrões de difração foram obtidos no intervalo angular de $4 - 40^\circ$ (2θ) com de passo de $0,001^\circ(2\theta)$ e tempo de contagem de 5 segundos por passos.

3.5 Sistema de medidas de pressão

Além do aparato utilizado nas medidas Raman descrito anteriormente, utilizou-se também uma câmara de pressão hidrostática para as medidas a altas pressões.

A Fig. 27 é uma representação esquemática da parte central da célula de diamantes. Assim, a câmara onde está localizada a amostra (gaxeta) é pressionada contra o diamante fixo [34].

A calibração da pressão foi realizada utilizando o método do deslocamento das linhas de luminescência R_1 e R_2 do rubi. As energias R_1 e R_2 (que representam transições eletrônicas do Cr^{3+}) são funções lineares da pressão.

O valor de pressão em unidades de GPa no interior da célula pode ser calculado usando a seguinte relação empírica:

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

onde, i pode ser de 1 ou 2 e ω_{Ri}^0 em unidades de cm^{-1} é a energia das linhas R_1 e R_2 à pressão atmosférica e P é a pressão (dada em GPa).

Como fluido transmissor de pressão foi utilizada o óleo mineral (Nujol) que não interage com a amostra e manteve-se hidrostático em todo intervalo de pressão investigado, de 0,1 a 7,1 GPa, conforme discussão mais adiante.

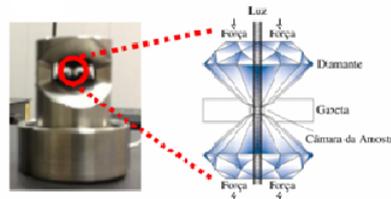


Figura 27: Célula a extremo de diamante com membranas.

Na montagem do experimento, uma gaxeta foi colocada entre os diamante e, em seguida, foram inseridos o rubi e a amostra GABA no furo da gaxeta (diâmetro do furo: $110 \mu m$; espessura: $43 \mu m$; pressão de indentação: 28 bar). Na sequência, o pistão foi colocado por cima e a célula foi fechada torcendo-se o capô sobre o pistão. O meio compressor tem como principal finalidade manter a amostra sobre pressão hidrostática,

permitindo dessa forma que toda a estrutura cristalina do material esteja submetida a mesma tensão. O orifício é preenchido com o líquido compressor e então é fechado. Para evitar a aplicação de uma pressão não uniforme no interior da célula, é necessário que as janelas sejam alinhada paralelamente utilizando luz visível do microscópio, através de ajuste do diamantes. Após o fechamento, a célula de pressão é inserida em uma câmara conectada a uma bomba; tal bomba injeta gás na membrana e a pressão aumentada sobre esse capô fazendo com que a membrana nele contida pressione o pistão contra o corpo da célula, o que acarreta um aumento adicional da pressão sobre a amostra. Toda essa operação de montagem é realizada com o auxílio de um microscópio óptico. Uma das principais vantagens desta célula consiste numa maior precisão no controle da pressão interna da mesma, uma vez que tem-se um controle muito preciso da quantidade de gás que preenche a membrana. Ao utilizar-se o nujol o ambiente permanece perfeitamente hidrostática até uma pressão de 7 GPa. No caso dos experimentos apresentados nessa Tese, o controle da hidrostaticidade foi realizado acompanhando-se as linhas de emissão R_1 e R_2 da luminescência do cromo no rubi. Como não houve deformação das duas linhas do rubi até às pressões mais altas conseguidas, então significa que o ambiente no interior da célula se manteve perfeitamente hidrostático.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados diversos resultados relativos às propriedades estruturais e vibracionais do cristal de GABA. Inicialmente, faz-se uma discussão acerca da identificação dos modos normais de vibração desse cristal. Para isso utilizam-se resultados obtidos em outros cristais de aminoácidos já publicados na literatura. Esse auxílio é possível porque o GABA, também sendo um aminoácido, possui muitas estruturas comuns a esta família de materiais. Em segundo lugar, é discutido o comportamento do cristal de GABA quando submetido a diversas condições termodinâmicas como diferentes temperaturas e diferentes pressões. Como será visto, embora o material seja estável num grande intervalo de temperatura – como também seja verificado com outros cristais de aminoácidos, embora não seja uma regra geral – ele sofre uma transição de fase em valores de pressão relativamente baixos. Possivelmente isto se deve à forma como as ligações de hidrogênio mantêm as moléculas de GABA empacotadas na estrutura cristalina, como teremos oportunidade de discutir mais adiante. Desta forma, espera-se fornecer uma contribuição ao entendimento das propriedades físicas deste importante material, em particular no que diz respeito às propriedades vibracionais e estruturais.

4.1 Espectroscopia Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente

Antes de discutir os modos de vibração observados nos espectros Raman e infravermelho do GABA, é de importância realizar uma análise da distribuição dos modos normais de vibração do cristal que possui simetria com grupo espacial C_{2h}^5 . Dessa informação percebe-se que o cristal possui um centro de simetria e, como consequência, as representações irreduzíveis que contêm os modos ativos no infravermelho não contêm os modos ativos no Raman, e vice-versa. Cada molécula de GABA ($C_4H_9NO_2$) possui 16 átomos e uma vez que há 4 moléculas por célula unitária, significa que 64 átomos darão origem a 192 modos normais de vibração.

Os modos acústicos do GABA são distribuídos em termos das representações irreduzíveis do grupo fator C_{2h} como

$$\Gamma_{ac.} = 1A_u + 2B_u,$$

enquanto que os modos ópticos são distribuídos como

$$\Gamma_{ot.} = 48A_g + 47A_u + 48B_g + 46B_u$$

Desses modos, aqueles pertencentes às representações A_g e B_g são Raman ativos, enquanto que os modos A_u e B_u são infravermelhos ativos.

Nessa seção são apresentados e discutidos os modos de vibração de um cristal de GABA observados à temperatura ambiente e pressão atmosférica. A Fig. 28 apresenta o espectro Raman do GABA na região espectral entre 20 e 400 cm^{-1} . Observa-se que os modos abaixo de 150 cm^{-1} são bastante mais intensos quando comparados com aqueles da região entre 150 e 400 cm^{-1} .

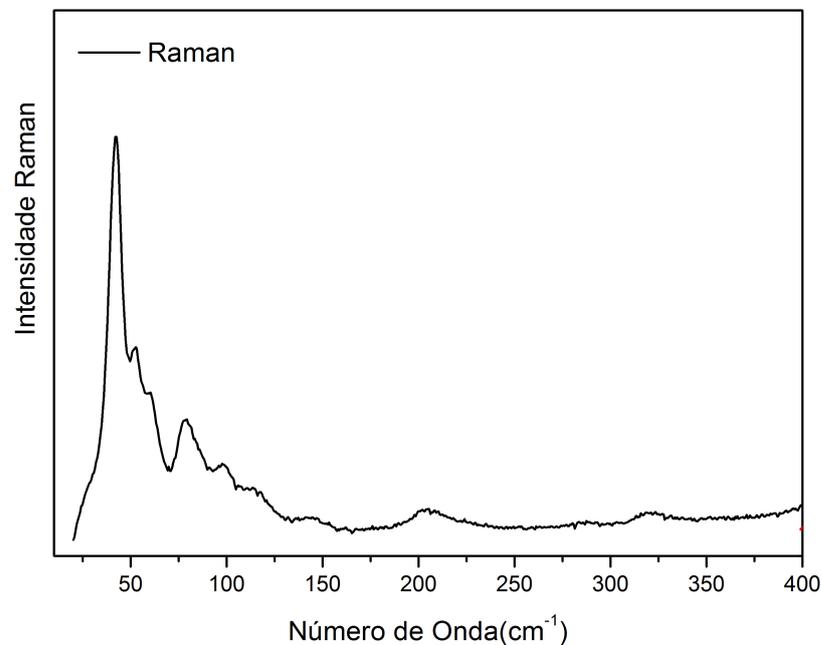


Figura 28: Espectro Raman do GABA registrado à temperatura ambiente na região espectral entre 20 a 400 cm^{-1} .

O estudo do comportamento dos modos vibracionais de um cristal pode fornecer importantes informações sobre a estabilidade da estrutura cristalina. Em particular, o comportamento dos modos associados à rede - uma vez que dão informação sobre a simetria da célula unitária - possuem uma importância ímpar para a discussão da estabilidade cristalina. A Tabela 3 apresenta a classificação dos modos ativos do GABA através da técnica de espectroscopia Raman.

A Fig. 29 apresenta os espectros Raman e infravermelho de um cristal de GABA registrados à temperatura ambiente na região espectral entre 400 a 1200 cm^{-1} . As bandas possuem intensidades diferentes porque os modos ativos no Raman e no infraver-

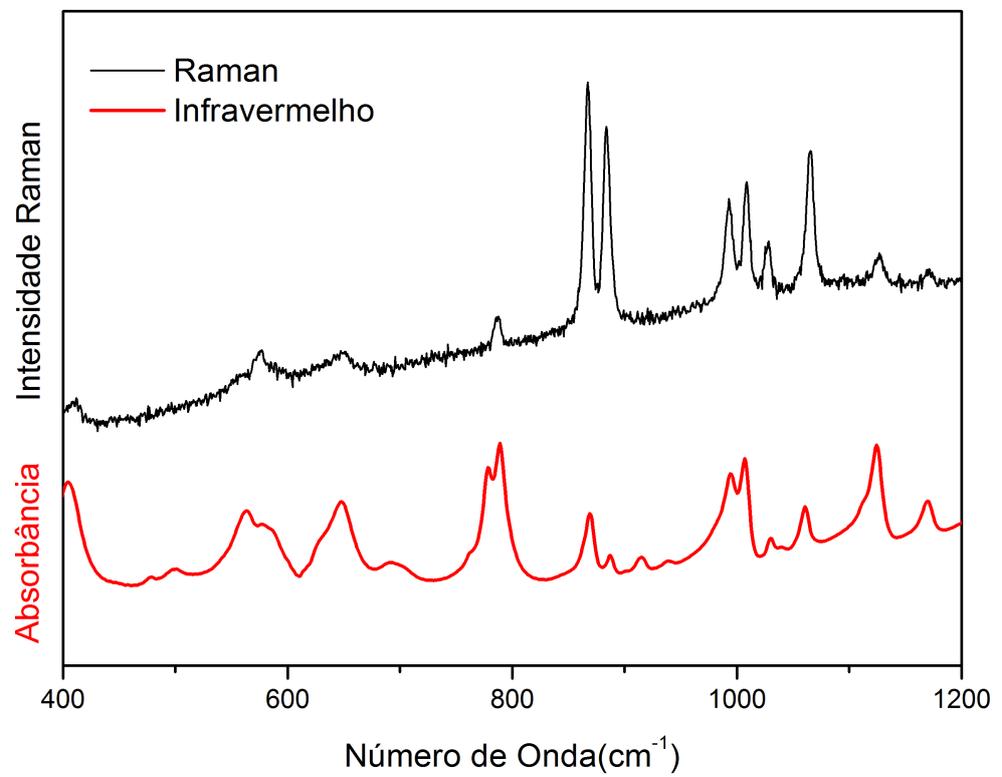


Figura 29: Espectro Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 400 a 1200 cm^{-1} .

melho são originados de dois fenômenos físicos diferentes, respectivamente, variação da polarizabilidade e variação do dipolo elétrico. A banda de baixa intensidade em torno de 400 cm^{-1} é classificada tentativamente como torção do NH_3^+ , $\tau(NH_3^+)$, aparecendo com maior intensidade no espectro infravermelho. Esta banda tem importância pelo fato de estar relacionada às ligações de hidrogênio.

Outra banda de grande importância, no que diz respeito às vibrações relacionadas com as ligações de hidrogênio, é aquela que aparece em $571 - 587\text{ cm}^{-1}$; na verdade, trata-se de um duplete no espectro Raman que é classificado tentativamente como *rocking* do CO_2^- , $r(CO_2^-)$. É interessante destacar que para a maioria dos cristais de aminoácidos esta vibração é encontrada abaixo de 560 cm^{-1} [16]. No espectro de infravermelho o $r(CO_2^-)$ aparece com maior intensidade.

Uma banda de baixa intensidade no espectro Raman do GABA e de média intensidade no espectro de infravermelho observado em aproximadamente 640 cm^{-1} foi classificada tentativamente como um modo de dobramento do grupo CO_2^- , $\delta(CO_2^-)$. Tal classificação possui embasamento na identificação que já foi realizada em cristais de alfa-aminoácidos, como a L-alanina e a L-leucina. No primeiro foi observada uma vibração $\delta(CO_2^-)$ exatamente em 640 cm^{-1} [35], enquanto no segundo uma vibração equivalente foi observada em 664 cm^{-1} [36].

No espectro Raman do GABA são observadas duas bandas intensas entre 800 e 900 cm^{-1} ; no espectro infravermelho na mesma região aparecem bandas de baixa intensidade. De uma maneira geral, modos de vibração entre 800 e 1000 cm^{-1} podem ser classificados como estiramentos CC e entre 1000 e 1200 cm^{-1} como estiramentos CN. Fundamentalmente são vibrações de átomos de carbono pertencentes ao esqueleto da estrutura e de átomos de carbono ligados ao nitrogênio do grupo NH_3 . Tal classificação encontra base na literatura relacionada ao estudo dos aminoácidos. Por exemplo, para os cristais de L-isoleucina [37] estas vibrações ocorrem no intervalo entre 872 e 1087 cm^{-1} ; na L-asparagina monohidratada [38] tais vibrações foram reportadas entre 890 e 1082 cm^{-1} ; e na L-valina [39], entre 902 e 1068 cm^{-1} . Desta forma, a classificação tentativa fornecida na Tabela 3 é bastante compatível com a classificação equivalente em outros cristais de aminoácidos.

A Fig. 30 apresenta o espectro Raman e o espectro infravermelho do GABA no intervalo espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1} . No espectro Raman as bandas são mais intensas na região abaixo de 1500 cm^{-1} . Bandas no espectro Raman em 1258 e em 1290 cm^{-1} são classificadas tentativamente como deformação CH, $\delta(CH)$ e torção do grupo CH_2 , $\tau(CH_2)$. No espectro infravermelho o destaque fica para a banda larga e relativamente intensa observada em torno de 1600 cm^{-1} , que é associada ao estiramento $C = O$.

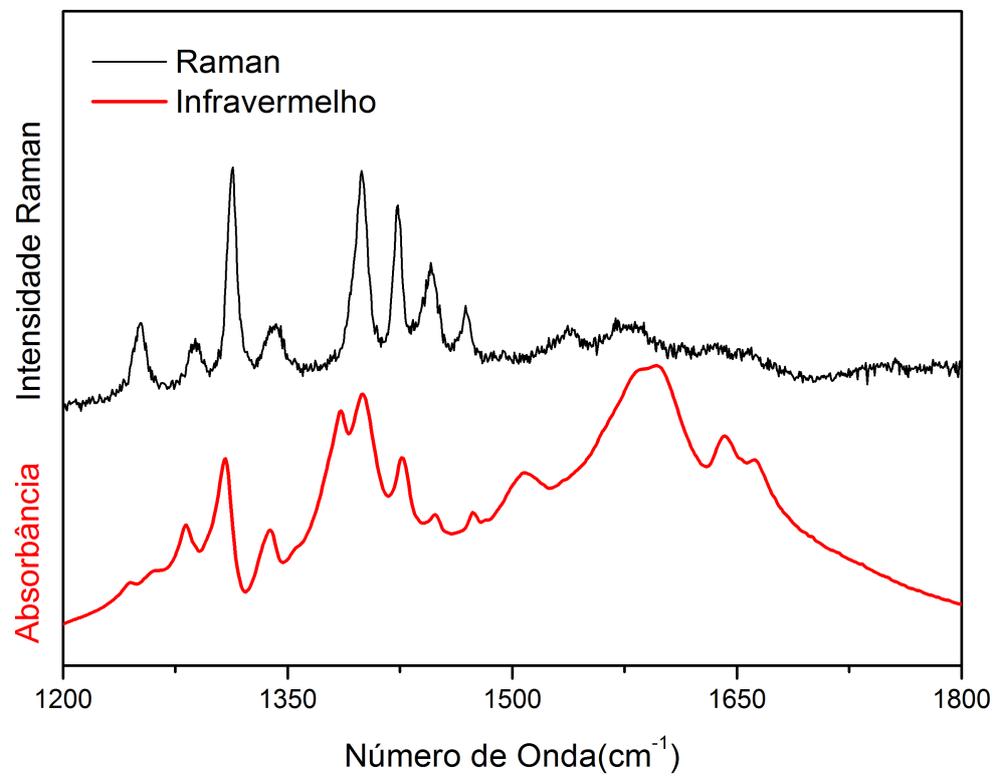


Figura 30: Espectros Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 1200 a 1800 cm^{-1} .

O fato desta vibração aparecer com baixa intensidade no espectro Raman é explicado pelo grande momento de dipolo associado com este modo de vibração - portanto produzindo um intensa banda infravermelho - e uma pequena polarizabilidade, consequentemente, uma baixa intensidade Raman.

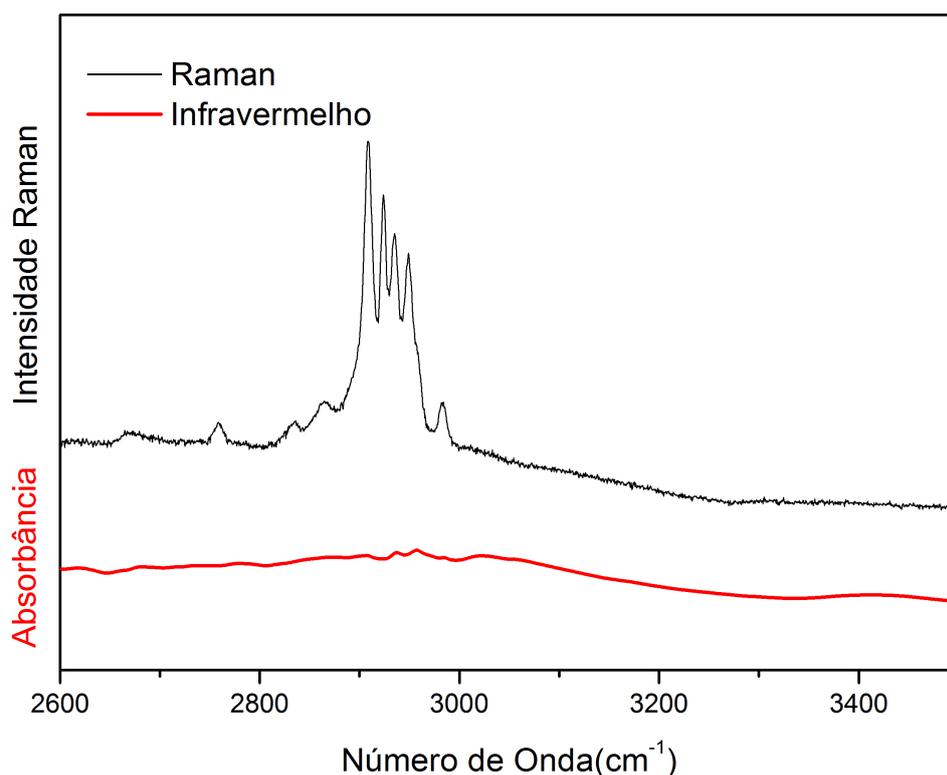


Figura 31: Espectros Raman e infravermelho do GABA à temperatura ambiente na região espectral entre 2600 a 3500 cm^{-1} .

A Fig. 31 apresenta os espectros Raman e infravermelho de um cristal de GABA na região espectral entre 2600 a 3500 cm^{-1} . Nessa região espectral são esperados serem observadas bandas associadas aos estiramentos da unidade CH e CH_2 , respectivamente, $\nu(CH)$ e $\nu(CH_2)$. Nessa região também é possível aparecer uma banda associada ao estiramento do NH_3^+ , $\nu(NH_3^+)$, embora ela seja de baixa intensidade no espectro Raman e, eventualmente, não seja visível. Quando o cristal orgânico é hidratado a molécula possui grupo do tipo OH , também aparece uma banda larga no espectro Raman em torno de 3400 cm^{-1} . O fato de não existir tal banda no espectro Raman na Fig. 31 comprova que o cristal da GABA estudado encontra-se na forma anidra. No que diz respeito ao espectro infravermelho ele apresenta-se como um banda larga, característica dessa região espectral. Um resumo da identificação dos modos vibracionais que aparecem nessa região é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Classificação dos modos ativo no Raman do GABA observados no intervalo entre 40 e 3000 cm^{-1} .

MODO RAMAN(cm^{-1})	CLASSIFICAÇÕES
43	Rede
52	Rede
70	Rede
90	Rede
100	Rede
120	Rede
140	Rede
215	$\tau(\text{CO}_2^-), \delta(\text{CN})$
325	$r(\text{C} = \text{O}), \delta_{tw}(\text{CH}_2)$
400	$\tau(\text{NH}_3^+)$
414	$\tau(\text{NH}_3^+)$
464	$\tau(\text{NH}_3^+)$
571	$r(\text{CO}_2^-)$
587	$r(\text{CO}_2^-)$
647	$\nu(\text{CC})$
784	$\delta(\text{CO}_2^-)$
868	$\nu(\text{CC})$
886	$\nu(\text{CC})$
994	$\nu(\text{CC})$
1012	$\nu(\text{CC})$
1031	$\nu(\text{CN})$
1069	$\nu(\text{CN})$
1130	$\delta(\text{NH}_3^+)$
1178	$r(\text{NH}_3^+)$
1258	$\delta(\text{CH})$
1290	$\tau(\text{CH}_2)$
1315	$\delta(\text{CH})$
1340	$\delta(\text{CH})$
1402	$\nu(\text{CO}_2^-), \delta(\text{NH}), \delta(\text{CH}_2)$
1425	$\nu_s(\text{CO}_2^-), \nu(\text{CC}), \nu(\text{CN})$
1444	$\nu_s(\text{CO}_2^-), \delta(\text{CH}_2), \nu(\text{CN})$
1470	$\delta_{sc}(\text{CH}_2)$
1544	$\delta_{sc}(\text{CO}_2^-)$
1559	$\delta(\text{NH}_3^+)$
1590	$\nu_a(\text{CO}_2^-), \nu(\text{C} = \text{O}), \delta_a(\text{NH}_3^+), \delta_{sc}(\text{NH}_2)$
2862	
2905	$\nu(\text{CH}), \nu(\text{CH}_2)$
2920	$\nu(\text{CH}), \nu_a(\text{CH}_2)$
2935	$\nu(\text{CH}), \nu(\text{CH}_2)$
2952	$\nu(\text{CH}), \nu_a(\text{CH}_2)$
2982	$\nu(\text{CH}), \nu_a(\text{CH}_2)$

ν \rightarrow *stretching* (estiramento); ν_s \rightarrow *stretching* simétrico; ν_a \rightarrow *stretching* antissimétrico; δ \rightarrow *bending* (dobramento ou deformação); δ_{sc} \rightarrow *scissoring* (corte ou tesoura); δ_w \rightarrow *wagging* (balanço em fase); δ_{tw} \rightarrow *twisting* (balanço fora de fase); r \rightarrow *rocking* (oscilação); τ \rightarrow torção.

4.2 Espectroscopia Raman do GABA à baixas temperaturas

A Fig. 32 apresenta a evolução dos espectros Raman do cristal de GABA no intervalo de temperatura entre 20 e 300 K na região espectral entre 20 e 350 cm^{-1} . Observa-se que o início da região espectral investigada abrange os modos ópticos de mais baixa energia. Aqui é necessário se fazer uma rápida discussão. De uma maneira geral estes modos de baixa energia têm sido identificados na literatura como modos de rede como já destacado na seção anterior. Entretanto, tem se tornado cada vez mais claro que modos de vibração de partes relacionadas aos modos internos das moléculas também podem estar presentes. Isso pode ser verificado, por exemplo, através de cálculos de primeiros princípios, ou mesmo, por metodologias nas quais o espectro do cristal é comparado com o espectro da substância dissolvida na água [40]. De qualquer forma, a partir de uma ou outra metodologia, pode-se dizer que esta região envolve tanto modos da rede quanto, possivelmente, alguns modos internos. É possível também que modos internos estejam acoplados a modos de rede e possam aparecer nessa região. Assim por simplicidade, identificou-se os modos com números de onda inferiores a 140 cm^{-1} como modos da rede.

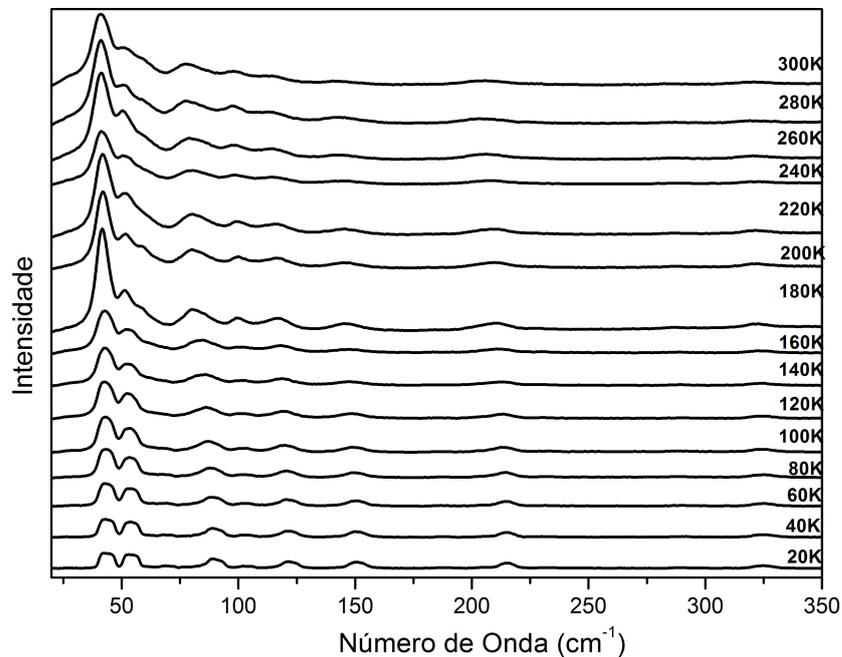


Figura 32: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 20 a 350 cm^{-1} .

Não é possível observar-se mudanças significativas no formato das bandas nessa região espectral. Observa-se, entretanto, que o espectro registrado em $T = 180$

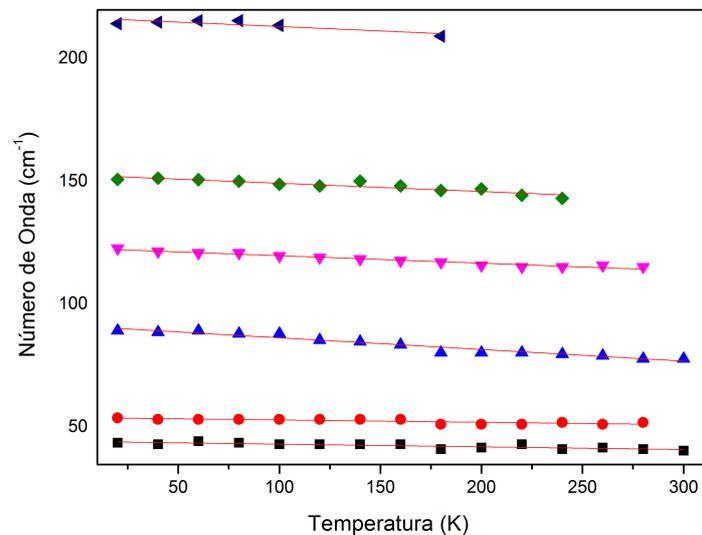


Figura 33: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 20 a 350 cm^{-1} .

K apresenta-se com uma intensidade bem maior do que as dos outros espectros, sendo uma possível justificativa o fato de que se conseguiu uma melhor focalização do laser sobre a amostra. Outra possibilidade, obviamente, é que este aumento na intensidade se deva a um efeito físico que esteja ocorrendo no cristal em valores de temperatura próximos a 180 K. Mesmo dessa maneira, não são observados detalhes que diferenciem este espectro dos outros espectros. A evolução do número de onda dos modos observados nesta região é apresentada na Fig. 33. Desta evolução não é possível perceber nenhuma mudança brusca nos números de onda ou descontinuidades que possam ser associadas a alguma mudança estrutural. Assim, deste ponto de vista não é possível afirmar sobre a ocorrência de nenhuma transição de fase estrutural apresentada pelo cristal de GABA em baixas temperaturas. Contudo, como será visto mais adiante, resultados de difração de raios-X apontam para uma leve modificação de alguns dos parâmetros da rede cristalina em torno de 200 K.

A Fig. 34 apresenta espectros Raman do GABA a baixas temperaturas no intervalo 380 e 680 cm^{-1} . Nestes espectros são observadas bandas na região em torno de 400 cm^{-1} , e entre 550 e 650 cm^{-1} . A banda em torno de 400 cm^{-1} foi classificada tentativamente como torção do NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$, como já destacado. Estas bandas são bastante sensíveis a variações nas ligações de hidrogênio porque este tipo de ligação química envolve exatamente os grupos NH_3^+ e os grupos CO_2^- . No que diz respeito aos modos de vibração associados à torção do NH_3^+ no GABA observa-se que no espectro de mais baixa temperatura estão duas bandas largas, mas bem definidas. Isso sugere que mesmo à baixas

temperaturas existe uma certa desordem relacionada ao grupo NH_3^+ no cristal de GABA. Tal fato está em contraste com outros casos de interesse apresentados na literatura. Por exemplo, a vibração $\tau(NH_3^+)$ apresenta-se como uma banda fina a baixas temperaturas no espectro da L-histidina clorohidrato monohidratado [41] e se torna mais larga apenas a altas temperaturas. Retornando ao espectro do cristal de GABA percebe-se também que à medida que a temperatura é aumentada os dois picos vão formando uma única banda larga.

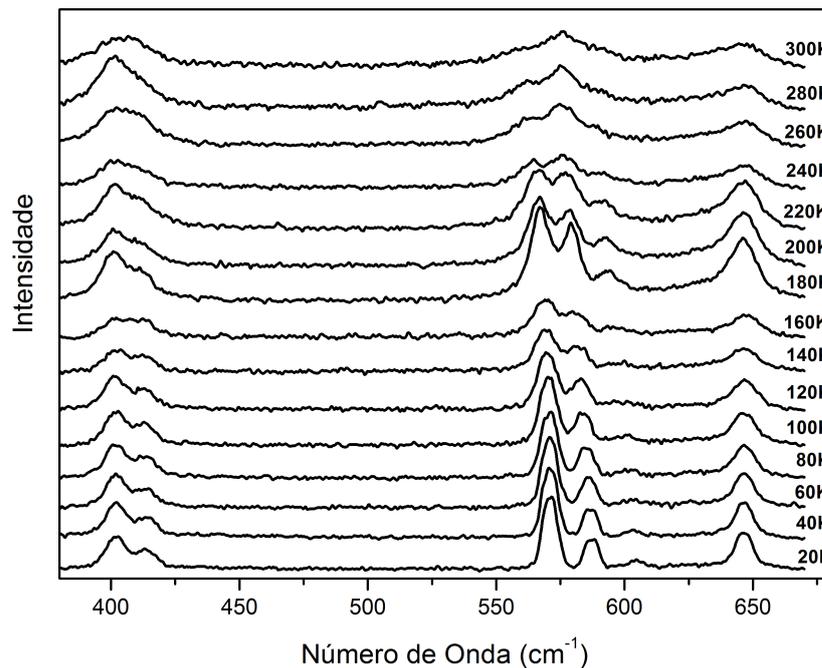


Figura 34: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura entre 20 e 300 K na região espectral entre 380 e 680 cm^{-1} .

No espectro do cristal de GABA registrado a mais baixa temperatura observam-se os dois picos identificados como $r(CO_2^-)$ localizados entre 550 e 600 cm^{-1} bem separados e com pequenas largura de linha. O aumento da largura de linha é esperado pois traduz um aumento da desordem e da anarmonicidade. Com o aquecimento, as duas bandas vão aumentando a largura de linha paulatinamente. Observa-se também que entre 220 e 240 K ocorre a inversão de intensidade entre as duas bandas e, a partir daí, até chegar à temperatura ambiente, as duas bandas vão se tornando mais largas e de baixa intensidade. É muito sugestivo o fato de que uma inversão de intensidade da banda $r(CO_2^-)$ ocorra exatamente no valor de temperatura onde o volume da célula unitária apresenta uma sutil mudança como será discutido mais adiante.

Tal comportamento, o aumento substancial da largura das bandas associadas

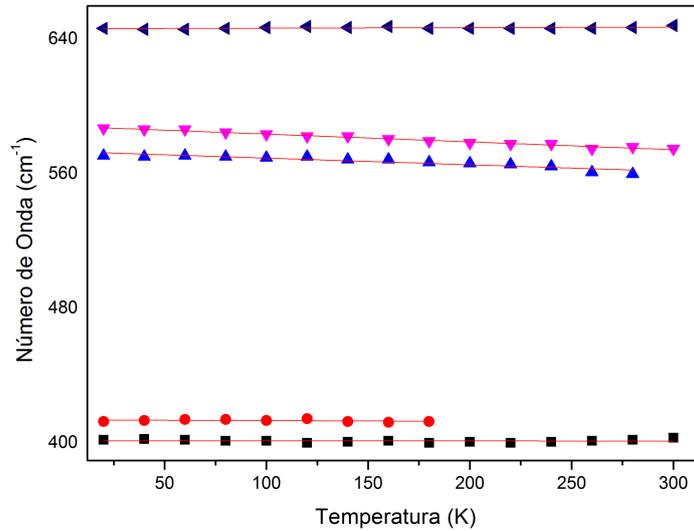


Figura 35: Número de onda das principais bandas Raman do GABA em função da temperatura observadas entre 380 a 670 cm^{-1} .

ao *rocking* do (CO_2^-), embora comum, não é universal. Por exemplo, um estudo realizado no cristal de L-isoleucina [37] mostrou que as duas bandas $r(\text{CO}_2^-)$ mantêm-se com pequena largura de linha em todo o intervalo de temperatura investigado, 30 a 290 K, sugerindo que a desordem do grupo (CO_2^-) não desempenha um papel muito relevante naquele caso. Assim, é possível supor quanto ao comportamento das vibrações $r(\text{CO}_2^-)$, no mínimo dois grupos de aminoácidos: (i) o primeiro, no qual ocorre uma crescente desordem do CO_2^- com o aumento da temperatura, representado pelo GABA; (ii) o segundo, no qual o efeito da desordem do CO_2^- não é muito relevante, representado, entre outros, pela L-isoleucina.

No espectro desta região espectral há ainda uma banda que é observada em torno de 640 cm^{-1} . Em todas as temperaturas ela foi vista como um pico bem simétrico. Como observado anteriormente, essa banda foi associada a um modo de dobramento do grupo CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$. O principal efeito da temperatura no modo $\delta(\text{CO}_2^-)$, é alargá-lo à medida que o cristal é aquecido.

Finalmente, a Fig. 35 apresenta a evolução do número de onda dos modos Raman presentes nos espectros Raman do GABA entre 380 e 680 cm^{-1} , não revelando grandes modificações no intervalo de baixas temperaturas.

A Fig. 36 apresenta a evolução dos espectros Raman do cristal de GABA com a temperatura para o intervalo espectral entre 770 e 1100 cm^{-1} . Nesta região são esperados serem observadas bandas relacionadas a vibrações do tipo CC e vibrações de estiramento do tipo CN, respectivamente, $\nu(\text{CC})$, e $\nu(\text{CN})$, conforme já descrito anteriormente.

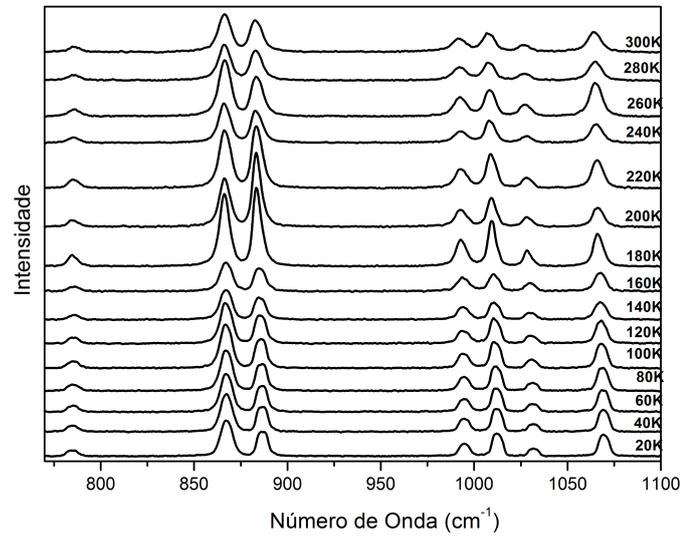


Figura 36: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 770 a 1100 cm^{-1} .

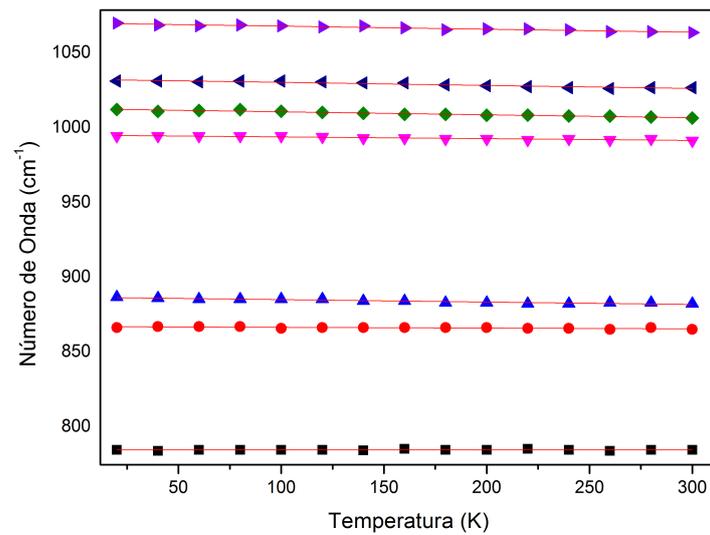


Figura 37: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura na região espectral entre 770 a 1100 cm^{-1} .

Analisando-se a evolução dos espectros Raman que aparecem na Fig. 36 percebe-se que não há o aparecimento nem o desaparecimento de nenhum pico. Entretanto, observa-se um comportamento diferente das duas bandas entre 850 e 900 cm^{-1} . Em torno de 220 K a banda em 886 cm^{-1} - que nos espectros das outras temperaturas possui mais baixa intensidade do que o observado em 868 cm^{-1} - passa a ter uma intensidade mais alta. Isto mostra uma certa anomalia num curto intervalo de temperatura, mais ou menos no mesmo intervalo onde ocorre a inversão de intensidade das bandas $r(\text{CO}_2^-)$, indicando que os dois fenômenos podem estar relacionados. Entretanto, no que diz respeito ao número de onda dos modos nesta região não se observa nenhuma anomalia. Isso é bem claro ao se observar a Fig. 37 onde é apresentada a evolução dos números de onda dos modos que aparecem no intervalo 770 - 1100 cm^{-1} .

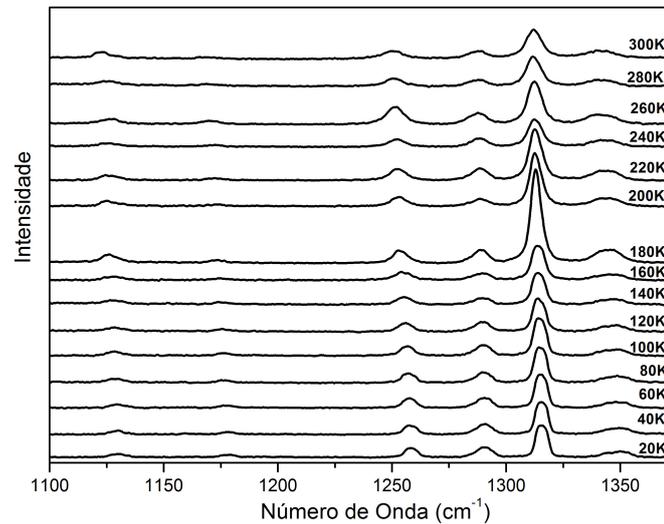


Figura 38: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 1100 a 1370 cm^{-1} .

A Fig. 38 apresenta a evolução dos modos Raman do GABA no intervalo entre 1100 e 1370 cm^{-1} para diversas temperaturas. A classificação tentativa dos modos desta região espectral é apresentada na Tabela 3. Novamente, o espectro registrado em $T = 180$ K apresenta-se com uma melhor relação sinal-ruído. Abaixo de 1250 cm^{-1} as bandas apresentam intensidades bem reduzidas. Nesta região, como já relatado, são observadas bandas associadas ao *rocking* do NH_3^+ , $\delta(\text{NH}_3^+)$ e dobramentos CH, $\delta(\text{CH})$. A evolução dos modos desta região mostra que não ocorrem grandes mudanças no intervalo de temperatura estudado. Todas as bandas apresentam uma evolução linear com este parâmetro termodinâmico conforme apresentado na Fig. 39.

A Fig. 40 apresenta a evolução dos modos Raman do cristal de GABA no

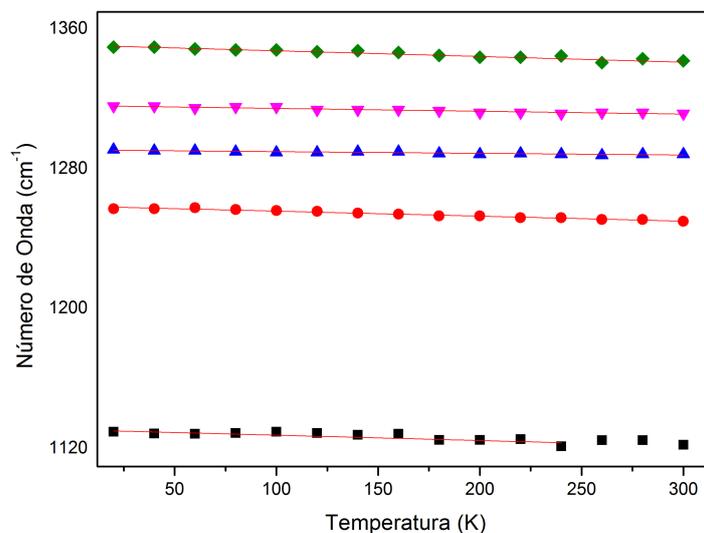


Figura 39: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1100 a 1370 cm^{-1} .

intervalo entre 1370 e 1700 cm^{-1} com a temperatura variando entre 20 e 300 K. Na verdade, os modos mais intensos desta região espectral são observados entre 1370 e 1500 cm^{-1} . Acima de 1500 cm^{-1} as bandas possuem intensidades bem baixas. É interessante que esse comportamento é distinto daquele apresentado por alguns outros aminoácidos. Por exemplo, a L-valina [39], ao menos na geometria de espalhamento $z(yy)z$, apresenta modos de alta intensidade nesta região espectral. Similarmente, na mesma geometria de espalhamento $z(yy)z$, a L-isoleucina [37] apresenta modos de alta intensidade na referida região espectral. É de se destacar ainda que o espectro infravermelho do GABA apresenta modos bastantes intensos nesta mesma região, como foi visto na seção anterior.

No que diz respeito a evolução das bandas Raman, observa-se que elas se tornam um pouco mais largas à altas temperaturas; além disso, não ocorre o aparecimento nem o desaparecimento de nenhum modo em toda a região espectral 1370 – 1700 cm^{-1} . Tal fato está compatível com os resultados observados em outras regiões espectrais. Na Fig. 41 é apresentada a evolução dos números de onda em função da temperatura dos modos do GABA na região espectral 1370 – 1700 cm^{-1} . Ajustes lineares aos dados experimentais são fornecidos para todos os modos apresentados no gráfico. É importante ainda destacar que nesta região encontra-se uma banda que está associada ao dobramento do grupo NH_3^+ , $\delta(NH_3^+)$; como o comportamento do modo não apresenta nenhuma anarmonicidade neste intervalo de temperatura, significa que as ligações de hidrogênio não estão sofrendo grandes modificações quando o cristal está submetido a condições de baixas temperaturas.

A Fig. 42 apresenta a evolução dos espectros Raman do cristal de GABA no

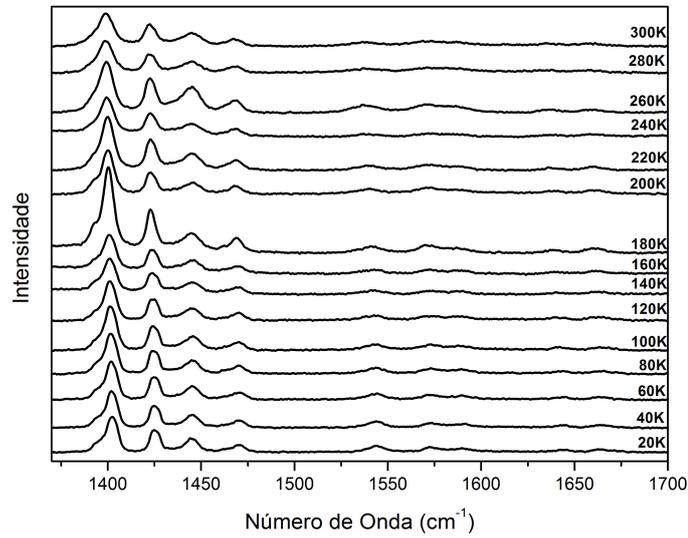


Figura 40: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura entre 20 e 300 K na região espectral entre 1370 a 1700 cm^{-1} .

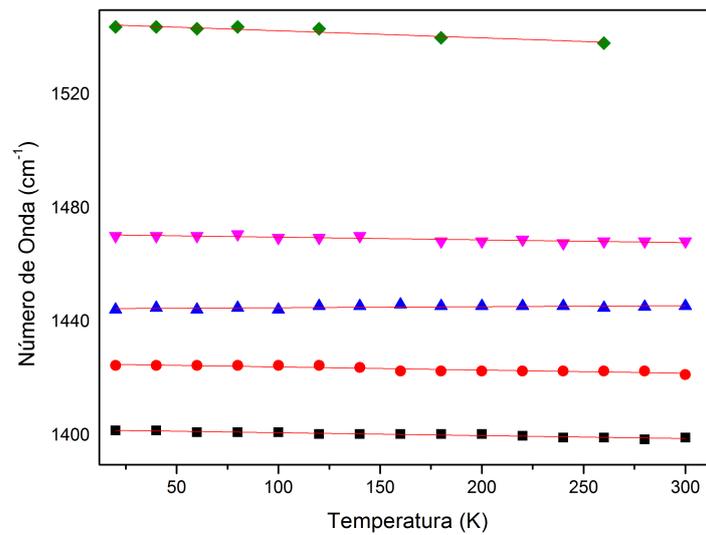


Figura 41: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1370 a 1700 cm^{-1} .

intervalo de número de onda entre 2800 e 3000 cm^{-1} em função da temperatura. Essa região de alta frequência, no caso dos aminoácidos, contém bandas associadas aos modos de estiramento dos grupos CH , CH_2 e NH_3^+ .

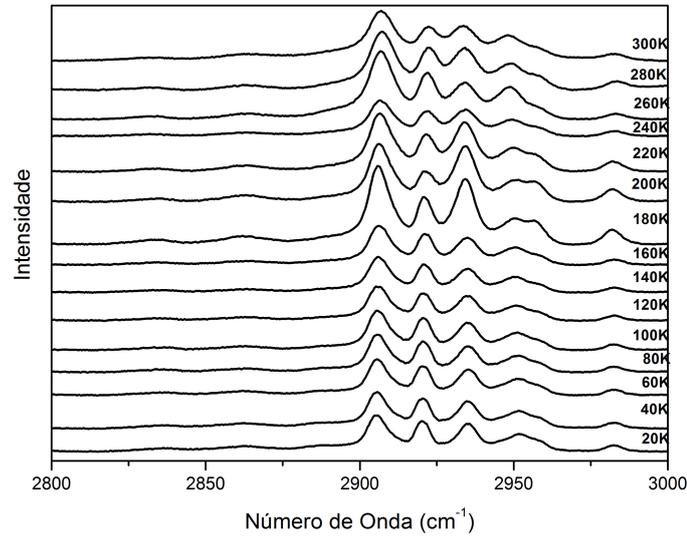


Figura 42: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 20 e 300 K na região espectral entre 2800 a 3000 cm^{-1} .

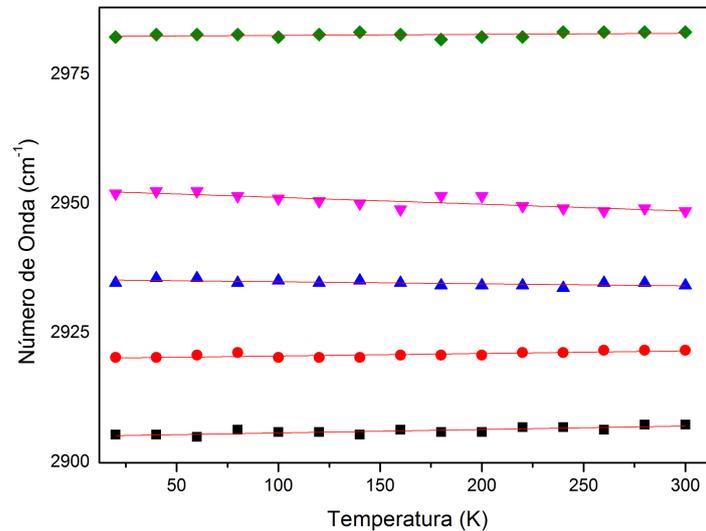


Figura 43: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 2800 a 3000 cm^{-1} .

No que diz respeito à evolução com a temperatura das bandas nesta região espectral, observa-se que todas as bandas presentes no espectro de mais baixa temperatura também estão presentes no espectro de mais alta temperatura; o número de modos é

Tabela 4: Ajuste linear para a frequência dos modos normais do GABA em função de temperatura.

$\omega_{exp}(T = 20K)$	$\omega_o(cm^{-1})$	$\alpha \cdot 10^{-3}(cm^{-1}K^{-1})$
44	44,35	- 10,94
54	54,04	- 9,45
89	91,28	- 44,42
123	123,07	- 30,62
150	152,83	- 33,52
214	216,82	- 35,84
402	401,55	- 0,38
413	412,92	4,67
571	562,79	- 39,54
587	575,85	- 46,53
647	647,29	- 3,1
785	784,78	0,05
867	867,32	- 4,95
887	886,98	- 16,21
995	995,39	- 11,63
1013	1013,00	- 19,88
1032	1032,76	- 20,5
1070	1070,33	- 20,37
1130	1130,99	- 26,09
1258	1258,93	- 28,54
1291	1291,08	- 9,63
1316	1316,47	- 16,32
1350	1350,90	- 30,11
1402	1402,27	- 10,24
1424	1425,50	- 11,08
1444	1444,86	3,62
1470	1471,06	- 9,59
1544	1545,26	- 25,14
2905	2905,09	6,66
2920	2920,13	4,87
2935	2935,37	- 3,98
2952	2952,60	- 13,12
2982	2982,39	2,01

constante em todo o intervalo de temperatura investigado. Nenhuma banda aparece ou desaparece ao longo do processo de variação de temperatura. Entretanto, há uma variação anômala entre 220 e 180 K; tal anomalia é traduzida pelo aumento da intensidade do modo de 2935 cm^{-1} em relação ao modo de 2920 cm^{-1} . De fato, para todas as outras temperaturas o modo de 2920 cm^{-1} possui intensidade maior do que os seus vizinhos. Tal fato, em conjunto com os resultados apresentados para as outras regiões espectrais sugerem a existência de uma anomalia no intervalo de temperatura 220 – 180 K. Embora isso não signifique necessariamente a ocorrência de uma transição de fase estrutural, retornaremos ao tema quando da discussão dos resultados da difração de raios-X a baixas temperaturas no cristal de GABA.

A Tabela 4 representa o ajuste das frequências dos modos observados nos espectros em função da temperatura. Apresentamos os valores de um ajuste linear do tipo:

$$\omega = \omega_o + \alpha T, \quad (4.1)$$

onde α é o valor do número de onda do modo a temperatura T, ω_o é número de onda e α a inclinação de ω .

4.3 Espectroscopia Raman do GABA à altas temperaturas

Nessa seção será investigado o comportamento dos espectros Raman do GABA em altas temperaturas. Como é conhecido do estudo de outros cristais de aminoácidos, alguns deles podem mudar de estrutura antes da temperatura de decomposição ser atingida. Um caso bastante emblemático é o da L-asparagina monohidratada, que sofre uma transição de fase em aproximadamente 363 K [42]. Emblemático pelo fato de serem observadas modificações em todas as regiões do espectro Raman, envolvendo tanto os modos da rede de baixa energia, quanto os modos internos, inclusive aqueles associados aos estiramentos da molécula de água, $\nu(OH)$. Outro cristal de aminoácido no qual a espectroscopia Raman foi categórica em apontar que o mesmo sofria transição de fase em altas temperaturas foi o de L-leucina [43]. Além disso, a partir dos espectros polarizados foi possível sugerir que o cristal de L-leucina passava de uma estrutura com grupo pontual C_2 para um grupo pontual C_s . Como contra-exemplo de cristal de aminoácido no qual a estrutura permanece estável em altas temperaturas está a L-treonina. No que diz respeito à L-treonina foram realizadas medidas desde a temperatura ambiente até o seu ponto de decomposição, que é próximo de 180°C (453 K) [44]. Embora seja possível perceber que as bandas Raman vão diminuindo de intensidade à medida que o cristal é aquecido, todos os

modos de vibração aparecem nos espectros Raman até a temperatura da decomposição do cristal. A seguir, faz-se uma discussão do comportamento dos modos normais do GABA em altas temperaturas, nas várias regiões espectrais.

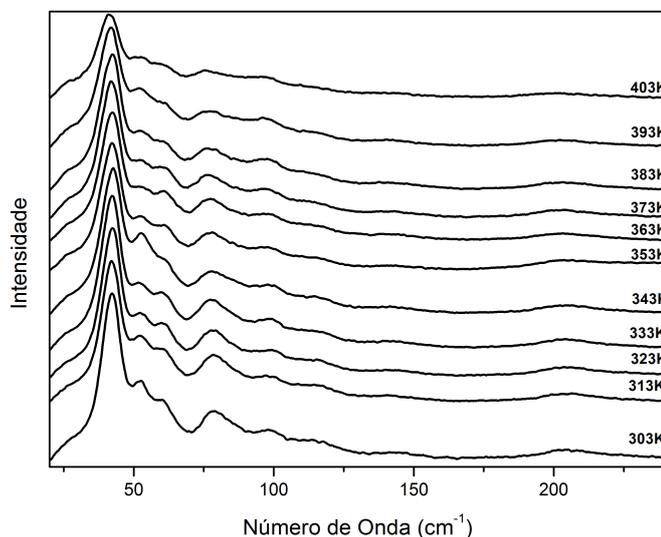


Figura 44: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 à 403 K na região espectral entre 20 a 240 cm^{-1} .

A Fig. 44 apresenta a evolução dos modos Raman de um cristal de GABA na região espectral entre 20 e 240 cm^{-1} para diversos valores de temperatura entre 303 e 403 K. Do ponto de vista de uma análise qualitativa, pode-se afirmar que todos os modos observados originalmente em 303 K também são visíveis no espectro de mais alta temperatura, ou seja, em 403 K. Obviamente, com o aumento da temperatura, todas as bandas diminuem de intensidade e se alargam; de fato, mesmo uma banda observada originalmente em $\sim 215 \text{ cm}^{-1}$ continua visível, embora com baixíssima intensidade, até no espectro de mais alta temperatura. A Fig. 45 apresenta a evolução do número de onda dos modos que aparecem abaixo de 240 cm^{-1} . Desta figura é possível observar claramente a evolução linear da energia de todos os modos da rede sem nenhuma variação abrupta, confirmando assim a estabilidade da estrutura nesse intervalo de temperatura.

A Fig. 46 apresenta a evolução dos espectros Raman do GABA na região espectral entre 300 e 800 cm^{-1} , tomados no intervalo de temperatura entre 303 e 403 K. Já à temperatura ambiente (303 K) o espectro apresenta bandas de baixa intensidade. Entretanto, recordemos, essa região possui importância por conter as bandas associadas à torção do NH_3^+ , em torno de 400 cm^{-1} , e as bandas associadas ao *rocking* do CO_2^- , em torno de 580 cm^{-1} . Como comentado anteriormente, esses modos de vibração podem fornecer dados para se compreender o comportamento das ligações de hidrogênio no cristal.

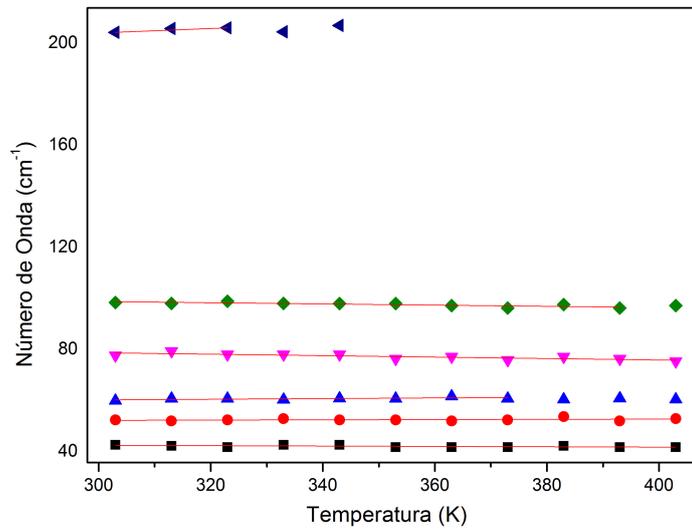


Figura 45: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 20 a 240 cm^{-1} .

Existem diversas maneiras de se inferir acerca destas ligações químicas, que em última análise, são as responsáveis por conectar as moléculas de GABA na estrutura cristalina tridimensional. A primeira é através da análise do número de onda dos modos em função da temperatura. Isso foi feito - na verdade, para todos os modos do material - mas a evolução do número de onda em função da temperatura mostrou um comportamento linear, como observado na Fig. 47, não revelando assim uma anarmonicidade notável. Uma segunda maneira de se tentar enxergar algum efeito das ligações de hidrogênio é através da largura de linha dos referidos modos de vibração.

Para fazer essa análise é possível utilizar alguns modelos. Por exemplo, em um estudo sobre mudanças orientacionais em moléculas, Rakov [45] mostrou que a dependência para mudanças orientacionais de moléculas pode ser representada por:

$$\Gamma = C \exp(-E_a/KT),$$

onde Γ é a largura de banda, C é uma constante, E_a é a energia de ativação e T é a temperatura em Kelvin. Tal expressão foi utilizada por Forss [46] para estudar a largura de linha de uma banda Raman associada ao modo de torção do NH_3^+ na L-alanina. Observa-se que na verdade existem duas principais causas para a largura de linha, quais seja: (i) mudança orientacional de moléculas e (ii) anarmonicidade de vibrações [47]. Assim, se é esperado fornecer uma descrição quantitativa para a largura de linha, levando-se em consideração tanto o efeito anarmônico quanto o efeito de mudança orientacional das moléculas, uma expressão que pode ser usada é:

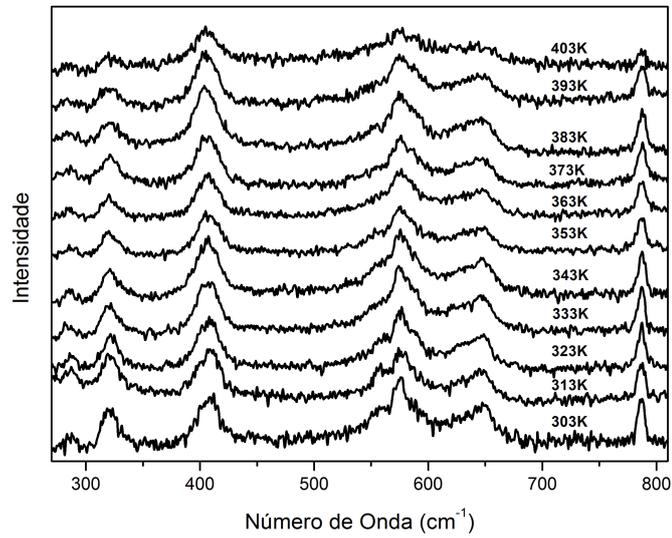


Figura 46: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 270 a 810 cm^{-1} .

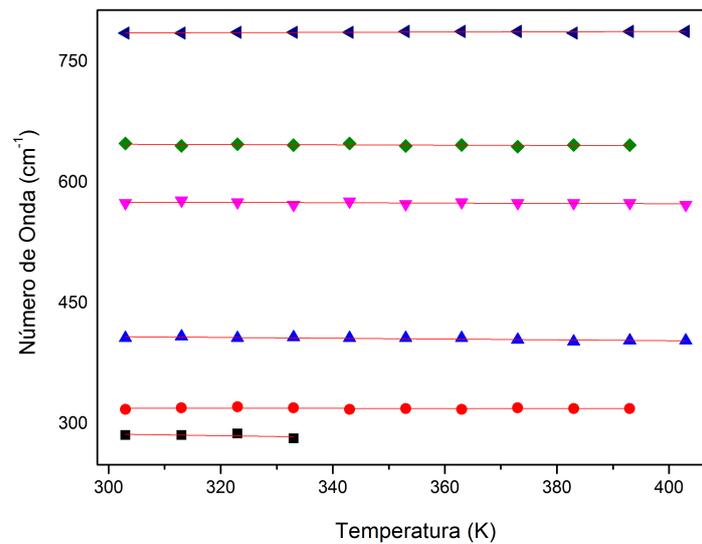


Figura 47: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 270 a 810 cm^{-1} .

$$\Gamma = A + BT + C \exp(-E_a/KT),$$

onde A, B e C são constantes.

No presente estudo foram feitas algumas tentativas de se ajustar as larguras de linha das bandas associadas á torção do NH_3^+ e ao *rocking* do CO_2^- . Entretanto, devido à baixa intensidade destes modos observados nos espectros Raman da GABA obtidos no presente trabalho, o resultado foi infrutífero. Em outras palavras, não foi possível separar as contribuições (anarmonicidade e mudança orientacional) para a largura de linha das duas bandas.

A Fig. 48 apresenta a evolução dos modos Raman do cristal de GABA no intervalo $840 - 1190 \text{ cm}^{-1}$ para diversas temperaturas no intervalo entre 303 e 403 K. O efeito esperado do aumento da temperatura - diminuição da intensidade e aumento da largura de linha - é verificado com clareza. A evolução de frequência desses modos é apresentada na Fig. 49. Da análise dos espectros Raman, é possível verificar que devido ao fato da diminuição da intensidade das bandas, aquelas observadas em $T = 303 \text{ K}$ em aproximadamente 1026 e em 1127 cm^{-1} praticamente não são mais visíveis no espectro registrado em 403 K . Isso justifica o fato de que na Fig. 48 os respectivos número de onda não serem graficadas até o máximo valor de temperatura atingida no experimento. O fato mais importante, obviamente, é a permanência de todos os modos no intervalo de temperatura estudado.

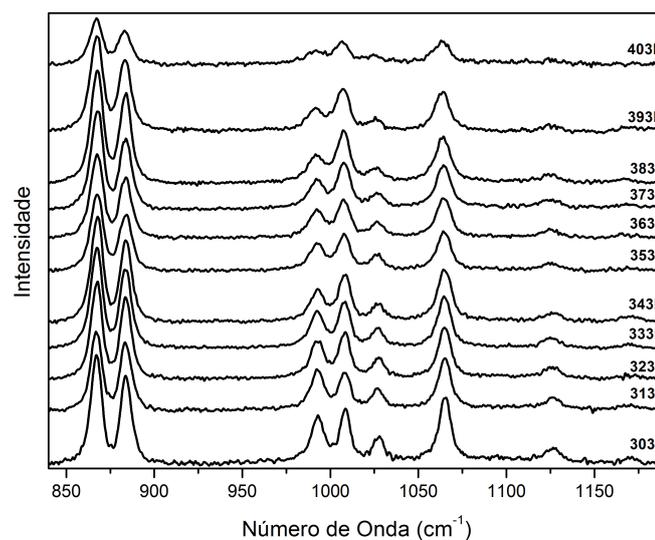


Figura 48: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 840 a 1190 cm^{-1} .

A Fig. 50 apresenta a evolução dos espectros Raman do GABA no intervalo

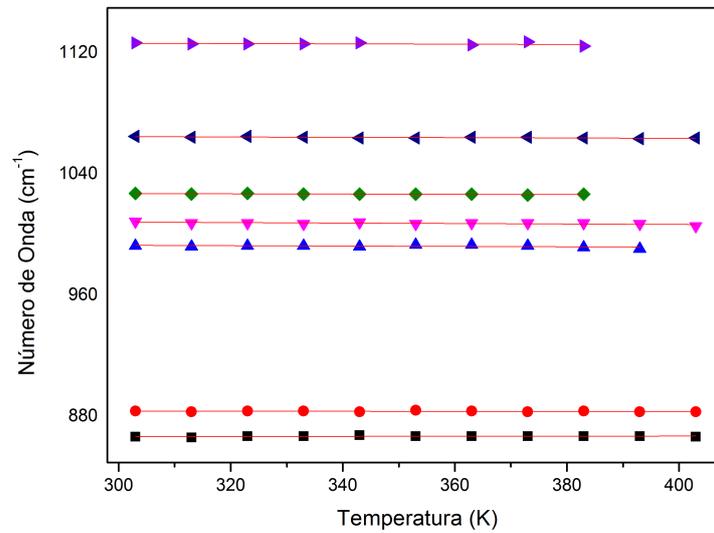


Figura 49: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 840 a 1190 cm^{-1} .

espectral entre 1240 e 1360 cm^{-1} no intervalo de temperatura entre 303 e 403 K. Como visto anteriormente, a banda mais intensa corresponde a um modo de vibração classificado como dobramento CH, $\delta(\text{CH})$, assim como aqueles observados originalmente em 1258 e em 1330 cm^{-1} . Da Fig. 51, que apresenta a evolução do número de onda em função da temperatura, verifica-se que, como a maioria dos modos em outros intervalos espectrais, ocorre de uma forma linear.

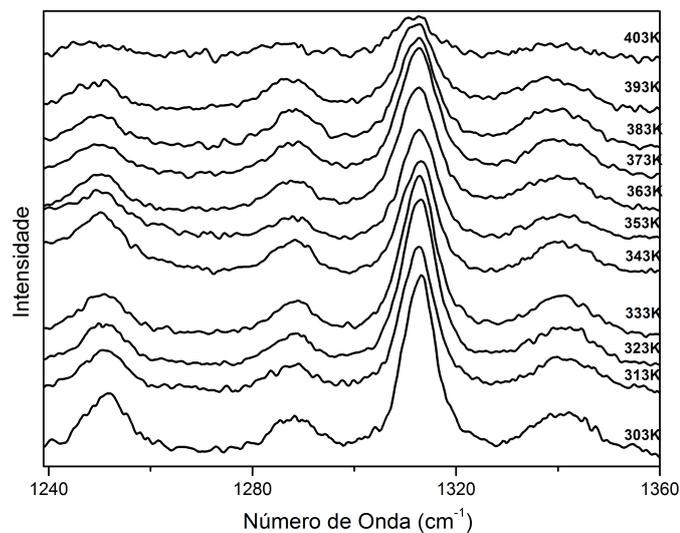


Figura 50: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 1240 a 1360 cm^{-1} .

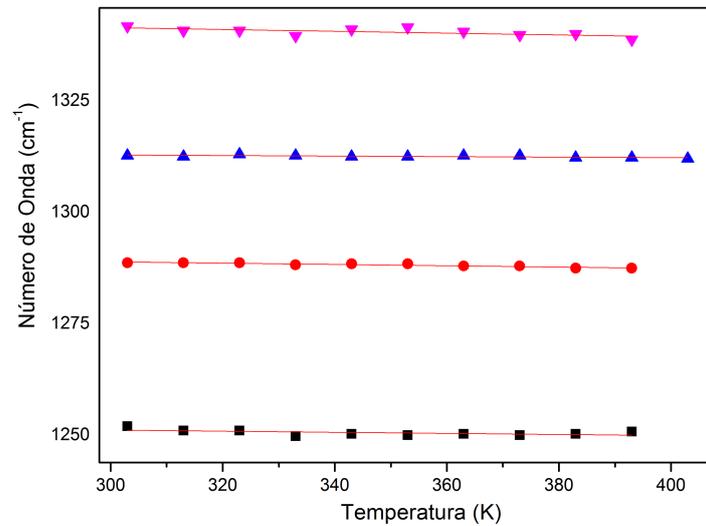


Figura 51: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1230 a 1360 cm^{-1} .

A Fig. 52 apresenta a evolução dos modos Raman entre 1380 a 1500 cm^{-1} de um cristal de GABA no intervalo de temperatura 303 - 403 K. Observa-se o alargamento de todas as bandas neste intervalo de número de onda, como é esperado.

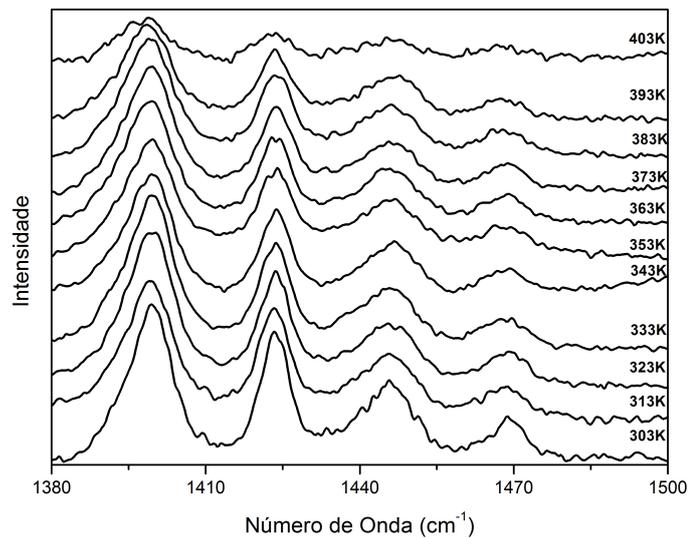


Figura 52: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 1380 a 1500 cm^{-1} .

A Fig. 53 apresenta a evolução dos números de onda em função da temperatura para este intervalo espectral. É importante lembrar que acima de 1500 cm^{-1} também existem uns poucos modos, mas que devido ao fato de serem de muito baixa intensidade

mesmo no espectro registrado à temperatura ambiente, aparecem com intensidades desprezíveis nos espectros de altas temperaturas.

Tabela 5: Ajuste linear do número de onda dos modos normais do GABA em função de altas temperatura.

$\omega_{exp}(T = 300K)$	$\omega_o(cm^{-1})$	$\alpha \cdot 10^{-3}(cm^{-1}K^{-1})$
43	44,78	- 6,95
53	51,05	4,79
60	56,58	13
78	87,49	- 28,45
99	105,99	- 23,3
204	117,78	88,0
287	318,46	- 101,4
319	321,89	- 5,68
407	424,1	- 50,02
575	582,69	- 20,7
650	653,73	- 18,18
786	781,54	17,24
867	866,17	31,2
884	885,74	- 2,84
993	996,9	- 11,78
1009	1013,35	- 15,52
1027	1029,88	- 7,9
1065	1068,31	- 10,76
1127	1129,46	- 9,32
1251	1254,95	- 12,31
1289	1293,45	-14,69
1313	1314,78	- 5,92
1341	1347,71	- 20,48
1399	1400,77	- 3,71
1424	1422,96	2,27
1446	1442,1	12,28
1469	1472,03	9,15
2864	2840,09	77,1
2908	2906,39	7,5
2924	2920,51	11,45
2936	2935,77	- 2,41
2950	2950,65	- 4,34
2983	2982,2	2,88

A Fig. 54 apresenta espectros Raman de um cristal de GABA no intervalo 2750 - 3000 cm^{-1} para temperaturas variando entre 303 e 403 K. De uma forma geral, como já discutido, as bandas que aparecem nessa região espectral estão associadas às vibrações de estiramento CH e estiramento CH_2 . Todos os modos evoluem linearmente

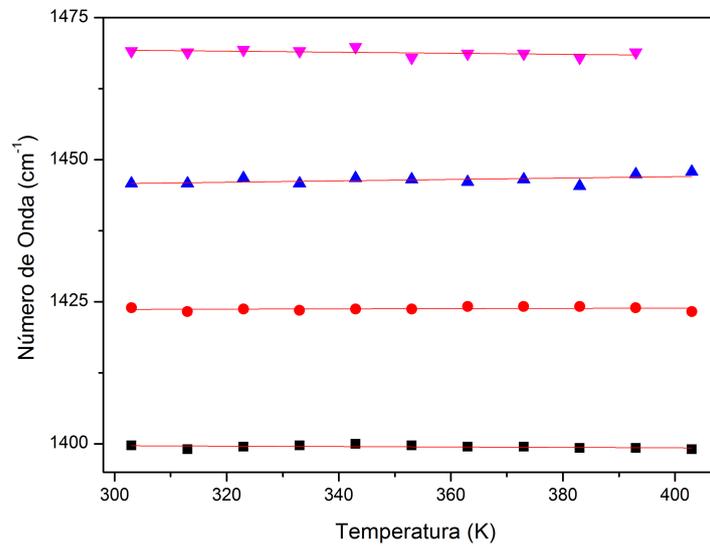


Figura 53: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 1380 a 1600 cm^{-1} .

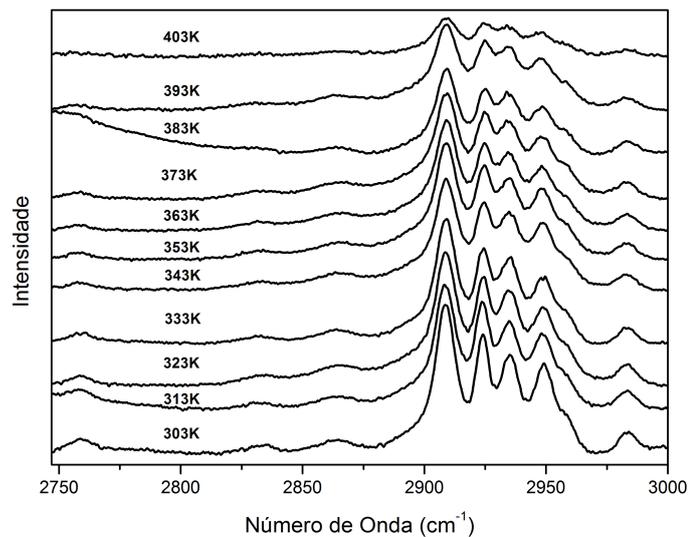


Figura 54: Espectros Raman do GABA com variação de temperatura de 303 a 403 K na região espectral entre 2740 a 3000 cm^{-1} .

com a temperatura conforme mostrado pela Fig. 55. Entretanto, em 403 K, as bandas encontram-se com intensidades bastante diminuídas, além do fato de que as larguras de linhas estão bem aumentadas em relação às bandas nos espectros em temperaturas mais baixas. Isso pode estar indicando a proximidade com a temperatura de decomposição do material. Outros estudos, de fato, mostram que diminuição de intensidade e aumento de largura de bandas precede a fusão; como exemplo, existe o caso da L-treonina que apresenta espectros com bandas de baixa intensidade para temperaturas acima de 413 K, estendendo-se até um máximo de 453 K [44].

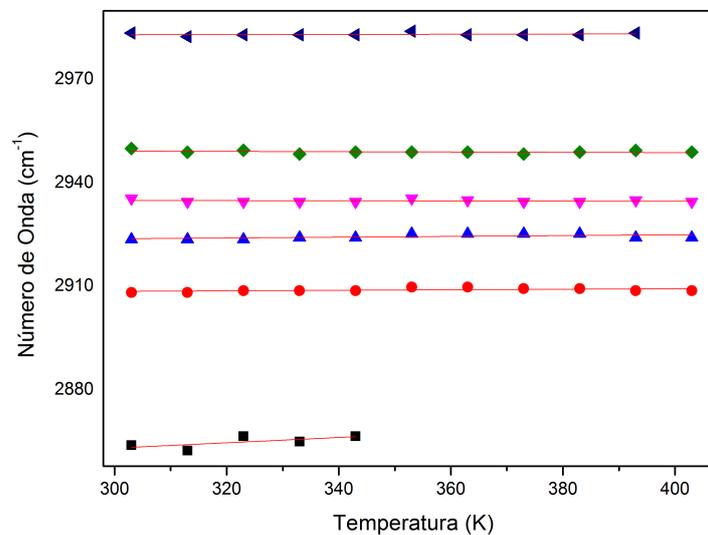


Figura 55: Número de onda das bandas Raman do GABA em função da temperatura entre 2740 a 3000 cm^{-1} .

O ajuste linear dos números de onda em fusão da temperatura dos modos Raman são exibidos na Tabela 5

4.4 Experimento de difração de raios-X

Uma das maiores descobertas da Física é a lei de Bragg, que correlaciona a distância entre dois planos de um cristal, d , com o ângulo de incidência dos raios-X, θ , e o comprimento de onda dessa radiação através da relação simples $2d\sin\theta = m\lambda$, onde m é um número inteiro. Por meio dessa relação, pode-se descobrir os vários planos espalhadores da radiação de raios-X de um cristal sem a necessidade de fazer a análise mais precisa da interação da radiação com as nuvens eletrônicas dos átomos ou moléculas que efetivamente realizam o espalhamento. Assim, um fenômeno que em sua essência é quântico, pode em uma primeira análise ser descrito por uma aproximação clássica

bem simples. Na presente tese foram realizados experimentos de difração de raios-X no intervalo de temperatura entre 110 e 400 K.

4.4.1 Difração de raios-X a altas temperaturas

Na Fig. 56 são apresentados os difratogramas de raios-X do GABA para altas temperaturas. O refinamento foi realizado utilizando-se a direção preferencial [100], enquanto as coordenadas atômicas foram refinadas permitindo-se apenas pequenas variações nos comprimentos e ângulos de ligação. Observando-se a Fig. 56 aparentemente ocorre o dobramento de um pico em torno de 29° na temperatura de 110°C . Entretanto, o que acontece é que em $29,5^\circ\text{C}$ existem dois picos coincidentes correspondentes à duas reflexões (130) e (21 - 2).

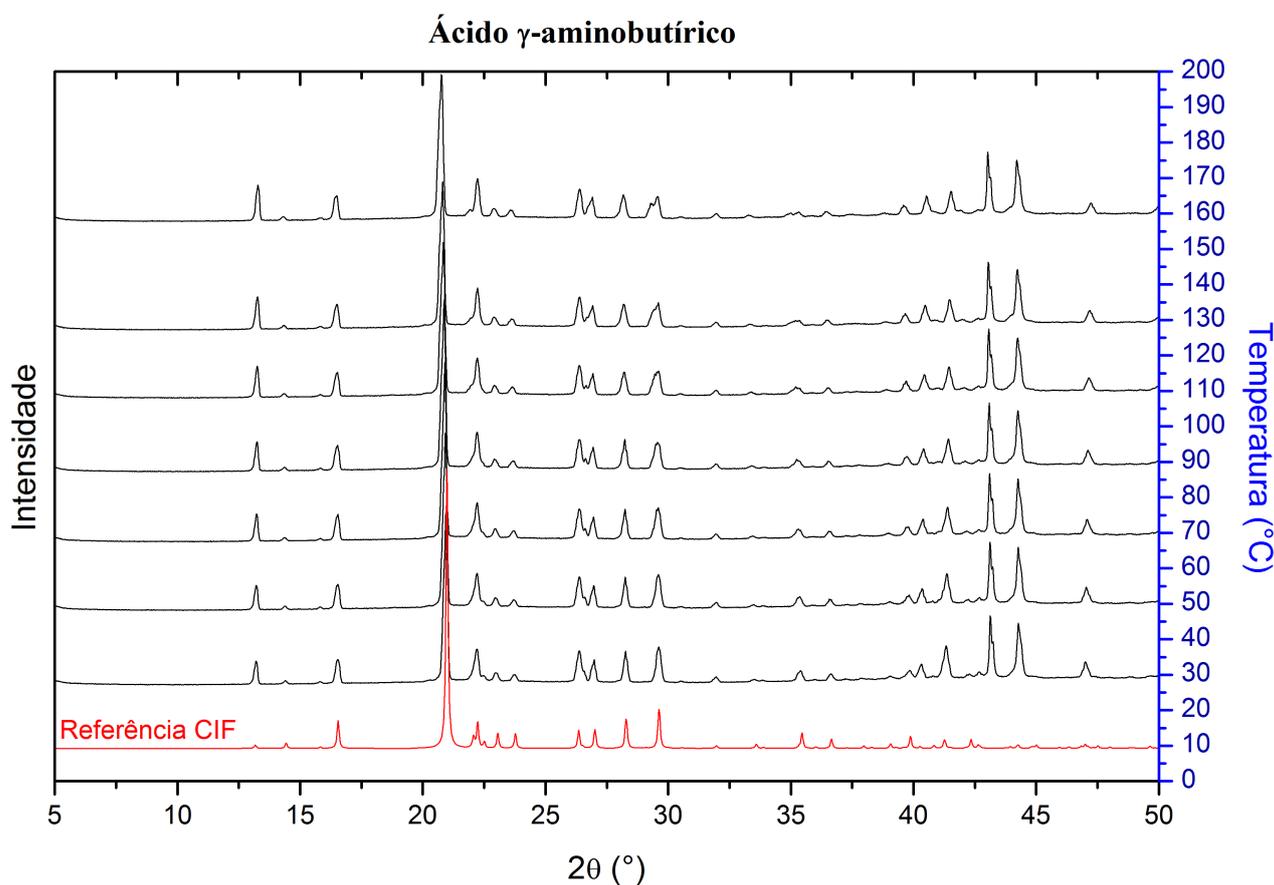


Figura 56: Difratogramas de raios-X para altas temperaturas.

Uma vez que os parâmetros da rede variam em função da temperatura, eventualmente, os dois picos acabam se afastando. Assim, tal afastamento é um evento associado à separação de dois picos de difração pertencentes à estrutura monoclinica original $P2_1/c$ observada à temperatura ambiente. Assim, sob a óptica da técnica de difração de raios-X e utilizando-se o refinamento Rietveld para a sua análise, pode-se afirmar que o cristal de

GABA mantém-se estável sem apresentar nenhuma transição de fase em altas temperaturas.

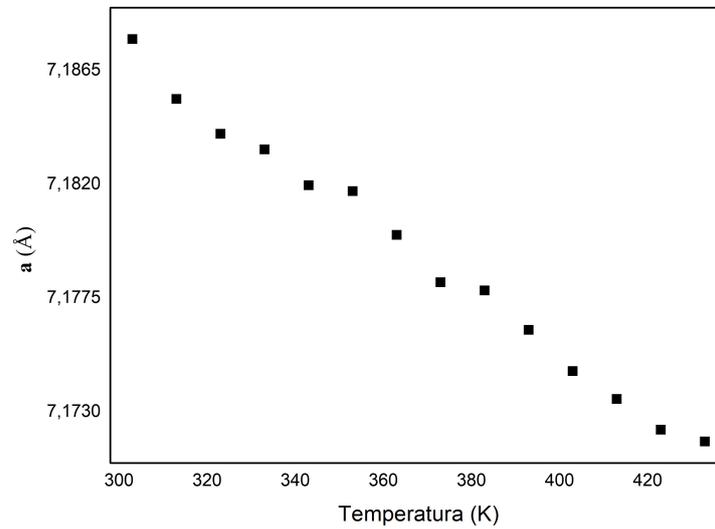


Figura 57: Parâmetro a em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.

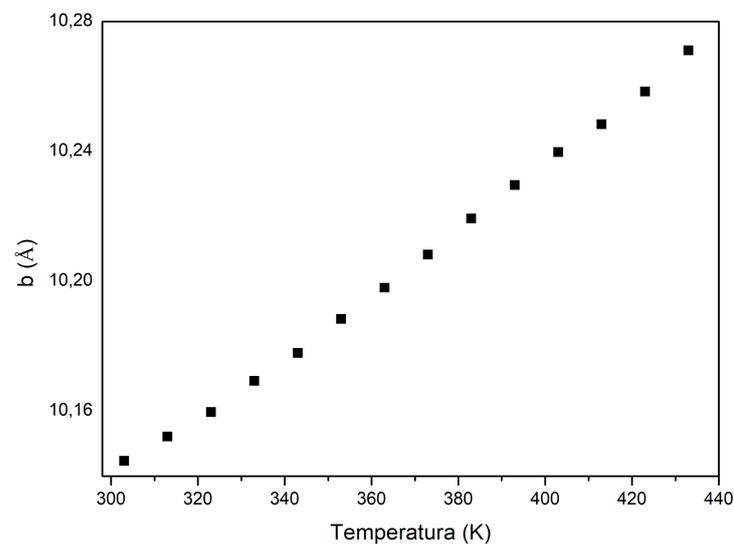


Figura 58: Parâmetro b em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.

Como complemento à análise de refinamento Rietveld sobre os dados de difração de raios-X de um cristal de GABA em altas temperaturas, nas Fig. 57 a Fig. 61 são mostrados parâmetros cristalinos a , b , c e o ângulo monoclinico β em função da temperatura, bem como o volume da célula unitária. Observa-se que todos estes parâmetros evoluem suavemente com a temperatura, indicando que no intervalo de temperatura entre

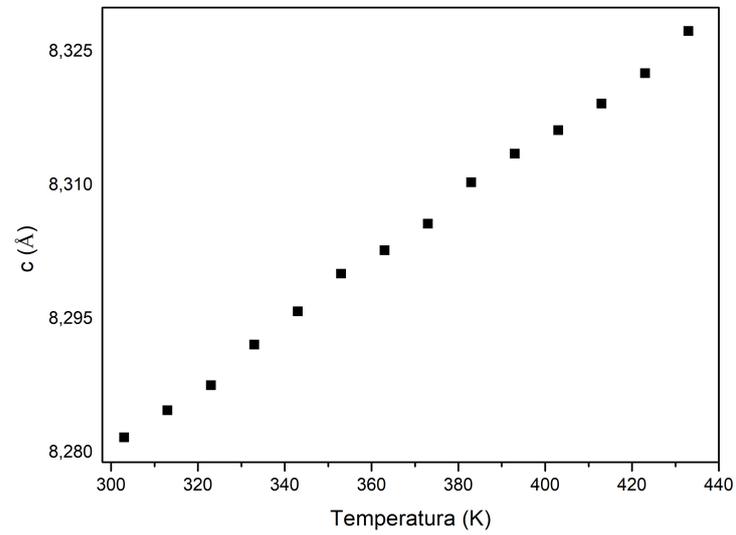


Figura 59: Parâmetro c em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.

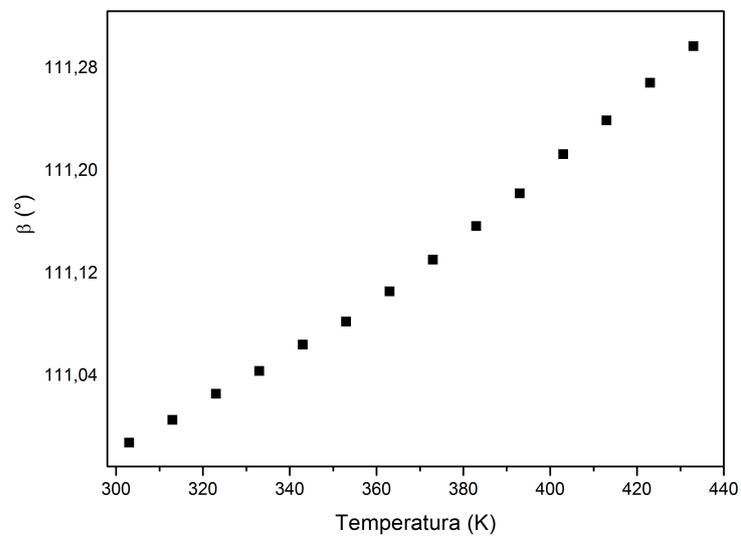


Figura 60: Parâmetro β em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.

30 e 160 °C o cristal de GABA é absolutamente estável. Na verdade a única variação observada deve-se à esperada dilatação do material devido ao aquecimento. Assim, podemos concluir baseados nos resultados de espectroscopia Raman e difração de raios-X que a estrutura $P2_1/c$ do GABA é estável em altas temperaturas, isto é, entre 300 e 440 K.

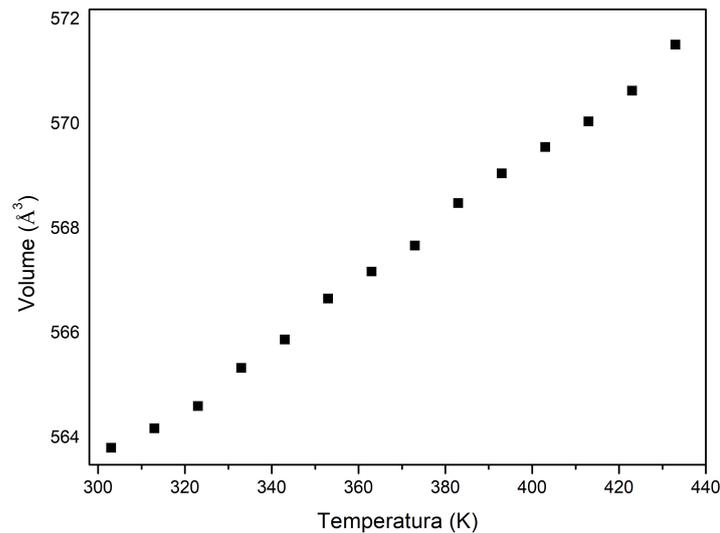


Figura 61: Volume da célula unitária do GABA em função da temperatura no intervalo entre 300 e 440 K.

4.4.2 Difração de raios-X a baixas temperaturas

A Fig. 62 apresenta diversos difratogramas do cristal de GABA para temperaturas variando entre 113 e 303 K, ou seja, obtidas num experimento no qual utilizou-se nitrogênio líquido para se fazer o resfriamento. Observa-se numa análise preliminar que todos os picos presentes no difratograma registrado à temperatura ambiente, também estão presentes no difratograma registrado à mais baixa temperatura. Obviamente uma análise mais acurada será necessário para se inferir à respeito do comportamento desses picos e, conseqüentemente, da estrutura do GABA em baixas temperaturas.

Com esse objetivo, isto é, com a intenção de se realizar uma análise mais precisa, fez-se o refinamento Rietveld dos difratogramas de raios-X do GABA em baixas temperaturas. O resultado deste refinamento é apresentado nas Fig. 63 a Fig. 67, onde os parâmetros da rede cristalina, a , b e c , o ângulo monoclinico β e o volume da célula unitária são apresentados.

Dessas figuras observa-se que o parâmetro a apresenta um comportamento anômalo, isso é, à medida que a temperatura é diminuída o referido parâmetro aumenta. De uma forma geral, é um fato bem conhecido que a diminuição da temperatura implica

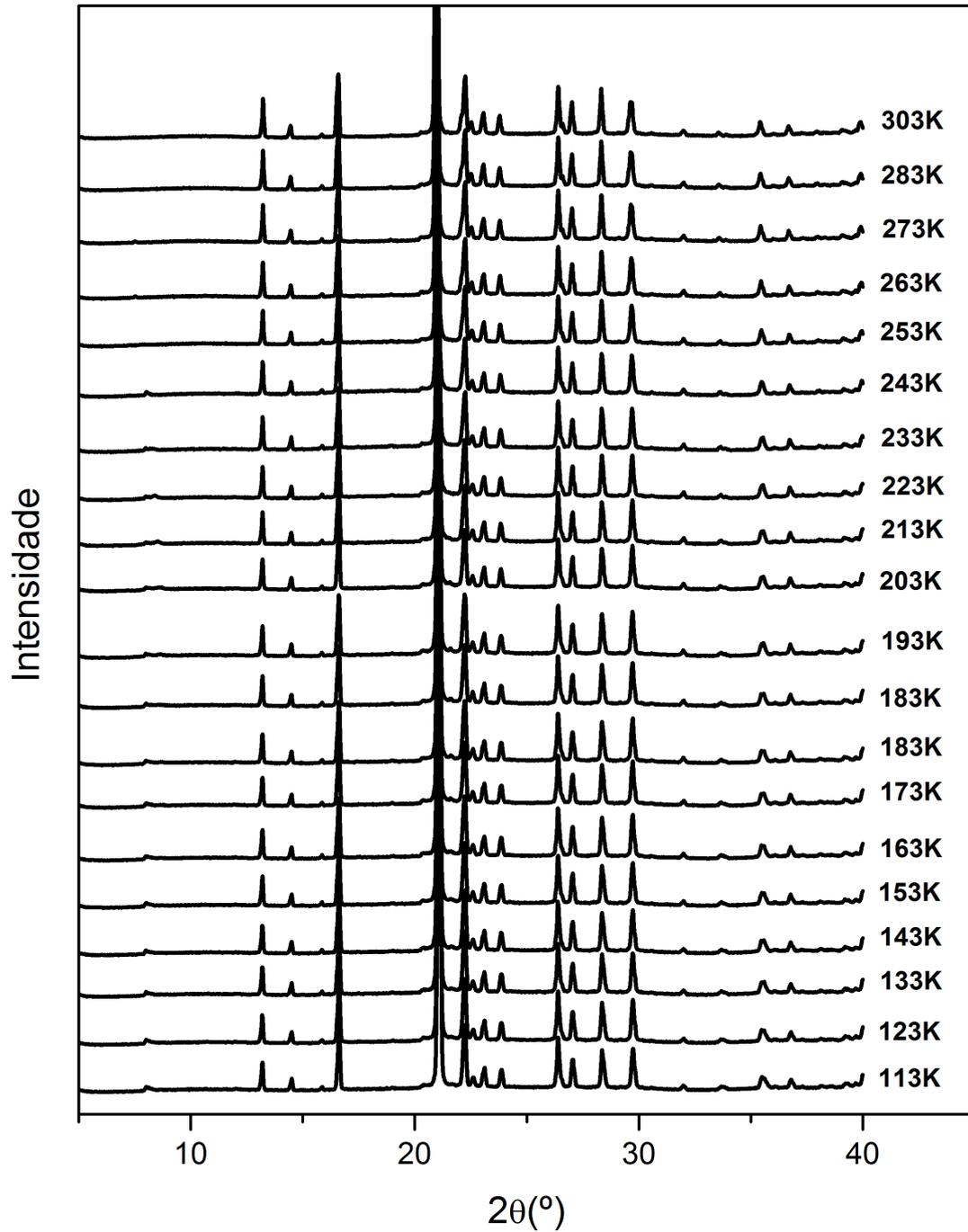


Figura 62: Difratoigramas de raios-X do cristal de GABA em função da temperatura no intervalo entre 113 e 303 K.

na diminuição dos parâmetros da rede cristalina, uma vez que os cristais se contraem durante o resfriamento.

Por outro lado, no caso da GABA, os parâmetros b e c diminuem com a diminuição da temperatura, como seria esperado. No geral, quando são considerados os três parâmetros da rede cristalina em conjunto, observa-se que o seu volume diminui com a diminuição deste parâmetro termodinâmico. É interessante lembrar que alguns cristais orgânicos apresentam um comportamento semelhante a esse. Por exemplo, durante um processo de resfriamento na L-alanina foi observado que um dos parâmetros aumenta, enquanto que o volume diminui [48]. No caso da L-serina, foi reportado que enquanto dois parâmetros da célula unitária diminuem com o resfriamento da amostra, um terceiro parâmetro aumenta [49], similarmente ao que acontece com o cristal de GABA. No caso da DL-serina, a anomalia é maior, isto é, enquanto um dos parâmetros da célula unitária diminui com o abaixamento de temperatura, os outros dois parâmetros aumentam [49]. De qualquer forma, tanto com a L-serina quanto com a DL-serina, o volume da célula unitária diminui com o resfriamento. Finalmente, pode-se citar o caso de um outro cristal de aminoácido, a L-cisteína na estrutura ortorrômbica, que apresenta diminuição dos parâmetros a e c com o resfriamento da amostra, mas que apresenta um comportamento bem particular no que diz respeito ao parâmetro b . Neste último caso o parâmetro diminui entre 350 e 230 K e, a partir desse ponto, começa a aumentar (entre 230 e 100 K) [50]. Assim, percebe-se que em muitas situações onde os cristais de aminoácidos são investigados sob a luz da difração de raios-X, alguma anomalia em um dos parâmetros é registrada.

Analisando-se os parâmetros b e c da rede cristalina e, principalmente, o volume da célula unitária no intervalo entre 110 e 303 K, percebe-se que em aproximadamente 220 K há uma mudança nas curvas representando estes três parâmetros. Isso significa que entre 110 e 220 K a evolução desses parâmetros é aproximadamente linear, apresenta-se com um inclinação mais acentuada. Pode-se supor que em torno de 220 K algum fenômeno físico particular esteja acontecendo de tal modo que a mudança de inclinação dos parâmetros da célula unitária seja uma consequência.

A questão que se coloca agora é a possível causa desta anomalia em torno de 220 K. Para tentar entender é interessante nos reportarmos a outro material investigado e discutido no penúltimo parágrafo, no caso, a L-cisteína na sua forma ortorrômbica. Nessa situação observou-se que a baixas temperaturas as ligações de hidrogênio $SH \cdots S$ são dominantes sobre as ligações de hidrogênio $N - H \cdots O$ e durante o aquecimento os grupos tiols começam a ficar desordenados fazendo com que algumas ligações $SH \cdots S$ dêem lugar a ligações $SH \cdots O$. Essa modificação não é abrupta, se estende por um certo

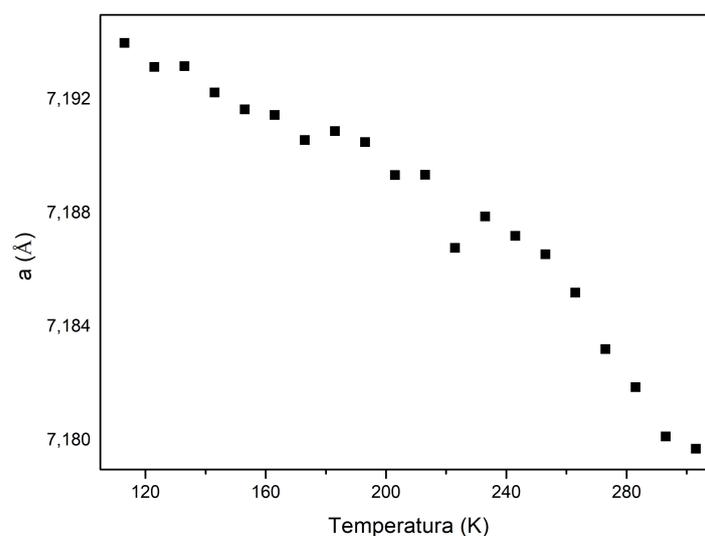


Figura 63: Parâmetro a em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.

intervalo de temperatura, embora nem todas as ligações $SH \cdots S$ sejam modificadas para $SH \cdots O$ [50]. O que é interessante para a nossa discussão é que existe uma correlação quase perfeita entre o comportamento da distância $S \cdots S$ com o comportamento do parâmetro b . Enquanto esse último apresenta um mínimo em aproximadamente 230 K, o primeiro apresenta um mínimo em 200 K. Isso significa que a ligação $SH \cdots S$ está sintonizando o comportamento do parâmetro cristalino b em função da temperatura no cristal ortorrômbico da L-cisteína.

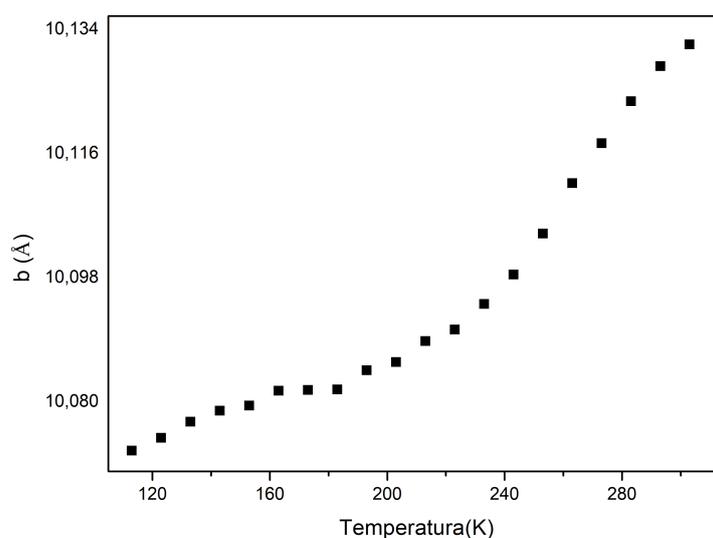


Figura 64: Parâmetro b em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.

Retornando ao caso do cristal de GABA recordamos que existem duas deter-

minações de sua estrutura cristalina: uma por difração de raios-X em monocristal [8] e outra por medidas de nêutrons, mas na temperatura de 122 K [51]. É interessante destacar que no primeiro artigo os autores afirmam que o GABA cristalice-se na estrutura monoclinica $P2_1/c$ com $a = 7,193$, $b = 10,120$, $c = 8,260$ Å e $\beta = 111,05^\circ$. Já no trabalho com nêutrons os autores afirmam que a cristalização acontece num grupo $P2_1/a$ com $a = 8,214$, $b = 10,000$, $c = 7,208$ Å e $\beta = 110,59^\circ$. Claro está que entre as duas medidas dois dos parâmetros estão diminuindo com o resfriamento (se trocarmos o a pelo c e vice-versa entre os dois trabalhos [51] [8]) e um deles está aumentando, o que está de acordo com a análise Rietveld realizada neste trabalho. Além disso, a nossa análise Rietveld realizada no material policristalino concorda bastante bem no que diz respeito ao ângulo monoclinico β ; em 303 K, $\beta = 110,97^\circ$ (contra $111,05^\circ$ da Ref. [8] e em 122 K, $\beta \simeq 110,82^\circ$ (contra $110,59^\circ$ da Ref. [51]). Ou seja, com a contração da célula unitária como um todo, o ângulo monoclinico diminui.

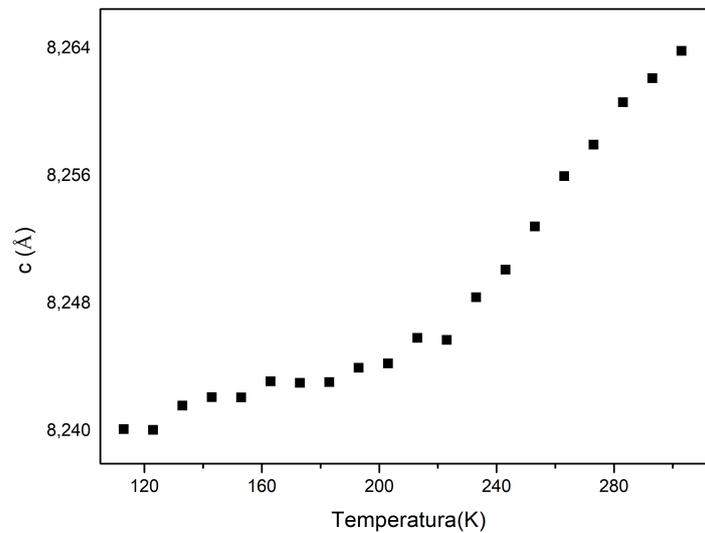


Figura 65: Parâmetro c em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.

É de se esperar que as modificações verificadas tanto nas dimensões dos parâmetros a , b e c quanto do ângulo monoclinico β ocorram simultaneamente com variações nas ligações de hidrogênio. Medidas de difração de nêutrons mostraram que as ligações covalentes $C - O(1)$ e $C - O(2)$ valem, respectivamente, $1,249$ Å e $1,268$ Å [51]. O átomo de oxigênio $O(2)$ forma duas ligações de hidrogênio, enquanto que o átomo $O(1)$ forma apenas uma ligação. Observa-se que a variação do volume em ~ 220 K possui uma melhor correlação com a variação do parâmetro c , sugerindo que o fenômeno que ocorre nesse eixo seja dominante na explicação da mudança de volume da célula unitária. Uma vez que os *zwitterions* de GABA estão arranjados em placas paralelas a (001) , então supõe-se

que pequenas distorções nessa direção sejam as mudanças dominantes responsáveis pela anomalia do comprimento c , bem como do volume da célula unitária do cristal.

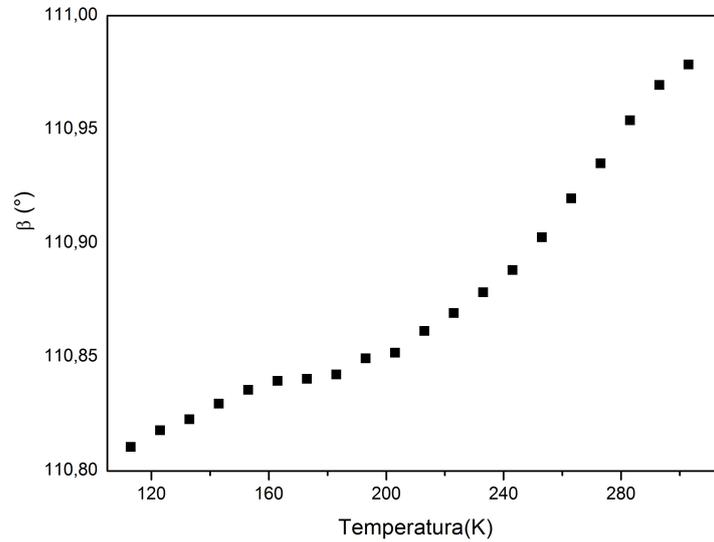


Figura 66: Parâmetro β , ângulo monoclinico, em função da temperatura.

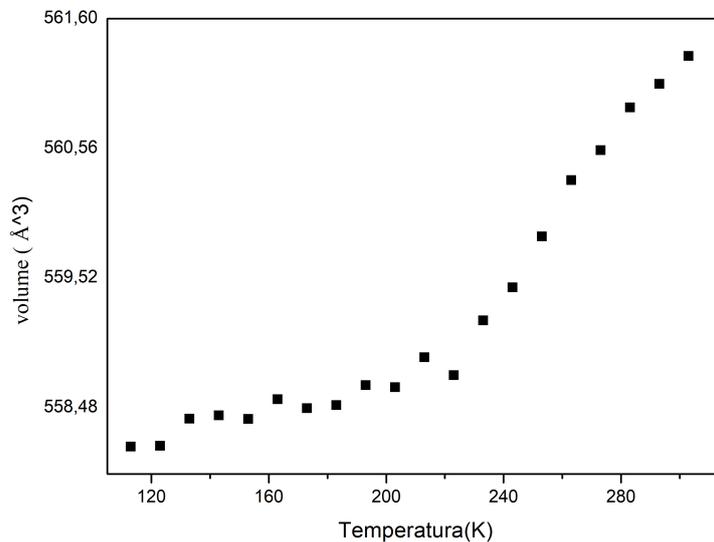


Figura 67: Parâmetro V em função da temperatura no intervalo entre 110 e 295 K.

4.5 Experimento de espectroscopia Raman do GABA em altas pressões

A Fig. 68 apresenta a evolução dos espectros Raman da GABA na região espectral entre 30 e 220 cm^{-1} para diversas pressões entre 1 atm (0,0 GPa) e 7,1 GPa. Como já discutido, estas bandas representam na sua maioria modos de translação ou

modos vibracionais, embora alguns deles possam estar acoplados a modos internos. No espectro registrado à pressão ambiente há um modo bem intenso para um número de onda inferior a 50 cm^{-1} e outros de menor intensidade para maiores números de onda. Quando a pressão é aumentada para 0,1 GPa várias mudanças são observadas no espectro Raman. Antes de discutí-las, lembra-se que já foi observado na L-asparagina monohidratada uma transição em torno de 0,1 GPa. Esse é um valor bastante pequeno e, na verdade, até o presente estudo apenas na própria L-asparagina monohidratada havia sido observada mudança estrutural em um valor tão baixo de pressão.

Retornando aos espectros Raman do cristal de GABA, as principais modificações do espectro registrado em 0,1 GPa em relação ao espectro em 0,0 GPa até 220 cm^{-1} são as seguintes: (i) um salto da banda de mais baixa energia para maiores valores; (ii) a abrupta mudança de intensidade desse modo (observa-se que em $P = 0,0 \text{ GPa}$ sua intensidade é mais do que o dobro da intensidade das outras banda, mas em $P = 0,1 \text{ GPa}$ ela passa a ter a mesma intensidade da banda vizinha), (iii) entre 100 e 115 cm^{-1} aparecem duas novas bandas registrado em 0,1 GPa.

Observando-se cuidadosamente o espectro em $P = 0,1 \text{ GPa}$ e comparando-o com os espectros em 0,0 GPa e em 0,2 GPa, percebe-se que ele é diferente desses outros dois. Isso sugere ou que ele pertença a uma fase diferente, ou que seja o resultado da mistura da fase à pressão ambiente $P2_1/c$ com a fase para pressões superiores a 0,2 GPa. Como ficará claro na análise de outras regiões espectrais mais adiante, a melhor interpretação para o espectro em $P = 0,1 \text{ GPa}$ é que ele corresponde ao registro de uma mistura de fases.

Nos espectros registrados em $P = 0,2 \text{ GPa}$ observa-se que a banda de menor número de onda possui uma baixa intensidade enquanto que a segunda banda de menor número de onda passa a ser a de maior intensidade. Duas bandas bem distintas, localizadas entre 75 e 90 cm^{-1} , também aparecem com intensidades médias e, finalmente, duas bandas largas aparecem entre 100 e 125 cm^{-1} . Assim, a partir desse quadro percebe-se que a fase correspondente ao espectro de 0,2 GPa é bem diferente da fase correspondente ao espectro de 1 atm. Isso significa que $P = 0,1 \text{ GPa}$ corresponde ao valor de pressão onde o GABA sofre uma transição de fase.

Vamos agora tentar acompanhar o comportamento da banda de maior intensidade no espectro registrado em $P = 0,2 \text{ GPa}$. Aumentando-se a pressão pelo menos até 1,5 GPa, esta banda vai diminuindo ligeiramente de intensidade, ao mesmo tempo que vai aumentando a sua largura de linha; simultaneamente o número de onda do modo aumenta linearmente. A partir de 1,7 GPa esta banda começa a se deformar de tal modo que em 2,1 GPa claramente há a existência de duas bandas.

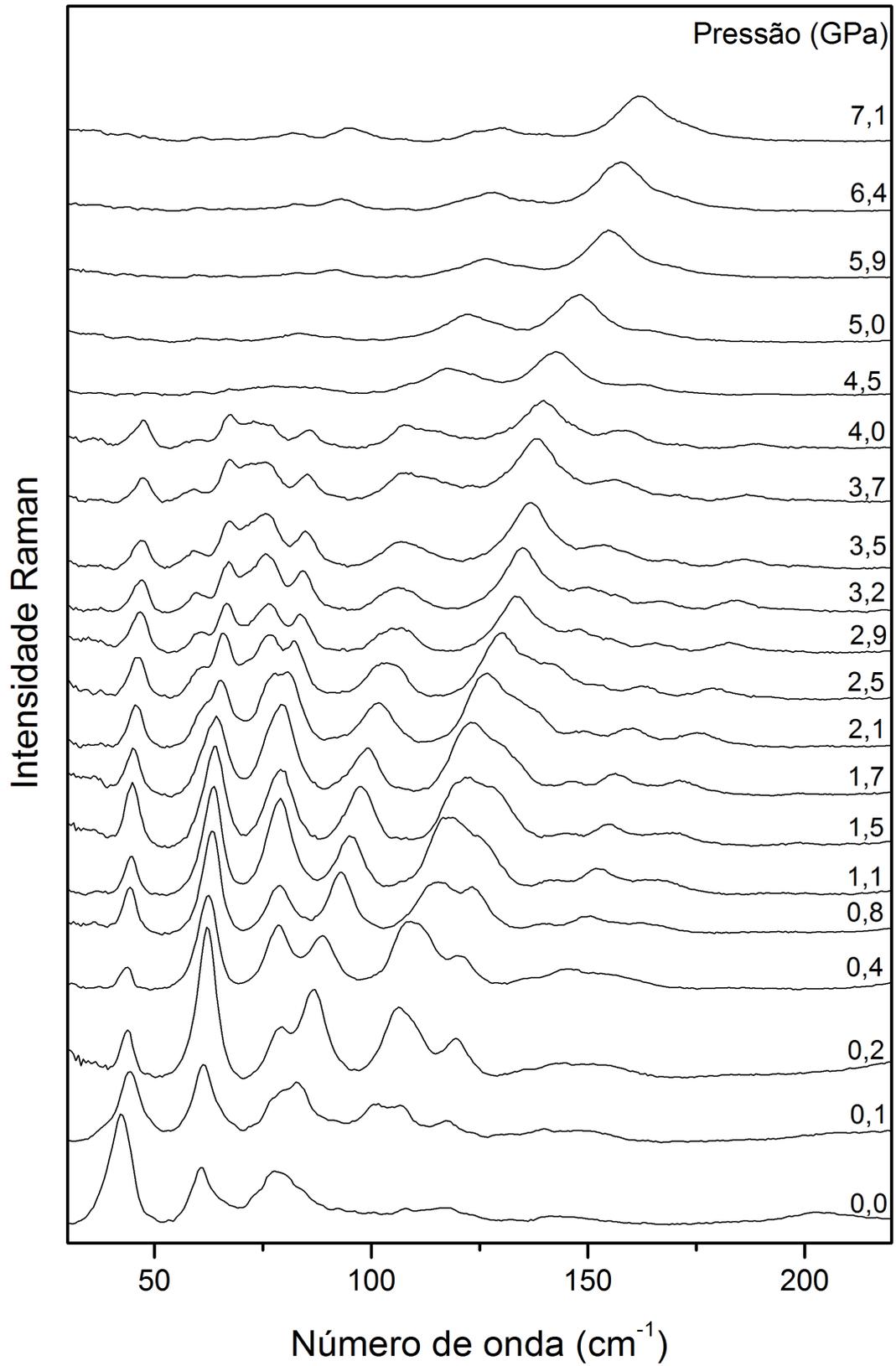


Figura 68: Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 30 a 220 cm^{-1} para vários valores de pressão.

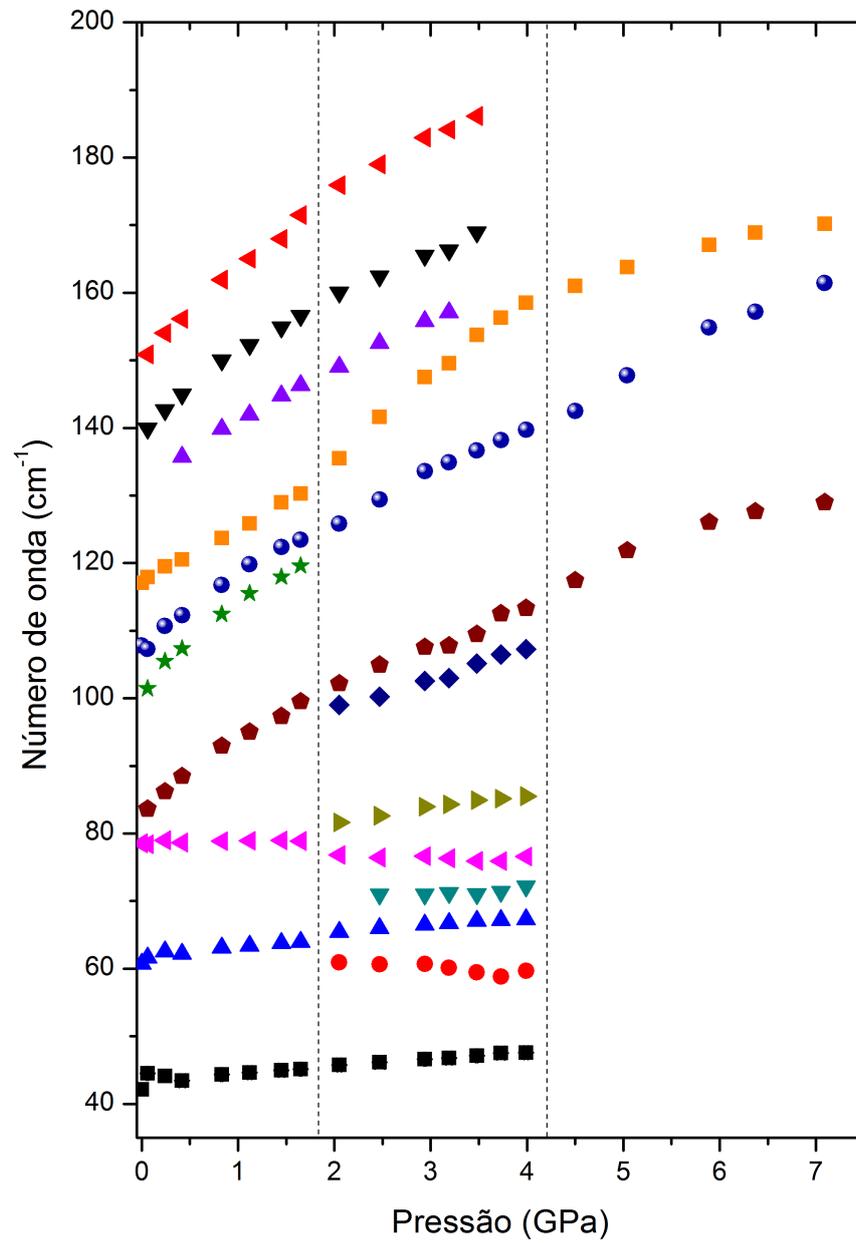


Figura 69: Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 30 - 220 cm^{-1} .

A próxima banda, no espectro em $P = 0,2$ GPa, ao contrário do que acontece com aquela discutida no parágrafo anterior vai aumentando de intensidade até atingir-se a pressão de 1,7 GPa. De fato, nesse valor de pressão a referida banda é aquela que apresenta a maior intensidade entre todos os picos que aparece no espectro Raman na região espectral considerada. Entretanto, nesse espectro de 1,7 GPa esta banda começa a se deformar e no espectro registrado em 2,1 GPa duas bandas são nitidamente visíveis.

A banda no espectro de 0,2 GPa apresenta uma evolução aproximadamente linear até cerca de 2,1 GPa. Neste valor de pressão o pico apresenta-se bastante alargado, sugerindo já a existência de dois modos. Esta série de separações de modos em torno de 2,0 GPa pode ser melhor apreciado observando-se a Fig. 69, que apresenta a evolução dos números de onda dos modos na região 20 - 200 cm^{-1} em função da pressão. Desta figura percebe-se de uma forma mais clara ainda que o cristal de GABA sofre uma transição de fase em torno de 2,0 GPa.

Até aqui os resultados apresentados pela espectroscopia Raman surtem que o cristal de GABA sofre uma transição de fase $\sim 0,1$ GPa e em $\sim 2,0$ GPa. É importante comparar nesse ponto esse interessante achado com outros publicados na literatura. Em primeiro lugar, vem à lembrança um estudo realizado no cristal da L-asparagina monohidratada (LAM) [25]. Quando o cristal de LAM foi submetido a condições de altas pressões observou-se uma série de três transições de fase no curto intervalo entre 0,0 e 1,6 GPa. Até hoje, esse é o recorde de transições de fase apresentados por um cristal de aminoácido para pressões hidrostáticas até 2,0 GPa. Geralmente, o que tem sido observado é que os cristais de aminoácidos apresentam uma transição de fase entre 2,0 e 3,0 GPa, ou então, não apresentam nenhuma transição de fase. Por exemplo, tanto a L-metionina [27] quanto a D-metionina [52] apresentam transição de fase em torno de 2,0 GPa. No que diz respeito à L-alanina foi reportada uma possível transição de fase em $\sim 2,2$ GPa [26] num estudo realizado através de espectroscopia Raman; entretanto, num estudo realizado posteriormente com difração de raios-X notou-se que, de fato, nesse valor de pressão dois parâmetros da célula unitária se tornam coincidentes e assim a estrutura ortorrômbica torna-se aparentemente tetragonal. No caso da α -glicina, estudos realizados também com espectroscopia Raman mostraram que o cristal é aparentemente estável até a pressão de 23 GPa. Em resumo, um cristal de aminoácido apresentar duas transições de fase no intervalo 0 - 2 GPa é um caso bastante raro.

Vamos continuar a análise dos espectros Raman do GABA para altas pressões na região dos modos externos. Entre 2,5 e 4,0 GPa todas as bandas evoluem de uma forma linear para a maioria dos modos. O dado mais importante é que todos aqueles que encontram-se presentes em $P = 2,5$ GPa também são observados em $P = 4,0$ GPa. Isso

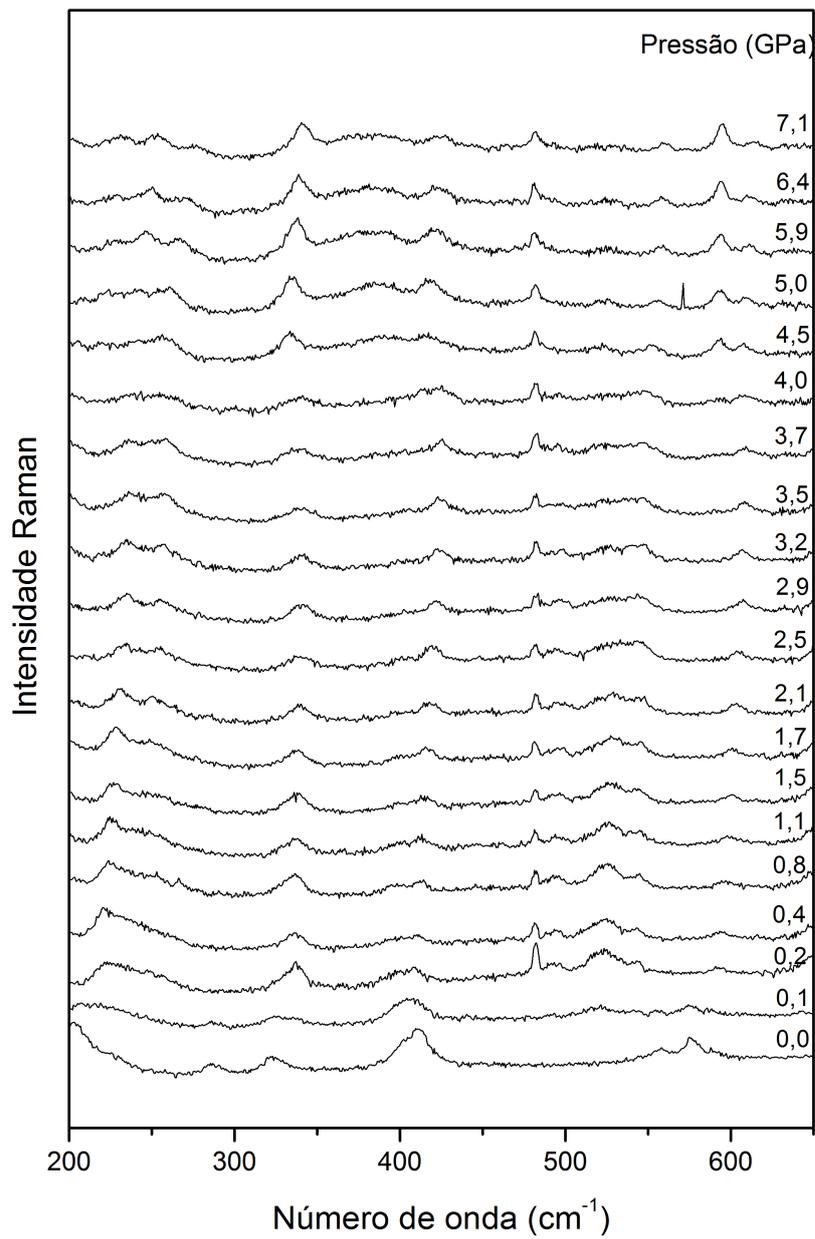


Figura 70: Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 200 a 650 cm^{-1} para vários valores de pressão.

indica que a estrutura do GABA permanece estável neste intervalo de pressão.

Observe-se agora o espectro Raman registrado em 4,5 GPa. Todos os modos para números de onda inferiores a 110 cm^{-1} desaparecem, ao mesmo tempo em que três modos que permanecem visíveis acima deste valor mantêm-se com uma largura bastante acentuada. O desaparecimento de várias bandas com baixos números de onda é um forte indicativo de que o GABA sofre outra transição de fase acima de 4,0 GPa. Em resumo, a Fig. 68 sugere que o cristal de GABA sofre transições de fase em 0,1 GPa, em aproximadamente 2,0 GPa e em torno de 4,0 GPa.

Um aspecto que tem sido discutido nos últimos tempos relativos à aplicação de pressão em cristais de aminoácidos é a possibilidade de ocorrer amorfização induzida por este parâmetro termodinâmico. Na verdade, experimentos realizados com a L-alanina mostraram que este cristal sofre uma amorfização em torno de 13 GPa. Se compararmos tal valor de pressão com aqueles aplicados em outros cristais de aminoácidos poderemos considerá-lo um valor relativamente baixo. De fato, no próprio cristal de L-asparagina monohidratado anteriormente mencionado, já foi aplicada pressões de até 30 GPa sem nenhuma mínima evidência de amorfização. No caso do cristal estudado nessa tese, a pressão máxima conseguida (7,1 GPa) é muito baixa para se observar qualquer indício do fenômeno. Assim, tal ponto não pode ser discutido de uma forma mais aprofundada no presente trabalho, embora possamos afirmar categoricamente em vista da permanência de modo externo até o máximo valor de pressão, que o GABA permanece com uma estrutura cristalina bem definida.

A Fig. 70 apresenta a evolução dos espectros Raman do GABA para pressões entre 1 atm e 7,1 GPa para o intervalo espectral entre 200 e 650 cm^{-1} . Como pode ser vislumbrado na figura, as bandas que aparecem nessa região espectral são de baixa intensidade, de tal modo que sua análise mais precisa fica prejudicada. De qualquer forma, é possível perceber que o espectro tomado em $P = 0,1\text{ GPa}$ é diferente tanto daqueles registrados em 0,0 e $P = 0,2\text{ GPa}$, mas tendo características de um e de outro. Este fato reforça a conclusão obtida pela avaliação da Fig. 68, qual seja, que na pressão de 0,1 GPa o cristal deve encontrar-se numa mistura de fases. Entre 0,2 e 2,1 GPa os espectros permanecem aproximadamente invariantes. A verdade, até a pressão de aproximadamente 4,0 GPa os espectros permanecem com poucas modificações. Para enxergar melhor esse fato, fez-se um gráfico do número de onda em função da pressão na região espectral considerada (Fig. 71). Observa-se que os números de onda dos dois modos localizados entre $500\text{ e }550\text{ cm}^{-1}$, a partir da pressão de 2,5 GPa aumentam e diminuem com a pressão até 4,0 GPa. Acima deste último valor de pressão os espectros Raman qualitativamente ficam diferentes de tal modo que o próximo intervalo de pressão, 4,5 -

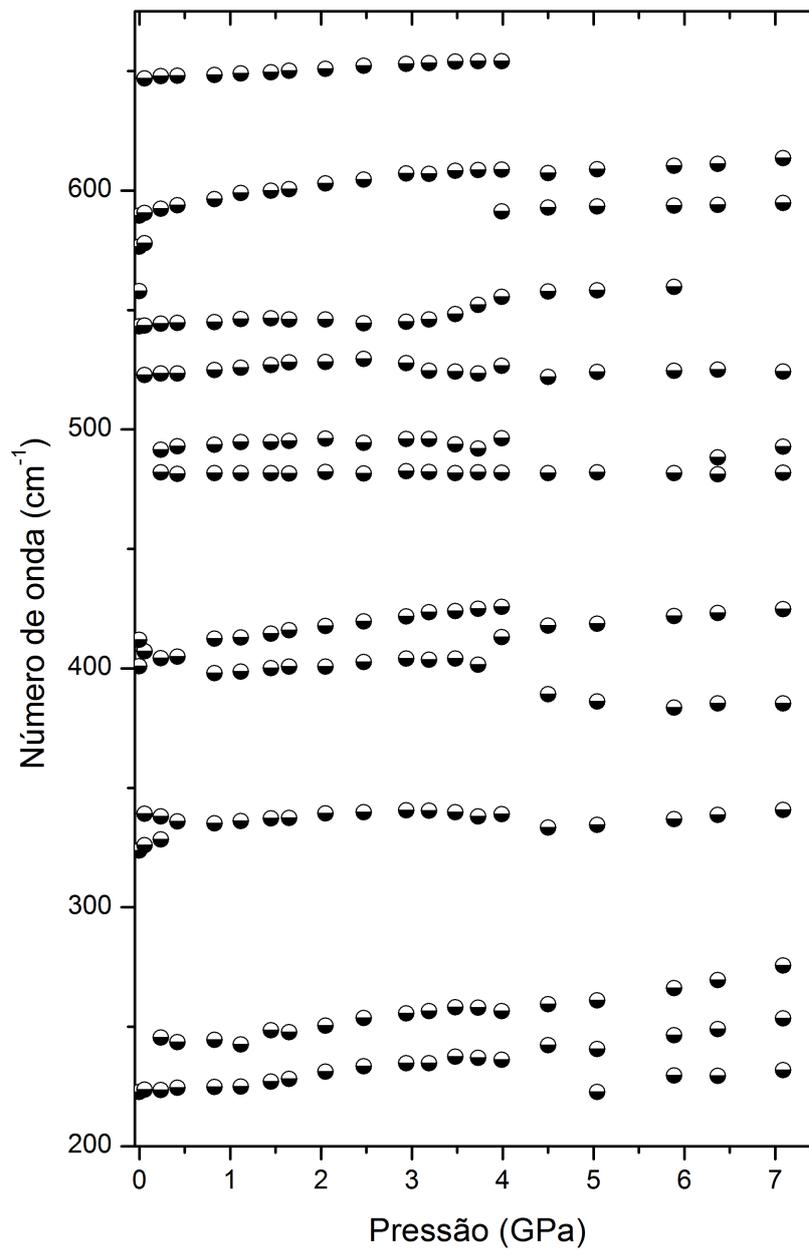


Figura 71: Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 200 - 650 cm⁻¹.

7,1 GPa, é caracterizado por um formato de bandas diversos. O conjunto das mudanças observadas nos espectros Raman nessa região espectral sugerem que em $\sim 4,0$ GPa o cristal realmente esteja sofrendo uma transição de fase.

Vamos agora analisar a Fig. 72 que apresenta os modos de cristal de GABA no intervalo espectral entre 650 e 1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão. No espectro obtido em $P = 0,0$ GPa são observados claramente sete picos, entre 850 e 1150 cm^{-1} (há ainda um oitavo pico de baixa intensidade em aproximadamente 785 cm^{-1}). Estes picos estão associados aos estiramentos CC, $\nu(CC)$, e estiramentos CN, $\nu(CN)$, conforme discutido no capítulo 4. São picos finos e bem definidos que podem ser ajustados por curvas lorentizianas com muita facilidade. Quando a pressão é aumentada para 0,1 GPa um espectro bem diferente do original é obtido. As principais diferenças notadas são (i) o aparecimento de um nova banda em ~ 920 cm^{-1} , (ii) o aparecimento de uma banda em cerca de 970 cm^{-1} , (iii) o aparecimento de uma terceira banda de baixa intensidade em 1045 cm^{-1} e o alargamento da banda em 1070 cm^{-1} . É curioso observar que todas as bandas presentes no espectro da pressão ambiente são visíveis no espectro de $P = 0,1$ GPa. Além disso, bandas adicionais surgem, sugerindo ou uma nova fase ou uma mistura de fases.

Quando a pressão atinge 0,2 GPa o espectro obtido apresenta grandes mudanças em relação ao espectro anterior. Quase todos os picos da fase da pressão ambiente desaparecem, enquanto que alguns dos picos que aparecem em $P = 0,1$ GPa aumentam bastante de intensidade. A esse respeito, uma banda bastante intensa em ~ 920 cm^{-1} destaca-se no espectro de $P = 0,2$ GPa. Como ela surge numa região espectral onde geralmente são observados modos associados aos estiramentos CC, tal banda pode ser associada tentativamente a um modo $\nu(CC)$. Entretanto, o dado mais importante quando se faz uma comparação entre os três espectros nas pressões de 0,1 e 0,2 GPa é que no valor intermediário de pressão ($P = 0,1$ GPa) há picos característicos das pressões abaixo e acima, sugerindo portanto, que em $P = 0,1$ GPa há uma mistura de fases.

Neste ponto é interessante fazer um comentário sobre a chamada mistura de fases. Ela pode ser interpretada como a fronteira entre duas fases vizinhas. Analisando-se a literatura relacionada ao grupo de cristais dos aminoácidos verifica-se que um estudo realizado com um cristal de L-metionina também mostrou a coexistência de fases quando o material foi submetido a altas pressões [27]. No referido estudo observou-se que no espectro Raman registrado em aproximadamente 2,2 GPa há picos característicos da fase da pressão ambiente e picos característicos de uma fase de altas pressões. Portanto, pode-se considerar que os dois exemplos - a L-metionina e o GABA - constituem exemplos onde a fronteira entre duas fases foi fotografada pela espectroscopia Raman. A única

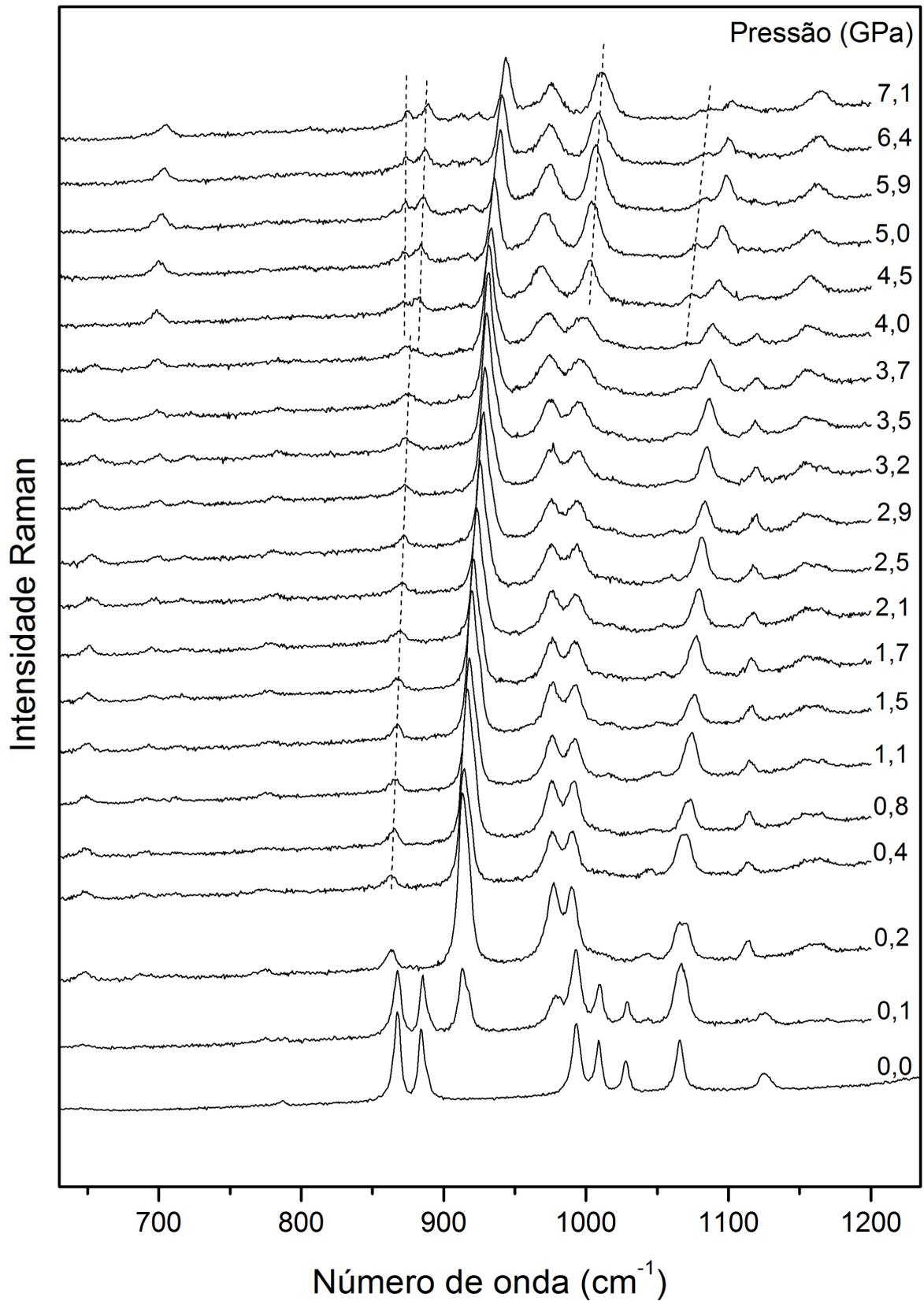


Figura 72: Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 630 a 1220 cm^{-1} para vários valores de pressão.

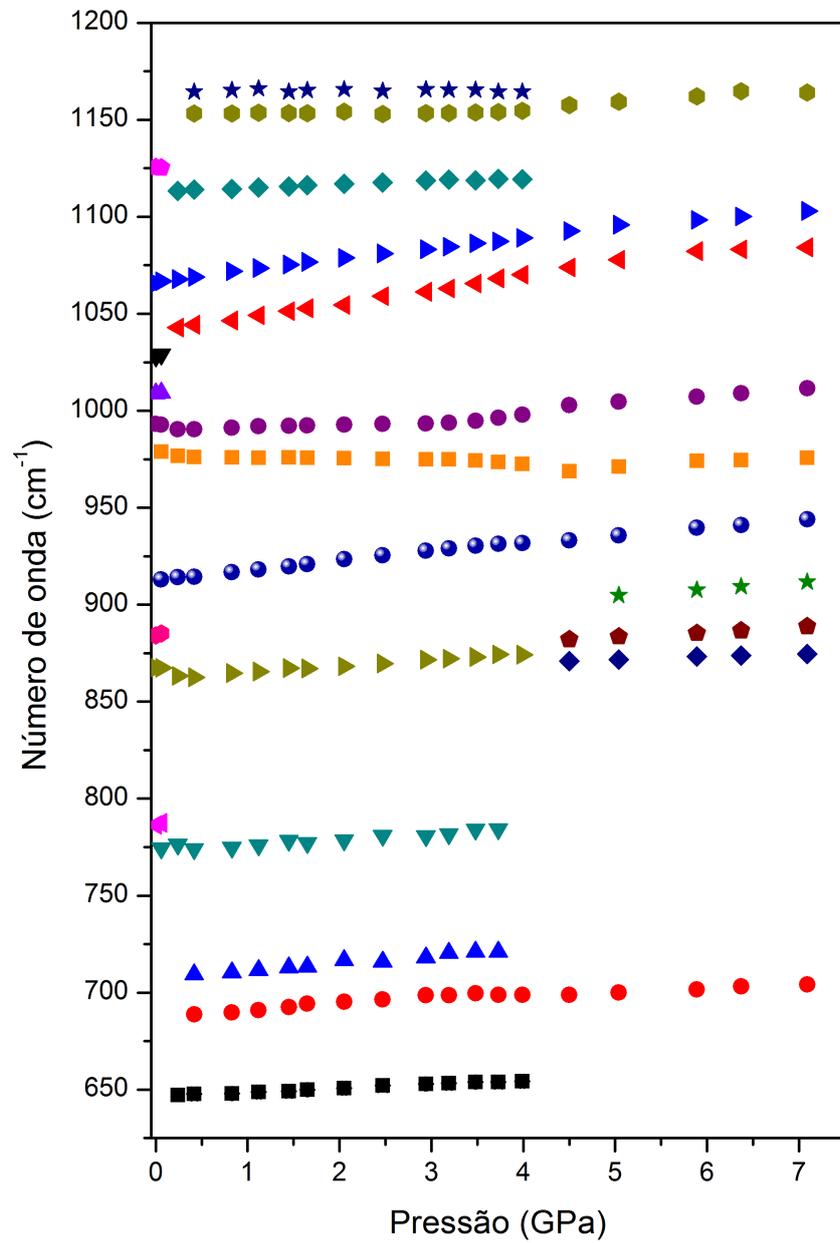


Figura 73: Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa 630 - 1220 cm^{-1} .

diferença entre as duas situações é que no caso do cristal do GABA investigado nessa tese a fronteira ocorre em um valor de pressão muito mais baixo. Isso nos reporta a uma outra questão, qual seja, a da razão para as estabilidades das fases de pressão ambiente serem tão diversas. Essa questão será discutida mais à frente.

A partir do espectro registrado em 0,2 GPa até o espectro registrado em 3,7 GPa, a evolução dos modos de vibração do GABA apresenta-se sem grandes mudanças. Lembra-se que, ao se analisar a evolução dos modos Raman na região espectral de até 200 cm^{-1} , obteve-se evidência de que o cristal sofre uma transição de fase em $\sim 2,5$ GPa. Isso significa que esta transição de fase não produz grandes modificações nos modos associados aos estiramentos CC e CN. Em outras palavras, outras partes da molécula é que estão relacionadas à transição de fase em $P = 2,5$ GPa. Tal fato será também discutido mais adiante.

Observa-se agora o espectro do GABA em $P = 4,0$ GPa. Ele apresenta umas pequenas modificações em relação ao espectro em 3,7 GPa. Por exemplo, é bem visível a separação (*splitting*) da banda registrada em cerca de 870 cm^{-1} , que certamente está associada ao $\nu(CC)$. Há também um importante alargamento das duas bandas localizadas entre 950 e 1000 cm^{-1} . Quando a pressão atinge novamente o valor de 4,5 GPa as duas bandas mudam ligeiramente suas larguras de linha, tornando-se mais finas; além disso, uma delas dá um salto para um menor número de onda enquanto a segunda dá um salto para um maior valor. Dessa maneira, podemos afirmar que é possível vislumbrar nos espectros Raman apresentados na região 650 - 1200 cm^{-1} evidências que corroboram com a hipótese de que o cristal de GABA sofre uma transição de fase em torno de 4,0 GPa. Finalmente, na Fig. 73 apresenta-se a evolução dos números de onda dos modos do GABA em função da pressão na região espectral 650 - 1200 cm^{-1} , onde o que foi discutido anteriormente é melhor vislumbrado.

A Fig. 74 apresenta a evolução dos espectros Raman do cristal de GABA em função da pressão para o intervalo espectral entre 1400 e 1700 cm^{-1} . Como visto em outras regiões espectrais, o espectro de 0,1 GPa parece ser a mistura dos espectros registrados à pressão atmosférica (0,0 GPa) e à pressão de 0,2 GPa. No espectro da pressão ambiente destacam-se duas bandas em torno de 1400 cm^{-1} , que estão associadas ao dobramento simétrico do CH_2 , $\delta_s(CH_2)$, e uma banda em cerca de 1420 cm^{-1} , que tentativamente foi associada a um dobramento antissimétrico do CH_2 , $\delta_a(CH_2)$, como visto anteriormente.

No espectro registrado em $P = 0,2$ GPa observam-se duas bandas intensas entre 1380 e 1400 cm^{-1} , uma banda em aproximadamente 1430 cm^{-1} e um dubleto em aproximadamente 1480 cm^{-1} . Todas essas são bandas novas em relação ao espectro da fase de pressão ambiente, mas certamente devem ser classificadas como dobramentos do

grupo CH_2 . Ao aumentar-se a pressão a banda de mais baixo número de onda nessa região espectral permanece praticamente invariante. Já o modo que aparece como uma banda de mais alta intensidade próximo de 1400 cm^{-1} apresenta um grande $d\omega/dP$ entre $P = 0,2\text{ GPa}$ até $P = 7,1\text{ GPa}$. A banda observada em $\sim 1430\text{ cm}^{-1}$ ($P = 0,2\text{ GPa}$) apresenta número de onda que evolui linearmente com a pressão, mas em cerca de $2,1\text{ GPa}$ parece começar a haver uma separação (*splitting*) que se torna mais evidente nos espectros acima de $2,9\text{ GPa}$. No que diz respeito ainda a essa banda, observa-se que o pico que começa a surgir devido à separação das bandas ganha intensidade; no espectro registrado em $4,0\text{ GPa}$ essa nova banda possui uma intensidade maior do que a banda que o deu origem.

No que diz respeito ao dubleto em $\sim 1480\text{ cm}^{-1}$ ($P = 0,2\text{ GPa}$) ele apresenta um comportamento bem curioso. À medida que a pressão é aumentada a banda de menor número de onda começa a diminuir de intensidade, embora ela seja visível até no espectro registrado em $3,5\text{ GPa}$. Em $P = 3,7\text{ GPa}$ a banda que vinha perdendo intensidade começa a aumentar novamente de tal modo que no espectro registrado em $4,0\text{ GPa}$ ele possui uma intensidade mediana.

De toda essa discussão pode-se afirmar que, com exceção do começo da separação da banda em $2,1\text{ GPa}$, não há fortes indícios para se afirmar que esteja ocorrendo uma transição de fase em $P = 2,0\text{ GPa}$. Assim, pelo menos nesta região espectral, pode-se afirmar que esta transição de fase não é muito visível.

Entre $4,0$ e $4,5\text{ GPa}$ ocorrem grandes modificações no espectro Raman do cristal de GABA no intervalo espectral entre 1400 e 1700 cm^{-1} , incluindo variações diversas de intensidades de bandas e mudanças bruscas nos números de onda de diversos modos. Esse último aspecto pode ser melhor visualizado através de gráfico dos números de onda em função da pressão apresentados na Fig. 75. Entre as várias mudanças verificadas no formato das bandas destaca-se a diminuição de intensidade da banda mais intensa registrada no espectro em $P = 4,0\text{ GPa}$; no espectro em $4,5\text{ GPa}$ essa banda aparece com baixa intensidade e nos espectros seguintes encontra-se imperceptível. A banda que no espectro registrado em $P = 4,0\text{ GPa}$ aparece em aproximadamente 1485 cm^{-1} , pelo contrário, aumenta bastante de intensidade no espectro em $P = 4,5\text{ GPa}$, de tal modo que ela se torna a banda de maior intensidade neste último valor de pressão. Todos esses aspectos, em conjunto, confirmam o que já foi relatado em outras regiões espectrais, qual seja, que o cristal sofre uma transição de fase entre $4,0$ e $4,5\text{ GPa}$.

Acima de $4,5\text{ GPa}$, com exceção da separação entre duas bandas em virtude de possuírem diferentes $d\omega/dP$ valores, todas as bandas evoluem sem variações bruscas, confirmando os dados das outras regiões espectrais, *i.e.*, o cristal permanece em uma

mesma estrutura entre 4,5 e 7,1 GPa. Dessa forma, terminamos a descrição das três transições de fase e tentaremos, a seguir, fornecer uma interpretação para as mesmas.

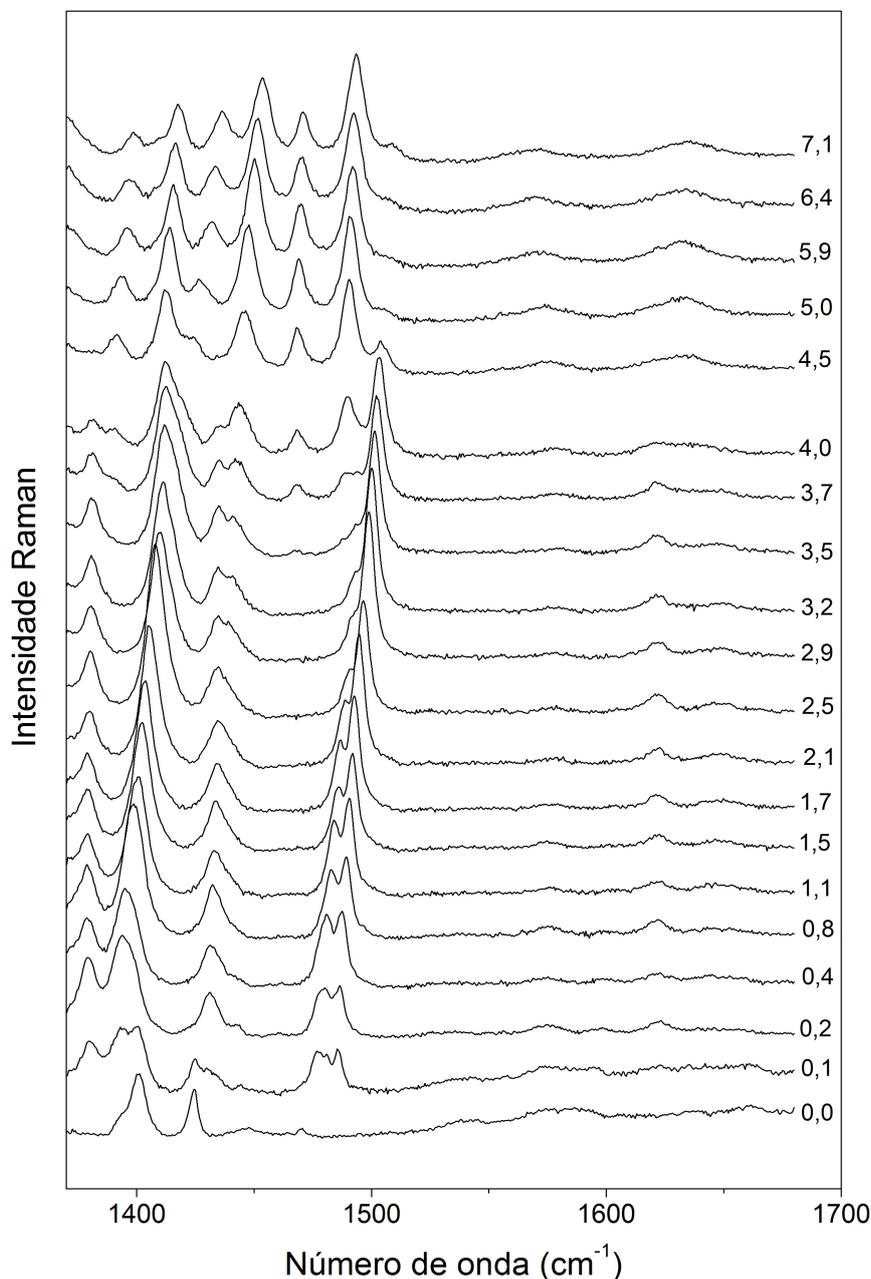


Figura 74: Espectros Raman de GABA na faixa espectral de 1380 a 1700 cm^{-1} para vários valores de pressão.

A primeira transição de fase, de acordo com a nossa discussão, ocorre em 0,1 GPa. Esta transição envolve grandes deformações do esqueleto da molécula de GABA, haja vista que importantes mudanças são observadas na região espectral onde aparecem as bandas associadas com os estiramento CC, $\nu(CC)$, e estiramentos CN, $\nu(CN)$. O surgimento de uma banda bastante intensa em 920 cm^{-1} quando a pressão atinge 0,2 GPa é a mais forte evidência de uma nova conformação para o GABA acima dessa pressão. Adi-

cionalmente, as modificações verificadas nos modos associados às deformações do grupo CH_2 , $\delta_s(CH_2)$ e $\delta_a(CH_2)$ em aproximadamente 1400 cm^{-1} reforçam a interpretação de que a transição de fase envolve mudança conformacional das moléculas, ou seja, deformação do esqueleto. De fato, se o esqueleto da molécula se contorce mais fortemente durante a transição, espera-se que modificações no grupo CH_2 , em particular os *bendings*, sejam observadas. E isso é o que realmente é verificado.

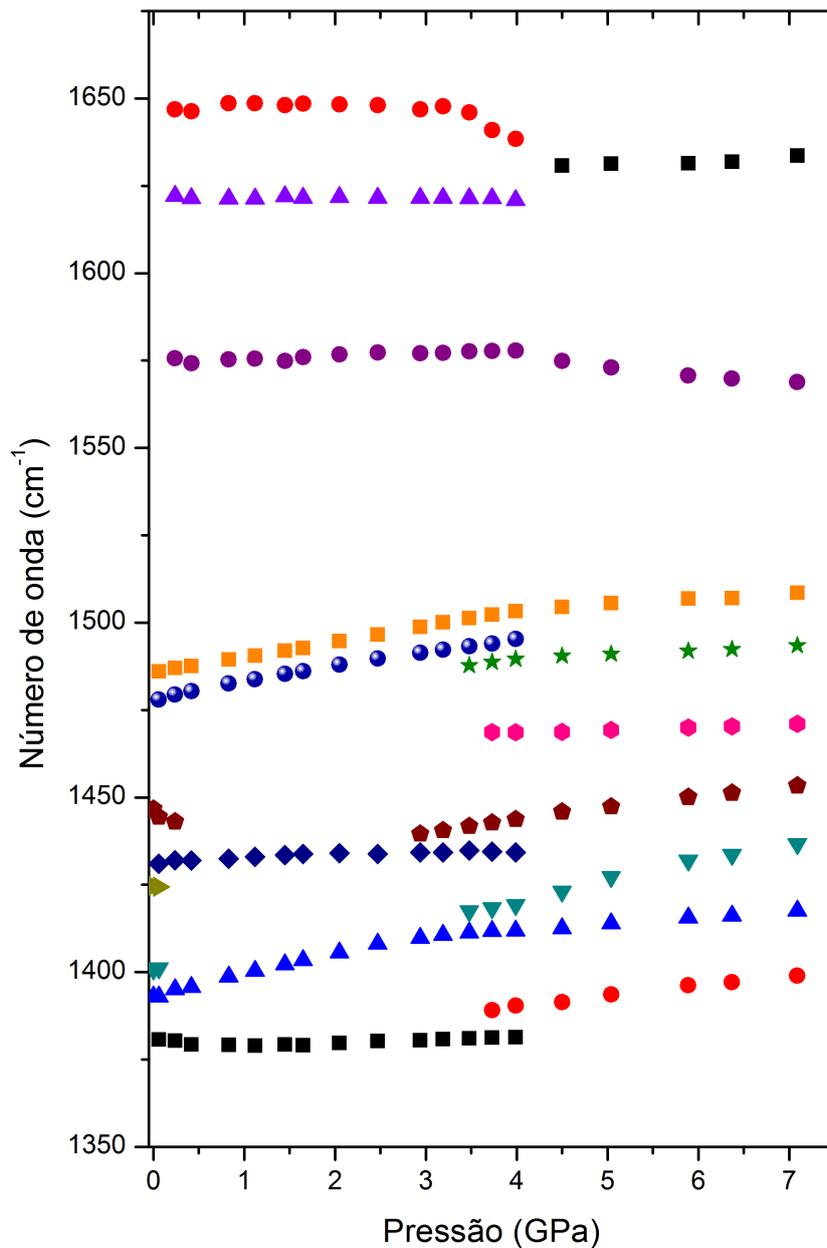


Figura 75: Número de onda em função da pressão dos modos para o GABA na faixa $1380 - 1700\text{ cm}^{-1}$.

No que diz respeito à segunda transição de fase, foram notadas evidências de sua ocorrência em aproximadamente 2,0 GPa, principalmente pela observação do espectro

Raman na região de pequenos números de onda. Por outro lado, não existem muitas evidências de que o cristal de GABA sofra uma transição de fase se são observadas apenas as regiões espectrais onde deveriam ser encontrados os estiramentos das unidades CC, entre 800 e 1100 cm^{-1} , e os *bendings* (dobramentos) do CH_2 , próximos a 1400 cm^{-1} . Tal fato sugere que, diferentemente do que é observado na primeira transição de fase, a segunda transição de fase não envolve modificações substanciais nas moléculas do GABA na célula unitária.

Na terceira transição de fase é possível observar grandes modificações na região dos modos externos, bem como aparecimentos de modos na região onde são esperadas as vibrações de estiramento CC Fig. 75 e na região onde são observados os dobramentos do grupo CH_2 . Estes fatos podem ser interpretados com uma transição de fase envolvendo mudança conformacional das moléculas de GABA na célula unitária, à semelhança do que foi observado na primeira transição de fase, anteriormente discutida. Observa-se, em particular, que o novo formato das bandas nessa transição de fase começa a se delinear antes da pressão de 4,0 GPa, sugerindo que se trata de um processo lento.

Há um outro detalhe sutil que deve ser destacado na terceira transição de fase. Nela, observa-se que mudanças também ocorrem nas bandas de baixa intensidade observadas entre 1150 e 1200 cm^{-1} , que pode ser classificadas como modos do tipo *rocking* do (NH_3^+) (de fato, em muitos cristais como na β -glicina [53] e na DL-serina [54], o *rocking* do (NH_3^+), aparece exatamente aí). Como consequência dessas últimas mudanças pode-se sugerir a ocorrência de mudanças nas ligações de hidrogênio existentes entre as várias moléculas. Em outras palavras, a mudança conformacional e a mudança nas ligações de hidrogênio ocorreriam simultaneamente, à semelhança do que ocorre, por exemplo, com a DL-cisteína em baixas temperaturas [55]. Mas há uma diferença sustancial entre os dois casos. Na DL-cisteína, a mudança conformacional é bastante forte: durante a transição de fase o ângulo de torção N-C-C-S gira quase que abruptamente por nada menos do que 130°. Como bem descrito no trabalho da Ref. [55], após a transição de fase iniciar-se, a interface entre as moléculas com os dois tipos de torções se espalha rapidamente, produzindo a fragmentação do cristal. No caso do cristal de GABA, não foi observada nenhuma fragmentação durante a transição de fase, o que implica que a mudança conformacional não deve ser tão excessivo como no caso do cristal racêmico de cisteína. Ou seja, é uma mudança conformacional com um giro não muito grande do esqueleto da estrutura da molécula de GABA.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesta Tese o cristal o ácido γ -aminobutírico foi estudado sob a óptica da espectroscopia Raman e infravermelho e da difração de raios-X.

À temperatura e pressão ambientes determinou-se os modos normais de vibração do material no intervalo de frequência entre 20 e 3000 cm^{-1} . Uma identificação tentativa, baseada em estudos realizados em outros cristais de aminoácidos foi fornecida.

Estudou-se o cristal de ácido γ -aminobutírico num longo intervalo de temperatura: entre 20 e 440 K, através da espectroscopia Raman, e entre 110 e 440 K, por difração de raios-X e análise Rietveld. Observou-se que para temperaturas superiores à ambiente o cristal mantém a sua estrutura monoclinica original sem modificação. Para baixas temperaturas, o comportamento do cristal é mais complexo. Enquanto os parâmetros b e c diminuem com a temperatura, como é esperado, o parâmetro cristalográfico a aumenta com o resfriamento. No geral, o volume da célula unitária diminui com a diminuição de temperatura, como seria esperado. Também observou-se mudança na inclinação das curvas representando as dimensões dos parâmetros cristalográficos b e c . Em particular, a anomalia na dimensão do eixo c foi tentativamente associada a pequenas modificações de hidrogênio ao longo da direção (001).

Também foram realizados experimentos de espectroscopia Raman num cristal de GABA dentro de uma bigorna de diamantes, atingindo-se uma pressão máxima de 7,1 GPa. Dessa investigação foi possível inferir que o cristal sofre transições de fase em 0,10; 2,0 e 4,0 GPa. Essas transições de fase ocorrem com mudanças conformacionais das moléculas de GABA. Adicionalmente, percebeu-se que modificações espectrais são observadas na região de modos de estiramento CC e dobramento CH_2 , além de modificações em modos associados ao *rocking* e à torção do grupo NH_3^+ . Mudanças verificadas em modos relacionados ao NH_3^+ , ademais, podem ser interpretadas como consequência de mudanças na rede de ligações de hidrogênio que ligam as moléculas na célula unitária; esse é exatamente o caso da última transição de fase observada.

Apesar dos avanços no entendimento das propriedades vibracionais e estruturais do cristal GABA, outros estudos podem ser realizados para se entender ainda mais esse sistema. Esses estudos ficam como perspectivas de trabalhos futuros. Em primeiro lugar, realizar cálculos computacionais do tipo *ab initio* para fazer a identificação mais precisa dos modos normais de vibração do cristal GABA e, assim, confirmar os resultados apresentados nesta tese.

Em segundo lugar será interessante entender melhor a fase de mais baixa tem-

peratura. Fica como sugestão nessa tese, a cristalização do GABA e a posterior análise de difração de raios-X em monocristal para se descobrir a fase de mais baixa temperatura.

O terceiro ponto que fica como perspectiva é o estudo das diversas fases do GABA obtidas numa célula de pressão a extremos de diamantes com raios-X de alta energia oriundo de um síncrotron, como é possível obter com as facilidades existentes no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron em Campinas, ou mesmo em outros laboratórios com facilidades semelhantes.

REFERÊNCIAS

- [1] JELITAI, Marta, E. madarasz. The Role of GABA in the Early Neuronal Development. *International Review of Neurobiology*, v. 71, p. 27–62, 2005.
- [2] OH, W. C., Lutz S., Castillo P. E., K. H. B. De novo synaptogenesis induced by GABA in the developing mouse cortex. *Science*, v. 353, p. 1037–1040, 2016.
- [3] JOHNSTON, G. A. R. GABAA Receptor Channel Pharmacology. *Current Pharmaceutical Design*, v. 11, p. 1867–1885, 2005.
- [4] SHABEL, S. J. GABA/glutamate co-release controls habenula output and is modified by antidepressant treatment. *Science*, v. 345, p. 1494–1498, 2014.
- [5] VRIES, E. J. C., D. C. Levendis, H. A. R. Are gamma amino acids promising tools of crystal engineering - Multicomponent crystals of baclofen. *CrysEngComm*, v. 13, p. 3334 – 3337, 2011.
- [6] FABBIANI, F. P. A.; David R. Allan, W. G. M.; Parsons, Simon, Colin R. Pulham, R. I. S. High-pressure recrystallisation - A route to new polymorphs and solvates of acetamide and parabanic acid. *Journal of Crystal Growth*, v. 275, n. 1-2, p. 185–192, 2005. ISSN 00220248.
- [7] DOBSON, A. J., R. E. G. γ -Aminobutyric Acid: a novel Tetragonal Phase. *Acta: Crystallographica Section C*, v. 52, p. 3075–3078, 1996.
- [8] TOMITA, ken-ichi, Hideko higashi, T. F. Crystal and Molecular Structure of ω -Amino Acids, ω -Amino Sulfonic Acids and Their Derivatives. IV. The Crystal and Molecular Structure of gama-Aminobutyric Acid (GABA), a Nervous Inhibitory Transmitter. *Bulletin of the chemical society of Japan*, v. 46, p. 2199–2204, 1973.
- [9] FABBIANI, F. P. A., G. Buth, D. C. Levendis, A. J. C.-c. Pharmaceutical hydrates under ambient conditions from high-pressure seeds: a case study of GABA monohydrate. *Chemical Communications*, v. 50, p. 1817 – 1819, 2014.
- [10] BERNSTEIN, J. Molecular crystals: pinching polymorphs. *Nature Materials*, v. 4, p. 427 – 428, 2005.
- [11] KOLESNIK, E. N., S. V. Goryanov, E. V. Boldyreva, D. Different behavior of the crystals of L- and DL-serine at high pressure. Transitions in L-serine and the stability of the phase of DL-serine. *Physical Chemistry*, v. 404, p. 169 – 172, 2005.
- [12] GORYAINOV, S. V., E. V. Boldyreva, E. N. kolesnik. Pressure-induced phase transitions in organic molecular crystals: a combination of X-ray single-crystal and powder diffraction, Raman and IR-spectroscopy. *Chemical Physics Letters*, v. 419, p. 496 – 500, 2006.
- [13] MURLI, Chitra, S. M. Sharma, S. Karmakar, S. K. S. alpha-Glycine under high pressure: a Raman scattering study. *Physica B Condensed Matter*, v. 339, p. 23 – 30, 2003.

- [14] CARUSO, Francisco., V. O. *Física Moderna*. 2ª edição. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2007. 608 p.
- [15] FERNANDES, C. R. *Espectroscopia Raman e infravermelho em cristais de aminoácidos: os casos da L-valina e do ácido L-glutâmico*. 264 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2015.
- [16] MELO, W. D. C. *Transições de fase em monocristais de D-metionina*. 87 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2012.
- [17] SALA, O. *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*. 2ª. ed. São Paulo: [s.n.], 2008. 1–140 p. ISBN 978-85-7139-868-9.
- [18] GRASSELLI, JanetteG., Marcia K. Snavavely, B. J. B. Applications of Raman spectroscopy. *Physics Reports*, v. 65, n. 4, p. 231–344, nov 1980. ISSN 03701573.
- [19] SOUSA, F. F. *Estudo de espalhamento Raman nos ácidos palmítico e esteárico: forma C*. 20–37 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2010.
- [20] JORGENSEN, E. M. Table of Contents GABA. *Howard Hughes Medical Institute and Departamento of Biology*, v. 1, p. 1–13, 2005.
- [21] LIMA, C. L. *Estudo espectroscópico de materias: A múltipla aplicabilidade da espectroscopia Raman na caracterização de aminoácidos, molibidato e tungstato de sódio, e óxidos nanomoldados*. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2011.
- [22] CHALMERS, J. M., P. R. G. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. [S.l.: s.n.], 2002.
- [23] DIEIGIN, Thomas, Olaf Hollricher, J. toporski. *Confocal Raman Microscopy*. Atalanta - USA: [s.n.], 2010. 306 p. ISBN 9783642125218.
- [24] ASHCROFT, Neil W., N. D. M. *Física do Estado Sólido*. São Paulo: [s.n.], 2011. 870 p.
- [25] MORENO, A. J. D., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, M. A. Araújo Silva, I. Guedes, J. M. F. Pressure-induced Phase Transitions in monohydrated L-asparagine Aminoacid Crystals. *Solid State Communications*, v. 103, n. 12, p. 655–658, 1997.
- [26] TEIXEIRA, A M. R., P. T. C. Freire, A. J. D. Moreno, J. M. Sasaki, A. P. Ayala, J. Mendes Filho, F. E. A. M. High-pressure Raman study of L-alanine crystal. *Solid State Communications*, v. 116, n. 7, p. 405–409, 2000. ISSN 00381098.
- [27] LIMA, J. A., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. mendes Filho, P. S. P. High pressure Raman spectra of L-methionine crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 39, p. 1356–1363, dec 2008. ISSN 1098-6596.
- [28] MAYO, Dana W., Foil A. Miller, R. W. H. *Course Notes on the Interpretation of Infrared and Raman Spectra*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2004. 583 p. ISBN 9780471690085.
- [29] BOUGEARD, D., M. Bouback, A. C. *Infrared and Raman Spectroscopy*. New York: [s.n.], 1995. 808 p. ISBN 3527264469.

- [30] COLTHUP, Norman B., Lawrence H. Daly, S. E. W. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. 3^o. ed. San Diego: [s.n.], 1990. 1–547 p.
- [31] GRIFFITHS, P. R. *Fourier Transform Infrared Spectrometry Second Edition*. Segunda. Georgia: [s.n.], 2007. 557 p. ISBN 9780471194040.
- [32] KITTEL, C. *Física do Estado Sólido*. Oitava. Rio de Janeiro: [s.n.], 2006. 578 p.
- [33] OLIVEIRA, Ivan S., V. L. B. d. J. *Física do Estado Sólido*. 2^a edição. ed. São Paulo: [s.n.], 2011. 507 p.
- [34] JÚNIOR, J. A. L. *Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de Nanotubos de Carbono*. 215 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [35] LAL, Brij B., Max Diem, Prasad I. Polavarapu, Mohammedreza Oboodi, Teresa B. Freedman, L. A. N. Vibrational Circular Dichroism in Amino Acids and Circular Dichroism and Fixed Partial Charge Calculations for Deuterated Isotopomers of Alanine. *Journal of the American Chemical Society*, n. Vcd, p. 3336–3342, 1982.
- [36] BOUGEAARD, D. Phase Transition and Vibrational Spectra of L-Leucine. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, v. 87, n. 3, p. 279–283, 1983. ISSN 00059021.
- [37] ALMEIDA, F. M., P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, C. M. R. Remédios, J. Mendes Filho, F. E. A. M. Raman spectra of L-isoleucine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 37, n. June, p. 1296–1301, 2006. ISSN 10974555.
- [38] LIMA, J. A., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, G. P. Sousa, R. J. C. Lima, P. F. Façanha Filho, H. N. B. Low-temperature Raman spectra of monohydrated L-asparagine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 35, n. 3, p. 236–241, mar 2004. ISSN 0377-0486.
- [39] LIMA, J. A., P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, A. J. D. Moreno, J. Mendes Filho, F. E. A. M. Raman scattering of L-valine crystals. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 36, n. 11, p. 1076–1081, nov 2005. ISSN 0377-0486.
- [40] BENTO, R. R. F. *Propriedades Vibracionais de Cristais de Pilocarpina . HCl , Pilocosina e Epiisopilosina por Espectroscopias FT-Raman , FT-IR e Propriedades Vibracionais de Cristais de Pilocarpina . HCl , Pilocosina e Epiisopilosina por Espectroscopias FT-Raman , FT-IR e Cál.* Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 2007.
- [41] FARIA, J. L. B., F. M. Almeida, O. Pilla, F. Rossi, J. M. Sasaki, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, P. T. C. F. Raman spectra of L-histidine hydrochloride monohydrate crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 35, n. 3, p. 242–248, mar 2004. ISSN 0377-0486.
- [42] BENTO, I. C. V., P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, J. Mendes Filho, A. J. D. Moreno, M. R. Joya, P. S. P. High temperature phase transition in monohydrated L-asparagine crystal. *Solid State Communications*, v. 141, p. 29 – 32, 2007.

- [43] FILHO, P. F. Fraçanha, P. T. C. Freire, K. c. V. Lima, J. Mendes Filho, F. E. A. M. High temperature Raman spectra of L-leucine crystals. *Brazilian Journal of Physics*, v. 38, n. 1, p. 131–137, mar 2008. ISSN 0103-9733.
- [44] SILVA, B. L. *Estudo por meio de espalhamento Raman de cristais de L-treonina com temperatura e pressão hidrostática*. 140 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Ceará, 1997.
- [45] RAKOV, A. V. Proc. Lebedev. *Lebedev Physical Institute*, v. 27, p. 111, 1965.
- [46] FORSS, S. A Raman spectroscopic temperature study of NH₃⁺ torsional motion as related to hydrogen bonding in the L-alanine crystal. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 12, n. 3, p. 266–273, jun 1982. ISSN 03770486.
- [47] BORN, M. et al. *Dynamical Theory of Crystal Lattices*. [S.l.]: Clarendon Press, 1998. (International series of monographs on physics). ISBN 9780198503699.
- [48] BARTHES, M., H. N. bordallo, F. Dénoyer, J. E. Lorenzo, J. Zaccaro, A. Robert, F. Z. Micro-transitions or breathers in L-alanine ? *The European Physical Journal B*, v. 382, p. 375–382, 2004.
- [49] BOLDYREVA Elena V., Evgenia N. Kolesnik, Tatyana N. Drebushchak, Heidrun Sowa Hans Ahsbans, Y. V. S. A comparative study of the anisotropy of lattice strain induced in the crystals of DL-serine by cooling down to 100 K , or by increasing pressure up to 8 . 6 GPa . A comparison with L-serine. v. 221, p. 150–161, 2006.
- [50] KOLESOV, Boris A., Vasil S. Minkov, Elena V. Boldyreva, T. N. D. Phase Transitions in the Crystals of l- and dl-Cysteine on Cooling : Intermolecular Hydrogen Bonds Distortions and the Side-Chain Motions of Thiol-Groups . 1 . l-Cysteine Phase Transitions in the Crystals of L - and DL -Cysteine on Cooling : Intermolecula. *Journal Physic B*, v. 112, p. 12827–12839, 2008.
- [51] WEBER, H.-P. et al. The Neutron Structure of and Thermal Motion in gamma-Aminobutyric Acid (GABA) at 122 K. *International union of Crystallography*, n. 1969, p. 360–366, 1983.
- [52] MELO, W. D. C., P. T. C. Freire, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, J. A. Lima Jr., W. P. Raman spectroscopy of D-methionine under high pressure. *Vibrational Spectroscopy*, Elsevier B.V., v. 72, p. 57–61, may 2014. ISSN 09242031.
- [53] GORYAINOV, S. V., E. N. Kolesnik, E. V. B. A reversible pressure-induced phase transition in β -glycine at 0.76 GPa. *Physica B: Condensed Matter*, v. 357, n. 3-4, p. 340–347, 2005. ISSN 09214526.
- [54] MURLI, Chitra, R. Vasanthi, S. M. S. Raman spectroscopic investigations of DL-serine and dl-valine under pressure. *Chemical Physics*, v. 331, n. 1, p. 77–84, dec 2006. ISSN 03010104.
- [55] MINKOV, Vasil S., Nikilay A. Tumanov, Boris A. Kolesov, Elena V. Boldyreva, S. N. B. Phase Transitions in the Crystals of L and DL -Cysteine on Cooling: The Role of the Hydrogen-Bonds Distortions and the Side-Chain Motions. 2. DL-Cysteine. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 112, n. 40, p. 12827–12839, 2008. ISSN 1520-6106.

ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO

Vibrational Spectroscopy 92 (2017) 162–168

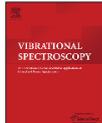


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Vibrational Spectroscopy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vibspec



Raman spectroscopy of γ -aminobutyric acid under high pressure

C.M. da Silva^a, J.G. Silva Filho^a, G.S. Pinheiro^b, R.C. Vilela^c, F.E.A. Melo^a, J.A. Lima Jr.^a,
P.T.C. Freire^{a,*}

^a Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, C.P. 6030, Campus do Pici, 60440-970, Fortaleza-CE, Brazil
^b Departamento de Física, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, 64049-550, Teresina-PI, Brazil
^c Instituto Federal do Maranhão – Campus Imperatriz, 65919-050, Imperatriz-MA, Brazil



ARTICLE INFO

Article history:
Received 29 May 2017
Received in revised form 23 June 2017
Accepted 25 June 2017
Available online 27 June 2017

Keywords:
Raman spectroscopy
High-pressure
Phase transition
 γ -Aminobutyric acid

ABSTRACT

γ -Aminobutyric acid is a gamma-amino acid playing a fundamental role in the balance between neuronal excitation and inhibition in the mammalian central nervous system, being involved in several neuronal disorders. In this study, the monoclinic phase of γ -aminobutyric acid was investigated through Raman spectroscopy in the spectral range from 50 to 1700 cm^{-1} for pressure between 1 atm and 7.1 GPa. A series of phase transitions at ~ 0.1 , 2.0 and 4.0 GPa was observed during the compression cycle. The modifications in the Raman spectra were interpreted mainly regarding the conformational changes of the molecules in the unit cell. In the phase transition at 4.0 GPa, modifications in the modes associated with both torsion and rocking of NH_3^+ were interpreted as a change in the hydrogen-bond network, beyond the conformational change itself. An analysis of sample integrity after the experiment aid to compare the degree of the conformational changes with those observed in phase transitions studied in some α -amino acid crystals.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

γ -Aminobutyric acid (GABA), $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2$, is an amino acid playing a very fundamental role in the mammalian central nervous system. It works as an inhibitory neurotransmitter in the neuronal excitability control, playing a fundamental role in the balance between neuronal excitation and inhibition, therefore being essential to normal brain operation and for human beings [1–6]. An abnormal inhibition can lead to sedation, sleep, anxiety, depression, convulsion or coma. As a consequence, the pharmaceutical use of GABA in the treatment of certain neurological disturbs such as Parkinson's disease and epilepsy has been reported [7–9]. Therefore, the GABA became an important active pharmaceutical ingredient (API) used to control some neurological disorders [10]. The discovery of new polymorphs of an API is important for the pharmaceutical industry, seeing that two polymorphs may have physical properties dramatically different (e.g. solubilities, melting points, density or hardness) [11]. Moreover, from the biological point of view, a detailed study of the structure of GABA and their molecular conformations is

fundamental in the understanding of its function as a neurotransmitter [12].

Previous works reported three different crystal structures of GABA: (i) monoclinic, a stable form [13]; (ii) tetragonal, a metastable form [12]; and (iii) monohydrate form, which is thermodynamically stable only at high pressure, being obtained from the monoclinic form under pressures of 0.4–0.8 GPa [14]. Interestingly, if a seed recovered from a high-pressure experiment is used in a solution maintained at atmospheric pressure, it is possible to crystallize the monohydrated form even at atmospheric conditions [14].

The importance of using high pressure in the study of crystalline structures lies beyond the formation of new materials, as described in the last paragraph. In fact, it is important for predicting the mechanical stability in many practical applications since the organic crystals are widely used in drugs and devices based on molecular crystals [15–18]. Moreover, variation in pressure is an important tool in the investigation of new polymorphs and phase transitions in organic crystals, more specifically in the design of supramolecular devices and in crystal engineering. A key question in the stability study of a crystal under high-pressure conditions is: how does the crystalline structure respond to compression? The answer to this is related to the various types of intermolecular interactions in the crystalline structures (hydrogen-bonds and stacking interactions, for

* Corresponding author.
E-mail address: tarso@fisica.ufc.br (P.T.C. Freire).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.06.011>
0924-2031/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

Figura 76: Artigo publicado referente a tese

example), as well as the conformational flexibility of individual molecules or of part of them [19–21].

Although a series of studies has investigated the behavior of α -amino acids under high pressure as well as the formation of polymorphs under this condition [15–25], few works have been directed to study γ -amino acid crystals. Differently from proteic amino acids, where the COOH and NH₂ groups are linked to the same carbon (alpha carbon); in γ -amino acids, including GABA, the NH₂ group is connected to the gamma carbon, i.e., the NH₂ and COOH are separated from each other by three carbon atoms. In the present work, we investigate the vibrational behavior of GABA under pressure, comparing with some investigations performed in other amino acid crystals, having special attention to the modes that modify during the experiment.

2. Experimental

Raman spectra of GABA were recorded using a triple-grating spectrometer (Jobin-Yvon T64000) equipped with an N₂-cooled charge-coupled device detection system. The 532 nm line of a semiconductor laser was used for excitation. The resolution was ~ 2 cm⁻¹. An Olympus microscope lens with focal distance 20.5 mm (N.A. = 0.35) was used to focus the laser beam on the sample in the pressure apparatus. High-pressure experiments were performed using a membrane diamond-anvil cell (MDAC). The chamber for the pressure was a hole with 200 μ m of diameter done in an Inconel steel gasket with 210 μ m, pre-indented to a thickness of 60 μ m at the beginning of the experiment. The compression medium utilized was mineral oil, to avoid interaction liquid-sample (as should occur if we had used methanol-ethanol mixture). The pressure calibration was done through the luminescence lines of the chromium in ruby.

3. Results

GABA crystallizes in the monoclinic structure, space group $P2_1/c$ with $Z=4$ and lattice parameters $a=7.193$ Å, $b=10.120$ Å, $c=8.260$ Å and $\beta=111.05^\circ$ [13]. The zwitterionic molecules are in the unit cell in a gauche configuration about the C α -C β bond, and each molecule is connected to the other molecules by three N-H \cdots O bonds, forming a three-dimensional network [13,26].

Fig. 1 presents the Raman spectra of GABA in the spectral range 220–30 cm⁻¹ for several pressures between 1 atm (marked as 0.0 in the figure) and 7.1 GPa and Table 1 shows a tentative assignment of major bands. Most of these bands are associated with external modes (translational and librational) and can give insights about the structural stability of the crystal under high-pressure conditions [27,28]. In the spectrum recorded at 1 atm, there is an intense band with wavenumber lower than 50 cm⁻¹, as well as other bands with lower intensities. When the pressure arrives at 0.1 GPa, a series of changes is observed in the Raman spectrum. The main modifications are: (i) a jump of the wavenumber of the band with the lowest energy; (ii) an abrupt change of intensity of this same mode. At 1 atm, the intensity of this band is twice the intensity of other bands, but at 0.1 GPa its intensity is similar to the neighbor band; (iii) two new bands appear between 100 and 115 cm⁻¹ in the spectrum recorded at 0.1 GPa.

Comparing the spectrum of GABA recorded at 0.1 GPa with the spectra at 1 atm and 0.2 GPa, one notes that it is different from other two. Indeed, we can interpret the Raman spectrum at 0.1 GPa as corresponding to a mixing of the spectra taken at 1 atm and 0.2 GPa. In other words, GABA at 0.1 GPa is in a mixing of the atmospheric pressure phase and the high-pressure phase ($P > 0.2$ GPa).

It is interesting to observe that the two modes with the lowest wavenumbers present an impressive change of intensity between

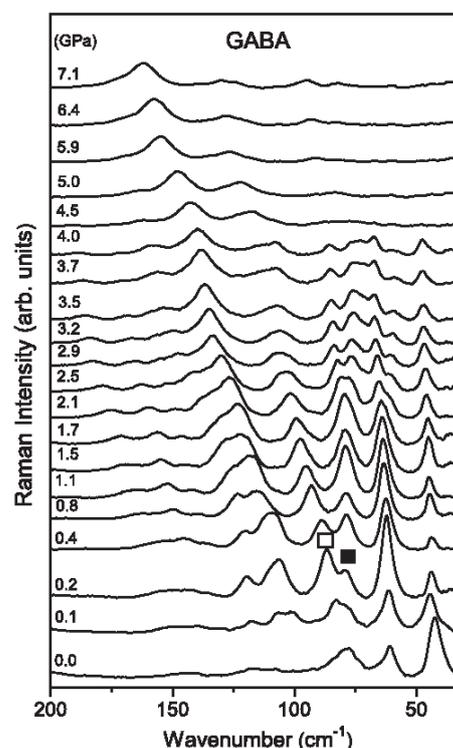


Fig. 1. Raman spectra of GABA in the spectral range 220–30 cm⁻¹ for several pressure values.

0.1 and 0.2 GPa. Beyond this, it is possible to observe in the Raman spectrum at 0.2 GPa two well distinct bands, localized at 79 and 86 cm⁻¹, showing medium intensities, and two broad bands at 105 and 120 cm⁻¹. From Fig. 1, we can understand that the Raman spectra of GABA at 0.1 and 0.2 GPa are very different, indicating that the $P=0.1$ GPa corresponds to the pressure where the crystal undergoes a phase transition.

Now, let us observe the mode behavior which presents the highest intensity in the spectrum at 0.2 GPa. With increasing pressure, at least up to 1.5 GPa, its intensity decreases and the linewidth increases; simultaneously, its wavenumber increases linearly, as shown below. However, starting from 1.7 GPa, this band begins to deform, in such a way that at 2.1 GPa it splits into two bands.

Unlike the band discussed in the last paragraph, the band marked by a filled square (in the spectrum recorded at 0.2 GPa) has the increased intensity until the pressure reaches 1.7 GPa. In fact, if a careful analysis is done, one observes that at this pressure value, this band has the highest intensity of the Raman spectrum of GABA between 30 and 220 cm⁻¹. However, the band profile is asymmetric in the spectrum taken at 1.7 GPa, and at 2.1 GPa it also splits into two bands.

Table 1
Experimental wavenumbers (cm^{-1}) of bands from the Raman spectra of GABA at atmospheric pressure and the tentative assignments of the modes.

Wavenumber (cm^{-1})	Assignment ^a
42	lat. mode
61	lat. mode
78	lat. mode
108	lat. mode
117	lat. mode
203	
223	$\tau(\text{CO}_2^-)$
287	
324	$r(\text{C}=\text{O}) + \delta_{\text{tw}}(\text{CH}_2)$
401	$\tau(\text{NH}_3^+)$
412	$\tau(\text{NH}_3^+)$
543	
558	
576	$r(\text{CO}_2^-) + \nu(\text{CC})$
589	$r(\text{CO}_2^-)$
786	$\delta(\text{CO}_2^-)$
867	$\nu(\text{CC})$
884	$\nu(\text{CC})$
993	$\nu(\text{CC})$
1009	$\nu(\text{CC})$
1028	$\nu(\text{CN})$
1066	$\nu(\text{CN})$
1126	$\delta(\text{NH}_3^+)$
1393	
1401	$\nu_2(\text{CO}_2^-)$
1425	$\delta(\text{CH}_2)$
1447	$\nu(\text{CO}_2^-) + \delta(\text{CH}_2)$

^alat, lattice; τ , torsion; r , rocking; δ_{tw} , twisting; δ , bending; ν , stretching; s , symmetric.

The splitting of the bands can be well appreciated through Fig. 2, which shows the plot of wavenumber versus pressure of modes of the 200–40 cm^{-1} region. From this figure, one notices in a clear manner that GABA undergoes a phase transition at ~ 2.0 GPa. Moreover, the band marked by an empty square in the spectrum at 0.2 GPa has a wavenumber that changes linearly with pressure up to 2.1 GPa. At this pressure, the band seems to be composed of two peaks.

Between 2.5 and 4.0 GPa almost all bands shifted linearly towards higher wavenumbers as the pressure increased. The important point is all modes observed at 2.5 GPa are present in the spectrum at 4.0 GPa, indicating the GABA structure is stable in the 2.5–4.0 GPa pressure range. Now, let us observe the Raman spectrum recorded at 4.5 GPa. All modes with wavenumber lower than 110 cm^{-1} disappear and, simultaneously, the three bands that remain visible present an impressive linewidth increase. The disappearance of several bands with low wavenumber is a strong indication that GABA also undergoes a phase transition between 4.0 and 4.5 GPa. Above 4.5 GPa, the Raman spectra presented in Fig. 1 do not reveal any important modification, suggesting that the structure remains stable up to 7.1 GPa. Additionally, as we will discuss in the next section, no evidence of amorphization was found in our investigation because the external modes are visible up to the highest pressure achieved in the experiments.

Fig. 3 presents the evolution of the Raman spectra of GABA as a function of pressure in the interval 1 atm–7.1 GPa and the spectral range 650–200 cm^{-1} . As can be glimpsed in this figure, the bands have low intensities in such a way that a qualitative analysis is not easy. However, it is clear that the spectrum taken at 0.1 GPa is different from both the spectra recorded at 1 atm and 0.2 GPa. In fact, the spectrum recorded at 0.1 GPa has characteristics of the two others, corroborating the hypothesis that the crystal is in a mixing of phases at this pressure. On increasing pressure, one observes small changes only above 4.0 GPa. These changes involve,

in particular, modes close to 400 cm^{-1} that are assigned as torsion of the NH_3^+ group, $\tau(\text{NH}_3^+)$ [29,30]. These modifications are better understood in the wavenumber vs. pressure plot as shown in Fig. 4. Analyzing the wavenumbers evolution carefully, one realizes the GABA undergoes a phase transition at ~ 4.0 GPa. We will discuss this point in the next section.

Fig. 5 presents the Raman spectra of GABA in the spectral range 1220–630 cm^{-1} for various pressure values. In the spectrum taken at 1 atm, there are eight bands including one of low intensity observed at 785 cm^{-1} . These bands are associated with the CC and CN stretching vibrations, $\nu(\text{CC})$ and $\nu(\text{CN})$. In general, they appear as peaks of small linewidth, easily fitted by Lorentzian curves. When pressure is increased to 0.1 GPa, a spectrum very different from the atmospheric pressure spectrum is obtained. The main differences are: (i) the appearance of a new band at ~ 915 cm^{-1} ; (ii) the appearance of a band at ~ 980 cm^{-1} ; (iii) the appearance of a band with low intensity at 1045 cm^{-1} ; (iv) the impressive linewidth increase of the band at 1070 cm^{-1} . Additionally, all bands present in the spectrum recorded at atmospheric pressure are visible in the spectrum at 0.1 GPa, constituting a mixing of phase as previously pointed out.

When the pressure reaches to 0.2 GPa, the Raman spectrum shows great changes when compared to the previous one. Almost all bands belonging to the atmospheric pressure spectrum disappear, and some peaks that appeared at 0.1 GPa have an impressive intensity increase. In particular, an intense band at ~ 915 cm^{-1} dominates the Raman spectrum at 0.2 GPa. As it appears in a spectral region where several studies point to the existence of CC stretching vibration, this band was tentatively associated with $\nu(\text{CC})$.

From 0.2 to 3.7 GPa, the Raman spectrum of GABA in the 1220–630 cm^{-1} region presents few changes. At first, this result should be considered surprising because of the phase transition at ~ 2.0 GPa, inferred through the analysis of the modes, presents no evidence in this spectral region for this occurrence. This fact suggests that the second phase transition involves no deformations of the molecular skeleton directly, as will discuss in the next section.

Looking at the Raman spectrum of GABA at 4.0 GPa presented in Fig. 5, one notes small modifications when compared to the spectrum at 3.7 GPa: the splitting of the band at ~ 870 cm^{-1} ; the small wavenumber jumps of the modes at 972 cm^{-1} (to lower wavenumbers) and 998 cm^{-1} (to higher wavenumbers); the disappearance of a band close to 1120 cm^{-1} . Also, two bands localized between 1150 and 1200 cm^{-1} , which can be assigned as NH_3^+ rocking [29–31], although of low intensity, they suffer an important change: they became a single symmetric band. These points prompt us to realize the existence of additional evidence of a phase transition undergone by the crystal at ~ 4.0 GPa.

Fig. 6 presents the pressure evolution of the Raman spectrum from GABA in the spectral range 1700–1380 cm^{-1} . As verified in other regions, the spectrum taken at 0.1 GPa seems to be a mixing of the spectra at atmospheric pressure and 0.2 GPa. The spectra are dominated by bands associated with the symmetric stretching of CO_2 , $\nu_s(\text{CO}_2)$, at around 1400 cm^{-1} , and the bending of CH_2 units at 1423 cm^{-1} , $\delta(\text{CH}_2)$. This assignment is based on the comparative study of other amino acid crystals. For example, in β -glycine, the symmetric stretching of CO_2 is observed at ~ 1400 cm^{-1} with an asymmetric profile, and the CH_2 bending, $\delta(\text{CH}_2)$, appears as a band with small linewidth at 1420 cm^{-1} [29]. Also, looking at the spectrum of α -L-alanine, one notes the presence of $\nu_s(\text{CO}_2)$ vibration at 1410 cm^{-1} , as reported by Ref. [32]. The band associated with antisymmetric stretching of CO_2 , $\nu_a(\text{CO}_2)$, in general, appears in the Raman spectrum as a band of low intensity, consistent with a band localized close to 1600 cm^{-1} . However, the band of $\nu_a(\text{CO}_2)$ will not be analyzed due to low intensity, but the

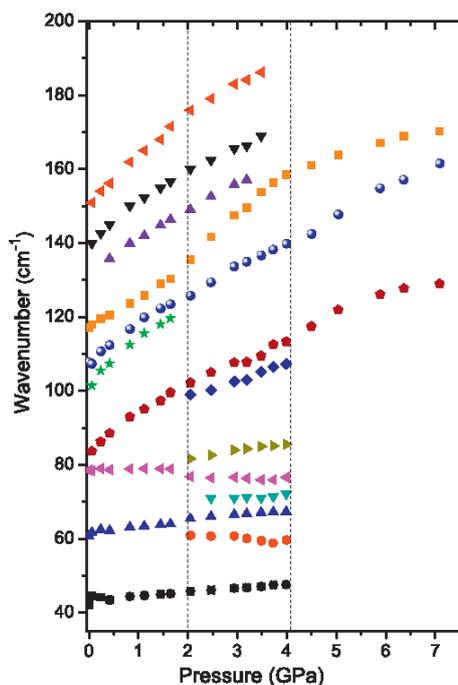


Fig. 2. Wavenumber vs. pressure plot of the modes of GABA in the spectral range 220–40 cm^{-1} .

pressure behavior of $\nu_3(\text{CO}_2)$ and $\delta(\text{CH}_2)$ bands will be examined below.

In the collected spectrum at 0.2 GPa, one observes two intense bands between 1380 and 1400 cm^{-1} , a band at $\sim 1430 \text{ cm}^{-1}$ and a doublet close to 1480 cm^{-1} . This set represents new bands compared to the spectrum at atmospheric pressure, but their wavenumbers match the expected CH_2 bending vibrations. On increasing pressure, the lowest wavenumber mode remains with constant energy, while the mode appearing as the most intense band presents a high $d\omega/dP$ value. As a consequence, the two modes move away from each other when the pressure varies from 0.2 to 4.0 GPa. The wavenumber of the mode at 1430 cm^{-1} ($P=0.2 \text{ GPa}$) evolves linearly with pressure, although in the spectrum at 2.1 GPa seems beginning to split; the splitting reveals in full in the spectra taken above 2.9 GPa. Regarding the doublet behavior (centered at $\sim 1480 \text{ cm}^{-1}$, $P=0.2 \text{ GPa}$) it is fully accounted for a slow transformation during compression, culminating in a phase transition at 4.0 GPa. This behavior has similarity with that presented by the SH vibration in cysteine, where changes were observed in the Raman spectra of the monoclinic structure long before the structural phase transition [33]. No strong indication of the occurrence of the phase transition at 2.0 GPa was noted in the region of $\nu_3(\text{CO}_2)$ and $\delta(\text{CH}_2)$ vibrations.

Yet in Fig. 6, we can observe a series of modifications in the Raman spectrum of GABA between 4.0 and 4.5 GPa, including several intensity changes and various jumps in the wavenumber of

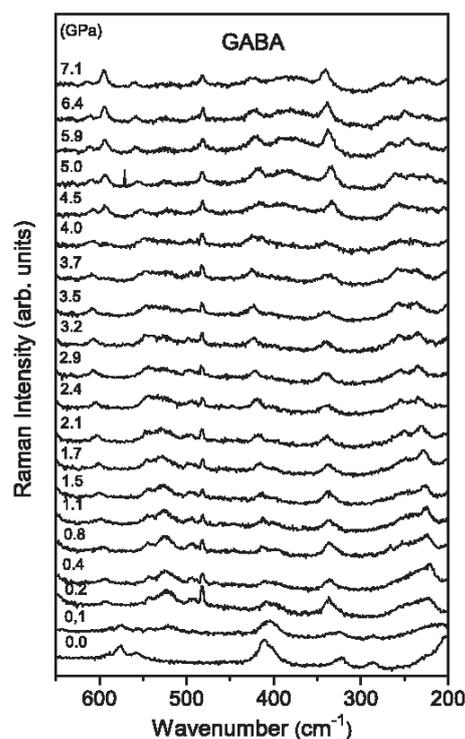


Fig. 3. Raman spectra of GABA in the spectral range 650–200 cm^{-1} for several pressure values.

the modes. Among the modifications in the profile of the spectrum, one notes the decreasing of the most intense band between 4.0 and 4.5 GPa. Differently, the band appearing at 1485 cm^{-1} in the spectrum at 4.0 GPa increases in intensity in the spectrum taken at 4.5 GPa. These aspects reinforce the hypothesis of the occurrence of a phase transition between 4.0 and 4.5 GPa. Finally, above 4.5 GPa no modification is observed.

4. Discussion

From the data presented in the previous section, we are leaned toward to realize that GABA crystal undergoes phase transitions at about 0.1, 2.0 and 4.0 GPa. The first phase transition involves great deformations of the molecular skeleton, since important modifications are observed in the spectral range where one observes the bands associated with CC and CN stretching vibrations. The rising of the intense band at 920 cm^{-1} when pressure arrives at 0.2 GPa is the most strong evidence of a new conformation for GABA for higher pressure values. Additionally, the modifications verified in the bands associated with the CH_2 bendings (at $\sim 1420 \text{ cm}^{-1}$) reinforce our interpretation. As a consequence of the conformational change of the C–C–C skeleton of GABA molecule,

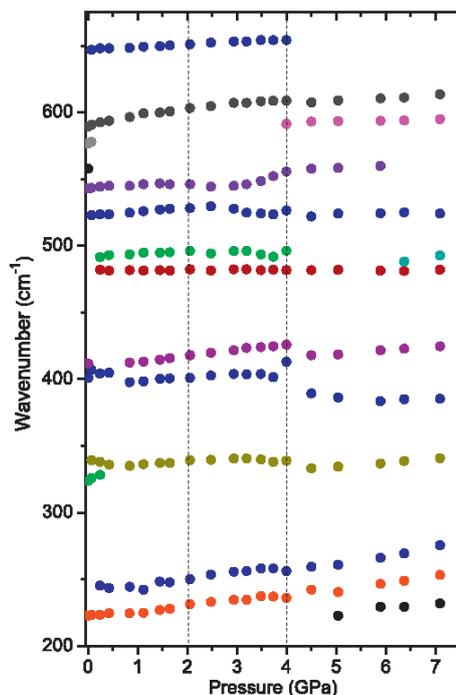


Fig. 4. Wavenumber vs. pressure plot of the modes of GABA in the spectral range 650–200 cm^{-1} .

one expects changes in vibrations of CH_2 groups, as we have recorded.

Before discussing some aspects regarding the second phase transition, it is interesting to comment about the mixing of phases observed at 0.1 GPa. Mixing of phases can be understood as a representation of the boundary between two neighboring phases. In general, the mixing of phases is difficult to be observed, with few references in the literature. Regarding the amino acid crystals, a previous report [34] has pointed out the α -methionine under pressure as an example of a system where a mixing of phases was indisputably observed. In the study of Ref. [34], the Raman spectrum at 2.2 GPa shows characteristic bands belonging to both the atmospheric pressure phase and the high-pressure phase of α -methionine crystal. Therefore, we can consider the two cases – α -methionine and GABA – as representative examples where the boundary between two phases was photographed by Raman spectroscopy. The main difference between these cases lies exactly in the fact that the phase transition in GABA occurs in a very low-pressure value.

Regarding the second phase transition, we noted evidence of its occurrence at ~ 2.0 GPa mainly through the observation of the Raman spectrum in the low-wavenumber region. On the other hand, there are few indications that the GABA undergoes a phase transition looking at only the regions corresponding to the CC stretching (between 800 and 1100 cm^{-1}) and the $\nu_3(\text{CO}_2)$ and

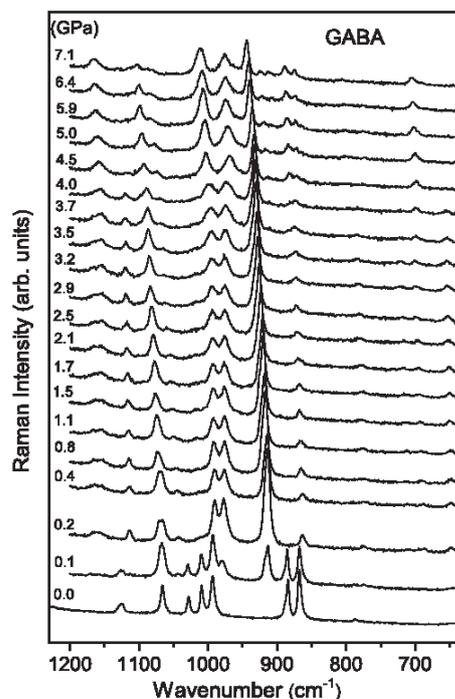


Fig. 5. Raman spectra of GABA in the spectral range 1220–630 cm^{-1} for several pressure values.

$\delta(\text{CH}_2)$ region of the spectrum (close to 1400 cm^{-1}). This suggests that, differently from the observed in the first phase transition, the second phase transition (~ 2.0 GPa) does not involve substantial modification of the conformation of the GABA molecules in the unit cell.

The most impressive changes in the Raman spectra appear during the third phase transition. They include (i) great modifications in the external modes region, (ii) the appearance of modes in the CC stretching region, and (iii) new modes in the $\nu_3(\text{CO}_2)$ and $\delta(\text{CH}_2)$ spectral range. These facts can be interpreted as due to a phase transition involving the conformational change of the molecules in the unit cell of the crystal. Additionally, two other aspects go together with the three points mentioned above: (iv) in the region between 1150 and 1200 cm^{-1} , the two bands assigned as NH_3^+ rocking change their profiles, assuming a symmetric form above 4.0 GPa; (v) a wavenumber jump of the bands associated with the torsion of NH_3^+ around the phase transition. These two last changes, both related with bands involved in the hydrogen bond, indicate that this type of bond plays an important role in the phase transition. This brings us back to the memory aspects related to other amino acid crystals. Regarding the α -serine, discontinuous wavenumber changes of some of the NH_3^+ modes were interpreted as a change in the hydrogen bond interactions around the critical pressure [30]. In the case of β -glycine, a great wavenumber variation of the NH_3^+ rocking with pressure was associated with a rearrangement in the hydrogen bond network,

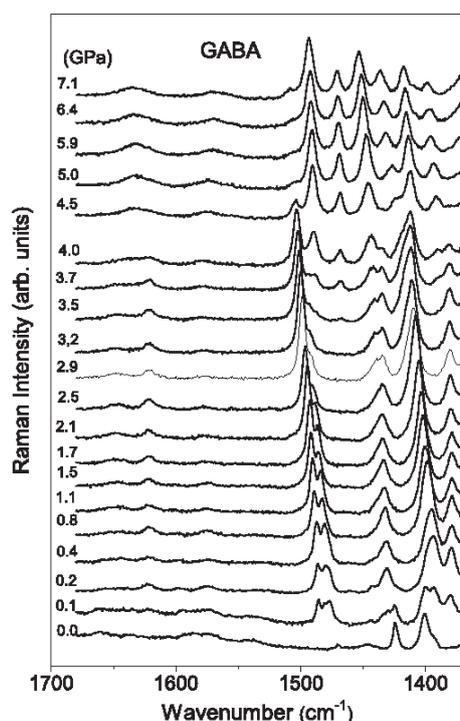


Fig. 6. Raman spectra of GABA in the spectral range 1700–1380 cm^{-1} for several pressure values.

being related to a phase transition occurred at low temperature [29,35]. It is interesting to note that the effect of pressure on hydrogen bonds was also verified in other organic systems, giving important insights into the phenomenon. For example, the study of sulfamide under high pressure showed that a structural phase transition occurs with hydrogen bonds rearrangement. It is worth to point out that the results obtained by Raman spectroscopy were confirmed by angle-dispersive X-ray diffraction [36]. Hydrogen bonds distortions were also observed in the study of thiourea dioxide when observed by both Raman spectroscopy and X-ray diffraction [37]. Similarly to GABA, the blue-shifts of most external modes in thiourea dioxide were interpreted as due to the enhancements in intermolecular interactions. Also, the broadening of peaks related to hydrogen bonds was understood as a consequence of the distortion of these bonds under high pressure [37]. Obviously, a similar interpretation can be furnished in the present study on GABA.

Additionally, in some cases, the effect of the conformational change and the modification of the hydrogen bond network can be impressive, as reported for α -cysteine submitted to low temperatures [38]. In this sulfur amino acid, the conformation of molecules changes abruptly, with the N–C–S torsion angle varying almost 130° . As a consequence, this rapid modification results in the breakage of some hydrogen bonds and the macroscopic fragmentation of the sample [38]. Interestingly, α -

cysteine presents a series of phase transitions under pressure, but it is not reported great conformational changes [39]. However, in a compression-decompression cycle, authors of Ref. [33] reported the occurrence of fragmentation of the sample of orthorhombic α -cysteine, as a consequence of abrupt changes in the molecular conformation. From these few examples related to cysteine, one realizes that substantial conformational changes correlate with the fragmentation of the sample. In our experiment, no cracking of the sample was observed under compression or decompression, suggesting that the conformational changes occurred with GABA are less expressive than in the case of α -cysteine.

A final aspect, which has growing relevance in the study of material under high pressures, is the possibility of amorphization above a certain pressure threshold. Concerning the study of amino acids, up to now, only the α -alanine crystal has shown the amorphization phenomenon (at ~ 13 GPa) [40]. It is interesting to note that in another amino acid crystal (monohydrated α -asparagine), the pressure was applied up to 30 GPa – most than twice the value where α -alanine lost long range order – but no evidence of amorphization was recorded. In the crystal studied in this work, no indication of amorphization of GABA was observed, but we must consider that the highest pressure obtained (7.1 GPa) should not be enough to observe such phenomenon. As a consequence, the question about amorphization of GABA will remain an open problem.

5. Conclusion

Vibrational properties of GABA crystal were investigated in a diamond anvil cell for pressures up to 7.1 GPa in the spectral range 1700–30 cm^{-1} . From this investigation was possible to note three anomalies in the Raman spectrum of GABA. The first anomaly was observed at 0.1 GPa, interpreted as a phase transition accompanied by great deformation of the molecular skeleton. The second anomaly was observed at 2.0 GPa, having as main evidence modifications of bands in the low-wavenumber region of the spectrum. Finally, the third anomaly was observed at ~ 4.0 GPa where great changes in the lattice mode region of the spectrum, the appearance of modes in the CC and CO_2 stretching region and new modes in the CH_2 bending region were interpreted as a phase transition involving conformational changes of the GABA molecules in the unit cell. No evidence of amorphization or cracking of the sample, in both compression and decompression, was observed in the experiment.

Acknowledgments

Authors acknowledge CNPq (Universal 454941/2014-5) and FUNCAP (Pronem 01/2016 and PRONEX/CNPq) for financial support.

References

- [1] M. Jeltai, E. Madarasz, *Int. Rev. Neurobiol.* (2005) 27–62.
- [2] M. Watanabe, K. Maemura, K. Kanbara, T. Tamayama, H. Hayasaki, *Int. Rev. Cytol.* (2002) 1–47.
- [3] Y. Ben-Ari, J.-L. Gaiarsa, R. Tyzio, R. Khazipov, *Physiol. Rev.* 87 (2007) 1215–1284.
- [4] D. Ma, P. Lu, C. Yan, C. Fan, P. Yin, J. Wang, Y. Shi, *Nature* 483 (2012) 632–636.
- [5] T.M. Anderson, A.J. Garcia, N.A. Baertsch, J. Pollak, J.C. Bloom, A.D. Wei, K.G. Rai, J.-M. Ramirez, *Nature* 536 (2016) 76–80.
- [6] W.C. Oh, S. Lutz, P.E. Castillo, H.-B. Kwon, *Science* 353 (2016) 1037–1040.
- [7] G. Johnston, *Curr. Pharm. Des.* 11 (2005) 1867–1885.
- [8] W. Froestl, *Future Med. Chem.* 3 (2011) 163–175.
- [9] S.J. Shabel, C.D. Proulx, J. Piriz, R. Malinow, *Science* 345 (2014) 1494–1498.
- [10] E.J.C. de Vries, D.C. Leverdis, H.A. Reece, *CrystEngComm* 13 (2011) 3334–3337.
- [11] F.P.A. Fabbiani, D.R. Allan, W.G. Marshall, S. Parsons, C.R. Pulham, R.I. Smith, *J. Cryst. Growth* 275 (2005) 185–192.
- [12] A.J. Dobson, R.E. Gerkin, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 52 (1996) 3075–3078.

- [13] K. Tomita, H. Higashi, T. Fujiwara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 46 (1973) 2199–2204.
- [14] F.P.A. Fabbiani, G. Buth, D.C. Levidis, A.J. Cruz-Cabeza, *Chem. Commun.* 50 (2014) 1817–1819.
- [15] J. Bernstein, *Nat. Mater.* 4 (2005) 427–428.
- [16] E.V. Boldyreva, S.N. Ivashevskaya, H. Sowa, H. Ahsbahs, H.-P. Weber, *Dokl. Phys. Chem.* 396 (2004) 111–114.
- [17] E.V. Boldyreva, *Zeitschrift Für Krist. – Cryst. Mater.* 229 (2014) 236–245.
- [18] E.N. Kolesnik, S.V. Goryainov, E.V. Boldyreva, *Dokl. Phys. Chem.* 404 (2005) 169–172.
- [19] S.V. Goryainov, E.V. Boldyreva, E.N. Kolesnik, *Chem. Phys. Lett.* 419 (2006) 496–500.
- [20] S.A. Moggach, D.R. Allan, S.J. Clark, M.J. Gutmann, S. Parsons, C.R. Pulham, L. Sawyer, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.* 62 (2006) 296–309.
- [21] E. Boldyreva, *High-pressure crystallogr.*, in: E. Boldyreva, P. Dera (Eds.), *From Fundam. Phenom. to Technol. Appl.*, Springer, Netherlands, Dordrecht, 2010, pp. 147–159.
- [22] B.A. Zakharov, E.V. Boldyreva, *J. Mol. Struct.* 1078 (2014) 151–157.
- [23] B.A. Zakharov, E.A. Losev, E.V. Boldyreva, *CrystEngComm* 15 (2013) 1693–1697.
- [24] G. Resnati, E. Boldyreva, P. Bombicz, M. Kawano, *IUCr J.* 2 (2015) 675–690.
- [25] C. Murli, S.M. Sharma, S. Karmakar, S.K. Sikka, *Phys. B Condens. Matter* 339 (2003) 23–30.
- [26] B.M. Graven, H.-P. Weber, *Acta Cryst. B* 39 (1983) 743–748.
- [27] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, K.C.V. Lima, J. Mendes Filho, F.E.A. Melo, P.S. Pizani, *Braz. J. Phys.* 38 (2008) 131–137.
- [28] 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 (2009) 1553–1556.
- [29] S.V. Goryainov, E.N. Kolesnik, E.V. Boldyreva, *Phys. B Condens. Matter* 357 (2005) 340–347.
- [30] C. Murli, R. Vasanthi, S.M. Sharma, *Chem. Phys.* 331 (2006) 77–84.
- [31] 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 (2006) 1296–1301.
- [32] M. Diem, P.L. Polavarapu, M. Oboodi, L.A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3329–3336.
- [33] V.S. Minkov, S.V. Goryainov, E.V. Boldyreva, C.H. Görbitz, *J. Raman Spectrosc.* 41 (2010) 1748–1758.
- [34] J.A. Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P.S. Pizani, *J. Raman Spectrosc.* 39 (2008) 1356–1363.
- [35] V.A. Drebuschchak, E.V. Boldyreva, Y.A. Kovalevskaya, I.E. Paukov, T.N. Drebuschchak, *J. Therm. Anal. Calorim.* 79 (2005) 65–70.
- [36] K. Wang, J. Liu, K. Yang, B. Liu, B. Zou, *J. Phys. Chem C* 118 (2014) 18640.
- [37] Q. Wang, T. Yan, K. Wang, H. Zhu, Q. Cui, B. Zou, *J. Chem. Phys.* 142 (2015) 244701.
- [38] V.S. Minkov, N.A. Tumanov, B.A. Kolesov, E.V. Boldyreva, S.N. Bizyaev, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 5262–5272.
- [39] V.S. Minkov, A.S. Krylov, E.V. Boldyreva, S.V. Goryainov, S.N. Bizyaev, A.N. Vtyurin, *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 8851–8854.
- [40] N.P. Funnell, W.G. Marshall, S. Parsons, *CrystEngComm* 13 (2011) 5841–5848.