



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

FELLIPE DOS SANTOS CAMPELO RÊGO

**Propriedades Vibracionais dos Aminoácidos DL-isoleucina
e Ácido DL-glutâmico Monohidratado e do complexo
L-leucina oxalato submetidos a altas pressões**

Fortaleza-CE
Março de 2019

FELLIPE DOS SANTOS CAMPELO RÊGO

**Propriedades Vibracionais dos Aminoácidos DL-isoleucina
e Ácido DL-glutâmico Monohidratado e do complexo
L-leucina oxalato submetidos a altas pressões**

Tese de doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

Universidade Federal do Ceará – CE

Departamento de Física

Programa de Pós-Graduação

Orientador: Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho

Fortaleza-CE

Março de 2019

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)

- R267p Rêgo, Fellipe dos Santos Campelo.
Propriedades vibracionais dos aminoácidos DL-isoleucina e ácido DL-glutâmico monohidratado e do complexo L-leucina oxalato submetidos a altas pressões / Fellipe dos Santos Campelo Rêgo. – 2019.
172 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior.
Coorientação: Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho.
1. Espectroscopia Raman. 2. Aminoácidos. 3. Complexo de aminoácidos. 4. Altas pressões. 5. Transições de fase. I. Título.

CDD 530

FELLIPE DOS SANTOS CAMPELO RÊGO

Propriedades Vibracionais dos Aminoácidos DL-isoleucina e Ácido DL-glutâmico Monohidratado e do complexo L-leucina oxalato submetidos a altas pressões

Tese de doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

Fortaleza-CE, Comissão julgadora:

**Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior
(Orientador) - UFC**

**Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha
Filho (Coorientador) - UFMA**

**Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante
Freire - UFC**

**Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu
Melo - UFC**

**Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues
Teixeira - URCA**

Fortaleza-CE
Março de 2019

*Este trabalho é dedicado aos meus pais
e a todos os professores que contribuíram para minha formação*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por tudo, a meus pais (Francisco José Campelo Rêgo e Elinarda Moura dos Santos) pela educação, amor e dedicação em todos os momentos da minha vida;

A minha esposa Maria da Conceição Mota Ferreira Campelo, pelo amor, companheirismo e incentivo em todos os momentos;

Ao Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior, meu orientador, pela confiança depositada durante todos os anos em que trabalhamos juntos, desde minha graduação até o doutorado. Sua boa vontade, compreensão, profissionalismo e amor à pesquisa foram um exemplo para mim;

Ao Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho, pela orientação dada a esse trabalho, pelas valiosas contribuições dadas aos artigos relacionados a mesma. Por sua amizade e por sempre mostrar-se solícito a colaborar;

Ao Prof. Dr. Alain Polian, por ter me acolhido e acompanhado, durante meu estágio de doutorado sanduíche, por seu apoio e sugestões para o andamento desde trabalho;

Ao Prof. Dr. Carlos Emídio, por realizar os procedimentos teóricos para a amostra de DL-isoleucina;

Aos Professores doutores Paulo de Tarso Cavalcante Freire, Alexandre Magno Rodrigues Teixeira e Francisco Erivan de Abreu Melo por aceitarem participar da banca examinadora de minha tese, apresentando valiosas contribuições a este trabalho;

Aos amigos Fernando Martins, Robson Maia e Rocieler Holanda pela valiosa dedicação, incentivo e discussões experimentais;

Aos amigos Naiara Cipriano e Thiago Alves por compartilharem momentos de alegria e por sempre se mostrarem prestativos a ajudar;

Aos amigos e colegas de sala José Gadelha, Cristiano Balbino, Daniel Militão, João Victor, Roberto Namor, David Hermann e Francisco Marciano que estiveram sempre presentes debatendo, auxiliando e principalmente nos momentos de descontração;

Aos amigos do grupo de cristalografia da UFC, Bruno Sousa, Silmara, Yara, Jéssica e Laura pelo auxílio no manuseio dos equipamentos de raios-X e pela amizade que construímos nesse período;

A todos os amigos que de alguma forma deram sua contribuição;

A todos os professores que fazem parte do Departamento de Física da Universidade

Federal do Ceará, pelas valiosas aulas ministradas durante as disciplinas;

Ao suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo suporte em meu estágio de doutorado sanduíche - PDSE;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo suporte financeiro durante esses quatro anos de doutorado, o qual me manteve em dedicação exclusiva a pesquisa;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos os funcionários do Departamento de Física;

A todos os professores que participaram da minha formação durante todas as etapas de meus estudos, ensino fundamental, médio, superior e pós graduação, aos quais devo grande parte da minha formação.

*Os grandes feitos são conseguidos não pela força,
mas pela perseverança.
(Samuel Johnson)*

Resumo

Os aminoácidos na forma (L) são os constituintes das proteínas presente em todos os seres vivos. No estado cristalino, a estrutura dos aminoácidos é estabilizada principalmente por ligações de hidrogênio e estes podem apresentar dois enantiômeros (L e D) e uma forma racêmica (DL). A quantidade de trabalhos que tratam da forma DL dos aminoácidos aumentou nos últimos anos, mas ainda são bem menores que os que se referem a forma L. Embora as formas L e DL sejam formadas essencialmente pela mesma molécula, a maneira como estão ligadas pode fornecer propriedades bastante distintas. Desta forma, a espectroscopia Raman de altas pressões é uma ferramenta bastante útil que pode ser usada para estudar o papel das ligações de hidrogênio na estrutura que compõe os aminoácidos, bem como comparar o comportamento de seus homólogos. Neste trabalho, apresentamos uma análise detalhada das propriedades vibracionais dos cristais de DL-isoleucina, ácido DL-glutâmico monohidratado e do composto L-leucina oxalato. Estes foram crescidos pelo método da evaporação lenta do solvente à temperatura ambiente. Suas propriedades vibracionais foram estudadas à temperatura ambiente e em função de altas pressões hidrostáticas através da técnica de espectroscopia Raman. Para a amostra de DL-isoleucina em condições ambientes, a atribuição dos modos vibracionais foi feita em termos da Distribuição de Energia Potencial (PED) a partir de cálculos computacionais usando a teoria do funcional de densidade. Tanto nitrogênio quanto o neônio foram usados como meio de transmissão de pressão. Os resultados experimentais em função da pressão revelaram modificações nos espectros Raman em duas faixas de pressão, as quais foram interpretadas como transições de fase sofridas pelo cristal entre 1,3 GPa e 1,9 GPa e entre 3,6 GPa e 5,1 GPa. Finalmente, foi simulado o estresse na célula unitária do cristal da pressão ambiente até 5,0 GPa. Para a amostra de ácido DL-glutâmico monohidratado a atribuição dos modos foi feita por comparação com trabalhos realizados nas formas (α e β) do L-glutâmico e outros aminoácidos. Neônio foi usado como meio de transmissão de pressão. Na investigação sob altas pressões foram encontradas três transições de fase estruturais. A primeira em aproximadamente 0,9 GPa, evidenciada por mudanças bruscas na intensidade e número de modos na região dos modos externos, além de descontinuidades no gráfico de frequência *versus* Pressão para quase todos os modos observados. A segunda em $\sim 4,8$ GPa evidenciou conformações envolvendo unidades CO_2^- , NH_3^+ e as moléculas de água, enquanto a terceira envolveu várias partes do ácido glutâmico, bem como as moléculas de água. O cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado demonstra estabilidade semelhante em comparação com seus polimorfos α -ácido L-glutâmico e β -ácido L-glutâmico (para a primeira transição de fase). No entanto, a fase II do ácido DL-glutâmico monohidratado demonstrou maior estabilidade estrutural. As moléculas de água parecem desempenhar papel importante nessa estabilidade estrutural. Além disso, todas as transições foram reversíveis. Para a amostra de L-leucina oxalato, a atribuição dos modos também foi

feita por comparação com a literatura. Gás neônio foi utilizado como meio transmissor de pressão. Os resultados dos experimentos sob altas pressões evidenciou que esta amostra sofre duas transições de fase sob altas pressões, a primeira entre 0,9 e 1,0 GPa e a segunda entre 2,6 e 3,1 GPa ambas caracterizadas pelo surgimento e desaparecimento de bandas relacionadas tanto aos modos de rede quanto aos modos internos. O cristal de L-leucina oxalato revelou-se mais estável que seu constituinte L-leucina e menos estável que o ácido oxálico. Experimentos de descompressão revelaram que as transições de fase observadas nas três amostras são reversíveis.

Palavras-chave: Aminoácidos. Complexo de aminoácidos. Espectroscopia Raman. Altas pressões. Transições de fase.

Abstract

Amino acids in L-form are the constituents of all living beings. In crystalline state their structure is stabilized mainly by hydrogen bonds and they can present two enantiomers (L and D) and a racemic (DL) form. The amount of papers dealing on DL form of amino acid has increased in the last years, but it is still fewer than that on L-form. Although L and DL for being formed essentially by the same molecule the way they are linked can provide very different properties. In this way high pressure Raman spectroscopy is an useful tool that can be used to study the role of hydrogen bonds in the structure that compose amino acids as well as compare the behavior of its counterparts. In this report we present a detailed analysis of the vibrational properties of crystals of DL-isoleucine, DL-glutamic acid monohydrate and L-Leucine oxalate. These compounds were grown by slow evaporation of the solvent at room temperature. Its vibrational properties were studied at room temperature and at high hydrostatic pressure through Raman spectroscopy. For the sample of DL-isoleucine at ambient conditions, the mode assignment was done in terms of the potential energy distribution (PED) through density functional theory calculations. Both nitrogen and neon were used as pressure transmitting media. The pressure-dependent investigation shows modifications in the Raman spectra recorded between 30 cm^{-1} and 3200 cm^{-1} that were interpreted as phase transitions undergone by the crystal between 1.3 GPa and 1.9 GPa and between 3.6 GPa and 5.1 GPa. Finally, the stress was simulated on the unit cell of the crystal from ambient pressure to 5.0 GPa. The sample of DL-glutamic acid monohydrate, the modes assignment were made by comparison with works made in L-forms (α and β) glutamic acid and other amino acids. Neon was used as pressure transmitting media. In the investigation under high pressures were found three structural phase transitions. The first one at about 0,9 GPa, the second one at ~ 4.8 GPa showed conformations involving CO_2^- , NH_3^+ and the water molecules, while the third one involved various parts of glutamic acid, as well as the water molecules. The crystal of DL-glutamic acid monohydrate demonstrate similar stability compared with its polymorphs α -L-glutamic acid and β -L-glutamic acid (for the first phase transition). However, phase II of DL-glutamic acid monohydrate demonstrated highest structural stability. Water molecules seem to play important role in this structural stability. In addition, all transitions were reversible. The sample of L-Leucine oxalate, the assignment of the modes has also been made by comparison with literature. Neon gas was used as pressure transmitting media. The results of the experiments under high pressures showed that this sample undergoes two phase transitions at high pressure, the first one between 0.9 GPa and 1.0 GPa and the second one between 2.6 GPa and 3.1 GPa both characterized by the appearance and disappearance of bands related to lattice modes with regard to internal modes. The crystal of L-Leucine oxalate was more stable than your constituent

L-Leucine and less stable than oxalic acid. Decompression experiments revealed that the phase transitions observed in the three samples are reversible.

Keywords: Amino acids. Complexes of amino acids . Raman spectroscopy. High pressure. Phase transition.

Lista de ilustrações

Figura 1.1 – Representação esquemática geral dos aminoácidos.	27
Figura 1.2 – Representação das formas neutra em a) e Zwitteriônica em b) de um aminoácido.	28
Figura 1.3 – Representação dos átomos de carbono dos aminoácidos na forma numérica e em letras gregas.	30
Figura 1.4 – Estrutura do oxalato de L-alanina.	32
Figura 1.5 – Representação da isomeria em aminoácidos.	33
Figura 1.6 – Formula estrutural da isoleucina.	36
Figura 1.7 – Formula estrutural do ácido DL-glutâmico monohidratado.	37
Figura 1.8 – Formula estrutural da L-leucina oxalato.	38
Figura 1.9 – Ilustração da célula unitária da L-isoleucina vista ao longo do eixo cristalográfico b.	39
Figura 1.10 – Conformações moleculares do L-ácido glutâmico nas formas polimórficas α e β com os ângulos diedrais.	40
Figura 2.1 – Cristais de DL-isoleucina obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.	44
Figura 2.2 – Cristais de Ácido DL-glutâmico monohidratado obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.	44
Figura 2.3 – Cristais de L-leucina oxalato obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.	45
Figura 2.4 – Espectrômetro T64000 (fabricante Horiba Jobin Yvon).	46
Figura 2.5 – Célula de pressão Diamond Anvil Cell (MDAC), a) corpo, b) pistão, c) capô e d) célula montada, usada para variar a pressão no experimento 1 realizado no cristal de DL-isoleucina.	47
Figura 2.6 – Representação esquemática da célula de pressão.	48
Figura 2.7 – Célula de pressão Diamond Anvil Cell (MDAC), usada para variar a pressão no experimento 2 realizado no cristal de DL-isoleucina, desmontada em partes em a) e montada em b).	48
Figura 3.1 – Célula unitária da DL-isoleucina, vista ao longo do eixo b^*	51
Figura 3.2 – Molécula de DL-isoleucina otimizada por cálculos de DFT.	53
Figura 3.3 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 40-600 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.	54

Figura 3.4 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 700-1200 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.	56
Figura 3.5 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 1200-1700 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.	58
Figura 3.6 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 2800-3050 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.	59
Figura 4.1 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 40-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	63
Figura 4.2 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 40-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	64
Figura 4.3 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 300-600 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	65
Figura 4.4 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 700-1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	67
Figura 4.5 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 700-1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	68
Figura 4.6 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 1400-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	69
Figura 4.7 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 1400-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	70

Figura 4.8 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 2800-3200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	71
Figura 4.9 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 2800-3200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).	72
Figura 4.10 – Volume da célula unitária da DL-isoleucina em função da pressão.	73
Figura 4.11 – Comparação dos espectros Raman do cristal de DL-isoleucina na faixa espectral 700 à 1200 cm^{-1} para valores selecionados de pressão registrados durante a compressão (preto) e descompressão (vermelho) da pressão máxima.	76
Figura 5.1 – Difratoograma obtido do pó dos cristais de ácido DL-glutâmico monohidratado refinado pelo método de Rietveld.	82
Figura 5.2 – Representação da célula unitária do ácido DL-glutâmico monohidratado.	83
Figura 5.3 – Representação da interação da molécula de água, ao centro, com três moléculas distintas de ácido DL-glutâmico através de ligações de hidrogênio.	84
Figura 5.4 – Representação da célula unitária do ácido DL-glutâmico monohidratado vista ao longo do eixo cristalográfico <i>c</i> , evidenciando a posição das moléculas de água entre as moléculas de ácido DL-glutâmico.	84
Figura 5.5 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 50-300 cm^{-1} em pressão ambiente.	88
Figura 5.6 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 300-600 cm^{-1} em pressão ambiente.	89
Figura 5.7 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 300-600 cm^{-1} em pressão ambiente.	91
Figura 5.8 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 1250-1750 cm^{-1} em pressão ambiente.	92
Figura 5.9 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 2850-3050 cm^{-1} em pressão ambiente.	93
Figura 5.10 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 3400-3650 cm^{-1} em pressão ambiente.	94
Figura 6.1 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	97

Figura 6.2 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-145 cm^{-1} para os valores de pressão ambiente e 0,9 GPa. No espectro pontilhado é apresentado o resultado experimental, as linhas em preto representam os ajustes em cada modo e a linha em vermelho a soma dos ajustes.	98
Figura 6.3 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 250-600 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	100
Figura 6.4 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 600-850 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	102
Figura 6.5 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 850-980 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	103
Figura 6.6 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 1000-1300 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	104
Figura 6.7 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 1370-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	106
Figura 6.8 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 2870-3180 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	108

Figura 6.9 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 3200-3750 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).	110
Figura 6.10–Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-1050 cm^{-1} para alguns valores de pressão na compressão em preto e na descompressão em vermelho.	114
Figura 6.11–Relação entre as intensidades dos modos centrados em 2870, 2914 e 2935 cm^{-1} em função da pressão para a DL-norvalina.	115
Figura 6.12–Relação entre as intensidades dos modos de libracional do NHO e torção do CO_2 em função da pressão para a DL-valina.	116
Figura 6.13–Relação entre as intensidades dos modos de deformação do CO_2^- e <i>rocking</i> do CH_2 em função da pressão para o ácido DL-glutâmico monohidratado.	116
Figura 7.1 – Difratoograma obtido do pó de parte dos cristais de L-leucina oxalato refinado pelo método de Rietveld.	121
Figura 7.2 – Representação da célula unitária do cristal de L-leucina oxalato, vista ao longo do eixo cristalográfico a.	122
Figura 7.3 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 50-600 cm^{-1} em pressão ambiente.	125
Figura 7.4 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 600-1200 cm^{-1} em pressão ambiente.	126
Figura 7.5 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 1370-1800 cm^{-1} em pressão ambiente.	128
Figura 7.6 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 2750-3200 cm^{-1} em pressão ambiente.	129
Figura 8.1 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 50-400 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	133
Figura 8.2 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 400-800 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	135
Figura 8.3 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 800-1000 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	136

Figura 8.4 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 1000-1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	137
Figura 8.5 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 1400-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	138
Figura 8.6 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 2700-3150 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda <i>versus</i> pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).	140
Figura 8.7 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 50-1100 cm^{-1} para alguns valores de pressão na compressão em preto e na descompressão em vermelho.	143
Figura A.1 – Diagrama esquemático dos espalhamentos Rayleigh, Raman Stokes e Raman Anti-Stokes.	165
Figura A.2 – Diagrama esquemático do espectro Raman, mostrando as linhas de espelhamento Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes.	166
Figura A.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).	170
Figura B.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).	171
Figura C.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).	172

Lista de tabelas

Tabela 1.1 – Classificação dos aminoácidos quanto a natureza do grupo radical R.	28
Tabela 1.2 – Lista dos vinte aminoácidos proteicos, suas abreviaturas e radicais.	29
Tabela 1.3 – Parâmetros cristalinos das formas L e DL da isoleucina.	39
Tabela 3.1 – Comprimento das ligações de hidrogênio.	50
Tabela 3.2 – Tabela de caracteres do grupo C_i	52
Tabela 3.3 – Identificação dos modos normais de vibração da DL-isoleucina à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1}	60
Tabela 4.1 – Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-isoleucina à pressão ambiente (experimento 1) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais . Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1}	77
Tabela 4.2 – Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-isoleucina à pressão ambiente (experimento 2) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais . Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1}	79
Tabela 5.1 – Comprimento de algumas ligações do ácido DL-glutâmico monohidratado, medidas em (Å).	85
Tabela 5.2 – Comprimento das ligações de hidrogênio para o ácido DL-glutâmico monohidratado, medidas em (Å).	86
Tabela 5.3 – Tabela de caracteres do grupo (D_{2h}).	87
Tabela 6.1 – Tabela de atribuição e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais . Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1}	117
Tabela 7.1 – Comprimento das ligações da L-leucina oxalato, medidas em (Å).	123
Tabela 7.2 – Tabela de caracteres do grupo (C_1).	124
Tabela 7.3 – Identificação dos modos normais de vibração da L-leucina oxalato à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1}	130

Tabela 8.1 – Tabela de classificação e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de L-leucina oxalato à pressão ambiente (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais . Os valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} . . 144

Sumário

	PREFÁCIO	24
1	INTRODUÇÃO	27
1.1	Aminoácidos	27
1.2	Compostos de aminoácidos e ácido oxálico	31
1.3	Quiralidade	33
1.4	Isoleucina, ácido glutâmico e L-leucina oxalato	35
1.4.1	Isoleucina	35
1.4.2	Ácido DL-glutâmico monohidratado	36
1.4.3	L-leucina Oxalato	37
1.5	Histórico	38
2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	43
2.1	Método para obtenção das amostras	43
2.1.1	O cristal de DL-isoleucina	43
2.1.2	O cristal de Ácido DL-glutâmico monohidratado	44
2.1.3	O cristal de L-leucina Oxalato	45
2.2	Experimentos de Espectroscopia Raman em condições ambientes	45
2.3	Experimentos de espectroscopia Raman à altas pressões	46
2.4	Cálculos Teóricos	49
3	DL-ISOLEUCINA EM CONDIÇÕES AMBIENTES	50
3.1	Propriedades estruturais da DL-isoleucina	50
3.2	Teoria de grupos para o cristal de DL-isoleucina	51
3.3	Classificação dos modos Raman à pressão ambiente	52
3.3.1	Região entre 50 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	53
3.3.2	Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	55
3.3.3	Região entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1}	56
3.3.4	Região entre 2800 cm^{-1} e 3050 cm^{-1}	58
4	RESULTADOS NO CRISTAL DE DL-ISOLEUCINA SOB ALTAS PRESSÕES	62
4.1	Região espectral entre 40 cm^{-1} e 300 cm^{-1}	62
4.2	Região espectral entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	64
4.3	Região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	66
4.4	Região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1800 cm^{-1}	68

4.5	Região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3200 cm^{-1}	70
4.6	Discussão dos resultados	73
4.7	Conclusão dos resultados obtidos no cristal de DL-isoleucina	80
5	ÁCIDO DL-GLUTÂMICO MONOHIDRATADO EM CONDIÇÕES AMBIENTES	81
5.1	Propriedades estruturais do ácido DL-glutâmico monohidratado	81
5.2	Teoria de grupos para o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado	86
5.3	Classificação dos modos Raman a pressão ambiente	87
5.3.1	Região entre 50 cm^{-1} e 300 cm^{-1}	88
5.3.2	Região entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	89
5.3.3	Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	90
5.3.4	Região entre 1250 cm^{-1} e 1750 cm^{-1}	91
5.3.5	Região entre 2850 cm^{-1} e 3050 cm^{-1}	92
5.3.6	Região entre 3400 cm^{-1} e 3650 cm^{-1}	93
6	RESULTADOS NO CRISTAL DE ÁCIDO DL-GLUTÂMICO MONOHIDRATADO SOB ALTAS PRESSÕES	95
6.1	Região espectral entre 50 cm^{-1} e 300 cm^{-1}	95
6.2	Região espectral entre 250 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	99
6.3	Região espectral entre 600 cm^{-1} e 1300 cm^{-1}	101
6.4	Região espectral entre 1370 cm^{-1} e 1800 cm^{-1}	105
6.5	Região espectral entre 2870 cm^{-1} e 3180 cm^{-1}	107
6.6	Região espectral entre 3200 cm^{-1} e 3750 cm^{-1}	109
6.7	Discussão dos resultados	110
6.8	Conclusão dos resultados obtidos no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado	119
7	L-LEUCINA OXALATO EM CONDIÇÕES AMBIENTES	120
7.1	Propriedades estruturais da L-leucina oxalato	120
7.2	Teoria de grupos para o cristal de L-leucina oxalato	123
7.3	Classificação dos modos Raman a pressão ambiente	124
7.3.1	Região entre 50 cm^{-1} e 600 cm^{-1}	125
7.3.2	Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	126
7.3.3	Região entre 1200 cm^{-1} e 1800 cm^{-1}	127
7.3.4	Região entre 2710 cm^{-1} e 3200 cm^{-1}	128
8	RESULTADOS NO CRISTAL DE L-LEUCINA OXALATO SOB ALTAS PRESSÕES	132
8.1	Região espectral entre 50 cm^{-1} e 400 cm^{-1}	132

8.2	Região espectral entre 400 cm^{-1} e 800 cm^{-1}	134
8.3	Região espectral entre 800 cm^{-1} e 1200 cm^{-1}	135
8.4	Região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1800 cm^{-1}	137
8.5	Região espectral entre 2700 cm^{-1} e 3150 cm^{-1}	139
8.6	Discussão dos resultados	141
8.7	Conclusão dos resultados obtidos no cristal de L-leucina oxalato . . .	146
9	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	147
9.1	Conclusões	147
9.2	Perspectivas	148
	REFERÊNCIAS	149
	APÊNDICE A – ASPECTOS TEÓRICOS DA ESPECTROSCOPIA	
	RAMAN	164
A.1	O efeito Raman	164
A.2	Abordagem clássica do efeito Raman	165
	ANEXO A – EVOLUÇÃO DA BANDA DE FLUORESCÊNCIA DO	
	RUBI COM O AUMENTO DA PRESSÃO NO EXPERIMENTO 2 DO AMINOÁCIDO DL-ISOLEUCINA.	170
	ANEXO B – EVOLUÇÃO DA BANDA DE FLUORESCÊNCIA DO	
	RUBI COM O AUMENTO DA PRESSÃO NO EXPERIMENTO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN DO	
	ÁCIDO DL-GLUTÂMICO MONOHIDRATADO.	171
	ANEXO C – EVOLUÇÃO DA BANDA DE FLUORESCÊNCIA DO	
	RUBI COM O AUMENTO DA PRESSÃO NO EXPERIMENTO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN DO	
	COMPLEXO DE L-LEUCINA + ÁCIDO OXÁLICO (LLO).	172

Prefácio

Estudos em cristais de aminoácidos em função de altas pressões hidrostáticas vem sendo realizados por mais de duas décadas. Esse interesse vem não apenas pelo apelo biológico desses materiais, como também devido as ligações de hidrogênio encontradas nesses compostos, que no estado sólido são as principais responsáveis pela manutenção da estabilidade estrutural e estão relacionadas as propriedades físicas e químicas desses aminoácidos.

Estudos que variam a pressão podem ajudar a entender a natureza dessas ligações, incluindo estimar a energia de ligação, bem como entender melhor o papel das mesmas na determinação das estruturas e propriedades dos sistemas [1]. Sob pressão, alguns cristais de aminoácidos têm um rico diagrama de fases, apresentando muitas transições de fase [2], nenhuma transição de fase [3] ou mesmo apresentando amorfização [4]. Os aminoácidos também podem exibir propriedades interessantes, como piezeletricidade [5], ferroeletricidade [6] e potencial para aplicações tecnológicas no campo da optoeletrônica [7]. Recentemente, foi relatado que nanopartículas de magnetita modificadas por aminoácidos foram usadas como uma nova ferramenta para detecção de células cancerígenas [8].

Os aminoácidos são a menor unidade que formam proteínas. Entre os aminoácidos proteicos, a isoleucina, leucina e valina são três aminoácidos essenciais que possuem cadeia lateral alifática com um ramo e são, nomeadamente, aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA). Eles atuam no sistema imunológico, função cerebral e desempenham papel importante no metabolismo. Níveis aumentados de BCAA podem estar relacionados a doenças cardiovasculares e resistência à insulina [9–13].

Outra propriedade dos aminoácidos que atrai a atenção de pesquisadores é o polimorfismo. Em condições ambientes, certos aminoácidos podem apresentar estruturas distintas e resposta a estímulos externos bastante diferente, como por exemplo a forma L da cisteína, que pode apresentar-se com estrutura monoclinica [14] ou ortorrômbica [15] e a forma DL da valina, que pode cristalizar-se com simetria monoclinica [16] ou triclinica [17]. A comparação entre as respostas dos enantiômeros L e DL com o aumento da pressão também se destaca. Uma apresentação detalhada sobre este tema será abordada no capítulo 1, seção 1.3.

Os aminoácidos podem se ligar a uma infinidade de outras moléculas formando diversos complexos. Como exemplos podemos citar compostos de aminoácidos com: (i) ácidos, como o ácido nítrico [18], ortofosfórico [19] ou sulfúrico [20]; (ii) metais como níquel e cobre [21–23] e (iii) outras moléculas orgânicas como os ácidos dicarboxílicos [24–26] e mesmo outros aminoácidos formando dipeptídeos [27–30]. Cada novo composto

representa um novo sistema com propriedades próprias. Apenas para termos uma ideia de quão interessante e importante é o estudo destes complexos foi publicado um artigo no qual um dipeptídeo (triptofano-glicina) apresenta coeficientes negativos de expansão térmica [31], propriedade importante em ciência dos materiais, mas rara em materiais orgânicos e que não havia sido registrada por nenhum dos aminoácidos individuais que compõem este dipeptídeo.

Dessa forma, diversas pesquisas vem sendo realizadas combinando aminoácidos e ácidos dicarboxílicos no intuito de se obter amostras que apresentem potenciais aplicabilidades tecnológicas, como por exemplo no campo da óptica não linear [32–36]. Podemos citar ainda a aplicação destes materiais no ramo da farmacologia. A ciprofloxacina (CIP), é um composto pertencente a uma família de antibióticos orais de amplo espectro chamados fluoroquinolonas, drogas amplamente prescritas mundialmente para o tratamento de vários tipos de infecções bacterianas. Quanto à maioria das fluoroquinolonas, a solubilidade aquosa da ciprofloxacina é fortemente dependente do pH, devido à transferência de prótons do ácido carboxílico para o anel básico de piperazina para formar espécies zwitteriônicas. Como resultado, a CIP apresenta baixa solubilidade em pH neutro, limitando a biodisponibilidade do composto. Uma maneira alternativa de melhorar o desempenho dessa solução é desenvolver sais de CIP com diferentes contra-íons orgânicos. Para tanto, faz-se necessário a adição de ácidos carboxílicos durante a preparação de tais compostos [37]. Recentemente foi relatado que os novos sais de ciprofloxacina aumentam a solubilidade aquosa e simultaneamente influenciam o coeficiente de partição octanol-água do fármaco, o que permite o ajuste de propriedades farmacológicas relevantes pela alteração de íons opostos [38].

No Departamento de Física o estudo de complexos de aminoácidos com ácidos dicarboxílicos iniciou com a tese do Dr. Rivelino Vilela que em 2013 estudou o oxalato de L-alanina e agora damos continuidade ao estudo dessa família de materiais com o cristal de L-leucina oxalato.

Esta tese tem como objetivo investigar o comportamento estrutural, incluindo transições de fase, dos aminoácidos DL-isoleucina e ácido DL-glutâmico monohidratado e do complexo L-leucina oxalato (LLO) quando sujeitos a altas pressões. Este trabalho se divide em nove capítulos. No primeiro capítulo apresentamos uma breve revisão dos aspectos teóricos acerca dos aminoácidos, compostos de aminoácidos e ácido oxálico, quiralidade e abordaremos aspectos gerais das três amostras em estudo. O segundo capítulo corresponde a uma descrição dos materiais e equipamentos utilizados nos experimentos de espectroscopia Raman em condições ambientes e em altas pressões. No terceiro capítulo será feita uma análise do cristal de DL-isoleucina e apresentação dos resultados em condições ambientes. No quarto capítulo apresentamos os resultados para o cristal de DL-isoleucina sob altas pressões. No quinto será apresentada a análise do cristal de ácido DL-glutâmico

monohidratado e os resultados em condições ambientes. O sexto capítulo destina-se a apresentação dos resultados na amostra de ácido DL-glutâmico monohidratado submetido a altas pressões. O estudo do cristal de L-leucina oxalato, bem como os resultados em condições ambientes de temperatura e pressão serão apresentados no capítulo 7. O capítulo 8 destina-se aos resultados sob altas pressões nesse mesmo complexo. No nono capítulo serão apresentadas as conclusões e perspectivas deste trabalho.

1 Introdução

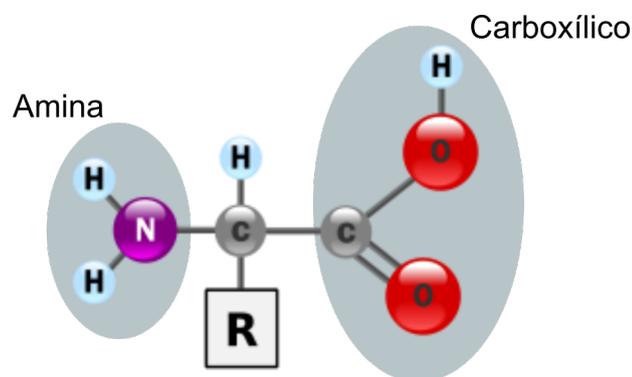
Este capítulo destina-se a uma revisão das principais características e estudos realizados em aminoácidos e em compostos de aminoácidos e ácido oxálico.

1.1 Aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades básicas formadoras dos peptídeos e das proteínas. As proteínas, cujo nome vem da palavra grega protos que significa “a primeira” ou “a mais importante”, são as macromoléculas mais abundantes nas células vivas. Uma proteína é composta por uma cadeia com mais de 200 aminoácidos e suas propriedades são determinadas pelo número, tipo e conformação dos aminoácidos pertencentes a essa cadeia. Diversas funções indispensáveis aos seres vivos são desempenhadas pelas proteínas dentre elas pode-se citar: crescimento e regeneração de tecidos, transporte de nutrientes, funções reguladoras e metabólicas, dentre outras. Cada aminoácido é constituído por um grupo amina (NH_2) e por um grupo carboxílico (COOH), ligados a um carbono central, denominado carbono- α , (C_α), sobre o qual também se ligam um átomo de hidrogênio (H), e um radical (R), sendo este o responsável pela diferenciação dos aminoácidos e que determina o caráter neutro, polar ou apolar, hidrofóbico ou hidrofílico de cada um. A representação geral de um aminoácido é mostrada na Figura 1.1.

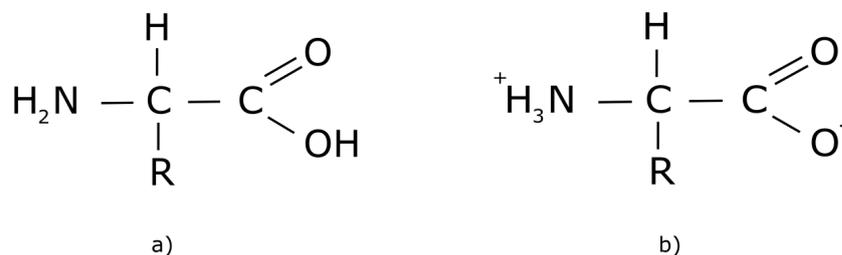
No estado sólido, o grupo carboxílico perde um átomo de hidrogênio, que se liga ao grupo amina, fazendo com que o composto passe a um estado de íon bipolar denominado *zwitterion*, do alemão “*zwitter*” que significa híbrido. Na Figura 1.2 estão representadas as formas neutra e zwitterionica de um aminoácido.

Figura 1.1 – Representação esquemática geral dos aminoácidos.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 1.2 – Representação das formas neutra em a) e Zwitteriônica em b) de um aminoácido.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os aminoácidos podem ser classificados quanto à natureza de seus radicais como: Apolar (alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptofano e metionina); Polar não carregado (glicina, serina, cisteína, tirosina, asparagina e glutamina); Polar carregado positivamente (lisina, argina e histidina); polar carregado negativamente (ácido aspártico e ácido glutâmico). Essa classificação pode ser observada na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Classificação dos aminoácidos quanto a natureza do grupo radical R.

Aminoácidos hidrofóbicos	Aminoácidos hidrofílicos	Aminoácidos básicos	Aminoácidos ácidos
Valina (Val)	Glicina (Gli)	Histidina (His)	Ácido Aspártico (Asp)
Leucina (Leu)	Serina (Ser)	Lisina (Lis)	Ácido Glutâmico (Glu)
Isoleucina (Ile)	Treonina (Ter)	Arginina (Arg)	
Metionina (Met)	Cisteína (Cis)		
Fenilalanina (Fen)	Tirosina (Tir)		
Alanina (Ala)	Asparagina (Asp)		
Prolina (pro)	Glutamina (Gln)		
Triptofano (Tri)			

Fonte: Produzida pelo autor.

Quanto à capacidade de síntese pelo organismo, os aminoácidos são classificados como essenciais, que não são produzidos pelo organismo e devem ser obtidos através da alimentação, e não essenciais, que são obtidos por meio dos aminoácidos essenciais através de reações químicas. Dentre os diversos aminoácidos encontrados na natureza, apenas 20 participam do processo de formação das proteínas. A Tabela 1.2 lista os 20 aminoácidos proteicos, bem como suas abreviaturas e radicais.

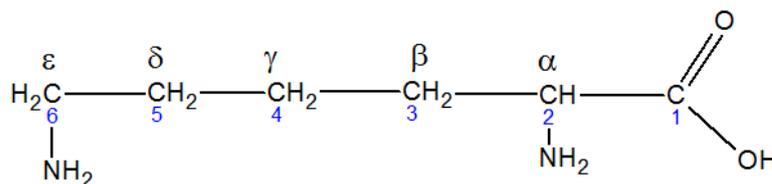
Tabela 1.2 – Lista dos vinte aminoácidos proteicos, suas abreviaturas e radicais.

Denominação	Abreviatura	Radical
Alanina	ALA	CH_3
Arginina	ARG	$NH_2C(NH)_2(CH_2)_3$
Asparagina	ASN	$NH_3CO(CH_2)$
Ácido Aspártico	ASP	$COOH(CH_2)$
Cisteína	CYS	$SH(CH_2)$
Glutamina	GLN	$NH_2CO(CH_2)_2$
Ácido Glutâmico	GLU	$COOH(CH_2)_2$
Glicina	GLY	H
Histidina	HIS	$(C_3N_2H_4)CH_2$
Isoleucina	ILEU	$(CH_3)2CH_2CH$
Leucina	LEU	$(CH_3)_2CH(CH_2)$
Lisina	LYS	$NH_2(CH_2)_4$
Metionina	MET	$CH_3S(CH_2)$
Fenilalanina	PHE	$(C_6H_5)CH_2$
Prolina	PRO	$3CH_2$
Serina	SER	$OH(CH_2)$
Treonina	THR	$CH_3(OH)CH$
Triptófano	TRY	$(C_6H_4)HNC_2HCH_2$
Tirosina	TYR	$(OHC_6H_4)CH_2$
Valina	VAL	$(CH_3)_2CH$

Fonte: Produzida pelo autor.

A denominação dos átomos de carbono em um aminoácido pode ser feita de duas maneiras, usando numerais ou letras do alfabeto grego. Quando o grupo amina está ligado ao carbono α ou carbono C2, carbono adjacente ao grupo carboxílico, este é denominado por α -aminoácido. Da mesma forma, se o grupo amina está ligado ao carbono β , γ , δ ou ϵ , o aminoácido é denominado um β , γ , δ ou ϵ -aminoácido, respectivamente [39]. Usando numerais, temos a seguinte correspondência: o carbono do grupo carboxila (COOH) de um aminoácido é o carbono 1 (C-1), O carbono α é o carbono 2 (C-2), o carbono β é o (C-3), e assim sucessivamente. A Figura 1.3 apresenta uma ilustração dessas denominações.

Figura 1.3 – Representação dos átomos de carbono dos aminoácidos na forma numérica e em letras gregas.



Fonte: Produzida pelo autor.

Embora as reações dos aminoácidos e proteínas existentes nos organismos vivos ocorram em solução, estes podem ser cristalizados e assim investigadas suas propriedades vibracionais e de conformação por diversas técnicas, dentre as quais pode-se destacar a difração de raios-X, difração de nêutrons, absorção no infravermelho e espectroscopia Raman, sendo a última a principal técnica utilizada nesse trabalho.

Geralmente as moléculas de aminoácidos cristalizam-se com várias unidades por célula unitária, podendo assim formar várias ligações de hidrogênio. Estas são de grande importância para estabilidade da estrutura cristalina, uma vez que, submetendo o cristal de aminoácido à variação dos parâmetros termodinâmicos temperatura e/ou pressão, pode haver modificação nas posições das moléculas, afetando em consequência, as ligações de hidrogênio. Em certos casos, essas modificações rearranjam as posições das moléculas na célula unitária, induzindo a ocorrência das denominadas transições de fase e o material assume uma nova simetria cristalina.

Os cristais de aminoácidos quando submetidos a diferentes condições externas podem produzir polimorfos, que é uma questão fundamental na indústria farmacêutica, pois diferentes polimorfos do mesmo composto de fármaco podem ter propriedades físicas e químicas bastante distintas que afetam a biodisponibilidade, a velocidade de dissolução, o processamento, a estabilidade entre outros [40, 41]. Além disso, os cristais de aminoácidos servem como modelos mais simples para o estudo de ligações de hidrogênio que estão presentes na estrutura secundária das proteínas. Dessa forma, estudos sobre a estabilidade desses materiais submetidos a condições variadas de temperatura e pressão fornecem, também, informações sobre as propriedades estruturais das proteínas como auto dobramento, desnaturação, entre outras, que são de grande importância na bioquímica. Outra aplicação importante dos cristais de aminoácidos é no estudo da óptica não linear¹, pois certos

¹ A óptica não linear trata do estudo da interação da luz com a matéria no regime em que suas propriedades ópticas são modificadas pela presença da luz

aminoácidos podem apresentar-se como geradores de segundo harmônico [42].

Devido aos fatos apresentados, muitos estudos relacionados as propriedades estruturais e vibracionais dos aminoácidos foram realizados e uma série de resultados já são conhecidos. Como exemplo, pode-se citar a glicina, que é o aminoácido mais simples, cujo radical é formado apenas por um átomo de hidrogênio (H). Tal aminoácido é opticamente inativo e possui três polimorfos em condições ambientes de temperatura e pressão, sendo eles denominados como α , β e γ . A forma α apresentou estabilidade até 23 GPa [43]. Já a forma β quando submetido a altas pressões apresentou uma transição de fase em $\sim 0,76$ GPa [44]. A γ -glicina sofre uma transição de fase de primeira ordem, acompanhada de uma mudança brusca no volume da célula unitária, tal transição de fase começa com uma pressão hidrostática de 2,74 GPa e não é concluída nem mesmo com 7,85 GPa [45].

Moggach *et al.* constataram, através de experimentos de difração de nêutrons, que a L-serina (L-serina-I em pressão ambiente) sofre uma transição de fase entre 4,8 GPa e 5,4 GPa, passando a ser denominada (L-serina-II) e uma outra transição (L-serina-III) entre 7,3 GPa e 8,1 GPa [46].

A L-alanina, o aminoácido quiral mais simples, foi investigada sob condições de altas pressões por Teixeira e colaboradores [47]. Que relataram que o cristal deste aminoácido apresenta uma transição de fase em 2,3 GPa. Olsen *et al.* [48], determinaram, por meio de experimentos de difração de raios-X, que a nova fase desse material seria tetragonal e ainda relataram a existência de uma nova transição de fase entre 8,5 GPa e 10 GPa.

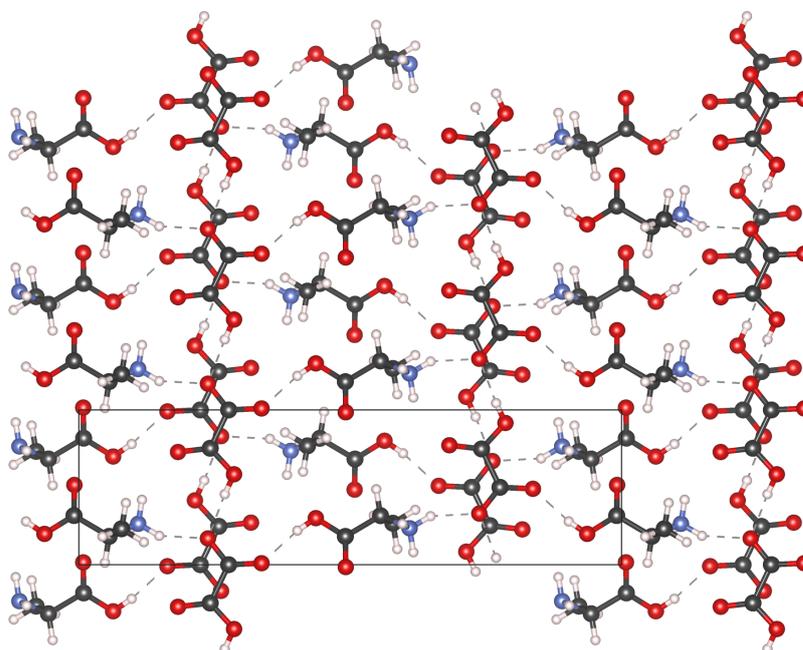
Tumanov *et al.* [49], realizaram uma revisão desse aminoácido através da técnica de difração de raios-X e explicaram a anomalia observada em 2,3 GPa, como consequência de uma coincidência dos parâmetros da célula unitária e nenhuma transição foi observada até 12,3 GPa. Funnell *et al.* observaram que a L-alanina sofre amorfização em cerca de 15 GPa [4] foi a primeira amorfização observada em um cristal de aminoácido. A forma racêmica da alanina foi estudada sob altas pressões por Belo *et al.* [50] que sugeriram que esta sofra três transições de fase sob pressão, embora estudos mais recentes indiquem que sua estrutura permanece estável até aproximadamente 8,3 GPa [51].

1.2 Compostos de aminoácidos e ácido oxálico

Dentre os compostos formados por aminoácidos e ácidos dicarboxílicos, podemos citar aqueles com ácido oxálico, que são alguns dos mais estudados. Suas propriedades de ótica não linear em geral são melhores que às dos aminoácidos base e estes materiais também atraem interesse na área de geofísica, uma vez que acredita-se que estes estivessem presentes no período prebiótico da Terra formando complexos com os aminoácidos [52–54]. Assim, investigações em condições termodinâmicas diversas poderiam dar informações

sobre processos bioquímicos ocorridos na crosta terrestre. A estrutura de diversos complexos já foram determinadas, mas estudos sobre sua estabilidade ainda são escassos. A Figura 1.4 mostra a estrutura do oxalato de alanina. Como podemos ver, a estrutura é formada por camadas do aminoácido intercaladas por camadas de ácido oxálico e neste composto a conformação da molécula de alanina é um pouco diferente da que é apresentada no cristal do aminoácido puro [55]. No trabalho realizado por Rivelino Vilela [56] o composto oxalato de L-alanina foi estudado em função de baixas temperaturas e observou-se três transições de fase em torno das temperaturas de 250 K, 150 K e 43 K.

Figura 1.4 – Estrutura do oxalato de L-alanina.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados do arquivo .cif [24].

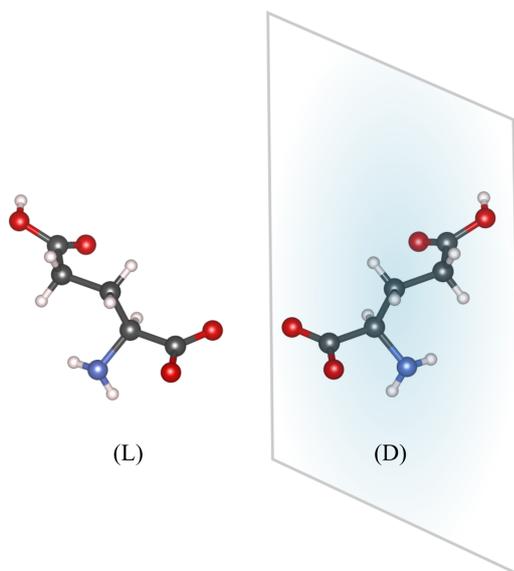
Quanto aos compostos de aminoácidos, vários trabalhos sobre suas propriedades em CNPT têm sido publicados, mas estudos em condições extremas (especialmente em função da pressão) ainda são poucos. O primeiro composto de ácido oxálico e um aminoácido estudado em altas pressões foi o oxalato de α -glicina [57]. Neste complexo entre glicina e ácido oxálico com estequiometria 1:1 (oxalato de glicina) o estudo evidenciou o comportamento desse complexo sob pressões de até 35 GPa, o mesmo reporta uma transição de fase em aproximadamente 1,7 GPa, justificada pela mudança brusca dos modos associados aos modos de rede. Se lembrarmos os resultados obtidos na α -glicina concluímos que as ligações de glicina com ácido oxálico são mais suscetíveis ao estresse causado pela pressão que as ligações entre moléculas de glicina, uma vez que a forma α da glicina é estável até 23 GPa [43]. Um estudo posterior [58] estudou o mesmo composto, através de espectroscopia no infravermelho, confirmando a transição de fase e indicando

que a fase acima de 1,7 GPa pertence a um sistema centrossimétrico. Um cenário bem diferente é observado no oxalato de cisteína. A forma racêmica DL-cisteína sofre diversas transições de fase em função da pressão [59], mas o oxalato de DL-cisteína mantém-se estável até em torno de 6 GPa [60]. O sal de DL-serina oxalato dihidratado foi recentemente estudado em função da pressão e os autores reportaram uma transição de fase em torno de 4 GPa [61]

1.3 Quiralidade

Nos aminoácidos o átomo de carbono central ($C-\alpha$) está ligado a quatro diferentes grupos numa configuração tetraédrica e assimétrica, constituindo assim um centro quiral. Devido a esse fato, os aminoácidos apresentam atividade óptica, dessa forma, esses compostos podem existir como enantiômeros, moléculas que diferem apenas no arranjo espacial dos átomos, ou seja, cada aminoácido pode apresentar duas formas quirais (L ou D). As representações L e D estão relacionadas a capacidade de promover a rotação do plano da luz polarizada para a esquerda ou direita. A única exceção a esse fato é a glicina, pois esta não possui atividade óptica, uma vez que sua cadeia lateral R é formada apenas por um átomo de hidrogênio. A Figura 1.5 ilustra um exemplo de isomeria óptica² em aminoácidos.

Figura 1.5 – Representação da isomeria em aminoácidos.



Fonte: Produzida pelo autor.

² fenômeno observado nos isômeros que se apresentam como imagens especulares superpostas uns dos outros, não sendo possível, por esse motivo, a superposição das duas moléculas; isomerismo óptico.

É possível também obter cristais com as duas formas L e D chamados de racêmicos (DL). Nestes, metade das moléculas têm a conformação L e a outra metade têm a conformação D. Nesse ponto, é importante destacar que apenas os aminoácidos da forma L combinam-se para formar as proteínas enquanto que os da forma D formam açúcares e compõem alguns tipos de bactérias. As formas L e DL são constituídas basicamente pelas mesmas moléculas, no entanto, a forma como estas estão ligadas pode produzir propriedades bastante distintas.

Estudos de espectroscopia Raman em condições extremas mostram que os resultados obtidos nas formas L ou D podem ser bem diferentes dos resultados na forma (DL) do aminoácido. Um interessante exemplo de como as três formas podem apresentar diferentes comportamentos sob as mesmas condições é o aminoácido metionina. Sua forma L foi estudada, através da técnica de espectroscopia Raman sob altas pressões hidrostáticas e os resultados mostraram uma transição de fase estrutural em aproximadamente 2,3 GPa, relacionada ao enxofre presente na estrutura, uma vez que os modos de estiramento da ligação Carbono-enxofre são muito afetados neste valor de pressão [62]. A D-metionina apresenta-se de maneira distinta, mesmo em condições normais de pressão e temperatura. Embora as duas formas pertençam ao mesmo grupo espacial (sistema monoclinico - C_2^2), a L-metionina possui quatro moléculas por célula unitária, enquanto a D-metionina possui o dobro, 8. O mesmo estudo realizado na forma D da metionina [63] também identificou uma transição de fase relacionada com o enxofre da estrutura, mas apenas em 2,6 GPa. E além disso, uma transição anterior, em 1,6 GPa, que não foi verificada na forma L. Já a forma racêmica desse material apresenta uma transição em 1,5 GPa, mas não foram observadas modificações nos modos de estiramento carbono-enxofre, o que indica que esse material tem uma conformação molecular bem diferente das duas primeiras sob altas pressões [64].

As formas L e DL da valina também se comportam de maneira bastante distinta quando submetidas a altas pressões. O cristal de L-valina foi investigado através da técnica de espectroscopia Raman desde a pressão ambiente até 6,9 GPa. Segundo os autores da referência [65] a pressão induziu mudanças extraordinárias na intensidade dos modos de estiramento do C – H que apresentam um acréscimo de até 5 vezes em ~ 3 GPa e diminuição em $\sim 5,3$ GPa. Foram observadas também descontinuidades no comportamento dos modos através do gráfico de número de onda *versus* pressão. Tais mudanças foram interpretadas como duas transições de fase sofridas por este material.

A forma racêmica da valina apresenta polimorfismo em condições ambientes de temperatura e pressão podendo cristalizar-se em dois diferentes polimorfos, com simetrias triclinica [17], e monoclinica [16]. No polimorfo triclinico foram observadas duas transições de fase estruturais sob efeito de altas pressões hidrostática, a primeira entre 1,1 GPa e 1,4 GPa, a segunda em $\sim 8,8$ GPa, as modificações observadas foram associadas com modos internos e externos [66]. Também foram observadas modificações nas intensidades

relativas dos modos associados ao *rocking* do CO_2 e libracional do $N-H \cdots O$ bem como descontinuidades no gráfico de número de onda *versus* pressão de alguns modos em 6,6 GPa indicando modificações nas ligações de hidrogênio, mas sem mudança de grupo espacial. Todas as transições de fase reportadas nesse estudo são reversíveis.

O aminoácido cisteína é um outro exemplo bem interessante de como formas distintas de um mesmo material podem se comportar de maneira bem diferente. Os cristais da forma L da cisteína apresentam polimorfismo à pressão ambiente, podendo cristalizar-se em dois polimorfos distintos, com simetrias monoclinica e ortorrômbica. No polimorfo com estrutura monoclinica [67] foram observadas transições de fase em 2,9 GPa e 3,9 GPa, relacionadas a modificações nas ligações de hidrogênio. Já os resultados no polimorfo de estrutura ortorrômbica, reportaram duas transições de fase (i) entre 1,8 e 3,6 GPa; (ii) entre 6,9 e 7,8 GPa [68], relacionadas com conformações moleculares, embora não tenha sido obtida evidência de que o material se transforme para a fase monoclinica mais densa [67]. A forma DL desse material foi o primeiro aminoácido racêmico a ser estudado sob altas pressões hidrostáticas [2]. Os resultados deste trabalho mostraram que o mesmo sofre quatro transições de fase até 5 GPa, a primeira em $\sim 0,1$ GPa (a pressão mais baixa reportada para uma transição de fase num aminoácido cristalino até o momento), a segunda entre 0,25 e 0,85 GPa, a terceira $\sim 1,55$ GPa e a quarta cerca de 6,2 GPa. O que evidencia a disparidade no comportamento de ambas as formas sob altas pressões.

1.4 Isoleucina, ácido glutâmico e L-leucina oxalato

Aminoácidos e complexos de aminoácidos vêm sendo estudados por nosso grupo de pesquisa há bastante tempo, muitos dos aminoácidos na forma L já foram investigados e daremos continuidade estudando as formas DL desses compostos, afim de compararmos e obtermos maior entendimento das ligações de hidrogênio. Vale ressaltar que os aminoácidos são muito versáteis, estes podem ser funcionalizados com diversas moléculas orgânicas e inorgânicas e nosso grupo, até o momento, estudou apenas um composto de aminoácidos com ácido oxálico, a saber a L-alanina + ácido oxálico [56]. Enfatizamos ainda que, novos complexos acarretam em novas propriedades. Abaixo iremos abordar de maneira geral as três amostras estudadas nessa tese.

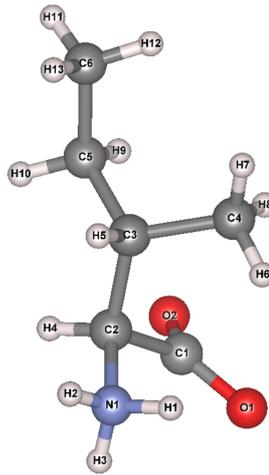
1.4.1 Isoleucina

A isoleucina ($C_6H_{13}NO_2$) é um aminoácido alifático, apolar e essencial, ou seja, não pode ser produzido pelo organismo e deve obtida através da dieta. Ao lado da leucina e da valina, a isoleucina faz parte do grupo de aminoácidos conhecidos como BCAAs, ou aminoácidos de cadeia ramificada. É um isômero da leucina, importante na síntese

da hemoglobina e na regulação dos níveis sanguíneos de glicose. A ocorrência média da isoleucina em proteínas é de 6% [69].

Este aminoácido foi descoberto pelo químico alemão Felix Ehrlich, o qual a evidenciou na hemoglobina, em 1903 [70]. Em 1906, Bouveault e Locquin publicaram a primeira síntese deste aminoácido. Sua forma estrutural é mostrada na Figura 1.6.

Figura 1.6 – Fórmula estrutural da isoleucina.

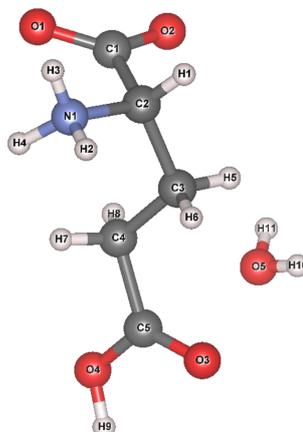


Fonte: Produzida pelo autor.

1.4.2 Ácido DL-glutâmico monohidratado

O ácido glutâmico monohidratado ($C_5H_9NO_4 \cdot H_2O$) é um aminoácido não-essencial e polar, possui um segundo grupo carboxílico em sua cadeia lateral, o qual lhe dá o caráter ácido. O ácido glutâmico está presente, por exemplo, no glúten contido no trigo. A descoberta desse aminoácido ocorreu em 1866, pelo cientista alemão Karl Heinrich Ritzen, sendo posteriormente sintetizado em 1890 por Ludwig Wolff, que também estabeleceu a sua estrutura química. Figura 1.7 apresenta a fórmula estrutural do ácido glutâmico monohidratado.

Figura 1.7 – Formula estrutural do ácido DL-glutâmico monohidratado.



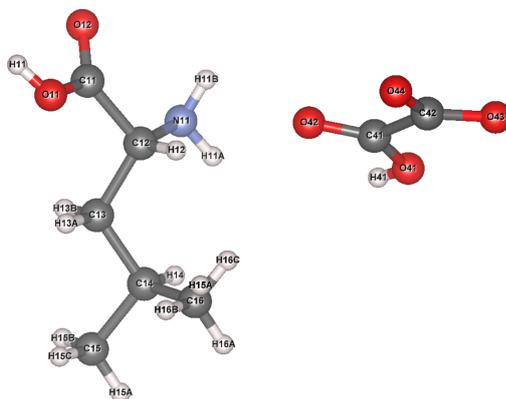
Fonte: Produzida pelo autor.

1.4.3 L-leucina Oxalato

O composto L-leucina Oxalato (LLO) é formado pela união do aminoácido L-leucina e pelo ácido oxalático (ácido dicarboxílico). O primeiro deles, a L-leucina, é um aminoácido alifático, essencial, este entra na constituição das proteínas e é essencial para o crescimento e manutenção de organismos vivos. Foi descoberta acidentalmente por Proust em 1819, enquanto ele realizava experimentos de fermentação em relação ao sabor de vários tipos de queijo. Embora Proust o tenha chamado de óxido de caseína, Braconnot, que o obteve posteriormente dos músculos e lã, atribuiu-lhe o nome com o qual é agora conhecido, baseado na cor branca de seus cristais finos e brilhantes. A fórmula empírica da leucina, $C_6H_{13}NO_2$, foi publicada em 1848 por Laurent e Gerhard, mas apenas em 1891 sua fórmula estrutural foi estabelecida por Schulze e Likiernik. Finalmente, Erlenmeyer Jr. e Kunlin e Fischer e Schmitz foram capazes de sintetizar esse aminoácido.

O segundo deles, o ácido oxálico, é um ácido orgânico que faz parte dos ácidos carboxílicos, com fórmula química $C_2H_2O_4$. Foi descoberto pelo químico experimental sueco Carl Wilhelme Scheele em 1760. Este pode assumir duas formas cristalinas, sendo uma anidra (sem a presença de água) e outra hidratada. É produzido no organismo pelo metabolismo do ácido glioxílico ou ácido ascórbico, que é popularmente conhecido como vitamina C, e é excretado do organismo através da urina. A Figura 1.8 apresenta a forma estrutural do composto L-leucina oxalato.

Figura 1.8 – Formula estrutural da L-leucina oxalato.

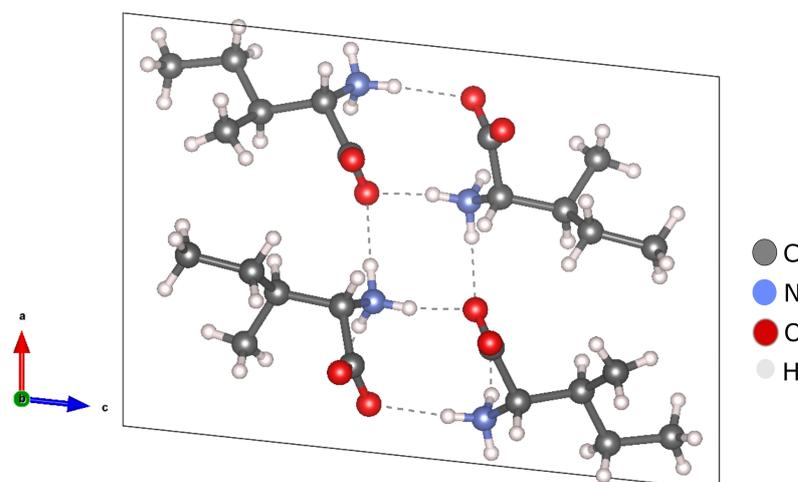


Fonte: Produzida pelo autor.

1.5 Histórico

Inicia-se essa revisão com o cristal de isoleucina, alguns estudos já foram realizados na forma L deste aminoácido. Sua estrutura foi determinada através da técnica de difração de raios-X por K.Torri e Y. Iitaka [71], concluindo que esta cristaliza-se no grupo espacial monoclinico $P2_1$, com 4 (quatro) moléculas por célula unitária, como mostra a Figura 1.9, e contém os seguintes parâmetros de rede $a = 9,75 \text{ \AA}$, $b = 5,32 \text{ \AA}$, $c = 14,12 \text{ \AA}$ e $\beta = 95,8^\circ$. Um estudo de 1996 realizado por C.H Gorbztz e B. Dalhus [72], confirmou os resultados obtidos pelos autores da referência [71], apenas com pequenas correções nos parâmetros de rede. Em 2006 pesquisadores do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará e colaboradores [73] realizaram um estudo a baixas temperaturas em um cristal de L-isoleucina, analisando-o por espectroscopia Raman entre as temperaturas de 290 K e 17 K, constatando assim a sua estabilidade. A.S Sabino e colaboradores [74], estudaram o cristal de L-isoleucina através da técnica de espectroscopia Raman sob condições de altas pressões, até cerca de 7,3 GPa. Os resultados deste estudo mostraram modificações em bandas associadas as vibrações do tipo *rocking* do (NH_3^+) e *rocking* (CO_2^-) , assim como modificações nos modos externos em $\sim 2,3 \text{ GPa}$ e $5,0 \text{ GPa}$. Inferiu-se assim que as modificações sofridas por este cristal estão correlacionadas tanto com a mudança conformacional de moléculas quanto com uma transição de fase sólido-sólido sofrida pelo mesmo envolvendo as ligações de hidrogênio, as quais mantêm as moléculas unidas na célula unitária.

Figura 1.9 – Ilustração da célula unitária da L-isoleucina vista ao longo do eixo cristalográfico b.



Fonte: Produzida pelo autor.

A estrutura do cristal racêmico de isoleucina foi determinada por E. Benedetti *et al.* [75], através da técnica de difração de raios-X, seus resultados mostraram que este aminoácido possui estrutura triclínica pertencente ao grupo espacial $P\bar{1}$, com os seguintes parâmetros de rede $a = 14,66 \text{ \AA}$, $b = 5,39 \text{ \AA}$, $c = 5,27 \text{ \AA}$, $\alpha = 109,2^\circ$, $\beta = 114,0^\circ$ e $\gamma = 85,2^\circ$. O cristal de DL-isoleucina foi reinvestigado em 2000 por Dalhus *et al.* [76], que reportaram algumas diferenças nos parâmetros de rede descritos acima. Não foram encontrados na literatura trabalhos reportando resultados deste cristal em função da temperatura ou pressão. A Tabela 1.3 apresenta uma comparação entre os parâmetros cristalinos das formas L e DL da isoleucina.

Tabela 1.3 – Parâmetros cristalinos das formas L e DL da isoleucina.

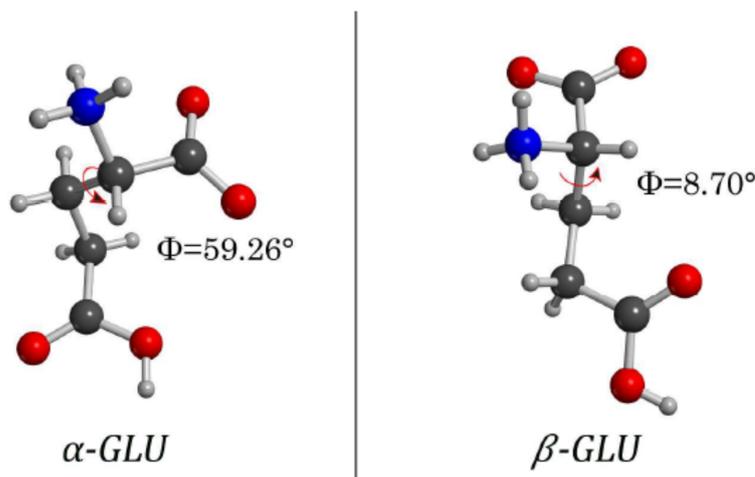
Amostra	a	b	c	α	β	γ	Grupo espacial	Z
L-isoleucina	9,75Å	5,32Å	14,12Å	-	95,8°	-	$P2_1$	4
DL-isoleucina	14,66Å	5,39Å	5,27Å	109°	114°	85.2°	$P\bar{1}$	2

Fonte: Produzida pelo autor a partir das referências [71] e [75].

A respeito do cristal de ácido L-glutâmico, este pode ser encontrado em duas formas distintas α [77] e β [78], ambos cristalizam-se com estrutura ortorrômbica e simetria do grupo espacial $P2_12_12_1$ (D_2^4). Suas conformações moleculares são diferentes umas das outras e de sua mistura racêmica. Essas diferenças conformacionais das moléculas devem influenciar na orientação dos grupos funcionais de cada polimorfo [79]. Experimentos de espectroscopia Raman e de infravermelho no ácido L-glutâmico foram utilizadas para descrever as

características dos modos vibracionais desse aminoácido [80, 81]. As conformações α e β podem ser vistas na Figura 1.10.

Figura 1.10 – Conformações moleculares do L-ácido glutâmico nas formas polimórficas α e β com os ângulos diedrais.



Fonte: Retirada da referência [82].

A forma α do ácido L-glutâmico foi investigada por espectroscopia Raman, submetida a pressões de até 7,5 GPa [83]. As análises dos espectros Raman mostraram que o mesmo apresenta duas transições de fase, a primeira entre 1,9 e 2,3 GPa e a segunda entre 3,3 e 3,7 GPa, ambas caracterizadas por modificações na região espectral de baixos números de onda. Resultados de trabalhos de espectroscopia Raman sob altas pressões em monocristais de ácido L-glutâmico hidrocloreto [84] reportaram que este aminoácido apresenta uma transição de fase estrutural ocorrendo em $\sim 2,1$ GPa e uma mudança conformacional em aproximadamente 7,5 GPa. Ao compararmos esse comportamento com o do cristal de ácido L-glutâmico na mesma faixa de pressão, nota-se uma grande estabilidade para as amostras de cloridrato. O íon cloreto desempenha um papel importante, aumentando o número de ligações de hidrogênio que mantêm o cristal unido e contribuindo assim para aumentar a estabilidade estrutural do cristal.

A forma DL do ácido glutâmico monohidratado foi analisada sob condições de altas e baixas temperaturas, utilizando as técnicas de espectroscopia Raman e infravermelho [85]. Os resultados a baixas temperaturas mostraram mudanças conformacionais em torno de 180 K, como mudanças de posição espectral, perda de simetria e variação na intensidade relativa dos modos, tais mudanças foram interpretadas como uma transição de fase mediante o surgimento de dois modos vibracionais de torção do NH_3^+ , $\tau(NH_3^+)$, em 463 e 474 cm^{-1} . Nos resultados a altas temperaturas verificou-se uma alteração no perfil dos espectros mediante o desaparecimento de alguns modos e do surgimento de outros a

partir da temperatura de 393 K, essa mudança foi comprovada com o desaparecimento das bandas de vibração do tipo estiramento da molécula de água localizadas entre 3200 e 3600 cm^{-1} .

A forma DL dos aminoácidos ainda não tem sido bastante estudada como a forma L e, pelo exposto, percebemos que a forma racêmica dos aminoácidos compõe sistemas individuais onde, a princípio, não devem ter todas as características associadas às das formas D e L. Nesse sentido, a realização da investigação proposta nessa tese visou colaborar no entendimento de tais sistemas.

Tratando-se da amostra de L-leucina oxalato (LLO), um trabalho de 2003 utilizando a técnica de difração de raios-X elucidou sua estrutura, o qual afirmou que a mesma possui estrutura triclinica pertencente ao grupo espacial $P1$, com duas moléculas por célula unitária [86]. Estudos de óptica não linear, síntese e caracterização desse composto foram reportados em 2009 [32], onde os cristais crescidos foram confirmados por difração de raios-X. A composição química da LLO foi determinada por análise de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN). A análise qualitativa do cristal foi realizada usando medidas espectrais de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Até o momento não foram reportados na literatura resultados de espectroscopia Raman ou infravermelho sob condições extremas de temperatura e/ou pressão nesse composto.

No entanto seus constituintes foram estudados separadamente. O cristal de L-leucina foi investigado tanto a altas pressões quanto a altas temperaturas [87, 88]. Os resultados de espectroscopia Raman a altas pressões indicam que esse aminoácido pode sofrer três transições de fase estruturais entre 0 e 6,0 GPa. A primeira entre 0 e 0,46 GPa, a segunda transição de fase ocorre entre 0,80 e 1,46 GPa, ambas caracterizadas pelo desaparecimento de modos externos, o aparecimento de vários modos internos ou a divisão de modos de altos números de onda. As mudanças dos modos internos estão relacionadas aos movimentos das unidades CH e CH_3 , assim como às ligações de hidrogênio. A terceira transição é uma mudança discreta dos comportamentos de alguns modos observados no gráfico de números onda *versus* pressão. Além disso, a descompressão à pressão ambiente gera o espectro Raman original, mostrando que as anomalias induzidas por pressão sofridas pelos cristais de L-leucina são reversíveis.

Trabalhos realizados em cristais de ácido oxálico foram reportados na literatura. O primeiro a ser comentado é um estudo através da técnica de difração de nêutrons para determinação da estrutura do ácido α -oxálico dihidratado $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [89] onde foi relatado que o mesmo pertence ao grupo espacial $C_{2h}^5 - P2_1/n$, com os seguintes parâmetros de rede $a = 6,119 \text{ \AA}$, $b = 3,607 \text{ \AA}$, $c = 12,057 \text{ \AA}$ e $\beta = 106,19^\circ$, contendo duas moléculas por célula unitária. Os cristais desse polimorfo do ácido oxálico dihidratado consistem em um exemplo interessante de ligações de hidrogênio curtas, que conecta o grupo carboxílico ao oxigênio da molécula de água. Dois estudos envolvendo as formas deuteradas α [90, 91]

e β [90] desse composto foram realizados, a fim de obter-se uma comparação entre suas estruturas e propriedades. Um estudo envolvendo altas pressões também foi reportado para o ácido α -oxálico dihidratado [92], o qual foi investigado até 20 GPa. Tal investigação foi motivada devido a ocorrência da incomumente curta ligação de hidrogênio entre as moléculas de oxálico e água, mencionada acima, para tanto, foram utilizados estudos espectroscópicos *in situ* combinados e simulações de primeiros princípios a altas pressões, os quais mostraram que a modificação estrutural associada a essa ligação de hidrogênio é muito mais significativa do que se supunha.

2 Procedimento Experimental

Neste capítulo será apresentado o aparato experimental utilizado neste trabalho. Os equipamentos utilizados nos experimentos Raman à pressão ambiente e a altas pressões hidrostáticas. Também será descrito o método utilizado para a obtenção dos cristais de DL-isoleucina, ácido DL-glutâmico monohidratado e L-leucina oxalato.

2.1 Método para obtenção das amostras

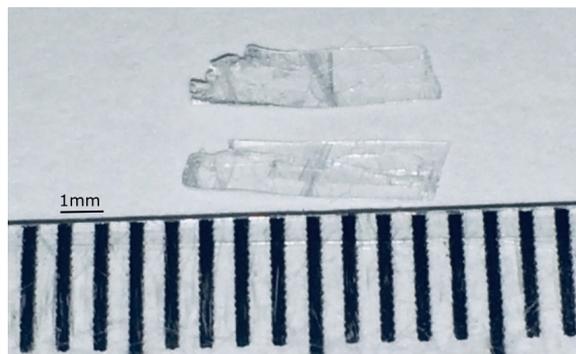
O método utilizado para a obtenção dos cristais das três amostras é conhecido como evaporação lenta, o qual consiste em preparar uma solução composta pelo pó do material em estudo e água destilada como solvente. Essa solução é obtida obedecendo à curva de solubilidade dos materiais, para que assim se possa garantir estar trabalhando com uma solução supersaturada. No caso da amostra de L-leucina + ácido oxálico (L-leucina oxalato) é necessário também atentar para a proporção de ambos os reagentes no preparo da solução. O pó é dissolvido na água destilada mediante o uso de agitadores magnéticos de frequência regulável.

A solução obtida é colocada num béquer e, a seguir, o mesmo é coberto com filme de PVC. Faz-se pequenos furos neste invólucro para que a evaporação ocorra espontaneamente. Após a obtenção e acondicionamento da solução, a mesma é posta em um ambiente com temperatura controlada para que haja a estabilização do material e posterior formação dos primeiros cristais. As três amostras em pó foram obtidas a partir do fabricante Sigma-Aldrich, apresentando um grau de pureza $\geq 98\%$.

2.1.1 O cristal de DL-isoleucina

A DL-isoleucina, com fórmula molecular $C_6H_{13}NO_2$, foi adquirida da empresa Sigma-Aldrich. A amostra apresenta-se como um pó branco e seus cristais foram crescidos utilizando o método de evaporação lenta do solvente, já descrito anteriormente. A solução foi mantida em um ambiente com temperatura controlada de 25 °C e após sete dias, obteve-se os cristais de DL-isoleucina, estes apresentam-se como estruturas transparentes e alongadas com dimensões aproximadas de 6 mm x 1 mm x 0,5 mm como mostra a Figura 2.1.

Figura 2.1 – Cristais de DL-isoleucina obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.

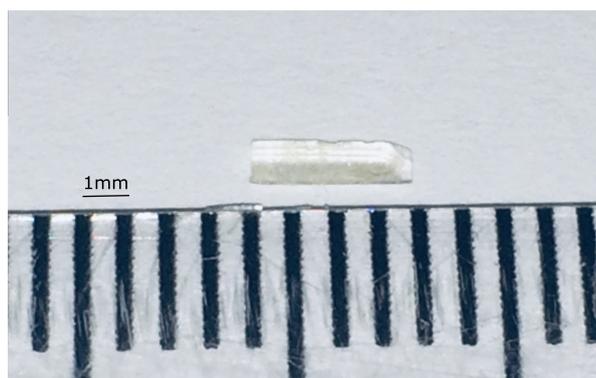


Fonte: Produzida pelo autor.

2.1.2 O cristal de Ácido DL-glutâmico monohidratado

As amostras de ácido DL-glutâmico monohidratado foram preparadas utilizando-se água destilada como solvente através do método da evaporação lenta, conforme já descrito neste capítulo. A solução obtida apresentou $\text{pH} = 2$ e caráter límpido após, aproximadamente, 40 min de agitação. Essa solução foi posta a evaporar em dois béquers contendo 10 mL da solução em cada um. Os cristais formaram-se após aproximadamente 6 semanas. Os cristais apresentaram formato de prismas alongados e transparentes, conforme a imagem apresentada na Figura 2.2.

Figura 2.2 – Cristais de Ácido DL-glutâmico monohidratado obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.

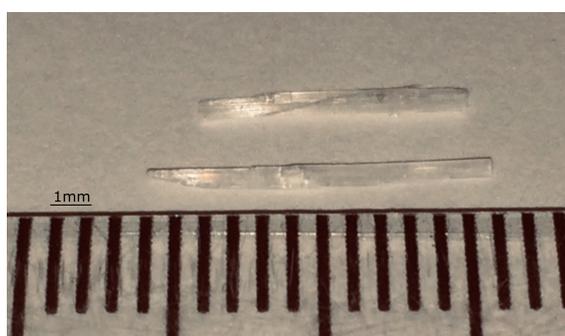


Fonte: Produzida pelo autor.

2.1.3 O cristal de L-leucina Oxalato

Cristais individuais de L-leucina Oxalato (LLO) em forma de placa incolores foram crescidos a partir de uma solução aquosa saturada contendo L-leucina e ácido oxálico em uma razão estequiométrica de 1:1. O método de crescimento utilizado foi descrito na seção 2.1. Essa solução foi posta a evaporar em dois béquers contendo 15 mL da solução em cada um. Os cristais formaram-se após aproximadamente 2 semanas. A Figura 2.3 apresenta os cristais obtidos.

Figura 2.3 – Cristais de L-leucina oxalato obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente.



Fonte: Produzida pelo autor.

2.2 Experimentos de Espectroscopia Raman em condições ambientes

Os espectros Raman em condições ambientes de temperatura e pressão das amostras de DL-isoleucina e L-leucina oxalato foram obtidos em um intervalo espectral de 50 cm^{-1} à 3200 cm^{-1} , já os espectros Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado foi obtido no intervalo de 50 cm^{-1} à 3750 cm^{-1} , pois este contém água em sua estrutura. Os mesmos são oriundos de um sistema micro-Raman disposto na geometria de retroespalhamento composto por um espectrômetro triplo T64000 monocromador da Jobin Ivon com resolução de 2 cm^{-1} , equipado com um detector CCD (*Charge-Coupled-Device*) resfriado a nitrogênio líquido. A visualização da superfície da amostra deu-se mediante uso de um microscópio da marca Olympus BX 40, com câmera de vídeo acoplada. A lente usada no microscópio tem distância focal ($fD = 20,5\text{ mm}$) com abertura numérica ($NA = 0,35$). Um laser de argônio (Coherent modelo 70c) emitindo na linha de 532 nm foi utilizado como fonte de excitação. A Figura 2.4 mostra o espectrômetro T64000 bem como a CCD e o microscópio utilizado nos experimentos de espectroscopia Raman à temperatura ambiente.

Figura 2.4 – Espectrômetro T64000 (fabricante Horiba Jobin Yvon).

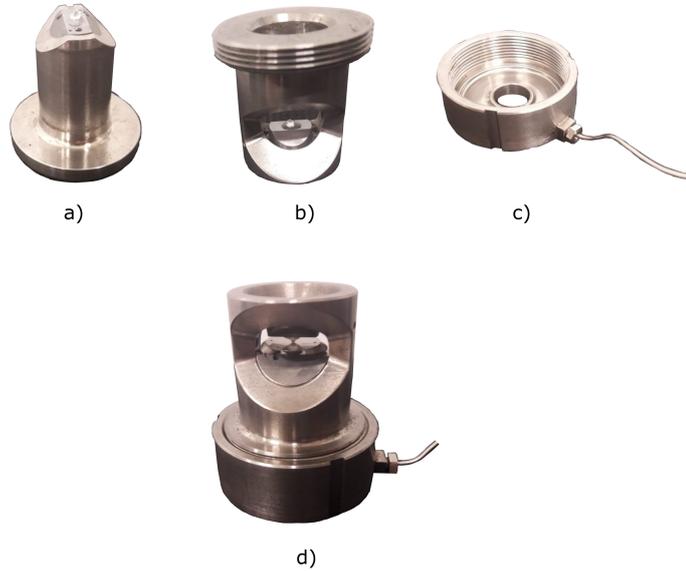


Fonte: Fornecida pelo fabricante [93].

2.3 Experimentos de espectroscopia Raman à altas pressões

A amostra de DL-isoleucina foi estudada em dois experimentos distintos, em ambos foi submetida a altas pressões hidrostáticas, o experimento 1 atingiu pressões de até 7 GPa e foi realizado no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará utilizando além do equipamento descrito na seção 2.2 uma célula de pressão Diamond Anvil Cell do tipo membrana (MDAC) [94]. A Figura 2.5 apresenta as partes que compõem a célula de pressão: a) o corpo, b) o pistão, c) o capô (tampa com membrana) e em d) a célula montada. Para a montagem da célula, uma gaxeta é posta sobre o diamante do corpo, em seguida são colocados o rubi e a amostra no furo da gaxeta. Após isso, é posto o pistão por cima do corpo e por fim a célula é fechada torcendo-se o capô sobre o pistão. Para todos os experimentos de altas pressões realizados nas amostras em estudo foram utilizadas gaxetas de aço inox com espessura inicial de 200 μm e indentadas de 50 μm .

Figura 2.5 – Célula de pressão Diamond Anvil Cell (MDAC), a) corpo, b) pistão, c) capô e d) célula montada, usada para variar a pressão no experimento 1 realizado no cristal de DL-isoleucina.



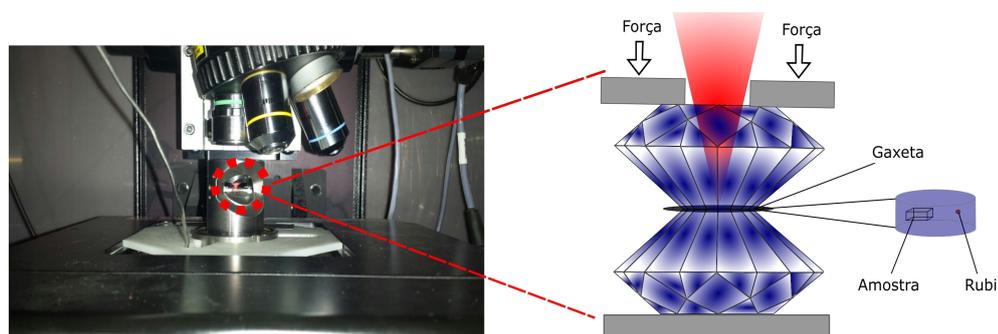
Fonte: Produzida pelo autor.

Nitrogênio líquido foi utilizado como meio compressor, pois além de não interagir com a amostra, ele manteve-se hidrostático em todo o intervalo de pressão que variou de 0,1 a 7,1 GPa. Os valores de pressão foram aferidos acompanhando o deslocamento das linhas de luminescência $R1$ e $R2$ do rubi ($Al_2O_3 : Cr^{3+}$). Isso é possível pelo fato de as energias destas linhas variarem linearmente com a pressão [95–97]. A pressão, em GPa, no interior da célula é calculada pela equação 2.1,

$$P(\omega) = \frac{\omega_{Ri} - \omega_{Ri}^0}{7,535}, \quad (2.1)$$

Sendo ω_{Ri}^0 o número de onda, em (cm^{-1}) , da linha $R1$ ou $R2$ a pressão ambiente, e ω_{Ri} o número de onda da respectiva linha em uma pressão P_i qualquer. A Figura 2.6 mostra uma representação esquemática do funcionamento da célula de pressão.

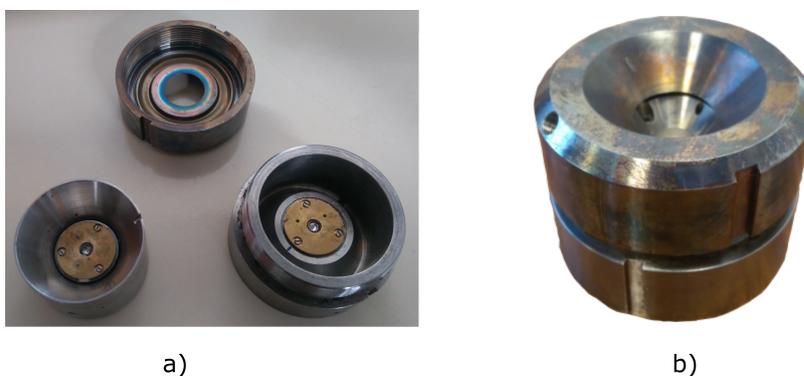
Figura 2.6 – Representação esquemática da célula de pressão.



Fonte: Produzida pelo autor.

O segundo experimento na amostra de DL-isoleucina (experimento 2) foi realizado no *Institut de Minéralogie de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, Sorbonne Université*. O gás neônio foi utilizado como meio transmissor de pressão e as medidas foram realizadas até 17,3 GPa. Os espectros Raman foram obtidos com um espectrômetro Jobin-Yvon modelo HR460, com a amostra excitada com a linha de 514,5 nm de um laser de argônio. A pressão foi monitorada usando as linhas de fluorescência de rubi [97], assim como no experimento 1. Nos experimentos de altas pressões realizados nas amostras de ácido DL-glutâmico monohidratado e L-leucina oxalato foram usados os equipamentos descritos nesse parágrafo, bem como o mesmo fluido compressor. A célula de pressão utilizada nesses experimentos pode ser vista na Figura 2.7 desmontada em partes em a) e montada em b).

Figura 2.7 – Célula de pressão Diamond Anvil Cell (MDAC), usada para variar a pressão no experimento 2 realizado no cristal de DL-isoleucina, desmontada em partes em a) e montada em b).



Fonte: Produzida pelo autor.

2.4 Cálculos Teóricos

A otimização da geometria molecular e os cálculos vibracionais da molécula de DL-isoleucina isolada foram realizados utilizando o *software* de química computacional Gaussian 09 [98]. As coordenadas iniciais da DL-isoleucina foram obtidas através de experimentos de difração de raios-X [75]. A otimização foi realizada utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT) [99] com o funcional de correlação de troca *B3LYP* [100] e o conjunto de base $6-31+(d,p)$. Especificações de otimização padrão foram utilizadas. Uma vez que as formas zwitteriônicas de aminoácidos não são estáveis no vácuo, foi utilizado um modelo contínuo polarizável com água como solvente. A ausência de números de onda negativos (imaginários) calculados confirmou que a geometria otimizada era de fato um verdadeiro mínimo de energia local. O *software GaussSum* [101] foi utilizado para obter as intensidades Raman teóricas da atividade Raman. As frequências Raman teóricas foram escalonadas usando um fator de escala de 1 para frequências abaixo de 2000 cm^{-1} . Acima disso, foi utilizado um fator de escala de 0,958. Modos vibracionais foram analisados em termos de distribuição de energia potencial (PED) usando o programa VEDA [102] com opções de otimização padrão.

Cálculos DFT da DL-isoleucina em forma cristalina foram realizados utilizando o módulo CASTEP¹ [103], usando a aproximação de gradiente generalizado (GGA) com o PBE funcional [104]. Pseudopotenciais conservadores de norma otimizados para os métodos GGA/DFT foram usados com energia de corte ajustada em 750 eV. Parâmetros de rede e posições atômicas foram otimizados, a partir da estrutura cristalina, de acordo com os seguintes critérios: integrações de zona de Brillouin foram realizadas com uma grade de 2,2,2 Monkhorst e Pack e o esquema de otimização de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno foi utilizado. Os critérios de convergência de energia e força máxima foram 10^{-5} eV/átomo e $0,03\text{ eV/Å}$, respectivamente. O grupo espacial foi restringido a $P\bar{1}$ e estresse externo foi aplicado com incrementos de 1 GPa de 0 a 5,0 GPa.

¹ CASTEP é um código para calcular as propriedades dos materiais de primeiros princípios. Usando a teoria do funcional da densidade, ele pode simular uma ampla gama de propriedades das propriedades dos materiais, incluindo estrutura no nível atômico, propriedades vibracionais, propriedades de resposta eletrônica, etc. Em particular, ele possui uma ampla gama de características espectroscópicas que se ligam diretamente ao experimento. espectroscopias infravermelha e Raman, RMN e espectros de nível de núcleo.

3 DL-Isoleucina em condições ambientes

Neste capítulo serão apresentadas as características estruturais do aminoácido DL-isoleucina, o qual teve a estrutura confirmada baseado nos dados de difração de raios – X da referência [76]. Serão também descritos os resultados obtidos por medidas de espectroscopia Raman em condições ambiente. Por fim, será feita a atribuição dos modos observados através de cálculos de DFT.

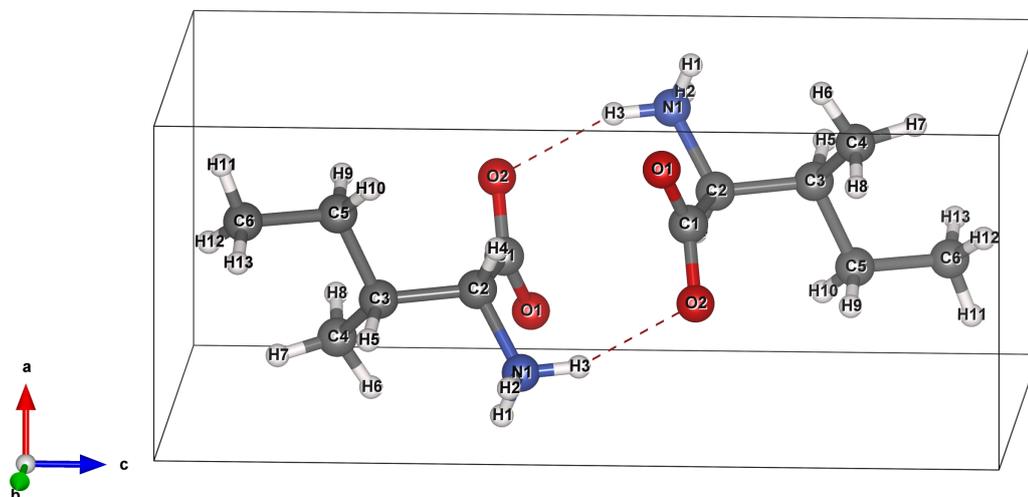
3.1 Propriedades estruturais da DL-isoleucina

À pressão ambiente a DL-isoleucina ($C_6H_{13}NO_2$) possui estrutura triclínica com duas moléculas por célula unitária. O cristal de DL-isoleucina pertence ao grupo espacial $P\bar{1}$ (C_i) e as dimensões da célula unitária são: $a = 5,2289(1)$ Å; $b = 5,4102(1)$ Å; $c = 13,1095(3)$ Å; $\alpha = 96,332^\circ(1)$; $\beta = 90,622^\circ(1)$ e $\gamma = 109,493^\circ(1)$, com volume de $347,02$ Å³. Devido à baixa quantidade dos cristais que dispúnhamos desse material, sua estrutura cristalina foi confirmada por uma medida de difração de monocristal, realizada pelo Dr. Michael Wörle (*Lab. für Anorganische Chemie*) em Zurique (Suíça). O comprimento das ligações de hidrogênio observadas na Referência [76] são mostrados na Tabela 3.1. A célula unitária da DL-isoleucina pode ser vista na Figura 3.1.

Tabela 3.1 – Comprimento das ligações de hidrogênio.

D-H...A	D-H	H...A ^a	H...A ^b	D-H...A	D-A
N1-H1...O2	0,95 (1)	1,97 (1)	1,886	164 (1)	2,888 (1)
N1-H2...O1	0,85 (1)	1,91 (1)	1,725	175 (1)	2,752 (1)
N1-H3...O2	0,91 (1)	2,10 (1)	1,988	157 (1)	2,955 (1)

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [76].

Figura 3.1 – Célula unitária da DL-isoleucina, vista ao longo do eixo b^* .

Fonte: Produzida pelo autor.

3.2 Teoria de grupos para o cristal de DL-isoleucina

A estrutura molecular da DL-isoleucina é formada por 22 átomos, com duas moléculas por célula unitária (44 átomos) e pertence ao grupo espacial $P\bar{1}$ (C_i). Conforme a tabela 2A da referência [105], pode-se observar que os sítios de simetria C_1 são ocupados por dois átomos.

De acordo com a Tabela 2B [105], pode-se concluir que os dois átomos presentes colaboram com 6 modos de vibração, $3A_g + 3A_u$, para as representações irredutíveis do grupo C_i . Sendo os modos de simetria A_g ativos no Raman e os modos de simetria A_u ativos no infravermelho.

A descrição total dos modos vibracionais nas representações irredutíveis do grupo C_i , Γ , é descrita na equação 3.1 abaixo.

$$\Gamma = 22 \cdot (3A_g + 3A_u) = 66A_g + 66A_u, \quad (3.1)$$

A Tabela de caracteres do grupo C_i está representada na Tabela 3.2, de acordo com a Tabela 2E da referência [105].

Tabela 3.2 – Tabela de caracteres do grupo C_i .

C_i	E	i	Regra de seleção	
A_g	1	1	R	α
A_u	1	-1	T	

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [105].

Da Tabela 2B, referência [105], também pode-se observar a contribuição dos modo acústicos, $\Gamma_{acústico}$, que são caracterizados por translações da célula unitária das direções x,y e z.

$$\Gamma_{acústicos} = 3A_u, \quad (3.2)$$

A quantidade de modos óticos, Γ , é obtida da diferença entre a quantidade total de modos e a quantidade de modos acústicos.

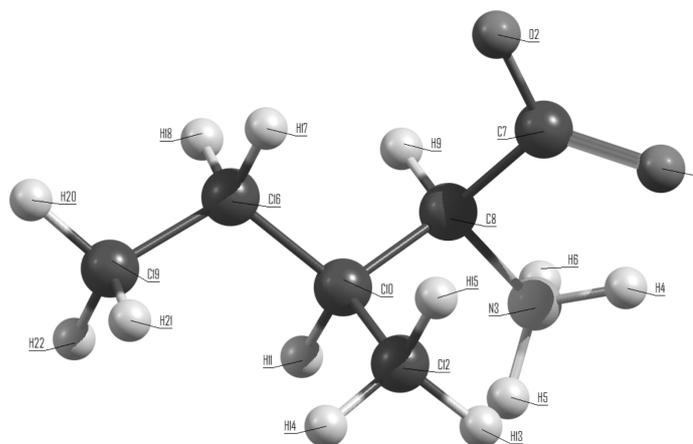
$$\Gamma_{ótipcos} = \Gamma - \Gamma_{acústicos} = 66A_g + 66A_u - 3A_u \Rightarrow \Gamma_{ótipcos} = 66A_g + 63A_u, \quad (3.3)$$

Dessa forma, são esperados 66 modos Raman ativos e 63 modos ativos no infravermelho.

3.3 Classificação dos modos Raman à pressão ambiente

Experimentos de espectroscopia Raman em condições ambientes realizados no cristal de DL-isoleucina foram utilizados para a obtenção de seus modos vibracionais. A classificação dos modos vibracionais obtidos foi realizada através de cálculos de DFT que otimizaram a estrutura da molécula e ainda forneceram as atribuições das frequências vibracionais por meio do *Potential Energy Distribution* (PED). Como vários modos estão presentes nos espectros Raman de outros materiais similares sua classificação será realizada também por meio de informações da literatura. A Figura 3.2, mostra a boa concordância entre a molécula no cristal e a molécula otimizada por cálculos de teoria do funcional de densidade (DFT), usando o programa Gaussian 09 [98].

Figura 3.2 – Molécula de DL-isoleucina otimizada por cálculos de DFT.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados teóricos.

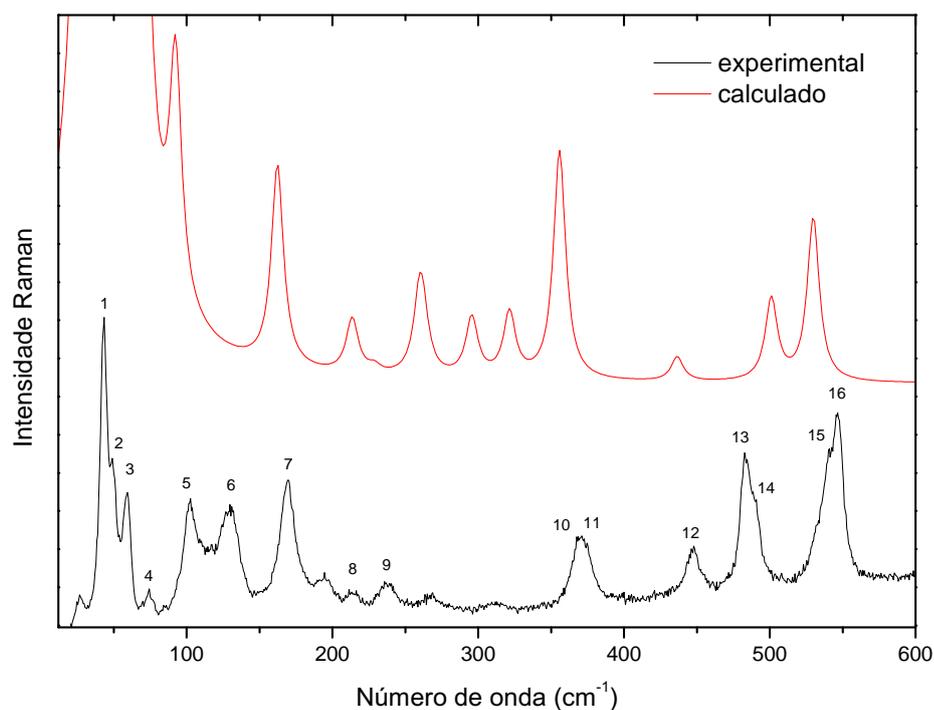
Para o cálculo da otimização da estrutura e das frequências de vibração da DL-isoleucina consideramos 22 átomos por molécula e os 60 modos normais de vibração obtidos nos cálculos estão devidamente classificados como mostra a Tabela 3.3, apresentada no final deste capítulo, em que se observa na quinta coluna uma análise detalhada da distribuição da energia potencial do cristal de DL-isoleucina fornecida pelo PED. A mesma indica ainda a numeração dos modos escolhida pelo autor, os valores de frequência Raman experimentais, os valores de frequência calculados e os valores de frequência com escala, distribuídos nas quatro colunas iniciais, respectivamente.

3.3.1 Região entre 50 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

O espectro Raman obtido será dividido em regiões para facilitar sua análise. A primeira delas está compreendida entre 50 e 600 cm^{-1} , a mesma é apresentada na Figura 3.3, sendo o espectro em preto criado a partir dos dados obtidos experimentalmente e o espectro em vermelho criado a partir dos dados teóricos. Nos aminoácidos a região com frequência inferior a 200 cm^{-1} é geralmente denominada região dos modos da rede ou modos externos. Nesta são encontrados modos provenientes de vibrações da rede cristalina como um todo. Esta é uma região difícil de se classificar, uma vez que cada material possui características próprias, o que torna complicado estabelecer um limite para as frequências dos modos. Em alguns casos observa-se modos de torção do CO_2^- com frequência inferior a 200 cm^{-1} . Por exemplo no cristal de L-valina [106] um modo em 185 cm^{-1} recebeu esta denominação. Na L-leucina [88] a mesma vibração foi observada em 175 cm^{-1} . Nesta região não se esperava que os cálculos fornecessem uma boa classificação uma vez que foi considerada apenas a molécula. De qualquer forma, optamos por seguir os resultados

obtidos do PED e associamos o modo experimental Raman em 169 cm^{-1} como composto por vibrações da rede.

Figura 3.3 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre $40\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.



Fonte: Produzida pelo autor.

A região entre 200 e 600 cm^{-1} é composta principalmente por modos relacionados ao esqueleto e às unidades CO_2^- e NH_3^+ . Em 214 cm^{-1} pode-se ver um modo, o qual foi atribuído, segundo os dados obtidos no PED, a uma torção do CH, $\tau(\text{CH})$. Em 238 cm^{-1} encontra-se um modo que o PED atribuiu a uma combinação de deformações do esqueleto e torção da ligação (CHN). Na Figura 3.3 temos dois modos muito próximos em torno de 368 e 375 cm^{-1} , marcados como 10 e 11, atribuídos segundo o PED à deformações do esqueleto da molécula. O modo marcado como 12 em 447 cm^{-1} foi relacionado a uma combinação das vibrações de estiramento do CC, $\nu(\text{CC})$, deformação e vibrações fora do plano da ligação C-C, $\delta(\text{CC})$ e $\gamma(\text{CC})$ de acordo com os dados obtidos pelo PED.

Observa-se em torno de 485 cm^{-1} uma banda composta por dois modos que o PED atribuiu à deformações do esqueleto da molécula, acreditamos que essa classificação seja conveniente, pois essas vibrações foram observadas em 489 cm^{-1} no cristal de L-isoleucina [73]. Os últimos modos vistos nesta região centrados em 539 e 547 cm^{-1} , marcados como

15 e 16, ambos foram associados a uma combinação das vibrações de estiramento (ν) e deformação (δ) do CC, CO e CN, pois esta foi encontrada nos resultados PED.

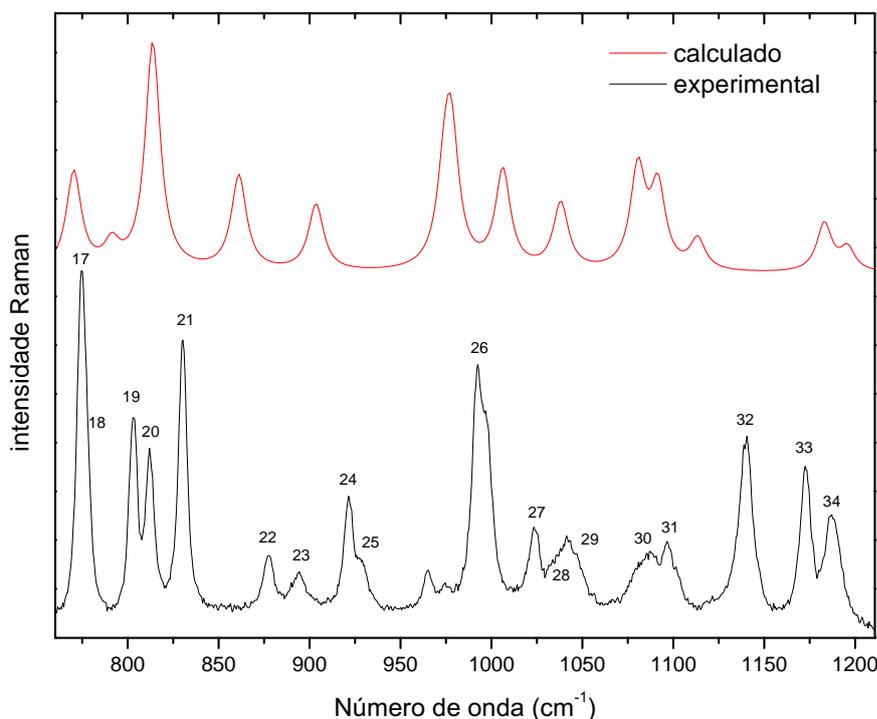
3.3.2 Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

O espectro Raman do cristal de DL-isoleucina, tanto o obtido experimentalmente quanto o calculado, na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} é apresentado na Figura 3.4. Nesta região foram observados 18 modos ativos no Raman. O primeiro deles é bastante intenso e está centrado em 773 cm^{-1} , seguido de um modo de baixa intensidade centrado em 775 cm^{-1} , ambos foram classificados como uma combinação das vibrações de estiramento do CC, $\nu(CC)$, deformação do grupo CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$ e torção do CH, $\tau(\text{CH})$. Uma das contribuições dessa vibração, $\delta(\text{CO}_2^-)$, foi observada em 777 cm^{-1} no cristal de L-valina [106] e em 778 cm^{-1} no cristal de DL-valina [107]. De acordo com o PED, contribuições de vibrações do tipo $\delta(\text{CO}_2^-)$, também foram observadas nos modos marcados como 19 e 20, centrados em 802 cm^{-1} e 811 cm^{-1} , respectivamente. Autores da referência [108] observaram esse tipo de vibração em 805 cm^{-1} e 812 cm^{-1} no cristal de DL-lisina hidrocloreto. Um modo observado em 829 cm^{-1} foi classificado como uma vibração fora do plano do CO_2^- , $\gamma(\text{CO}_2^-)$, em acordo com os dados da referência [106].

Os resultados obtidos no PED indicaram vibrações do tipo estiramento do CC, $\nu(\text{CC})$, estão presentes em 876 cm^{-1} e 893 cm^{-1} , modos marcados como 22 e 23 (Tabela 3.3). Os modos centrados em 920 cm^{-1} e 927 cm^{-1} podem ser classificados como uma combinação de vibrações de estiramento de unidades CC e CN. Esta atribuição coincide com os relatados anteriormente em cristais de L-isoleucina [73] e L-valina [106] onde vibrações semelhantes foram observadas na mesma faixa espectral.

Os modos 26 e 27 centrados em 991 cm^{-1} e 1022 cm^{-1} foram identificados como vibrações do tipo estiramento do CC, $\nu(\text{CC})$, de acordo com os dados PED. Uma banda larga, observada em cerca de 1040 cm^{-1} foi classificada como uma combinação de estiramentos das unidades CC, $\nu(\text{CC})$, e CN, $\nu(\text{CN})$, uma vez que os autores das referências [73, 106] observaram esse modo em uma faixa espectral semelhante.

Figura 3.4 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 700-1200 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.



Fonte: Produzida pelo autor.

Os modos 30 e 31 aparecem bem próximos em 1085 cm^{-1} e 1094 cm^{-1} e estes foram associados a vibrações do tipo torção do CNH , $\tau(CNH)$, em acordo com os resultados obtidos no PED. Com intensidade mais elevada, o modo 32, centrado em 1137 cm^{-1} , foi associado à combinação de deformação do CH , $\delta(CH)$, e torção do CNH , $\tau(CNH)$, informações coletadas do PED. Em 1171 cm^{-1} observa-se um modo relacionado à deformação da ligação CC , por fim, o modo centrado em 1186 cm^{-1} , foi associado ao *rocking* do NH_3^+ , $r(NH_3^+)$. Uma vez que essa vibração foi encontrada em 1187 cm^{-1} na L-isoleucina [73].

3.3.3 Região entre 1200 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} .

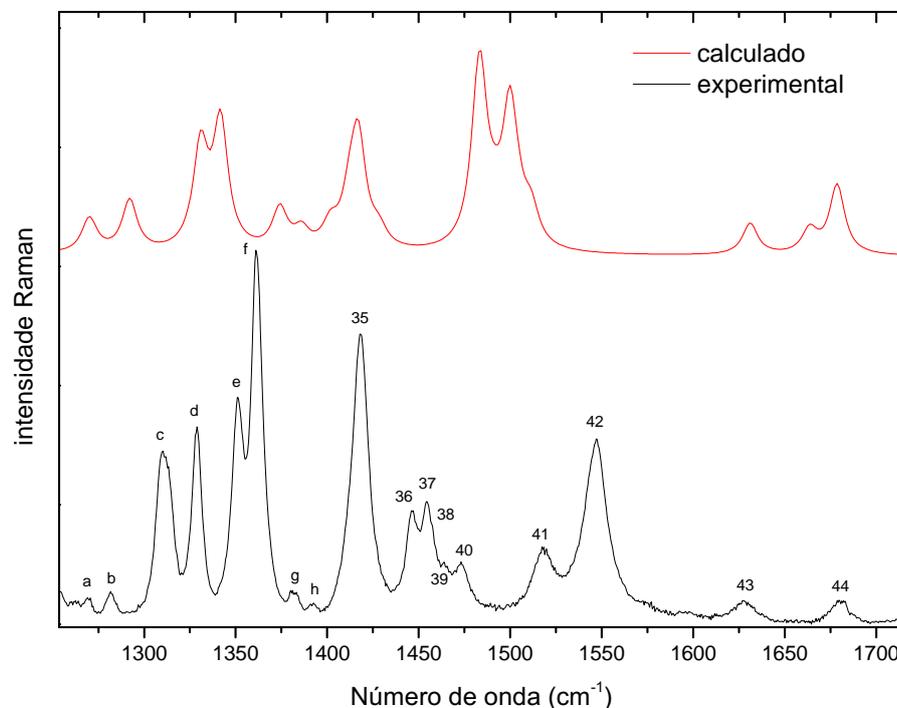
Foi utilizada a marcação de **a** a **h** para os modos que não puderam ser observados após a amostra ser posta dentro da célula de pressão devido a intensa banda Raman ativa do diamante em aproximadamente 1320 cm^{-1} . No entanto, esses modos foram classificados através dos resultados do PED. Nesse ponto faz-se necessário uma explicação. Os experimentos Raman a altas pressões foram realizados primeiro e utilizamos a numeração descrita até o momento em ordem crescente, após isso obtivemos o DFT. Devido a esse

fato alguns modos a pressão ambiente não aparecerão no capítulo seguinte, assim para não modificarmos a numeração já utilizada, inserimos essas letras.

O espectro Raman do cristal de DL-isoleucina, experimental e calculado, para esta região é apresentado na Figura 3.5. Os três primeiros modos dessa região marcados como “a”, “b” e “c” foram atribuídos a vibração de deformação das ligações CH. O modo marcado como “d” aparece centrado em 1330 cm^{-1} e esse foi associado a uma combinação das vibrações de estiramento do CO e torções do CH. O modo “e” pode ser classificado como proveniente de vibrações de deformação e torção do grupo CH, onde a torção desse grupo tem maior contribuição para a vibração, 27%, segundo os dados PED. O modo “f” possui contribuição de três diferentes vibrações, sendo elas estiramento do CO, $\nu(CO)$, deformação ($\delta(CH)$) e torção do CH, $\tau(CH)$, a mesma foi observada em 1352 cm^{-1} no cristal de L-isoleucina [73] e foi classificada como deformação do CH. De acordo com os dados PED obtidos, os modos “g” e “h” foram relacionados à combinações de torções da ligação CH, $\tau(CH)$. O primeiro modo dessa região a ser observado mesmo dentro da célula de pressão foi nomeado como 35 possui intensidade mais acentuada e está centrado em 1418 cm^{-1} . Este foi atribuído ao conjunto, deformação do NH e estiramento do CO. Essa vibração também pode ser observada na L-isoleucina em 1421 cm^{-1} [73]. Os modos 36 a 41 podem ser classificados como provenientes de uma combinação de deformações dos grupos CH, de acordo com os resultados PED obtidos, essas vibrações também foram encontradas no cristal de L-valina em uma região espectral equivalente [106]. Estudos experimentais e teóricos realizados na DL-valina [109] e na L-glutamina [110] indicaram que o modo em torno de 1546 cm^{-1} pode ser atribuído a uma combinação de deformações dos grupos NH_3 , $\delta(NH_3)$ e CH_2 , $\delta(CH_2)$.

Em 1628 cm^{-1} está presente um modo de baixa intensidade que os dados PED sugerem estar relacionado à deformações do NH_2 , $\delta(NH_2)$. Em 1679 cm^{-1} existe uma importante vibração, o estiramento da unidade $C = O$, embora apareça com intensidade muito baixa em todos os espectros até 17 GPa.

Figura 3.5 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 1200-1700 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.



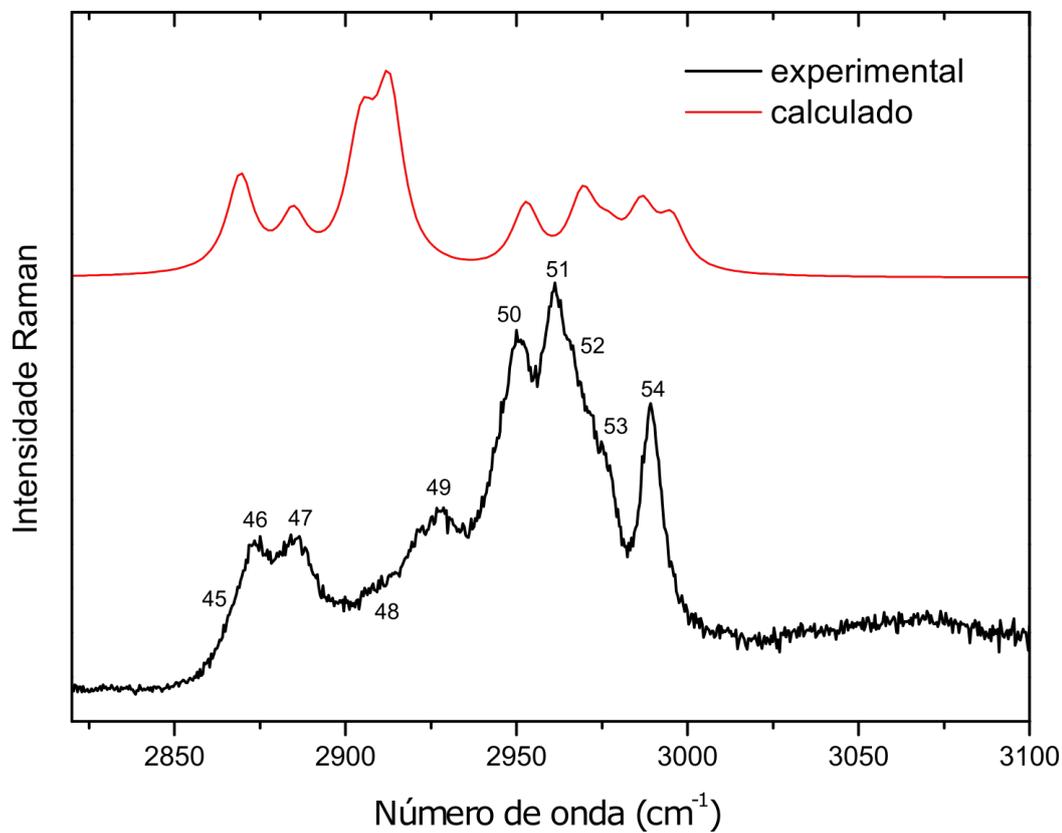
Fonte: Produzida pelo autor.

3.3.4 Região entre 2800 cm^{-1} e 3050 cm^{-1} .

Finalmente, a faixa espectral entre 2800 e 3050 cm^{-1} , apresentada na Figura 3.6, contém bandas associadas a vibrações de estiramento das unidades CH, CH₂ e CH₃. Nessa região estão presentes nove modos ativos no Raman. Os modos 45, 46 e 47 centrados em 2866 cm^{-1} , 2873 cm^{-1} e 2885 cm^{-1} , respectivamente, foram associados a vibrações do tipo estiramento do CH, $\nu_s(\text{CH})$, de acordo com os resultados PED obtidos. Em 2927 cm^{-1} está localizado um modo, o qual, também foi associado ao estiramento simétrico do CH₃, uma vez que os autores da referência [106] observaram essa vibração em 2932 cm^{-1} no cristal de L-valina. O modo 50 pode ser identificado como uma combinação de vibrações do tipo estiramento da unidade CH. O modo mais intenso dessa região está localizado em 2961 cm^{-1} foi relacionado a uma vibração do tipo estiramento simétrico do CH, $\nu_s(\text{CH})$. O modo 52 possui baixa intensidade aparecendo como um “ombro” do modo 51 e este obteve a mesma classificação que seu antecessor. Os dois últimos modos observados nessa região estão localizados em 2976 cm^{-1} e 2990 cm^{-1} e acreditamos que ambos estão associados ao estiramento do CH, $\nu(\text{CH})$. É interessante notar que o perfil das bandas nesta região de alto número de ondas é muito complexo, mostrando semelhança com o

observado na L-isoleucina [73].

Figura 3.6 – Espectro Raman do cristal DL-isoleucina na faixa espectral entre 2800-3050 cm^{-1} em pressão ambiente. Em preto o espectro experimental e em vermelho o calculado.



Fonte: Produzida pelo autor.

Tabela 3.3 – Identificação dos modos normais de vibração da DL-isoleucina à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1} .

	ω_{exp}	ω_{calc}	ω_{acal}	Atribuição [%PED]
1	43	41	41	$\tau(O2C7C8N3)[57] + \tau(C12C10C8N3)[17]$
2	50			
3	59	68	68	$\tau(H17C16C10C8)[10] + \tau(C19C16C10C8)[55]$
4	74	91	91	$\tau(C12C10C8N3)[63]$
5	103			
6	128			
7	169	161	161	$\delta(C10C8N3)[15] + \gamma(C7N3C10C8)[27] + \gamma(C16C8C12C10)[19]$
	194	212	212	$\delta(C19C16C10)[10] + \delta(C16C10C12)[11] + \delta(C8C10C12)[20] + \gamma(C7N3C10C8)[11]$
8	214	227	227	$\tau(H20C19C16C10)[21] + \tau(H22C19C16C10)[18]$
9	238	259	259	$\delta(C7C8N3)[10] + \tau(H6N3C8C10)[18] + \tau(H4N3C8C10)[12]$
	268	261	261	$\tau(H5N3C8C10)[15] + \tau(H15C12C10C8)[14]$
		294	294	$\delta(O2C7C8)[11] + \delta(C19C16C10)[15] + \delta(C16C10C12)[22]$
	312	320	320	$\delta(O2C7C8)[18] + \delta(C16C10C12)[14] + \delta(C10C8N3)[14] + \delta(C7C8N3) [30]$
10/11	371	355	355	$\delta(O2C7C8)[18] + \delta(C19C16C10)[18] + \delta(C8C10C12)[13]$
12	447	435	435	$\nu(C7C8)[10] + \delta(C16C10C12)[16] + \delta(C10C8N3)[10] + \gamma(C16C8C12C10) [16]$
13/14	483/489	500	500	$\delta(C8C10C12)[18] + \gamma(O1C8O2C7)[15] + \gamma(C16C8C12C10)[13]$
15/16	539/547	529	529	$\nu(C7C8)[16] + \nu(N3C8)[19] + \delta(O2C7C8)[17] + \delta(C10C8N3)[12]$
	684/694	654	654	$\nu(C7C8)[16] + \delta(O1C7O2)[29] + \gamma(O1C8O2C7)[11]$
17/18	773	769	769	$\nu(C12C10)[11] + \delta(O1C7O2)[15] + \tau(H17C16C10C8)[14]$
19	802	790	790	$\delta(O1C7O2)[19] + \gamma(O1C8O2C7)[24]$
20	811	813	813	$\nu(C12C10)[18] + \gamma(O1C8O2C7)[16]$
21	829			
22	876	860	860	$\nu(C16C10)[12] + \nu(C7C8)[20]$
23	893	903	903	$\nu(C19C16)[11] + \nu(C16C10)[12] + \nu(C10C8)[15] + \nu(C7C8)[16] + \nu(N3C8) [12]$
24	920			
25	927			
	963	973	973	$\nu(N3C8)[13] + \tau(H14C12C10C8)[22]$
	986	977	977	$\nu(C12C10)[13] + \nu(N3C8)[29] + \tau(H21C19C16C10)[12]$
26	991	1005	1005	$\nu(C12C10)[16]$
27/28	1022/1031	1037	1037	$\nu(C19C16)[46]$
29	1040			
30	1085	1080	1080	$\tau(H5N3C8C10)[24]$
31	1094	1091	1091	$\tau(H6N3C8C10)[11] + \tau(H4N3C8C10)[15] + \tau(H22C19C16C10)[13]$
32	1137	1112	1112	$\delta(H9C8C7)[28] + \tau(H5N3C8C10)[11]$
33	1171	1182	1182	$\nu(C16C10)[13]$

Tabela 3.3 (Continuação) Identificação dos modos normais de vibração da DL-isoleucina à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1} .

	ω_{exp}	ω_{calc}	ω_{acal}	Atribuição [%PED]	
34	1186	1195	1195		
		1269	1269	$\delta(H9C8C7)[37]$	
		1291	1291	$\delta(H11C10C12)[11] + \delta(H17C16C19)[35] + \tau(H17C16C10C8)[11]$	
		1330	1330	$\nu(O2C7)[10] + \nu(O1C7)[23] + \tau(H11C10C16C19)[20] + \tau(H18C16C10C8)[10]$	
		1350	1341	1341	$\delta(H11C10C12)[12] + \tau(H9C8C7O2)[27] + \tau(H18C16C10C8)[13]$
		1361	1373	1373	$\nu(O1C7)[12] + \delta(H11C10C12)[22] + \delta(H17C16C19)[11] + \tau(H18C16C10C8)[12]$
		1385	1385	1385	$\delta(H11C10C12)[13] + \tau(H9C8C7O2)[27] + \tau(H18C16C10C8)[10]$
		1401	1401	1401	$\tau(H9C8C7O2)[21] + \tau(H11C10C16C19)[17]$
		1411	1411	1411	$\delta(H20C19H22)[27] + \delta(H21C19H20)[24] + \delta(H22C19H21)[24]$
		35	1418	1416	1416
36	1446	1427	1427	$\delta(H13C12H15)[21] + \delta(H14C12H13)[15] + \delta(H15C12H14)[31]$	
37/38	1455	1482	1482	$\delta(H18C16H17)[39] + \delta(H22C19H21)[20]$	
39/40	1472	1491	1491	$\delta(H13C12H15)[15] + \delta(H14C12H13)[12] + \delta(H20C19H22)[34] + \delta(H21C19H20)[11]$	
		1499	1499	$\delta(H13C12H15)[28] + \delta(H15C12H14)[25] + \delta(H21C19H20)[18]$	
41	1517	1511	1511	$\delta(H14C12H13)[32] + \delta(H15C12H14)[19] + \delta(H21C19H20)[18] + \tau(H14C12C10C8)[10]$	
42	1546				
43	1628	1630	1630	$\delta(H6N3H5)[71]$	
44	1679	1678	1678	$\nu(O2C7)[54] + \nu(O1C7)[23]$	
45/46	2873	2998	2872	$\nu(C10H11)[97]$	
47	2885	3014	2887	$\nu(N3H4)[94]$	
		3033	2906	$\nu(C16H18)[17] + \nu(C19H20)[24] + \nu(C19H21)[16] + \nu(C19H22)[41]$	
48	2911	3035	2908	$\nu(C16H17)[13] + \nu(C16H18)[63]$	
		3043	2916	$\nu(C12H13)[43] + \nu(C12H14)[15] + \nu(C12H15)[34]$	
49	2927	3043	2916	$\nu(C12H13)[43] + \nu(C12H14)[15] + \nu(C12H15)[34]$	
50	2950	3085	2956	$\nu(C16H17)[53] + \nu(C19H21)[13] + \nu(C19H22)[16]$	
51	2962	3102	2972	$\nu(C16H17)[21] + \nu(C19H20)[42] + \nu(C19H22)[25]$	
52/53	2972	3104	2974	$\nu(C12H13)[45] + \nu(C12H15)[35]$	
		3110	2980	$\nu(C19H20)[15] + \nu(C19H21)[58]$	
54	2990	3121	2990	$\nu(C8H9)[99]$	
		3130	2998	$\nu(C12H14)[76] + \nu(C12H15)[18]$	
		3486	3339	$\nu(N3H5)[59] + \nu(N3H6)[40]$	

τ = torção; δ = deformação; γ = deformação fora do plano; ν = estiramento.

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados PED obtidos.

4 Resultados no cristal de DL-isoleucina sob altas pressões

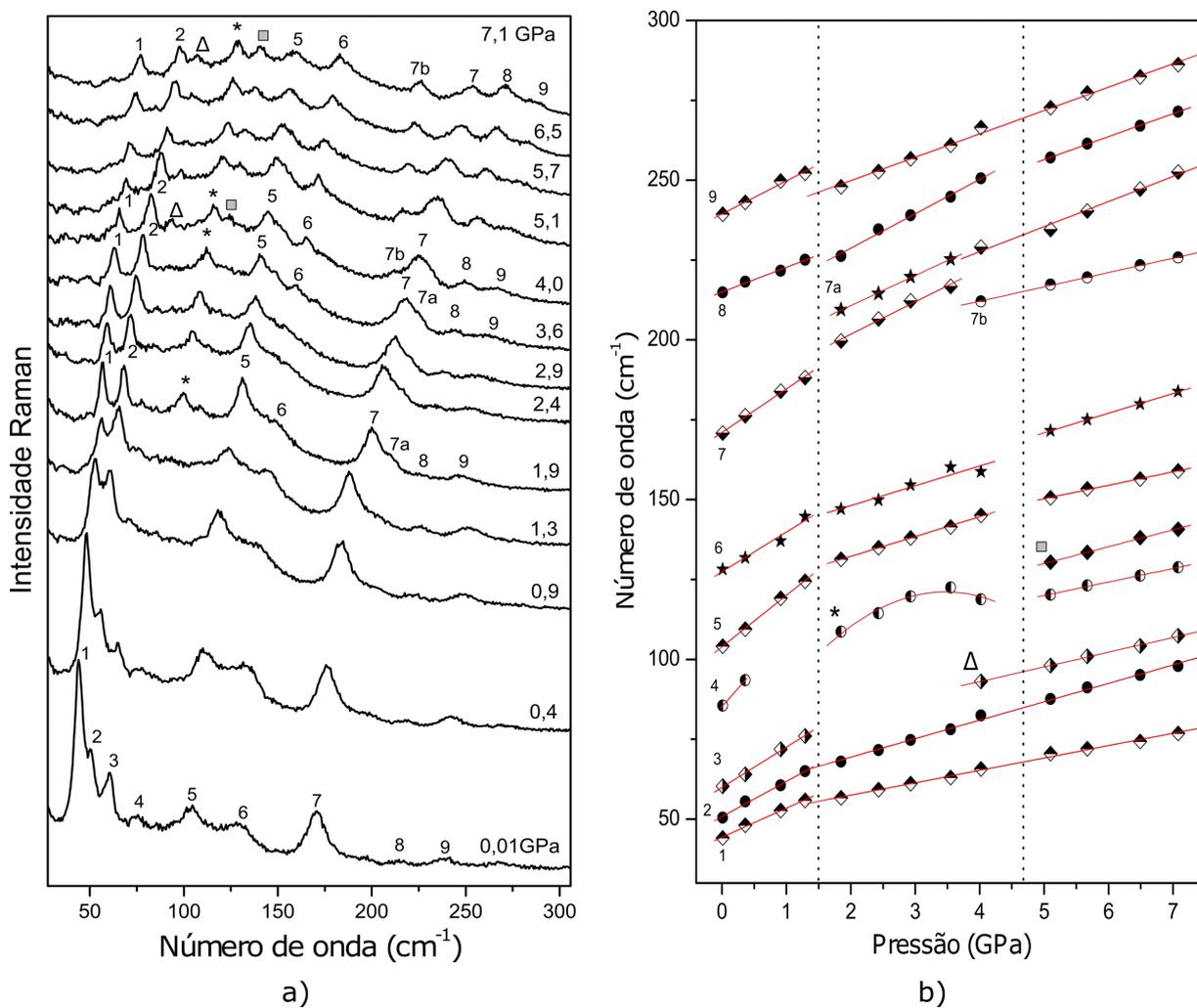
Neste capítulo serão apresentados os resultados de espectroscopia Raman no cristal de DL-isoleucina submetido a altas pressões, os mesmos foram obtidos através de dois experimentos. No experimento 1 atingiu-se pressões de até 7,1 GPa e no experimento 2 atingiu-se pressões de até 17,3 GPa. Os espectros Raman obtidos, registrados entre 40 e 3200 cm^{-1} , indicam fortes modificações no número de modos, como também descontinuidades do gráfico de número de onda *versus* pressão que são interpretados como transições de fase sofridas pelo cristal entre 1,3 e 1,9 GPa e entre 3,6 e 5,1 GPa.

4.1 Região espectral entre 40 cm^{-1} e 300 cm^{-1} .

A Figura 4.1 mostra a evolução dos espectros Raman do cristal de DL-isoleucina desde a pressão ambiente até 7,1 GPa na faixa espectral de 40-300 cm^{-1} em a) e o gráfico de número de onda *versus* pressão em b) para os dados obtidos no experimento 1. Os espectros Raman, obtidos no experimento 2, desde a pressão ambiente até 17 GPa na mesma faixa espectral mencionada acima são mostrados na Figura 4.2 em a) e o gráfico de número de onda *versus* pressão em b). Analisando a Figura 4.1a, observamos que os modos 1 e 2 perdem intensidade com o aumento da pressão, mas podem ser vistos no espectro registrado em 7,1 GPa. O modo 3 também perde intensidade e não é mais observado para pressões superiores a 1,3 GPa. O modo 4 possui baixa intensidade, mesmo à pressão ambiente, e não foi possível acompanhar sua evolução em função da pressão. Vale ressaltar que um novo modo (marcado com uma estrela) que poderia estar associado ao modo 4, aparece no espectro de 1,9 GPa em torno de 120 cm^{-1} e outros três modos em 4,0 GPa (o primeiro indicado como “triângulo”, o segundo como “quadrado” e o terceiro como 7b). A intensidade dos modos 5, 6, 7, 8 e 9 diminui com o aumento da pressão, mas são observados até a pressão mais alta do experimento 1, em 7,1 GPa. O modo 7a surge no espectro registrado em 1,9 GPa. Infelizmente, a relação sinal-ruído é baixa nos espectros da Fig. 4.2a e nenhuma outra informação para pressões superiores a 7 GPa foi obtida no experimento 2. No entanto, podemos ver claramente que os modos 1 e 2 se fundem em um único modo em 1,7 GPa, confirmando nossa suposição de uma transição de fase sofrida pela

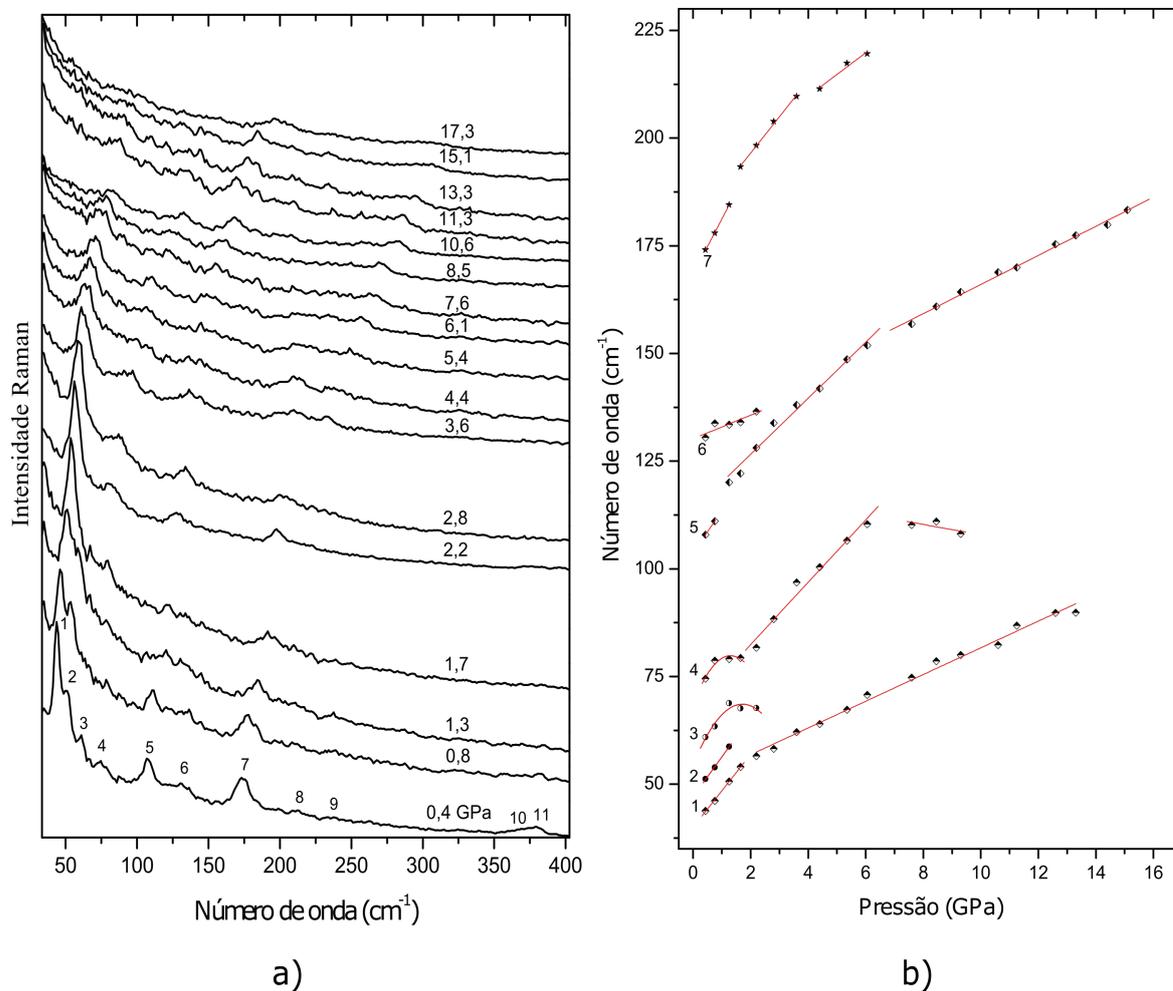
$d\omega/dP$ para todos os modos nos intervalos de pressão onde ocorrem as transições. As modificações relatadas neste parágrafo e outras apresentadas abaixo nos dão evidências de duas transições de fase induzidas por pressão sofridas pelo cristal de DL-isoleucina.

Figura 4.1 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 40-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 4.2 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 40-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



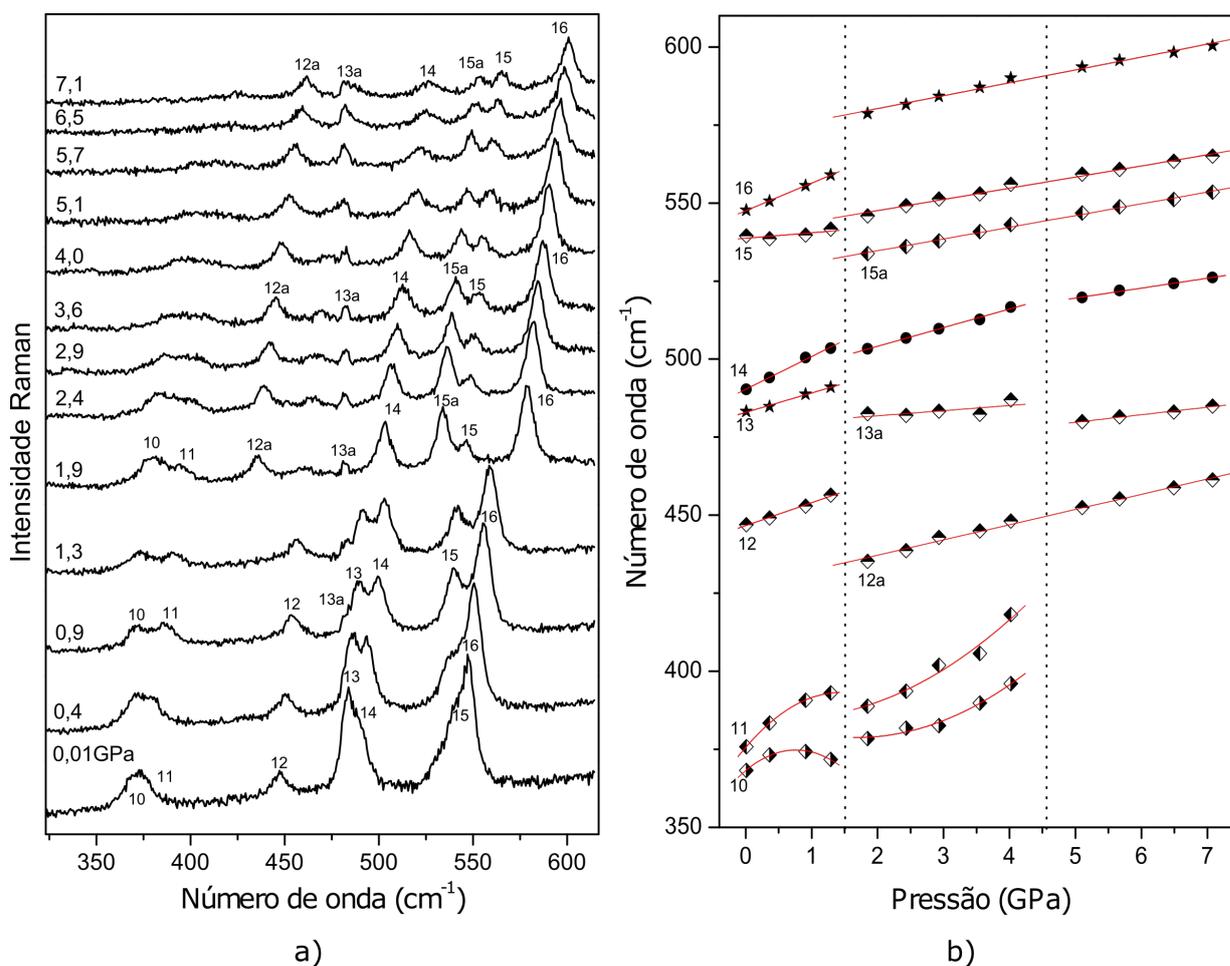
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

4.2 Região espectral entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Uma banda larga em $\sim 375 \text{ cm}^{-1}$ foi ajustada com dois picos no espectro de pressão ambiente na Figura 4.3a (espectros Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1} obtidos no experimento 1). Com o aumento da pressão, esses dois modos perdem intensidade e não são mais vistos para pressões superiores a 5,1 GPa. Na faixa espectral de 400-600 cm^{-1} , contamos cinco modos (numerados de 12 a 16 na Figura 4.3a) e notamos mudanças significativas. Em 0,9 GPa, um modo de baixa intensidade aparece como um ombro do modo 13 (numerado como 13a) e os modos 13 e 14 apresentam inversão de intensidade. O modo 13a tem baixa intensidade em todos os

espectros subsequentes. Entre 1,3 e 1,9 GPa os modos 13 e 14 se fundem em um e um novo modo emerge (modo 15a). Nota-se também o deslocamento do modo 16 que se desloca bruscamente para a região de número de onda mais alta. No experimento número 2, todos esses modos têm baixa intensidade e não serão discutidos.

Figura 4.3 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 300-600 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).

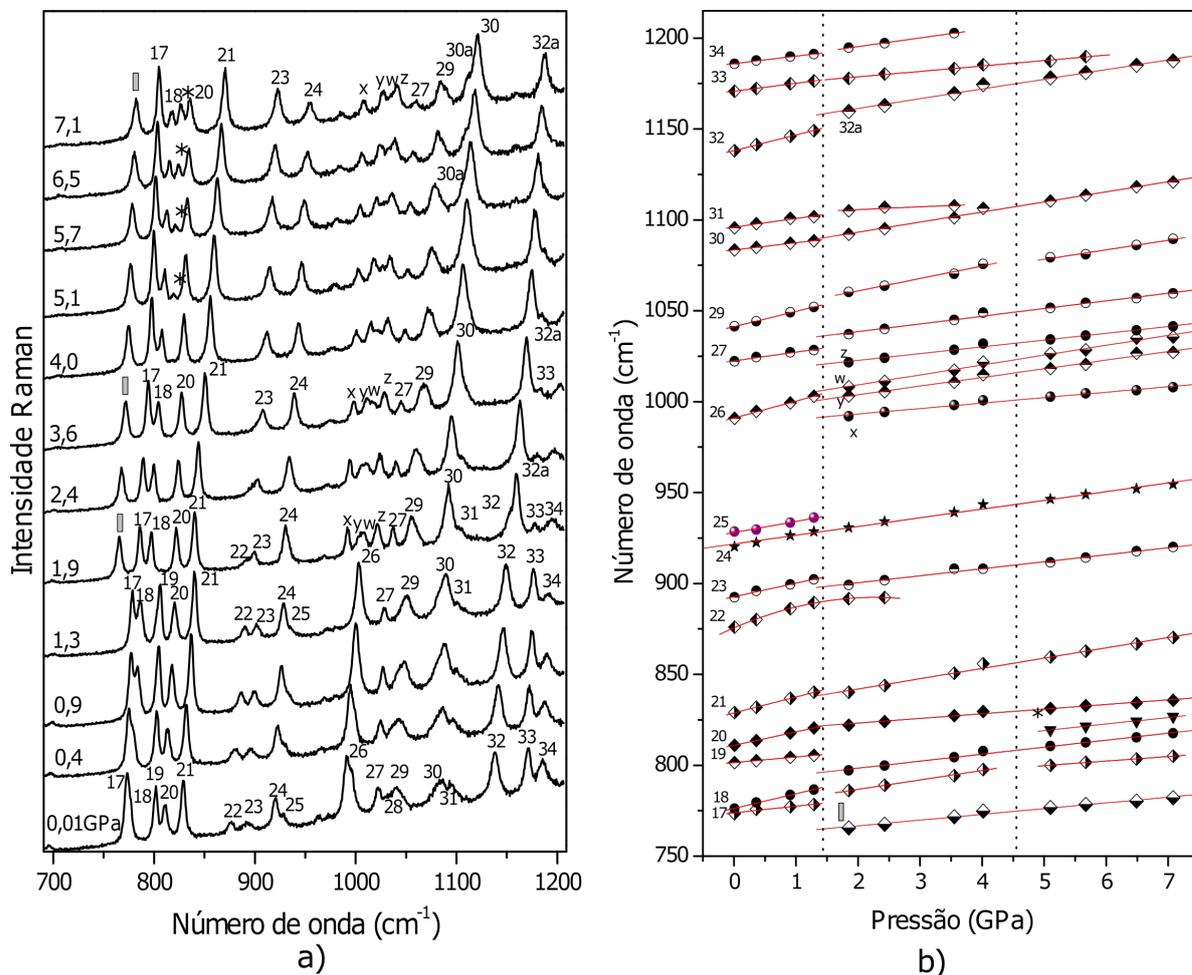


Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

4.3 Região espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

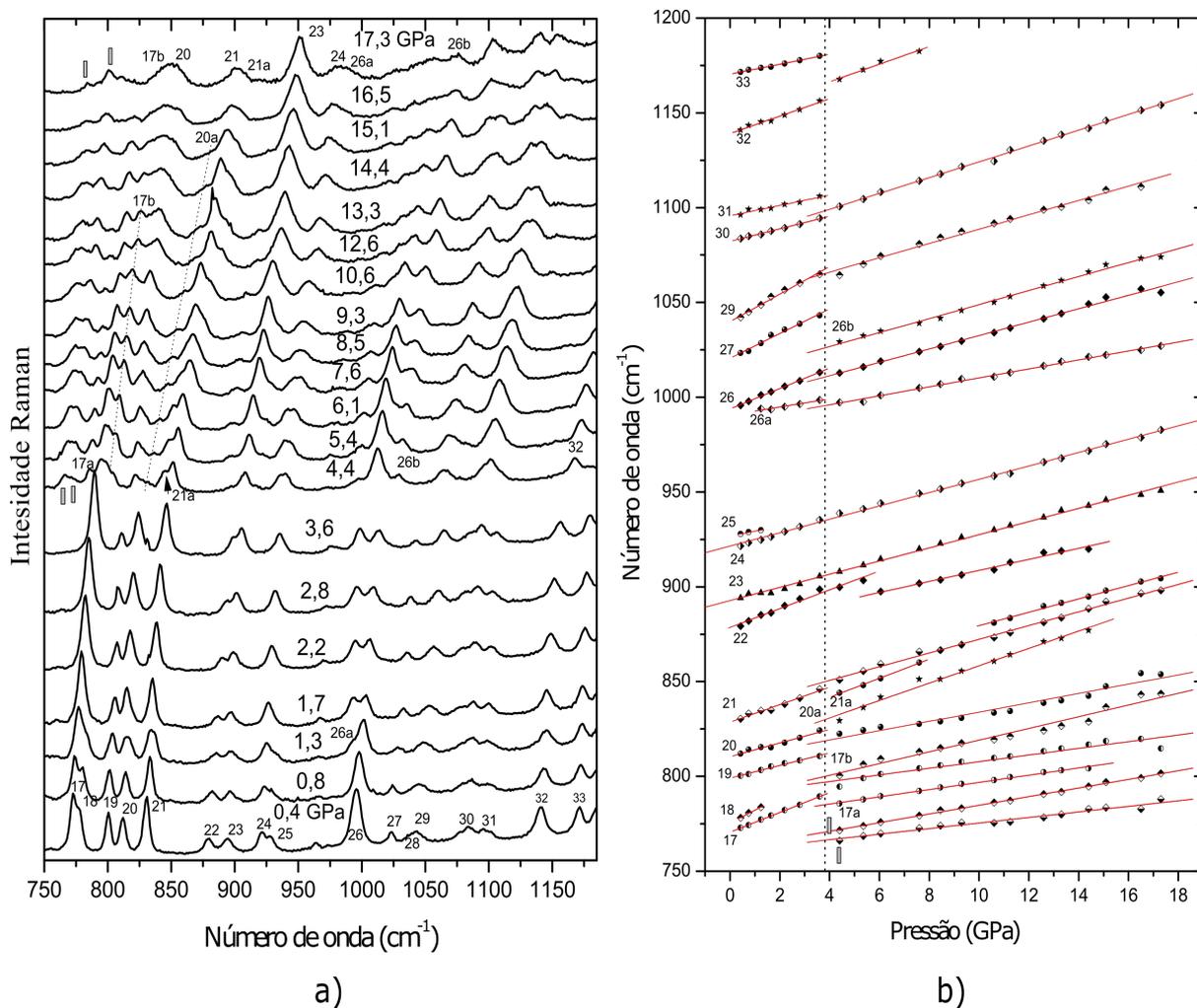
Os espectros Raman da DL-isoleucina na faixa espectral entre 700 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} são apresentados nas Figuras 4.4a, para o experimento 1 e 4.5a, para o experimento 2. Os gráficos de número de onda *versus* pressão para ambos os experimentos são mostrados nas Figuras 4.4b e 4.5b. Embora esta região apresente um grande número de bandas, é possível entender satisfatoriamente o comportamento destas. Analisando a Figura 4.5a, vemos o desaparecimento dos modos 18 e 25 em 1,7 GPa e a divisão dos modos 17 e 21 em 4,4 GPa. O modo 19 também desaparece, mas apenas entre 3,6 e 4,4 GPa. Os modos 22 e 23 apresentam baixas intensidades no espectro inicial, no entanto, ganham intensidade com o aumento da pressão. Após a segunda transição de fase, o modo 22 desaparece gradualmente e o modo 23 torna-se mais intenso. Um comportamento semelhante foi observado para os modos 30 e 31, quando o modo número 31 desaparece após a segunda transição de fase, mas o modo 30 permanece presente em todos os outros espectros. O modo 26 se divide em 1,3 GPa e em 4,4 GPa um novo modo (numerado como 26b) surge como um ombro. Em 4,4 GPa, dois novos modos (marcados com retângulos) aparecem em torno de 770 cm^{-1} . Essas informações sugerem fortemente a ocorrência de uma transição de fase estrutural em cerca de 4,4 GPa.

Figura 4.4 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 700-1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 4.5 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 700-1200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



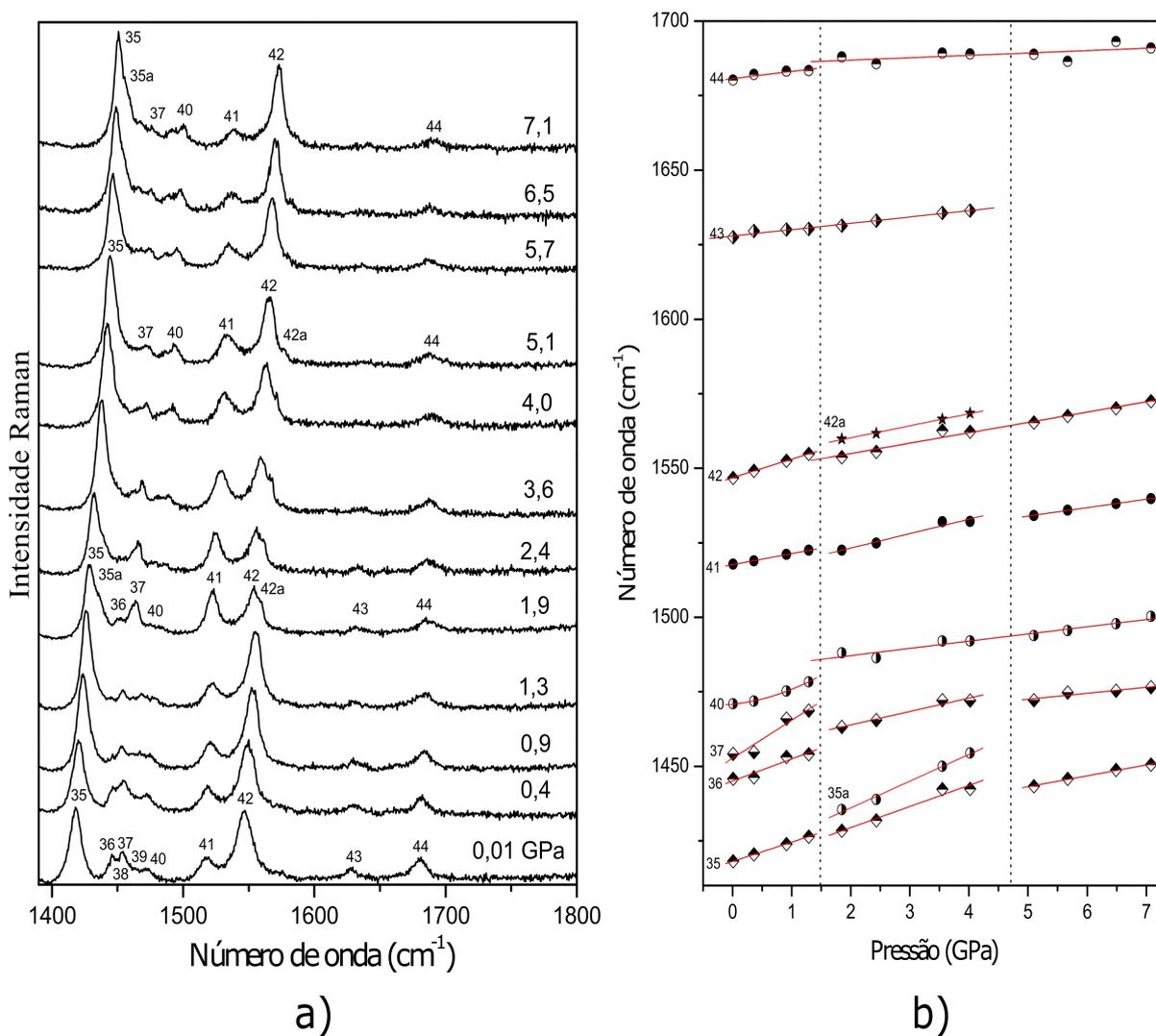
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

4.4 Região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

Modos Raman na faixa espectral entre 1400 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} para valores selecionados de pressão são apresentados nas Figuras 4.6a (experimento 1) e 4.7a (experimento 2). Não se pode ver grandes modificações nesta parte do espectro. Observamos a divisão do modo 35 entre 3,6 e 4,4 GPa. Outra divisão do modo 35 é observada em 12,6 GPa (numerada como 35b). A faixa larga em torno de 1450 cm^{-1} foi ajustada com cinco modos de baixa intensidade e na compressão alguns deles desaparecem. Os gráficos da dependência do número de onda pela pressão para ambos os experimentos são apresentados nas Figuras 4.6b (experimento 1) e 4.7b (experimento 2). Descontinuidades de alguns modos

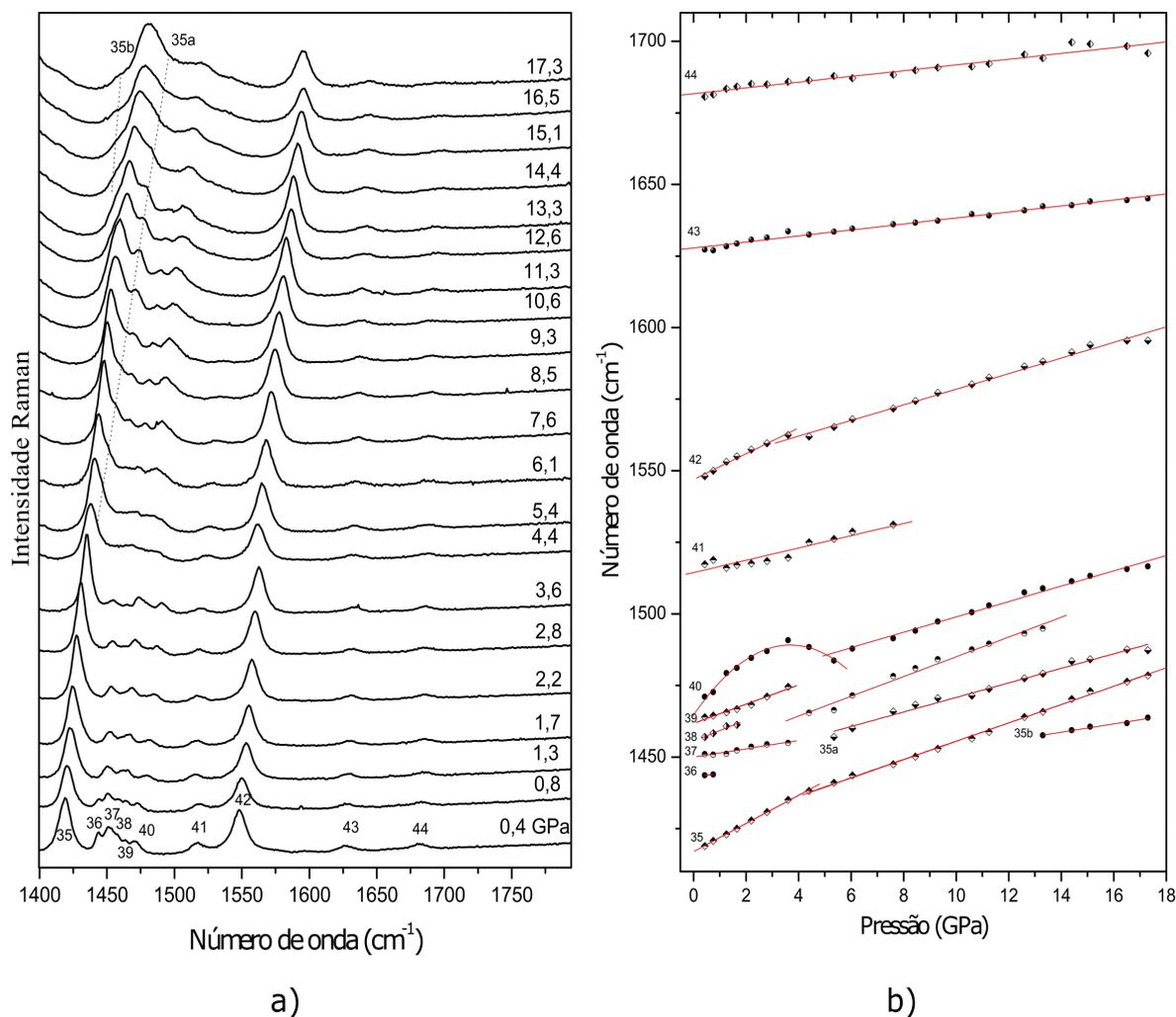
em torno dos valores de pressão, onde ocorrem as transições, foram observadas nos dois experimentos.

Figura 4.6 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 1400-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 4.7 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 1400-1800 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 2) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).

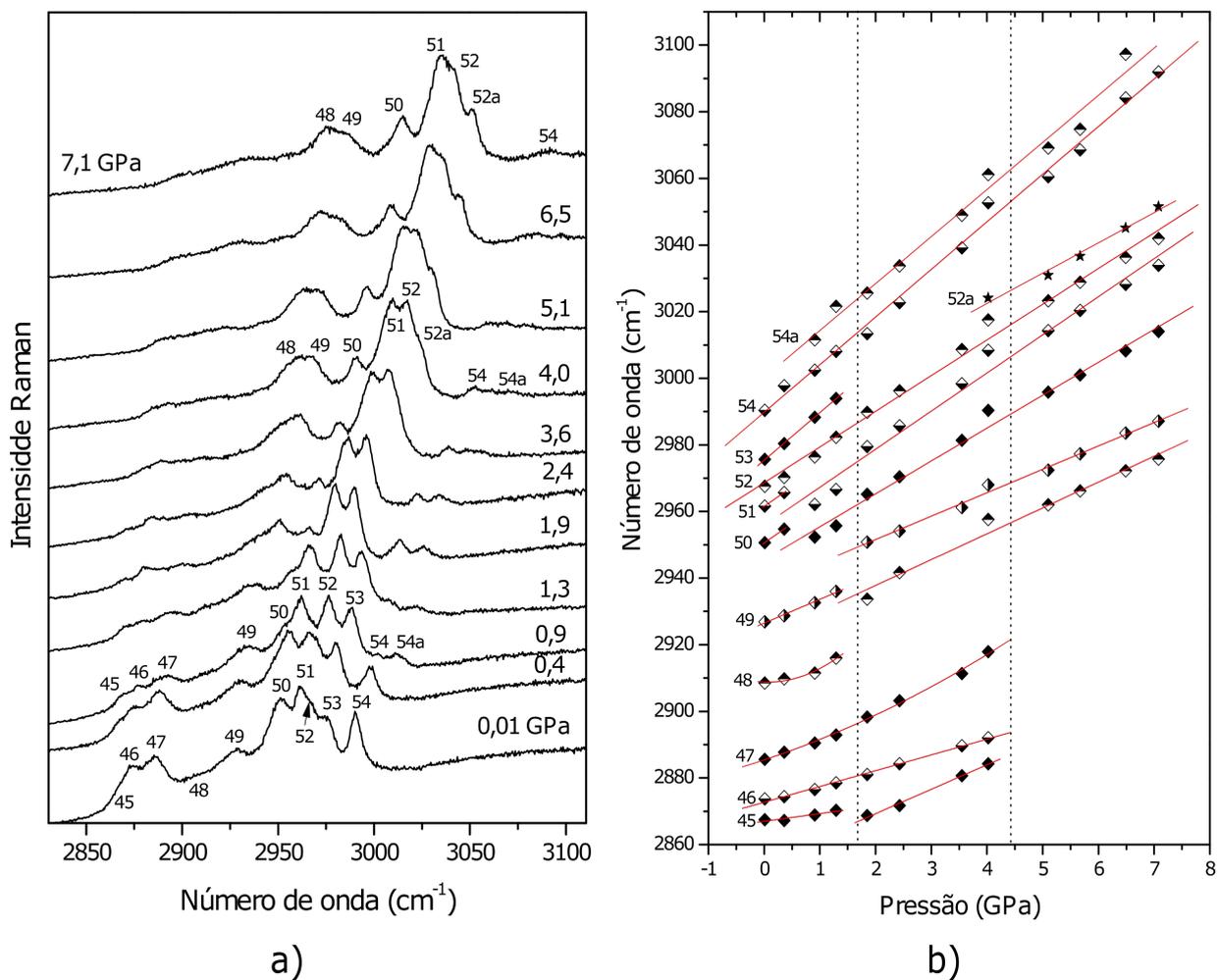


Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

4.5 Região espectral entre 2800 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} .

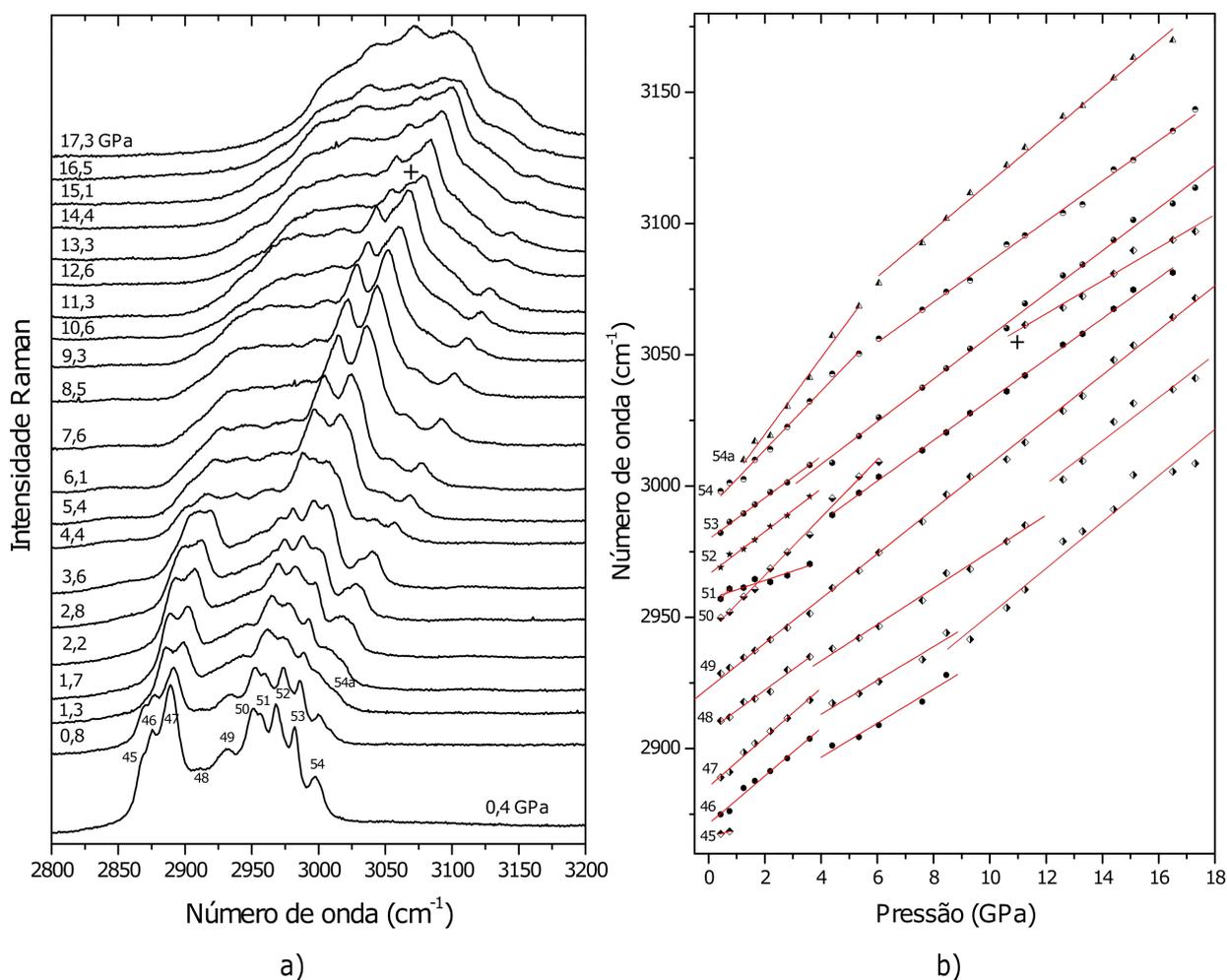
O último intervalo estudado foi registrado entre 2800 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} , conforme apresentado nas Figuras 4.8a e 4.9a. A partir da Figura 4.9a, vemos a perda de intensidade dos três modos de menor número de onda com o aumento da pressão. Em 0,8 GPa o modo 45 desaparece e a 1,3 GPa o modo 54 se divide. Também é possível ver uma modificação considerável na intensidade relativa entre 3,6 e 4,4 GPa de alguns modos, especialmente os modos 48 à 50. Um novo modo (marcado com uma cruz) surge em torno de 3017 cm^{-1} quando a pressão aumenta de 9,3 para 10,6 GPa. Em 17,3 GPa, um novo incremento na intensidade dos modos é observado.

Figura 4.8 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 2800-3200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 4.9 – Espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na região espectral entre 2800-3200 cm^{-1} para diversos valores de pressão (experimento 1) em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de DL-isoleucina na mesma faixa espectral em b).



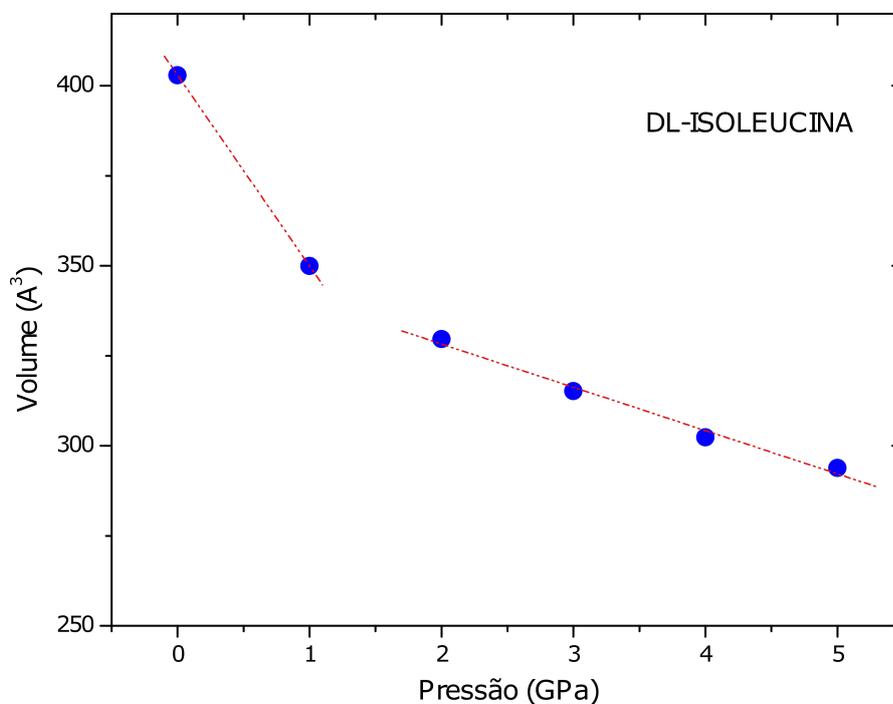
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Os coeficientes α e β que representam o comportamento dos modos sob altas pressões são mostrados na Tabela 4.1, para o experimento 1, e na Tabela 4.2, para o experimento 2.

Para estudar modificações na célula unitária de DL-isoleucina sob pressão, simulamos estresse externo de 0 a 5 GPa com incremento de 1 GPa. Parâmetros de rede e posições atômicas foram otimizados e o volume da célula unitária foi calculado. A Figura 4.10 mostra a variação do volume da célula unitária em função da pressão. Como pode ser visto, o volume da célula unitária diminui rapidamente com o aumento da pressão e uma descontinuidade é observada entre 1 e 2 GPa. Como não há dados de difração de raios X sob pressão, consideramos em todos os pontos de pressão a simetria da célula unitária

como P \bar{I} . A primeira transição de fase observada experimentalmente ocorre em torno de 1,3 GPa, por isso acreditamos que a descontinuidade no volume da célula *versus* pressão (Figura 4.10) representa alguma desordem induzida por pressão na célula unitária.

Figura 4.10 – Volume da célula unitária da DL-iso-leucina em função da pressão.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados teóricos.

Os resultados apresentados nesta seção apontam para um cenário em que a estrutura cristalina do cristal de DL-iso-leucina sofre duas transições de fase estruturais. Essas transições, bem como comparações com resultados obtidos para outros cristais de aminoácidos, são discutidas em detalhes na próxima seção.

4.6 Discussão dos resultados

Nossos resultados indicam modificações nos modos de rede em duas faixas de pressão. O primeiro, entre 1,3 e 1,9 GPa, e o segundo, entre 3,6 e 4,4 GPa. Essas modificações sugerem a ocorrência de duas transições de fase estruturais. Vale ressaltar que modificações nos modos internos também são observadas com o aumento da pressão. A divisão dos modos 15, 17, 26, 35 ocorre na mesma faixa de pressão e, além disso, descontinuidades no gráfico de ω *versus* P também são observadas. De acordo com os nossos cálculos (ver Tabela 3.3), todas estas vibrações têm contribuições das unidades CO₂ (átomo C7) e NH₃ (átomo N3), bem como do esqueleto molecular (átomos C8, C10, C12). Lembramos, em particular, que CO₂ e NH₃ estão envolvidos em ligações de hidrogênio entre moléculas vizinhas. Esses

fatos reforçam nossa suposição de que o rearranjo molecular é acompanhado por alteração estrutural na rede de ligações de hidrogênio. Como consequência, a DL-isoleucina pode ser vista como um cristal onde as transições de fase induzem modificações nos modos externos e internos, como relatado anteriormente em outros cristais de aminoácidos [111,112].

Modificações na região de alto número de onda também são observadas. Como as primeiras modificações são observadas entre 0,4 e 0,9 GPa (Figura 4.9) na região do estiramento do CH, descobrimos que mesmo o valor moderado da pressão é suficiente para causar o rearranjo das moléculas. Como consequência, antes da ocorrência da própria transição de fase estrutural em torno de 1,9 GPa, modificações conformacionais são observadas, atuando como agente desencadeador para a transição de fase estrutural. Um resultado similar foi observado em um estudo no cristal de L-leucina no qual um modo surgiu entre 0,0 e 0,4 GPa na mesma região e outras modificações foram observadas na compressão [88]. A isoleucina e a leucina possuem as mesmas fórmulas moleculares ($C_6H_{13}NO_2$), mas diferem na conformação dos grupos CH_3 . Na leucina, ambos os grupos CH_3 estão na cauda da molécula e deve-se esperar que ela seja mais afetada pela contração da célula unitária. Sem os dados de raios-X sob pressão, isso é apenas uma suposição, mas há uma boa justificativa, uma vez que a estrutura da L-leucina é menos estável do que as da L e DL-isoleucina.

Neste ponto, é importante comparar os resultados em ambas as conformações. Na L-isoleucina as modificações nos espectros Raman em 2,5 e 5,0 GPa foram associadas com uma mudança conformacional de moléculas na célula unitária ou uma transição de fase sólido-sólido [74]. Como descrito anteriormente, duas transições de fase com rearranjo conformacional de moléculas acompanhadas por modificações estruturais em ligações de hidrogênio foram observadas na DL-isoleucina. No entanto, algumas diferenças podem ser mencionadas. A primeira transição de fase observada na DL-isoleucina ocorre em menor pressão do que para o enantiômero L, indicando que sua estrutura é menos estável sob pressão. Embora em ambas as formas L e DL as camadas moleculares estejam unidas em pares através de ligações de hidrogênio, o empacotamento de moléculas de L-isoleucina na estrutura monoclinica e as moléculas da estrutura triclinica de DL-isoleucina apresentam diferenças significativas [75]. Como consequência, pode-se supor que as diferentes faixas de estabilidade dos cristais de L e DL - isoleucina são devidas ao diferente empacotamento das moléculas nas duas estruturas.

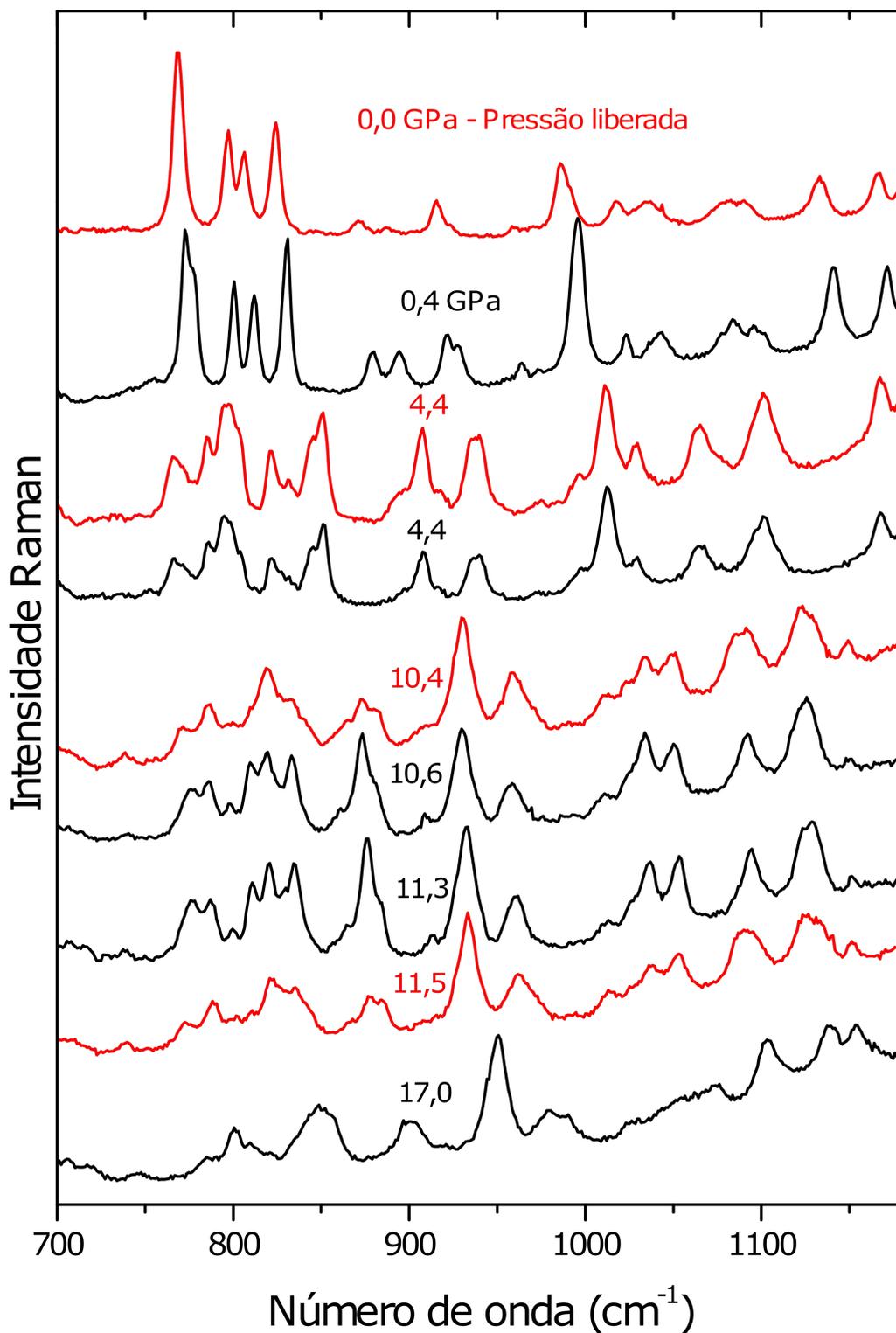
O alargamento das bandas (especialmente aquelas relacionadas aos modos de rede e estiramento dos grupos CH_3) indica que alguma desordem é induzida na estrutura, mas não faremos nenhuma afirmação sobre uma possível amorfização, uma vez que não podemos seguir os modos de rede a pressões mais altas. De fato, é possível que alguma desordem parcial preceda um estado ordenado em certos sistemas. Por exemplo, os modos de rede do ácido L-glutâmico são praticamente imperceptíveis em 13,9 GPa, mas em 15,2

GPa surgem novamente [113]. Entretanto, vale ressaltar que essa pressão, embora muito menor do que aquela alcançada nas medições de L-asparagina [114], cisteína [68], α -glicina [43] e L-treonina [115], já é maior que a pressão onde a amorfização sofrida pela L-alanina foi verificada (15 GPa) [4].

Os resultados teóricos obtidos em nosso trabalho são igualmente importantes. Nossos cálculos de DFT para a atribuição dos modos estão de acordo com os resultados experimentais e a tensão simulada na estrutura revela uma descontinuidade entre 1 e 2 GPa (Fig. 4.10). Como a estrutura é restrita a $P\bar{1}$, interpretamos esse resultado como uma instabilidade da estrutura cristalina sob pressão que é confirmada pela transição de fase relatada entre 1,3 e 1,9 GPa em nossos resultados experimentais. Adicionalmente, pode-se inferir que a modificação deve envolver principalmente o esqueleto da molécula e o grupo lateral CH_3 , pois as seguintes bandas mudam exatamente no intervalo 1,3 - 1,9 GPa: (i) a 447 cm^{-1} , associado a $\nu(\text{C7C8}) + \delta(\text{C16C10C12}) + \delta(\text{C10C8N3}) + \gamma(\text{C16C8C12C10})$; (ii) em 773 cm^{-1} , associado a $\nu(\text{C12C10}) + \delta(\text{O1C7O2}) + \tau(\text{H17C16C10C8})$ e (iii) em 991 cm^{-1} , associado a $\nu(\text{C12C10})$.

O último ponto que deve ser comentado diz respeito à reversibilidade. A Figura 4.11 mostra o espectro Raman do cristal de DL-isoleucina na faixa espectral entre $700\text{-}1180\text{ cm}^{-1}$ para pressões selecionadas. Infelizmente não foi possível registrar nenhum espectro entre 4,4 e 0,4 GPa na descompressão, logo não sabemos se ocorre histerese nas transições, mas como pode ser visto, todas as transições de fase são reversíveis, pois após liberarmos toda a pressão, os espectros originais são recuperados.

Figura 4.11 – Comparação dos espectros Raman do cristal de DL-isoleucina na faixa espectral 700 à 1200 cm^{-1} para valores selecionados de pressão registrados durante a compressão (preto) e descompressão (vermelho) da pressão máxima.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Tabela 4.1 – Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-isoleucina à pressão ambiente (experimento 1) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	$0.0 \text{ GPa} \leq P \leq 1.9$			$1.9 \leq P \leq 4.4 \text{ GPa}$			$4.4 \text{ GPa} \leq P \leq 7.1 \text{ GPa}$	
		ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
1	43.9	44.35	9.07		49.76	3.87		49.76	3.87
2	51.6	50.78	11.03		57.88	5.77		57.88	5.77
3	60.5	59.93	12.6						
4	86.2	85.25	22.71						
5	104.2	103.94	16.1		119.8	6.21		129.25	4.2
6	127.3	127.4	12.45		135.74	6.2		140.09	6.16
7	171.0	171.04	13.63		181.49	10.14		196.22	7.85
8	215.9	214.99	7.23		207.16	10.77		220.53	7.18
9	240.3	239.42	10.34		235.24	7.31		235.24	7.31
10	368.6	368.21	17.26	-11.32	387.74	-10.61	3.15		
11	376.4	375.63	24.43	-8.49	385.96	-3.45	2.77		
12	447.0	446.66	7.34						
13	481.6	482.94	6.21						
14	490.6	490.34	10.5		492.18	5.97		503.66	3.18
15	538.1	538.71	1.78		540.43	3.58		540.43	3.58
16	547.1	547.54	8.85		572.02	4.13		572.02	4.13
17	772.7	773.82	3.67		776.35	5.19		787.16	2.52
18	776.6	776.23	8.1		790.69	3.85		790.69	3.85
19	802.0	801.48	3.09						
20	812.0	810.93	7.42		818.04	2.56		818.04	2.56
21	829.1	828.8	8.76		830.6	5.7		830.6	5.7
22	876.7	875.57	14.71	-3.23	875.57	14.71	-3.23		
23	892.8	892.67	7.5		892.68	3.85		892.68	3.85
24	920.5	921.71	4.8		921.71	4.8		921.71	4.8
25	929.2	927.98	6.14						
26	991.5	991.0	9.29						
27	1022.6	1022.43	4.83		1030.1	4.23		1030.1	4.23
29	1042.0	1041.25	8.39		1047.2	6.85		1051.94	5.26
30	1083.9	1083.45	3.97		1082.1	5.56		1082.1	5.56
31	1096.5	1095.99	4.79		1102.7	1.51			
32	1139.2	1138.1	8.64						
33	1170.4	1170.76	4.39		1172.7	2.98		1172.72	2.98
34	1186.9	1185.96	4.12		1185.7	4.79			
35	1418.4	1418.09	6.48		1415.3	7.09		1424.9	3.65
36	1445.9	1445.08	7.41						
37	1454.0	1452.72	12.8		1454.9	4.49		1462.52	2.0

Tabela 4.1 (Continuação) Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-iso-leucina à pressão ambiente (experimento 1) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
		0,0 GPa \leq P \leq 1,9			1,9 \leq P \leq 4,4 GPa			4,4 GPa \leq P \leq 7,1 GPa	
40	1471,6	1470,85	2,1	2,9	1482,3	2,4		1482,32	2,4
41	1517,8	1517,67	3,7		1513,5	4,8		1519,84	2,8
42	1547,2	1546,83	6,2		1548,0	3,5		1548,0	3,5
43	1627,9	1627,92	2,12		1627,9	2,1			
44	1680,5	1680,69	2,42		1685,3	0,8		1685,3	0,8
45	2867,8	2866,98	2,32		2854,6	7,3			
46	2874,0	2872072	4,7		2872,7	4,7			
47	2886,1	2885,43	5,6	0,6	2885,4	5,6	0,6		
48	2908,5	2908,8	-0,7	4,7	2922,2	7,8		2922,2	7,8
49	2926,8	2926,5	7,2		2937,5	7,0		2937,5	7,0
50	2951,4	2950,6	11,7		2945,5	9,9		2945,2	9,9
51	2961,3	2961,53	11,6		2955,8	11,4		2955,8	11,4
52	2967,6	2968,65	10,7		2968,7	10,7		2968,7	10,7
53	2975,9	2975,4	14,3						
54	2990,0	2989,8	14,3		2989,8	14,3		2989,8	14,3

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.2 – Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-isoleucina à pressão ambiente (experimento 2) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	$0,0 \leq P \leq 1,65 \text{ GPa}$			$1,65 \leq P \leq 4,4 \text{ GPa}$			$4,4 \leq P \leq 17,3 \text{ GPa}$	
		ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
1	43,8	40,0	8,5		50,7	3,1		50,7	3,1
2	51,2	47,1	9,2						
3	60,9	54,5	16,5	-4,81					
6	13,0	130,2	2,7		129,1	3,3			
8	21,1	214,3	-8,9	4,0	214,3	-8,9	4,0	226,4	4,91
9	2,4	244,4	-4,99						
10	36,9	336,8	3,7		336,8	3,7			
11	37,9	378,1	5,4		378,1	5,4			
12	44,8	446,8	6,2		446,8	6,2		447,4	4,9
13	48,4	484,1	3,79		484,1	3,8		461,5	4,7
14	49,4	490,9	5,56		490,9	5,6			
15	535,9	534,8	3,2		534,8	3,2			
16	54,9	546,2	7,6		546,2	7,6		579,4	2,2
17	77,2	770,5	5,2		770,5	5,2		790,3	1,8
18	77,8	775,4	6,8						
19	80,0	779,1	3,3		779,1	3,3			
20	81,2	810,5	3,6		811,3	2,31		811,3	2,3
21	830,4	828,6	4,6		828,6	4,62		836,2	3,6
23	89,4	892,7	3,5		892,7	3,5		892,7	3,5
24	92,1	921,5	3,5		921,5	3,5		921,5	3,5
25	92,8	926,8	2,5						
26	99,6	993,8	5,4		993,8	5,4		997,1	3,5
27	10,2	1020,6	6,5		1020,6	6,5			
29	10,4	1039,8	7,3		1039,8	7,3		1050,8	3,8
30	10,8	1082,2	3,3		1082,2	3,3		1082,5	4,2
31	10,9	1095,7	2,73		1095,7	2,7			
33	11,7	1170,4	2,6		1170,4	2,6			
34									
35	1,4	1416,9	4,9		1416,9	4,9		1423,4	3,2
36	14,4	1443,2	0,9						
37	14,5	1449,9	1,5		1449,9	1,5		1450,5	3,5
38	14,6	1455,6	3,7						
39	1,5	1461,8	3,5		1461,8	3,5			
42	15,5	1546,9	4,5		1546,9	4,5		1551,2	2,7
43	16,3	1627,8	1,1		1627,8	1,1		1627,8	1,1
44	16,8	1861,7	1,0		1861,7	1,0		1861,7	1,0
45	28,7	2866,3	2,9						

Tabela 4.2 (Continuação) Tabela dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados da DL-isoleucina à pressão ambiente (experimento 2) (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
		0,0 GPa \leq P \leq 1,65			1,65 \leq P \leq 4,4 GPa			4,4 GPa \leq P \leq 17,3 GPa	
49	29,3	2923,1	8,5		2923,1	8,5		2923,1	8,5
50	29,5	2944,1	10,9		2944,1	10,9			
51	29,6	2956,9	3,6		2956,9	3,6		2955,5	7,7
52	29,7	2966,3	8,2		2966,3	8,2			
53	29,8	2979,7	7,9		2979,7	7,9		2975,8	8,1

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.7 Conclusão dos resultados obtidos no cristal de DL-isoleucina

Os espectros Raman do cristal de DL-isoleucina foram adquiridos na região espectral entre 40 - 3300 cm^{-1} em condições ambientes e a classificação de todos os modos Raman foi feita em termos da *Potential Energy Distribution* (PED). Dois conjuntos de experimentos foram realizados em função da pressão usando dois meios de transmissão de pressão diferentes. Modificações que aparecem não apenas nos modos externos, como também nos internos, sustentam nossa suposição de que o cristal de DL-isoleucina sofre duas transições de fase com pressão crescente. A primeira ocorre entre 1,3 e 1,9 GPa, envolvendo principalmente o esqueleto de moléculas de isoleucina e o grupo CH_3 , e a segunda entre 3,6 e 4,4 GPa. Experimentos de descompressão comprovaram que essas duas transições de fase são reversíveis. Foi realizada uma simulação da evolução dos parâmetros de rede desse material em função da pressão e esta mostrou uma descontinuidade em aproximadamente 1 GPa, corroborando com os resultados obtidos por espectroscopia Raman a altas pressões.

5 Ácido DL-glutâmico monohidratado em condições ambientes

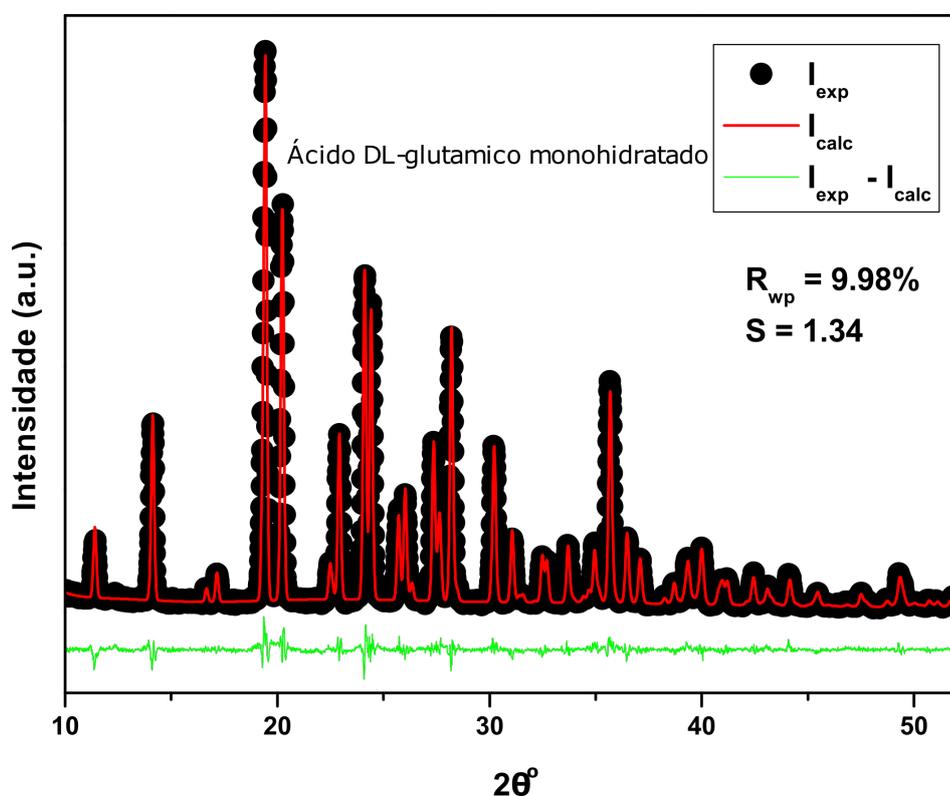
Neste capítulo serão apresentadas as propriedades estruturais do Ácido DL-glutâmico monohidratado baseado nos dados de difração de raios - X da referência [116], será feita uma análise de teoria de grupos a respeito dos modos vibracionais esperados. Serão também descritos os resultados obtidos por medidas de espectroscopia Raman em condições ambiente.

5.1 Propriedades estruturais do ácido DL-glutâmico monohidratado

Em condições ambientes de temperatura e pressão o ácido DL-glutâmico monohidratado, $C_5H_9NO_4 \cdot H_2O$, possui estrutura ortorrômbica, pertencente ao grupo espacial $Pbca (D_{2h})$, possui massa molar de 165,15 g/mol e densidade de 1,46 g/cm³. O ácido DL-glutâmico está inserido na classe dos aminoácidos ácidos cuja molécula apresenta dois grupos carboxílicos.

O mesmo possui oito moléculas por célula unitária ($Z = 8$), totalizando 176 átomos. Apresenta as seguintes dimensões da célula unitária $a = 9,119 (3) \text{ \AA}$, $b = 15,480 (7) \text{ \AA}$, $c = 10,627 (3) \text{ \AA}$, volume (V) = 1500,1 \AA^3 [116]. Para confirmação da estrutura da amostra estudada nesse capítulo, fez-se um experimento de difração de raios-X com o pó obtido da maceração de parte da amostra cristalina. As variáveis que avaliam a concordância entre as intensidades observadas e calculadas no método Rietveld apresentam uma boa concordância, com valor de $R_p = 7,29 \%$ e $R_{wp} = 9,98 \%$. Assim, a razão entre esses valores, o *goodness of fit* (S) possui valor igual a 1,34. O padrão de difração de raios X da amostra em associação com o método de Rietveld são mostrados na Figura 5.1.

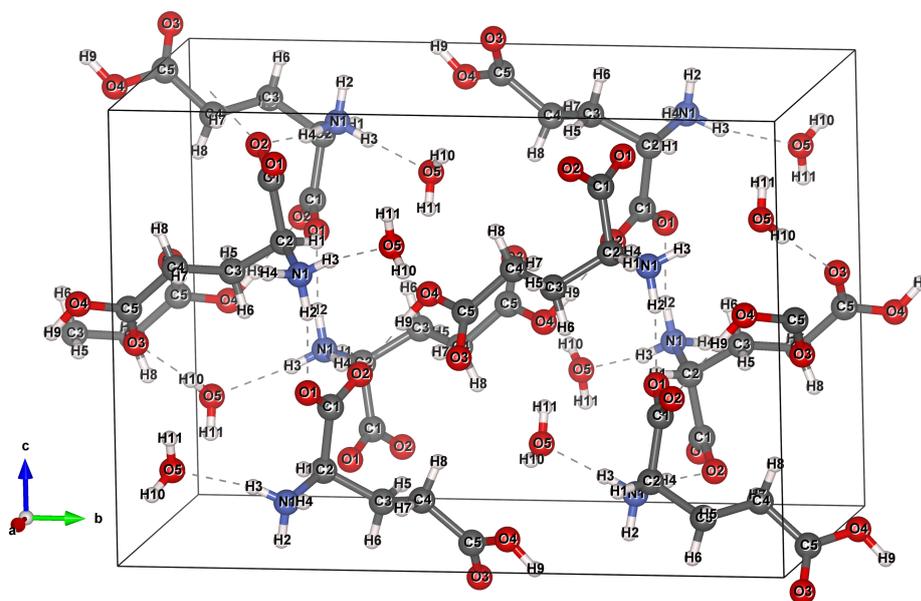
Figura 5.1 – Difratoograma obtido do pó dos cristais de ácido DL-glutâmico monohidratado refinado pelo método de Rietveld.



Fonte: Produzida pelo autor.

O difratograma mostrado acima foi utilizado como base para comparar os resultados obtidos com os da literatura e assim comprovar a estrutura da amostra. Os experimentos de difração de raios-X foram realizados no difratômetro D8 Advanced, da marca Bruker, utilizando radiação de cobre de comprimento de onda $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$, mediante a configuração $\theta - 2\theta$, em que o 2θ sofre variação 5° até 50° , em passos de $0,02^\circ$, com tempo de 2s por passo. Com o resultado obtido deste experimento foi realizado o refinamento Rietveld utilizando-se o programa Expo 2013 [117]. Após o refinamento Rietveld, os valores obtidos para os parâmetros de rede do ácido DL-glutâmico monohidratado foram: $a = 9,124(2) \text{ \AA}$, $b = 15,507(2) \text{ \AA}$, $c = 10,629(4) \text{ \AA}$ e volume $V = 1503,99(3) \text{ \AA}^3$, que estão em boa concordância com os dados da referência [116]. A célula unitária descrita acima é apresentada na Figura 5.2 vista ao longo do eixo cristalográfico a .

Figura 5.2 – Representação da célula unitária do ácido DL-glutâmico monohidratado.

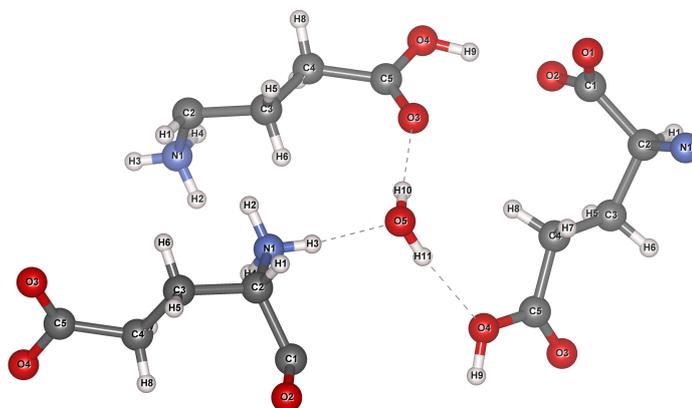


Fonte: Produzida pelo autor.

Existem 11 átomos de hidrogênio na unidade assimétrica do ácido DL-glutâmico monohidratado, dentre eles, 6 estão distribuídos nos grupos carboxílico, amina e na molécula de água e participam das ligações de hidrogênio. Uma ligação de hidrogênio também é observada entre os grupos carboxílicos de duas moléculas distintas deste aminoácido.

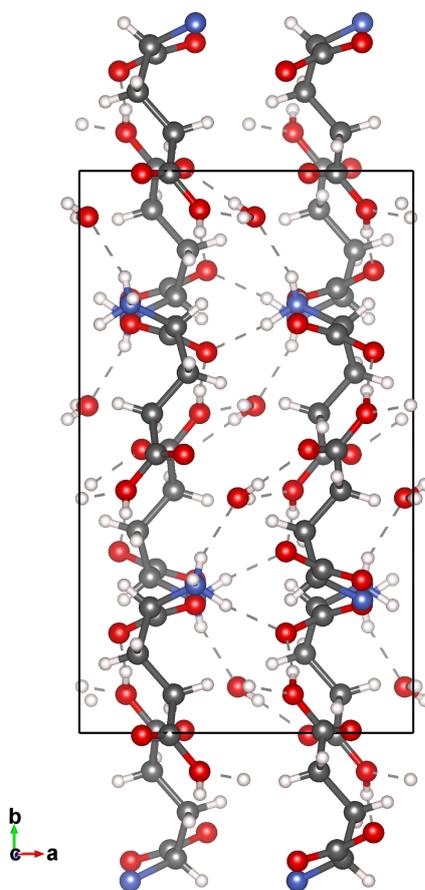
A estrutura é fortemente interligada por ligações de hidrogênio. Cada molécula do ácido glutâmico está ligada com a molécula adjacente e uma molécula de água por nove ligações de hidrogênio [116]. A molécula de água participa de três ligações de hidrogênio, uma vez que, os hidrogênios pertencentes a esta molécula ligam-se ao oxigênio de duas moléculas distintas do ácido glutâmico e o oxigênio da água interage com o hidrogênio do grupo amina de uma terceira molécula de ácido glutâmico. Dessa forma, cada molécula de ácido glutâmico está ligada por meio de ligações de hidrogênio a três moléculas de água. Os demais hidrogênios da molécula do aminoácido que formam ligações de hidrogênio, os fazem com o oxigênio de uma outra molécula adjacente. A Figura 5.3 mostra uma molécula de água ligada a três moléculas de ácido DL-glutâmico, a célula unitária do aminoácido em estudo visto ao longo do eixo cristalográfico *c*, é mostrada na Figura 5.4 evidenciando que as moléculas de água se localizam entre moléculas de ácido DL-glutâmico na célula unitária.

Figura 5.3 – Representação da interação da molécula de água, ao centro, com três moléculas distintas de ácido DL-glutâmico através de ligações de hidrogênio.



Fonte: Produzida pelo autor.

Figura 5.4 – Representação da célula unitária do ácido DL-glutâmico monohidratado vista ao longo do eixo cristalográfico *c*, evidenciando a posição das moléculas de água entre as moléculas de ácido DL-glutâmico.



Fonte: Produzida pelo autor.

Os comprimentos das ligações encontradas no ácido DL-glutâmico monohidratado são bastante semelhantes aos valores encontrados nas formas α e β do ácido L-glutâmico. O grupo α -carboxílico, grupo associado ao carbono C1, é ionizado e o proton (H^+) é transferido ao grupo amina. O grupo γ -carboxílico encontra-se na forma não ionizada. Grupos carboxílicos ionizados e protonados são bastante planos. O comprimento de ligação C1 — C2 (1,528 Å) é significativamente maior que a ligação C4 — C5 (1,502 Å). Essa diferença entre os comprimentos mencionados tendem a ocorrer em ambas as formas polimórficas do L-ácido glutâmico e nas estruturas dos ácidos DL [118] e L - aspártico [119]. A diferença média no comprimento da ligação entre (C1 — C2) e (C2 — C3) (para as estruturas L e DL do ácido aspártico) ou (C3 — C4) (para as formas α e β do ácido L-glutâmico) é de aproximadamente 0,030 (3) Å [116].

A conformação do ácido glutâmico nos cristais de DL-ácido glutâmico monohidratado é diferente das formas α e β do L-glutâmico. O átomo de nitrogênio (N1) possui um desvio em relação ao plano C2C1O1O2 de 0,050 (2) Å e o ângulo de torção de O1-C1-C2-N é $-2,2^\circ$; C5 é *gauche* a C1 e N1. Isso implica que C5 é *trans* a C2. A tabela 5.1 lista o comprimento das ligações mencionadas, os comprimentos das ligações de hidrogênio neste aminoácido são listados na Tabela 5.2.

Tabela 5.1 – Comprimento de algumas ligações do ácido DL-glutâmico monohidratado, medidas em (Å).

C1 - O1	1,231 (3)	C3 - C4	1,513 (3)
C1 - O2	1,261 (3)	C4 - C5	1,502 (3)
C1 - C2	1,528 (3)	C5 - O3	1,203 (3)
C2 - N1	1,487 (3)	C5 - O4	1,321 (3)
C2 - C3	1,527 (3)		

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [116].

Tabela 5.2 – Comprimento das ligações de hidrogênio para o ácido DL-glutâmico monohidratado, medidas em (Å).

O1 - N1	2,761
O2 - N1	2,809
O2 - O4	2,573
N1 - H2 - O1	2,761
N1 - H3 - O5	2,814
N1 - H4 - O2	2,809
O3 - O5	2,828
O4 - H9 - O2	2,573
O4 - H11 - O5*	2,975
O5 - N1*	2,814
O5 - H10 - O3*	2,828

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [116]. Os termos com (*) representam ligações de hidrogênio associadas à molécula de água.

5.2 Teoria de grupos para o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado

A estrutura molecular do ácido DL-glutâmico monohidratado possui 22 átomos, com 8 moléculas por célula unitária, totalizando 176 átomos e pertencente ao grupo espacial $Pbca$ (D_{2h}). Conforme a tabela 8A da referência [105], pode-se observar que os sítios de simetria C_1 são ocupados por 8 átomos. Da Tabela 8B da mesma referência pode-se ver que os 8 átomos presentes no sítio de simetria C_1 colaboram com 24 modos de vibração, A descrição total dos modos vibracionais nas representações irredutíveis do grupo (D_{2h}), Γ , é descrita na equação 5.1 abaixo.

$$\Gamma = 3A_g + 3A_u + 3B_{1g} + 3B_{1u} + 3B_{2g} + 3B_{2u} + 3B_{3g} + 3B_{3u}, \quad (5.1)$$

Dessa forma, os 176 átomos da célula unitária do ácido DL-glutâmico monohidratado se distribuem em 22 sítios de simetria $C_1(8)$, cuja representação total dos modos vibracionais nas representações irredutíveis do grupo (D_{2h}) é descrita na equação 5.2 abaixo.

$$\begin{aligned} \Gamma &= 22 \cdot (3A_g + 3A_u + 3B_{1g} + 3B_{1u} + 3B_{2g} + 3B_{2u} + 3B_{3g} + 3B_{3u}) = \\ &= 66A_g + 66A_u + 66B_{1g} + 66B_{1u} + 66B_{2g} + 66B_{2u} + 66B_{3g} + 66B_{3u}, \end{aligned} \quad (5.2)$$

A Tabela de caracteres do grupo (D_{2h}) está representada na Tabela 5.3, de acordo com a Tabela 8E da referência [105].

Tabela 5.3 – Tabela de caracteres do grupo (D_{2h}).

(D_{2h})	E	C_2^z	C_2^y	C_2^x	i	σ^{xy}	σ^{xz}	σ^{yz}	Regra de seleção
A_g	1	1	1	1	1	1	1	1	$\alpha_{xx}, \alpha_{yy}, \alpha_{zz}$
A_u	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	
B_{1g}	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	R_z α_{xy}
B_{1u}	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	T_z
B_{2g}	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	R_y α_{xz}
B_{2u}	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	T_y
B_{3g}	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	R_x α_{yz}
B_{3u}	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	T_x

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [105].

A Tabela 5.3 indica a presença de modos ativos no Raman e no infravermelho. Da Tabela 8B da referência [105] pode-se observar a contribuição dos modos acústicos, $\Gamma_{acústicos}$, que são caracterizados por translações da célula unitária nas direções x, y e z. Sua contribuição é mostrada na equação 5.3, abaixo.

$$\Gamma_{acústicos} = B_{1u} + B_{2u} + B_{3u}, \quad (5.3)$$

A quantidade de modos ópticos, $\Gamma_{ópticos}$, é obtida a partir da diferença entre a quantidade total de modos, Γ , e a quantidade de modos acústicos, $\Gamma_{acústicos}$, como mostra a equação 5.4, abaixo.

$$\begin{aligned} \Gamma_{ópticos} &= \Gamma - \Gamma_{acústicos} = \\ &= (66A_g + 66A_u + 66B_{1g} + 66B_{1u} + 66B_{2g} + 66B_{2u} + 66B_{3g} + 66B_{3u}) \\ &\quad - (B_{1u} + B_{2u} + B_{3u}) \\ \Gamma_{ópticos} &= 66A_g + 66A_u + 66B_{1g} + 65B_{1u} + 66B_{2g} + 65B_{2u} + 66B_{3g} + 65B_{3u}, \quad (5.4) \end{aligned}$$

Dessa forma, são esperados 264 modos ativos no Raman e 261 modos ativos no infravermelho, por célula unitária.

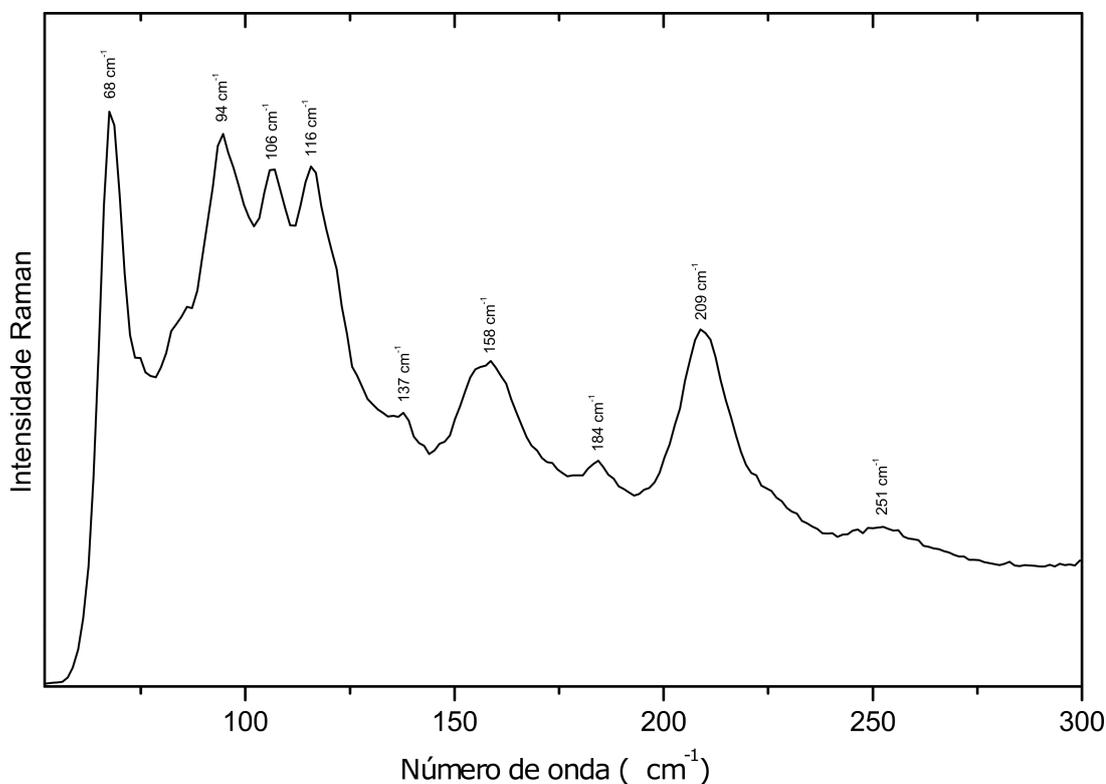
5.3 Classificação dos modos Raman a pressão ambiente

Experimentos de espectroscopia Raman em condições ambiente realizados no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado foram utilizados para a obtenção de seus modos vibracionais. A classificação dos modos vibracionais obtidos foi realizada por comparação com a frequência de modos classificados previamente em outros cristais de aminoácidos e em cristais de ácido L-glutâmico nas formas α e β . Para uma melhor descrição dos modos, o espectro foi dividido em regiões.

5.3.1 Região entre 50 cm^{-1} e 300 cm^{-1} .

O espectro Raman obtido na região espectral entre 50 e 300 cm^{-1} é apresentado na Figura 5.5, tal como já discutido na atribuição dos modos em condições ambientes para o cristal de DL-isoleucina, em geral, nos aminoácidos denomina-se região dos modos externos (modos de rede) a faixa espectral inferior a 200 cm^{-1} , nela são observadas vibrações de toda a rede cristalina. Vale ressaltar que, o valor do número de onda, 200 cm^{-1} , para se encontrar esses modos pode não aplicar-se a todos os aminoácidos, assim como já discutido no capítulo 3. Foram designados como modos de vibração da rede seis modos centrados em 68 , 94 , 106 , 116 , 137 e 158 cm^{-1} , o modo centrado em 184 cm^{-1} embora encontre-se abaixo de 200 cm^{-1} foi associado a uma vibração de tipo torção do grupo CO_2^- , $\tau(\text{CO}_2^-)$, uma vez que essa vibração foi observada em 181 cm^{-1} no cristal de L-valina [107] e em 192 cm^{-1} na forma L do ácido glutâmico [81]. Com relação ao modo centrado em 209 cm^{-1} , autores da referência [106] classificaram um modo em 212 cm^{-1} como uma torção do CH, $\tau(\text{CH})$, adotamos então, a mesma classificação. O modo centrado em 251 cm^{-1} foi associado à uma deformação do esqueleto da estrutura, $\delta(\text{esq})$, uma vez que essa vibração foi encontrada na mesma posição no espectro Raman do ácido L-glutâmico [81]

Figura 5.5 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 50 - 300 cm^{-1} em pressão ambiente.

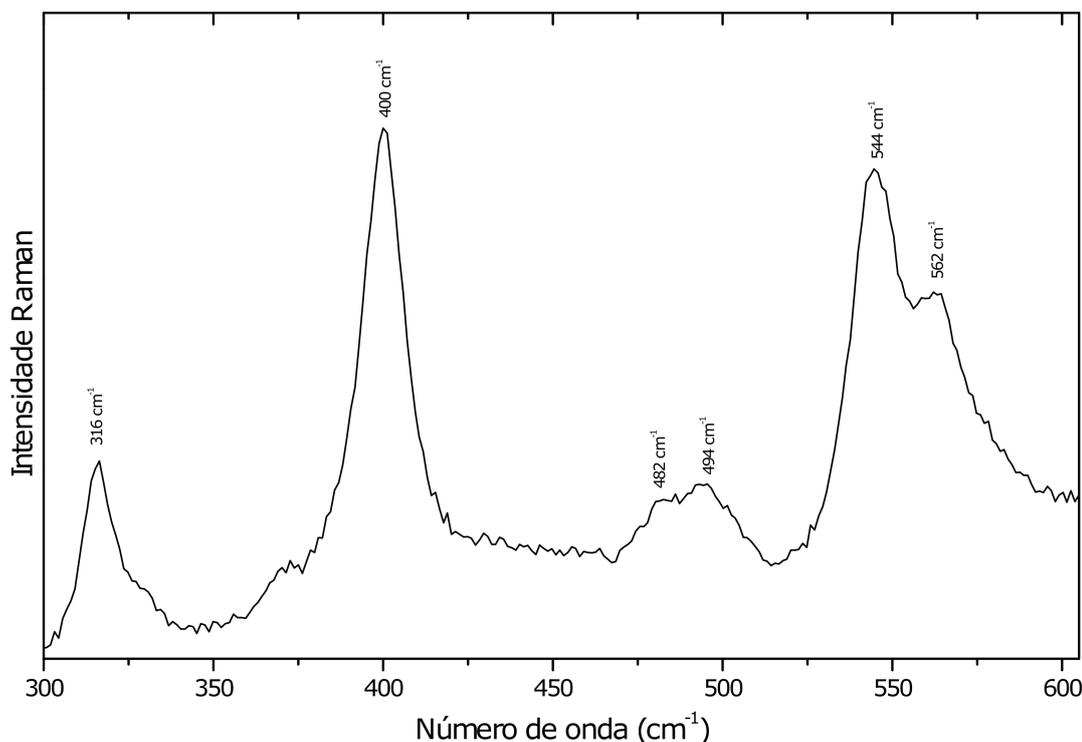


Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

5.3.2 Região entre 300 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

Foram observados 6 modos nessa região como mostrado na Figura 5.6. Os modos encontrados em 316 cm^{-1} e 400 cm^{-1} foram associados a deformações do esqueleto da molécula, $\delta(\text{esq})$, pois tal classificação foi atribuída a modos em posições espectrais semelhantes nos cristais de L-isoleucina [73] e L-valina [106]. O modo observado em 482 cm^{-1} no espectro do ácido DL-glutâmico monohidratado foi associada a uma vibração de torção do NH_3^+ , $\tau(\text{NH}_3^+)$. Tal vibração foi observada no ácido L-glutâmico em 470 cm^{-1} [81], no ácido DL-aspartico nitrato monohidratado em 460 cm^{-1} [120], na L-treonina em 497 cm^{-1} [121], na L-valina em 471 cm^{-1} [106] e na L-alanina em 481 cm^{-1} [122]. Como este modo indiretamente está relacionada com as ligações de hidrogênio, uma vez que estas ligações são do tipo $\text{N-H}\cdots\text{O-C}$, o seu comportamento com a pressão pode trazer informações interessantes acerca das ligações de hidrogênio na célula unitária. Em 495 cm^{-1} foi observado um modo, o qual foi classificado como sendo uma deformação do esqueleto da molécula $\delta(\text{esq})$, essa mesma atribuição foi dada a um modo centrado em 496 cm^{-1} no ácido L-glutâmico hidrocloreídrico [84]. Dois modos próximos centrados em 544 cm^{-1} e 562 cm^{-1} foram relacionados a vibração do tipo *rocking* do CO_2^- , $r(\text{CO}_2^-)$, uma vez que, estes foram observados em posição do espectro semelhante no cristal de L-valina [106] e no cristal de L-isoleucina [73], respectivamente.

Figura 5.6 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre $300\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ em pressão ambiente.



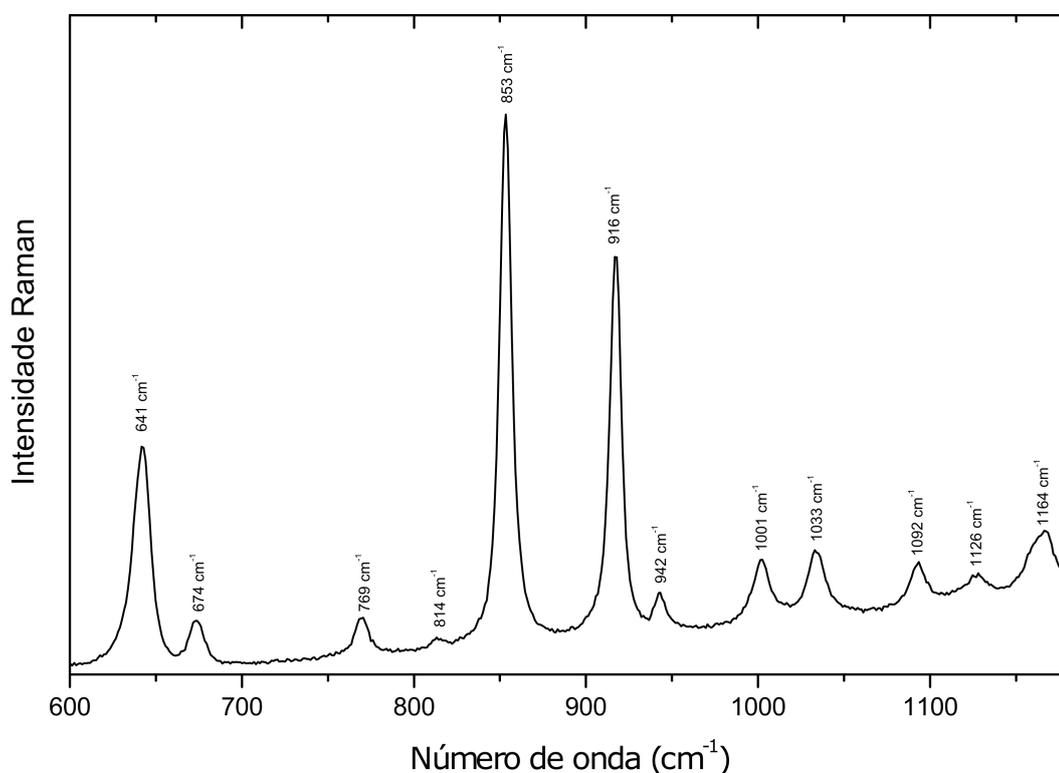
Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

5.3.3 Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Nesta região foram observados 12 modos vibracionais como mostrado na Figura 5.7. No intervalo espectral de 660 a 860 cm^{-1} foi possível observar deformações associadas às unidades CO_2 e CH_2 . Os dois primeiros modos estão centrados em 641 cm^{-1} e 671 cm^{-1} , respectivamente, e ambos foram classificados como uma deformação do grupo CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$, de acordo com a referência [81]. Os modos de baixa intensidade centrados em 769 cm^{-1} e 814 cm^{-1} foram identificados como *rocking* do CH_2 ($r\text{CH}_2$) em concordância com os resultados das referências [81] e [123], respectivamente. Um modo mais intenso em 853 cm^{-1} foi classificado como *rocking* do CH_2 , $r(\text{CH}_2)$, [123].

Entre 860 e 1100 cm^{-1} são esperadas vibrações de estiramento das unidades CC, CN e CO. Os modos localizados em 916 cm^{-1} e 1001 cm^{-1} , estão associados a vibrações do tipo estiramento do C-C, $\nu(\text{CC})$, pois essas vibrações foram observadas no cristal de ácido L-glutâmico hidrocloreídrico [84] e no ácido L-glutâmico dipeptídeo [123], respectivamente. Os modos em 942 cm^{-1} e 1033 cm^{-1} foram relacionados a deformação fora do plano da ligação O-H, $\gamma(\text{O-H})$ [81] e estiramento do CN, $\nu(\text{CN})$, [123]. Para o modo posicionado em 1092 cm^{-1} foi sugerida a atribuição de estiramento do CC, $\nu(\text{CC})$, uma vez que esse vibração foi observada em 1090 cm^{-1} no dipeptídeo ácido L-glutâmico [123]. Ambos os modos posicionados em 1126 cm^{-1} e 1164 cm^{-1} foram atribuídos ao *rocking* do NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$, esses resultados estão em concordância com as referências [81, 106, 123]

Figura 5.7 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 300-600 cm^{-1} em pressão ambiente.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

5.3.4 Região entre 1250 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} .

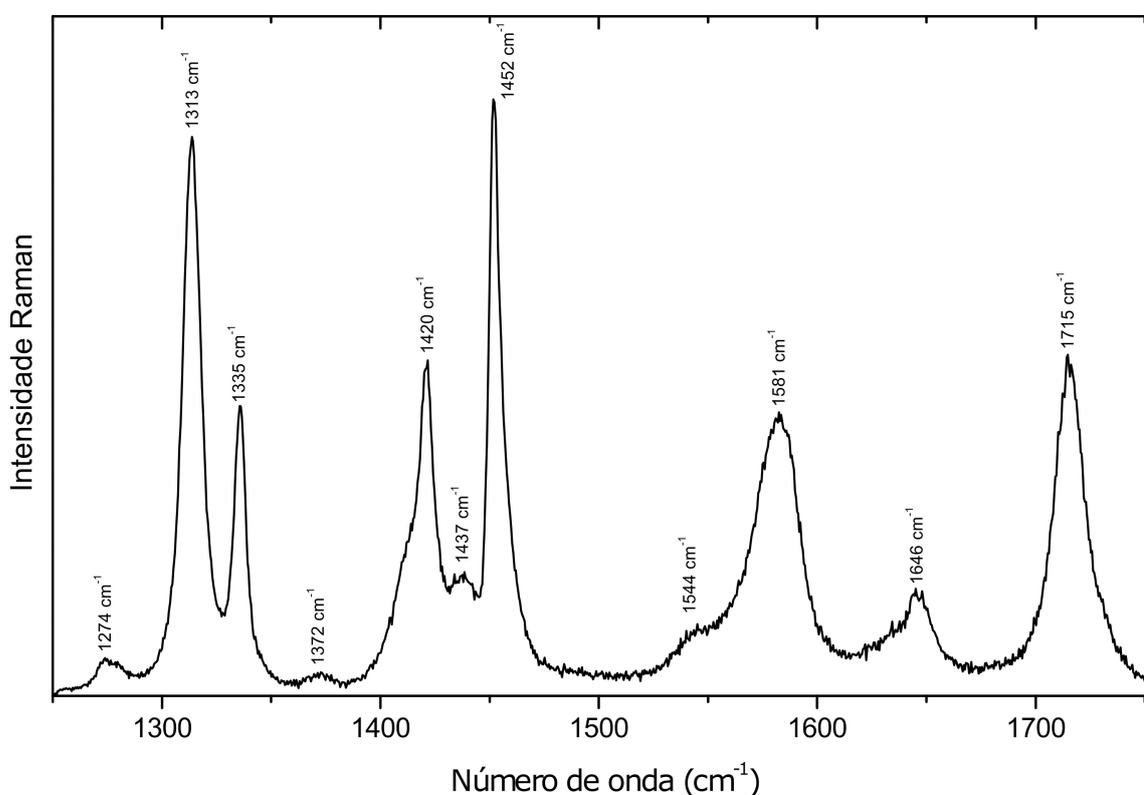
O espectro Raman em condições ambientes na região espectral de 1200 cm^{-1} à 1750 cm^{-1} é apresentado na Figura 5.8. O primeiro modo observado em torno de 1274 cm^{-1} foi associado a uma deformação do CH_2 , $\delta(\text{CH}_2)$, conforme a referência [80]. Os modos observados em aproximadamente 1313 cm^{-1} e 1335 cm^{-1} foram classificados como uma deformação do CH , $\delta(\text{CH})$, conforme sugestão das referências [80, 81]. Foi também observado um modo em torno de 1372 cm^{-1} que foi classificado como uma deformação do tipo *wagging* do CH_2 , $\delta(\text{CH})$, esta classificação também foi baseada na referência [81].

Continuando a análise encontramos o modo observado em aproximadamente 1420 cm^{-1} , a este foi dada a classificação de estiramento simétrico do CO_2^- , $\nu_s(\text{CO}_2^-)$. O modo de baixa intensidade centrado em 1437 cm^{-1} foi associado a uma deformação do CH_2 ; ambas as classificações anteriores tiveram apoio na referência [80]. É interessante destacar que apareceu um modo em 1452 cm^{-1} . De fato, nos trabalhos anteriores no ácido L-glutâmico [80, 81], não aparece nenhuma menção a este modo, portanto este foi classificado como deformação do CH_2 com o auxílio da referência [123], que o observou no ácido L-glutâmico dipeptídeo. O modo de baixa intensidade centrado em 1544 cm^{-1} não obteve atribuição,

uma vez que este não foi observado em nenhum dos trabalhos citados anteriormente.

O modo observado em aproximadamente 1581 cm^{-1} pode estar associado a uma deformação da molécula de água, $\delta(\text{H}_2\text{O})$, pois um trabalho realizado no cristal de L-asparagina monohidratada sugere o aparecimento desse modo em 1594 cm^{-1} [124]. Com o auxílio da referência [123] associamos os dois últimos modos observados nessa região em 1646 cm^{-1} e 1715 cm^{-1} a um estiramento antissimétrico do CO_2^- , $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$, e a um estiramento da carbonila $\text{C}=\text{O}$, $\nu(\text{C}=\text{O})$, respectivamente.

Figura 5.8 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre $1250\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$ em pressão ambiente.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

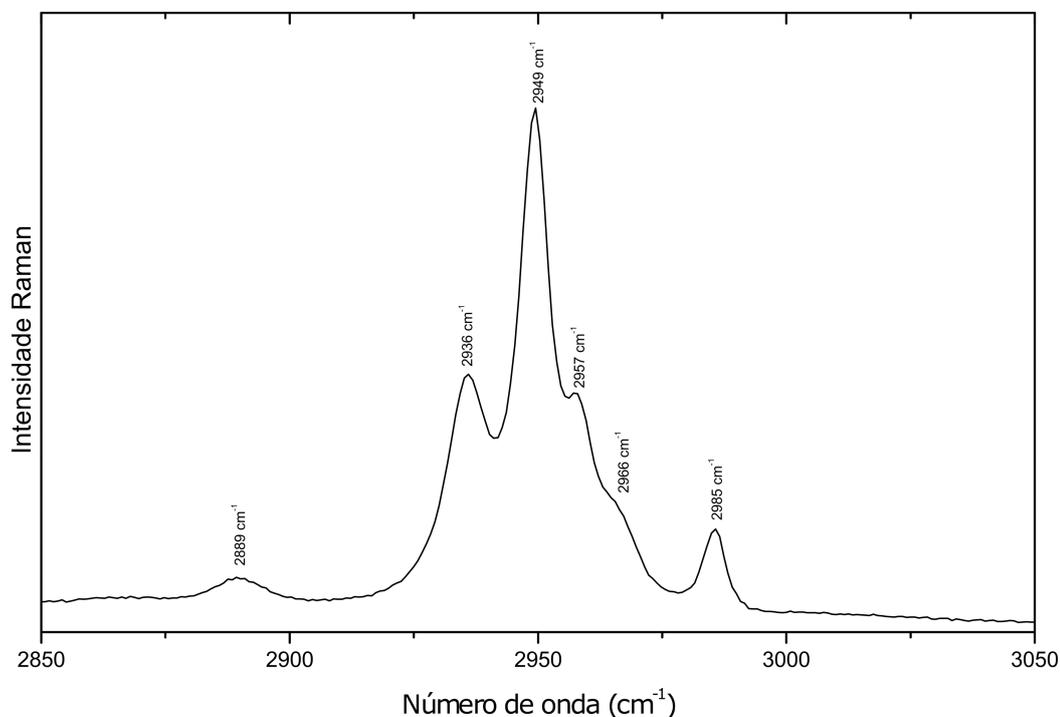
5.3.5 Região entre 2850 cm^{-1} e 3050 cm^{-1} .

Na Figura 5.9 apresenta-se o espectro Raman, em condições ambiente, obtido na região compreendida entre 2850 cm^{-1} e 3050 cm^{-1} . Nesta região são esperadas vibrações de estiramento das unidades CH , CH_2 , CH_3 , NH_3 .

Para essa região é possível observar 6 modos, dentre eles dois foram associados a vibrações do tipo estiramento simétrico do CH_2 em: 2889 cm^{-1} e 2936 cm^{-1} [125]. Um como estiramento antissimétrico do CH_2 em 2966 cm^{-1} [125]. Observou-se um estiramento antissimétrico do CH_3 em 2985 cm^{-1} [106]. Também estão presentes modos associados a

estiramentos do CH, $\nu(\text{CH})$, em: 2949 cm^{-1} e 2957 cm^{-1} . Tal associação foi realizada em acordo com as referências [106,125]

Figura 5.9 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre $2850\text{--}3050\text{ cm}^{-1}$ em pressão ambiente.

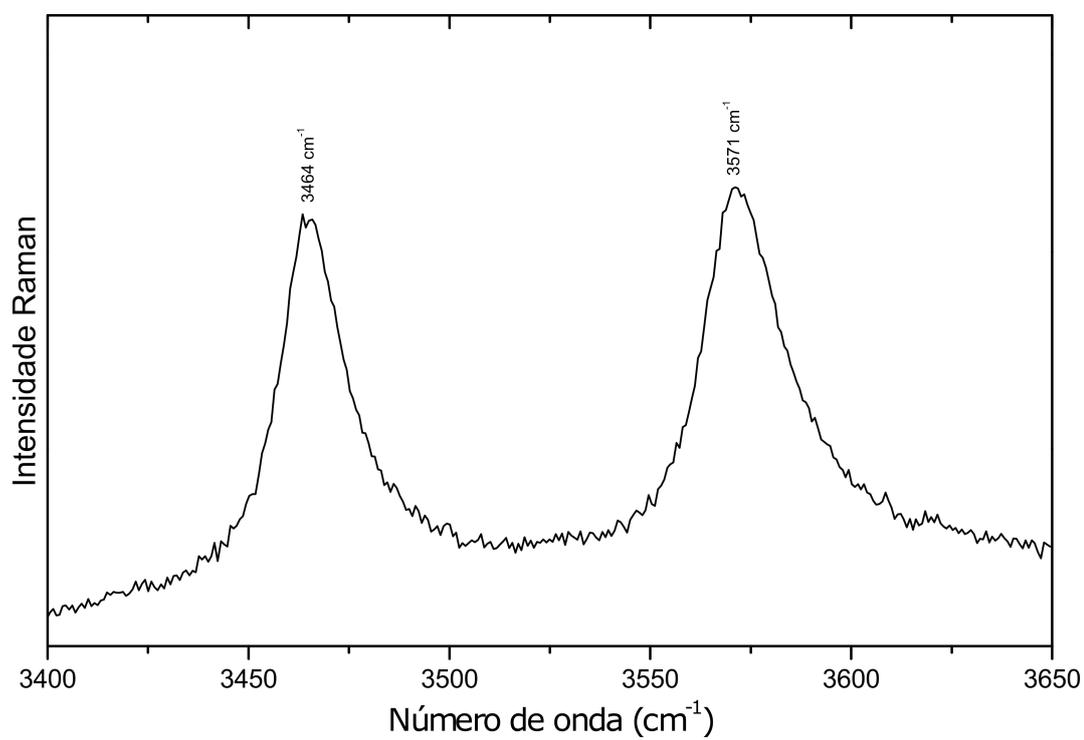


Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

5.3.6 Região entre 3400 cm^{-1} e 3650 cm^{-1} .

Os espectros Raman em condições ambiente, obtidos na região compreendida entre 3400 e 3650 cm^{-1} para o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado é apresentado na Figura 5.10. Dois modos Raman são observados em 3464 cm^{-1} e 3571 cm^{-1} os quais foram relacionados a vibração de estiramento simétrico e antissimétrico do H_2O , respectivamente. Uma vez que modos em posições semelhantes foram observados em outros aminoácidos que contém moléculas de água em suas células unitárias tais como a L-asparagina monohidratada [124], onde esses modos foram observados em 3401 cm^{-1} e 3461 cm^{-1} , e a L-lisina monohidroclorídrica dihidratada [125], onde percebeu-se esses modos em 3358 cm^{-1} e 3497 cm^{-1} .

Figura 5.10 – Espectro Raman do cristal ácido DL-glutâmico monohidratado na faixa espectral entre 3400-3650 cm^{-1} em pressão ambiente.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

6 Resultados no cristal de Ácido DL-glutâmico monohidratado sob altas pressões

Neste capítulo serão apresentados os resultados de espectroscopia Raman no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado submetido a altas pressões com o intuito de investigar a ocorrência de possíveis transições de fase. Os espectros Raman obtidos, registrados entre 50 e 3750 cm^{-1} , indicam fortes modificações no número de modos, bem como descontinuidades do gráfico de número de onda *versus* pressão. Tais modificações foram interpretadas como três transições de fase sofridas pelo cristal. A primeira entre 0,7 e 0,9 GPa, a segunda entre 3,8 e 4,8 GPa, evidenciou conformações envolvendo unidades CO_2^- , NH_3^+ e as moléculas de água, e entre 11,8 e 12,4 GPa, envolveu várias partes da molécula de ácido glutâmico, bem como as moléculas de água, onde estas, parecem desempenhar papel importante na estabilidade estrutural desse material. Além disso, todas as transições observadas foram reversíveis.

6.1 Região espectral entre 50 cm^{-1} e 300 cm^{-1} .

A Figura 6.1a apresenta espectros Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50 cm^{-1} e 300 cm^{-1} desde a pressão ambiente até 14,3 GPa. Variações bruscas de intensidade ou posição podem ser percebidos em todas as bandas que compõem essa região, entre 0,7 e 0,9 GPa. Principalmente para os modos marcados como 2 e 3, ambos apresentavam-se com baixa intensidade no espectro de pressão ambiente e após 0,7 GPa tornaram-se bastante intensos. Chama-se a atenção também para os modos 4 (modo de rede) e 5 ($\tau(\text{CH})$), ambos não aparecem para pressões acima de 0,9 GPa. Por outro lado, dois novos modos indicados por 4a e 5a podem ser claramente percebidos nessa mesma faixa de pressão.

Nos espectros entre 0,9 e 4,8 GPa, mudanças significativas podem ser observadas na região dos modos de rede, particularmente para os primeiros três modos centrados em 67, 93 e 117 cm^{-1} . Dois desses, marcados como 1 e 2, sofrem redução de intensidade, ambos podem ser acompanhados até 3,8 GPa. Já o modo indicado por 3 ganha intensidade e sofre um deslocamento para maiores valores de frequência entre 3,8 e 4,8 GPa. É importante a análise dos espectros entre 3,8 e 4,8 GPa, pois além das modificações já mencionadas, percebe-se o aparecimento de cinco novas bandas na região dos modos externos (indicados por “triângulo”, 1a, 2a, 2b e 4b, respectivamente) e uma nova banda (indicada como

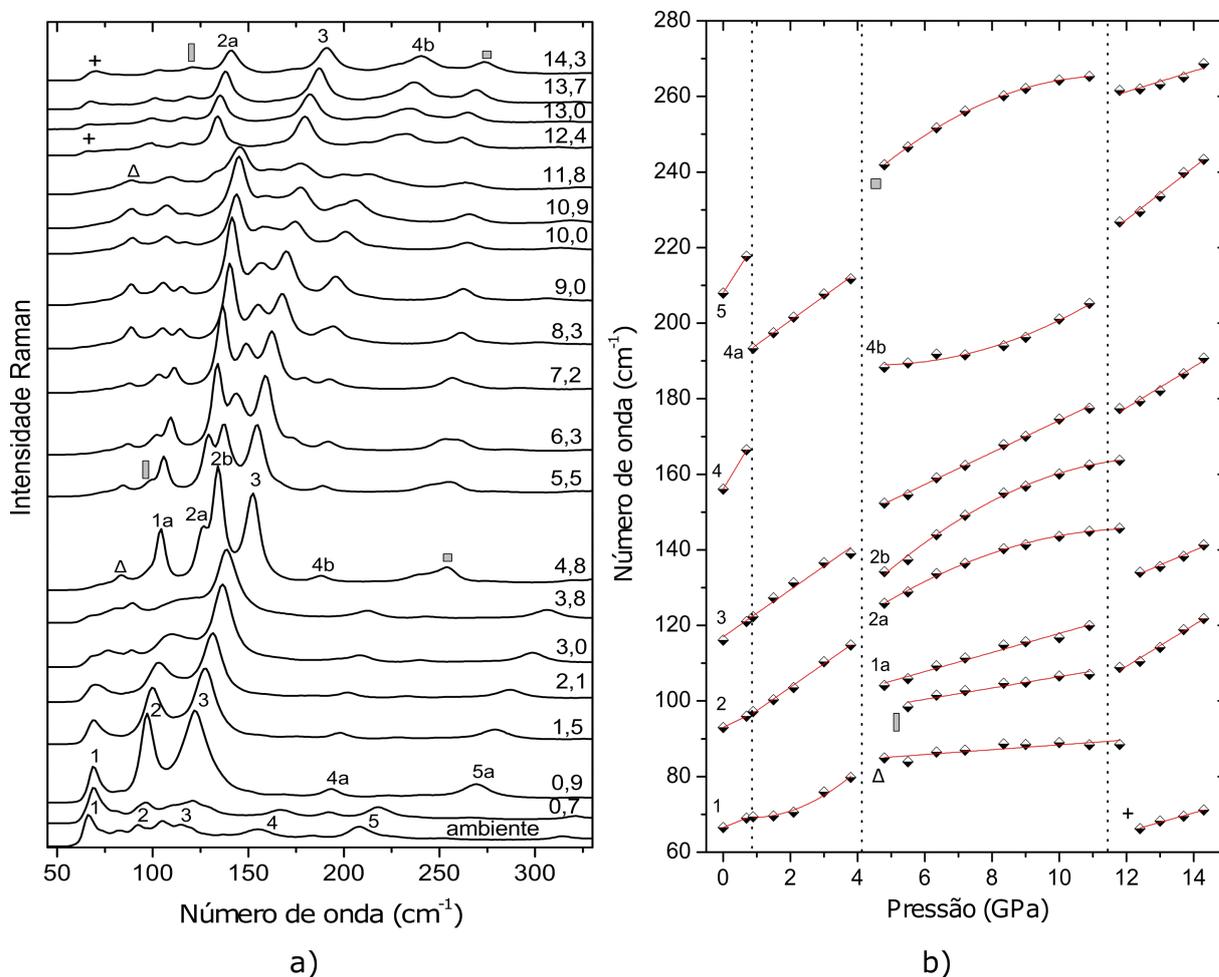
“quadrado”) centrada em $\sim 254 \text{ cm}^{-1}$.

Os modos 2a e 4b aumentam a intensidade na faixa de pressão de 4,8 a 11,8 GPa, enquanto o modo 3 apresenta redução de intensidade nessa mesma faixa, no entanto, tal modo volta a ganhar intensidade no espectro de 12,4 GPa e permanece até o final do experimento. Uma nova banda de baixa intensidade, indicada como “retângulo”, pode ser observada entre 4,8 e 5,5 GPa. Esta ganha intensidade com o aumento da pressão, quando o espectro de 11,8 GPa é alcançado, tal banda volta a perder intensidade, mas foi possível acompanhá-la até 14,3 GPa. O modo 4a possui baixa intensidade no espectro de 3,8 GPa, quando a pressão de 4,8 GPa é atingida este não pôde ser visto. Como esse modo é atribuído a uma torção do CO_2 , $\tau(\text{CO}_2^-)$, nota-se que a extremidade da molécula demonstra grandes mudanças [81]. De fato, o espectro de 4,8 GPa apresenta variações relacionadas à intensidade relativa das bandas durante a faixa de pressão aplicada de 4,8 a 11,8 GPa. Quando 12,4 GPa é atingido, um novo padrão de espectro Raman pode ser observado. Esse padrão é mantido até 14,3 GPa. Como as modificações acima ocorrem na região espectral associada aos modos de rede, podemos antecipar três transições de fase estruturais sofridas pelo cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado. A correlação com os modos internos será abordada nas seções seguintes.

A Figura 6.1b apresenta outra importante indicação de transição de fase, a inclinação da curva ($d\omega/dP$). Geralmente, o desvio de $d\omega/dP$ está associado à ocorrência de transição de fase [50, 59, 87]. Três descontinuidades em aproximadamente 0,9, 4,8 e 12,4 GPa são observadas nestes espectros Raman para todas as bandas nessa região.

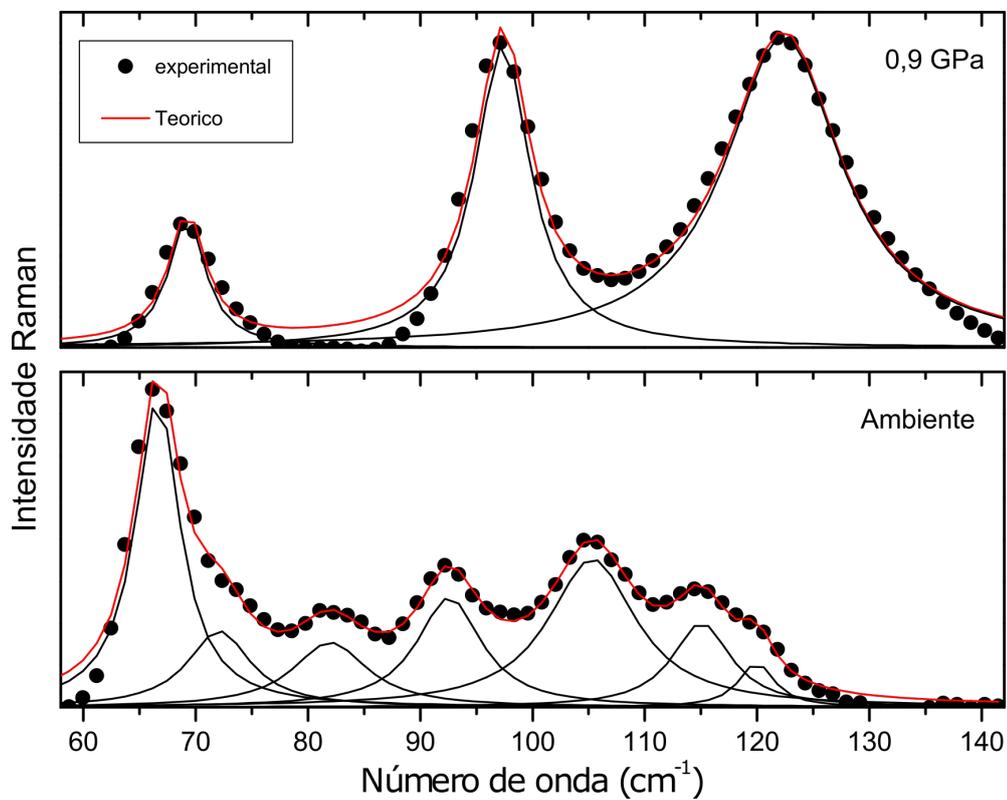
A fim de esclarecer as mudanças entre os espectros de pressão ambiente e 0,9 GPa, uma vez que estes espectros apresentam grande diferença na intensidade relativa em relação à região dos modos de rede, apresentamos a Figura 6.2. Nesta nota-se que em condições ambientes a região entre 50 e 145 cm^{-1} contém vários modos de baixa intensidade. No entanto, o espectro de 0,9 GPa apresenta apenas 3 modos, sendo que dois deles possui alta intensidade relativa, justificando assim a primeira transição.

Figura 6.1 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-300 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 6.2 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-145 cm^{-1} para os valores de pressão ambiente e 0,9 GPa. No espectro pontilhado é apresentado o resultado experimental, as linhas em preto representam os ajustes em cada modo e a linha em vermelho a soma dos ajustes.



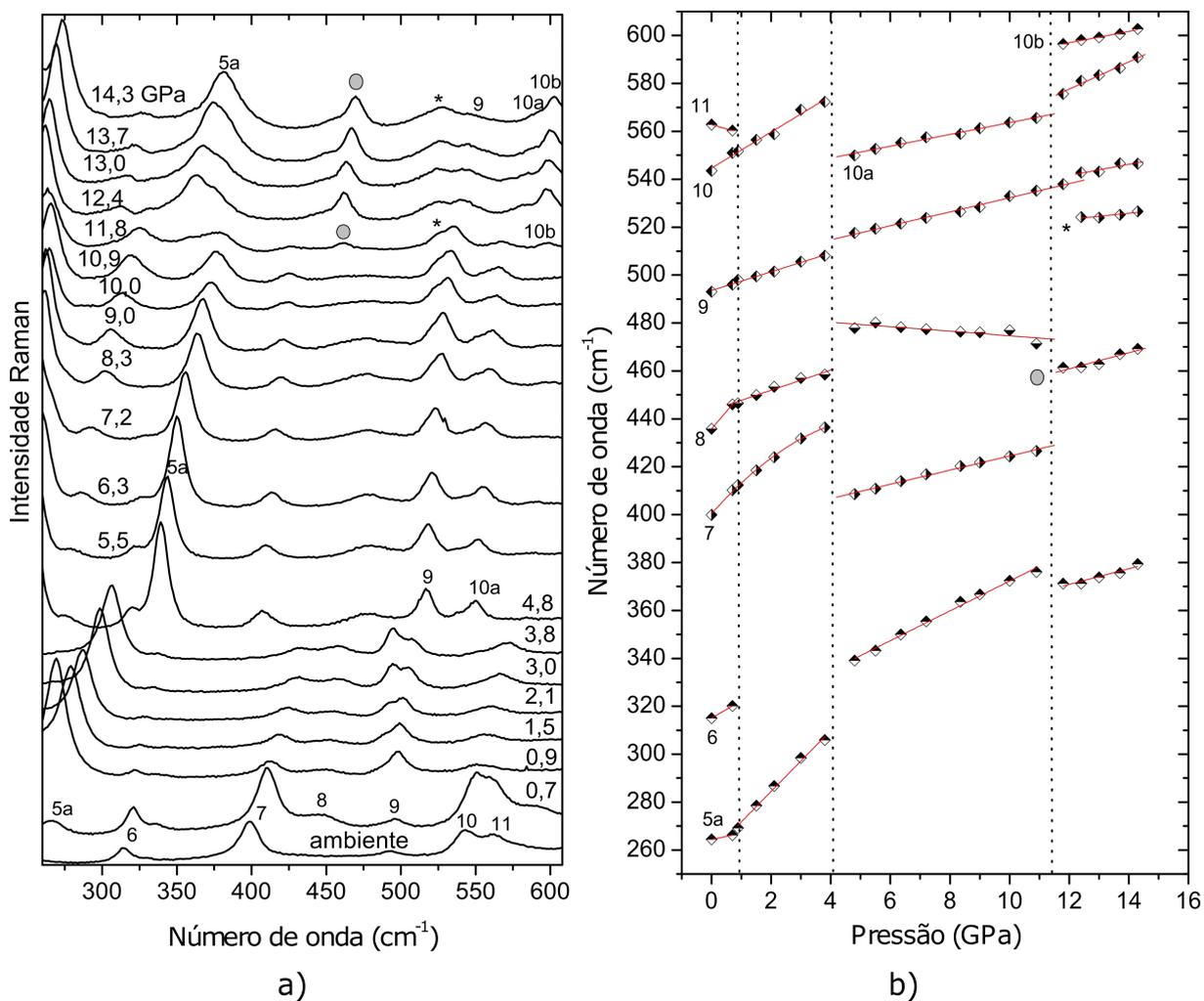
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

6.2 Região espectral entre 250 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

A Figura 6.3a mostra vários espectros Raman do cristal do ácido DL-glutâmico monohidratado desde a pressão ambiente até 14,3 GPa na região espectral entre 260 cm^{-1} e 609 cm^{-1} . É notável as mudanças espectrais em 0,9, 4,8 e 12,4 GPa, como observado na região dos modos de rede. Vibrações associadas ao esqueleto das moléculas, NH_3^+ , COOH e unidades do CO_2^- , caracterizam esta região espectral [81, 110]. O modo em torno de 264 cm^{-1} (modo 5a), atribuído à vibração do esqueleto da molécula, apresentou ganho brusco de intensidade entre 0,7 e 0,9 GPa e deslocamento para maiores valores de frequência, $\sim 34\text{ cm}^{-1}$ de 3,8 para 4,8 GPa. Em 12,4 GPa, o mesmo se divide e pôde ser acompanhado até 14,3 GPa. Em 0,9 GPa os modos de deformação do esqueleto (modo 7) e torção do grupo NH_3^+ (modo 9), apresentam perda e ganho de intensidade, respectivamente. Em 4,8 GPa, o modo marcado como 9 sofre um deslocamento para maiores valores de frequência e ganha intensidade. Em 12,8 GPa, esse modo se divide, onde há o aparecimento do modo marcado com uma “estrela”, e ambos permanecem até 14,3 GPa. Em 545 cm^{-1} e 562 cm^{-1} no espectro ambiente, pode-se ver dois modos, indicados com 10 e 11, atribuídos a vibração do tipo *rocking* do (CO_2^-), quando a pressão de 0,9 GPa é atingida apenas um deles pôde ser ajustado (modo 10) e com intensidade bastante reduzida. Este pôde ser acompanhado até o espectro de pressão de 4,8. Nesse mesmo espectro, nota-se o surgimento de uma banda (10a) que persiste, mesmo com baixa intensidade até o último valor de pressão estudado.

Por fim, o surgimento dos modos marcados como “círculo” e 10b entre 11,8 e 12,4 GPa, o primeiro deles, atribuído à vibração do NH_3^+ ou mesmo ao CO_2^- . Todos esses resultados mostram mudanças relacionadas às unidades participantes das ligações de hidrogênio para todas as transições. A Figura 6.3b apresenta a dependência do número de onda com a pressão, em que as descontinuidades de 0,9, 4,8 e 12,4 GPa também ajudam a confirmar as transições.

Figura 6.3 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 250-600 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

6.3 Região espectral entre 600 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} .

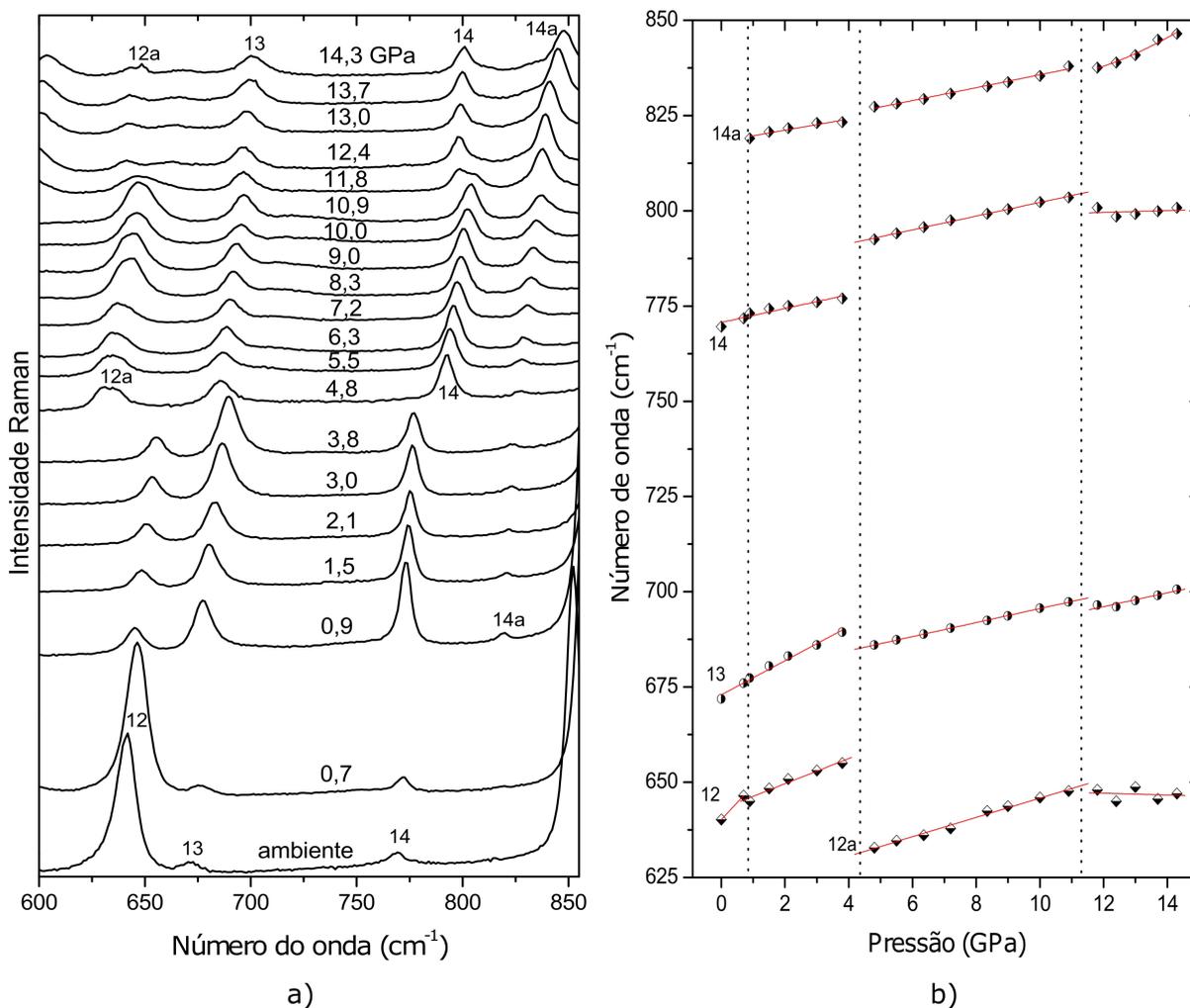
Os espectros Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} na faixa de pressão desde ambiente até $14,3\text{ GPa}$ são apresentados nas Figuras 6.4a, 6.5a e 6.6a. Optamos por analisar essa região dividindo-a em três partes devido à alta intensidade relativa do modo centrado em 859 cm^{-1} , o que dificultava a análise dos modos próximos. Nesta região, encontramos modos relacionados a unidades de estiramento de CO_2^- , NH_3^+ e C-C.

As primeiras modificações observadas nessa região devido ao aumento da pressão são percebidas no comportamento dos modos 12 e 13 relacionados à deformações do grupo CO_2^- . Tais modos apresentam comportamento oposto com relação à intensidade relativa, quando o espectro de $0,9\text{ GPa}$ é alcançado, ou seja, enquanto o modo 12 perde bastante intensidade o oposto ocorre ao modo 13. Nota-se também que o modo 13 desloca-se para menores valores de frequência ao atingir-se $4,8\text{ GPa}$, já o modo 12 não pôde ser observado nesse valor de pressão. O modo indicado como 14, relacionado a vibração do tipo $r(\text{CH}_2)$, apresenta comportamento semelhante ao modo 13; ganho expressivo de intensidade em $0,9\text{ GPa}$, no entanto, sofre um deslocamento para maiores valores de frequência entre $3,8$ e $4,8\text{ GPa}$. Este permanece praticamente sem alterações até o espectro de $11,8\text{ GPa}$, onde tal modo apresenta redução de intensidade e deslocamento para menores valores de frequência. Ainda no espectro de $0,9\text{ GPa}$ pode-se perceber o aparecimento de uma banda de baixa intensidade indicada como 14a, esta ganha intensidade com a compressão e pode ser observada até o maior valor de pressão atingido.

O modo mais intenso dessa região em torno de 852 cm^{-1} (modo 15), atribuído ao *rocking* do CH_2 , $r(\text{CH}_2)$, perde intensidade durante a compressão, mas permanece até $14,3\text{ GPa}$. Os modos, marcados como 16 e 18, envolvendo o estiramento do C-C, apresentam perda e ganho de intensidade, respectivamente, entre $0,7$ e $0,9\text{ GPa}$. Após essa faixa de pressão o modo 18 sofre poucas alterações com a compressão, apenas ganho de intensidade quando $4,8\text{ GPa}$ é atingido e deslocamento para valores menores de frequência em $11,8\text{ GPa}$. Por outro lado, o modo 16 não pôde ser observado no espectro de $4,8\text{ GPa}$, dando lugar a uma nova banda indicada como 16a, esta permanece até $14,3\text{ GPa}$. O modo centrado em 1168 cm^{-1} (marcado como 19) atribuído a uma vibração de $r(\text{NH}_3^+)$, apresenta-se no espectro inicial como uma banda larga, quando $0,9$ é alcançado este torna-se intenso permanecendo quase sem alterações até $3,8\text{ GPa}$. Então divide-se em dois modos de baixa intensidade (18a e 19a) quando a pressão atinge $4,8\text{ GPa}$; ambos foram observados até o espectro de $11,8\text{ GPa}$. Deve-se notar também o aparecimento de duas bandas (18b e 19b) de certa intensidade que surgiram no espectro de $11,8\text{ GPa}$, tais bandas ganham intensidade e são acompanhadas até o último valor de pressão estudado. Como descrito acima, para essa região espectral um grande número de mudanças ocorre

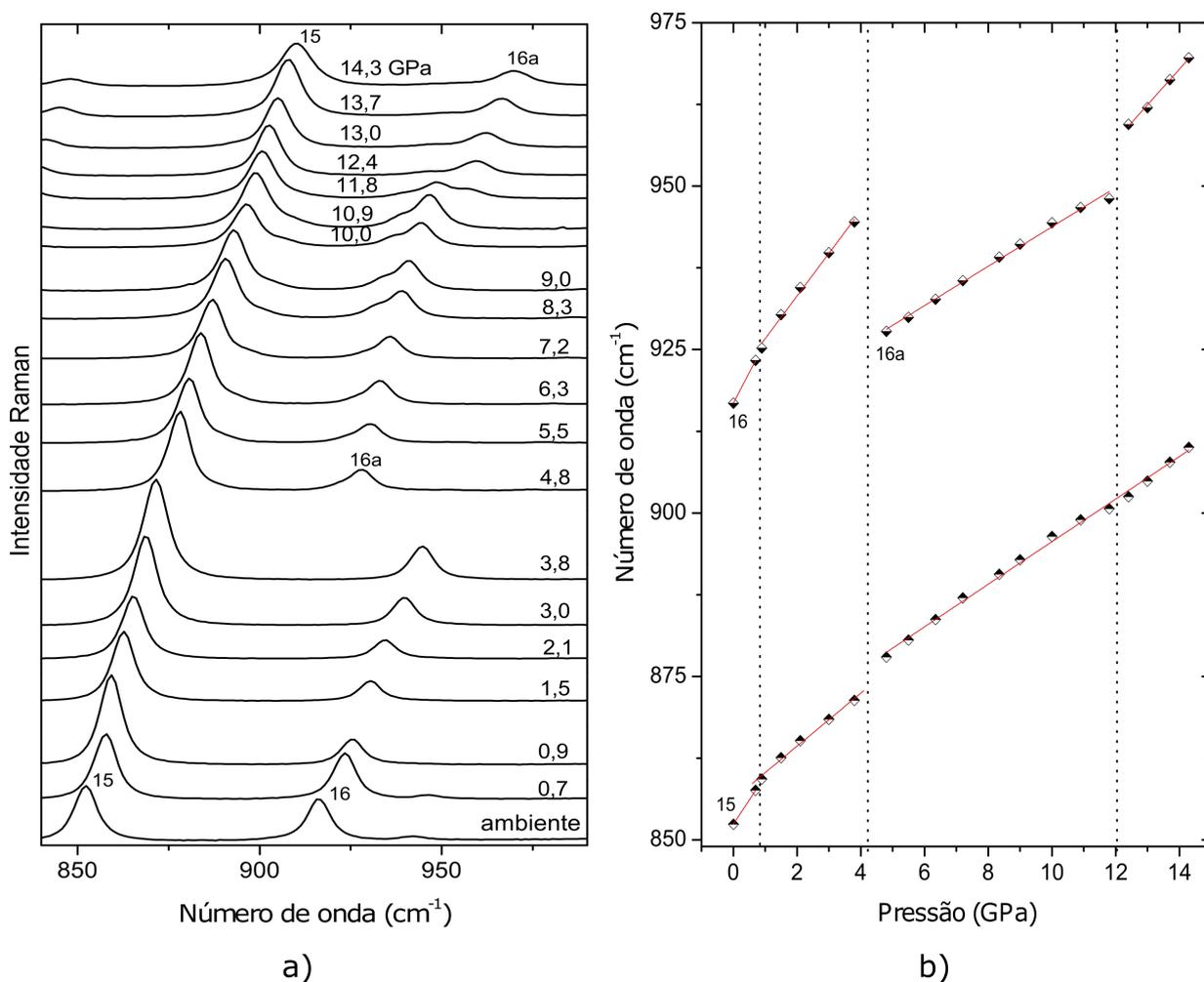
em 0,9, 4,8 e 12,4 GPa, confirmando assim as transições observadas na região dos modos de rede. Os efeitos das transições de fase também podem ser vistos por descontinuidades no gráfico do número de onda *versus* pressão nas Figuras 6.4b, 6.5b e 6.6b.

Figura 6.4 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 600-850 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



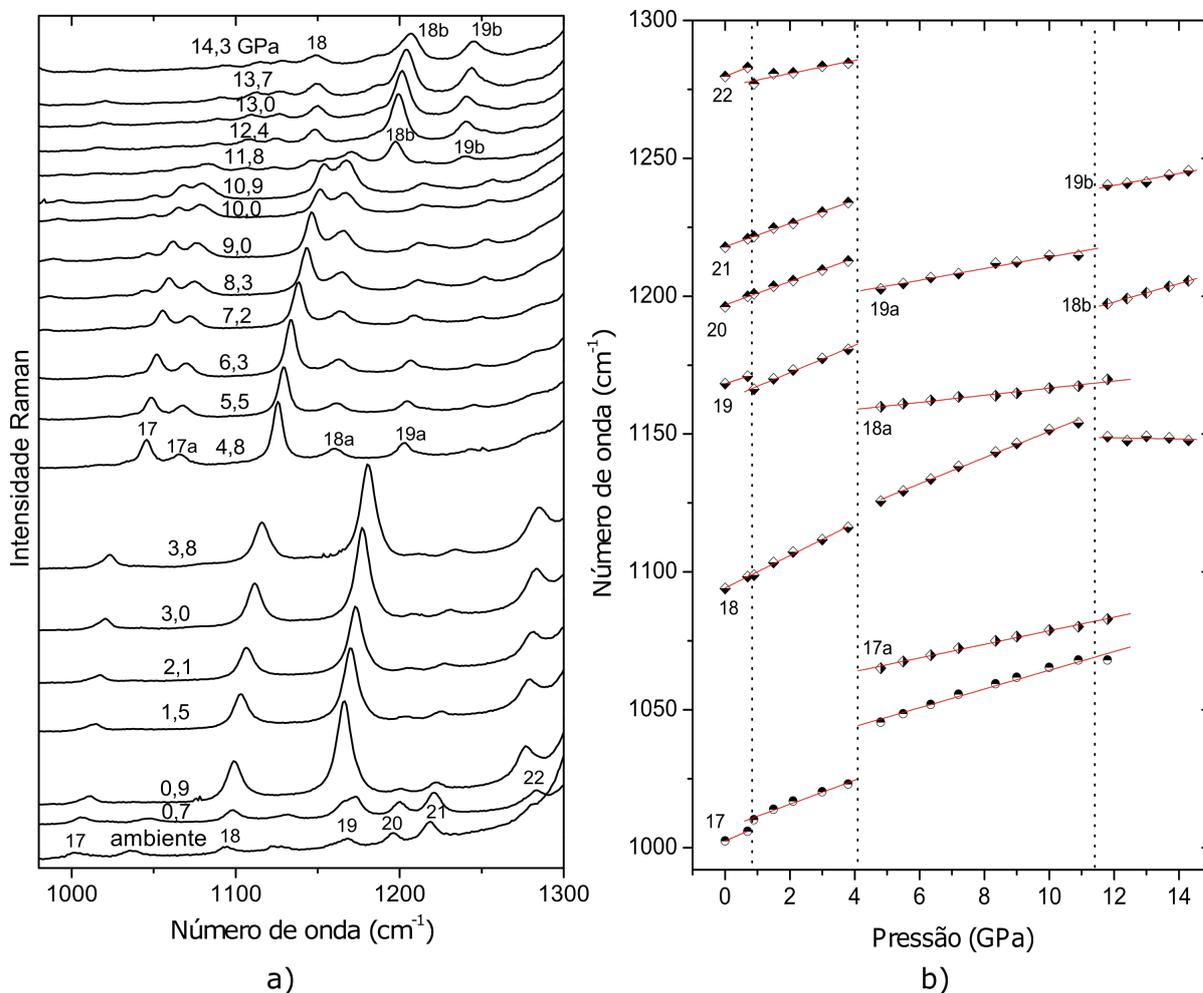
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 6.5 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 850-980 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 6.6 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 1000-1300 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

6.4 Região espectral entre 1370 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

Os espectros do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado desde a pressão ambiente até $14,3\text{ GPa}$, na região espectral de 1370 cm^{-1} à 1800 cm^{-1} são apresentados na Figura 6.7a. Na faixa de pressão em que a primeira transição ocorre, entre $0,7$ e $0,9\text{ GPa}$, observa-se a nítida mudança na intensidade dos modos de estiramento do CH_2 , modo 24, deformação da molécula de H_2O , modo 25, e estiramento do $\text{C}=\text{O}$, modo 27. Enquanto o modo de estiramento do CH_2 ganha intensidade abruptamente, o estiramento do $\text{C}=\text{O}$ perde intensidade, já a banda de deformação do OH ganha intensidade, mas permanece larga.

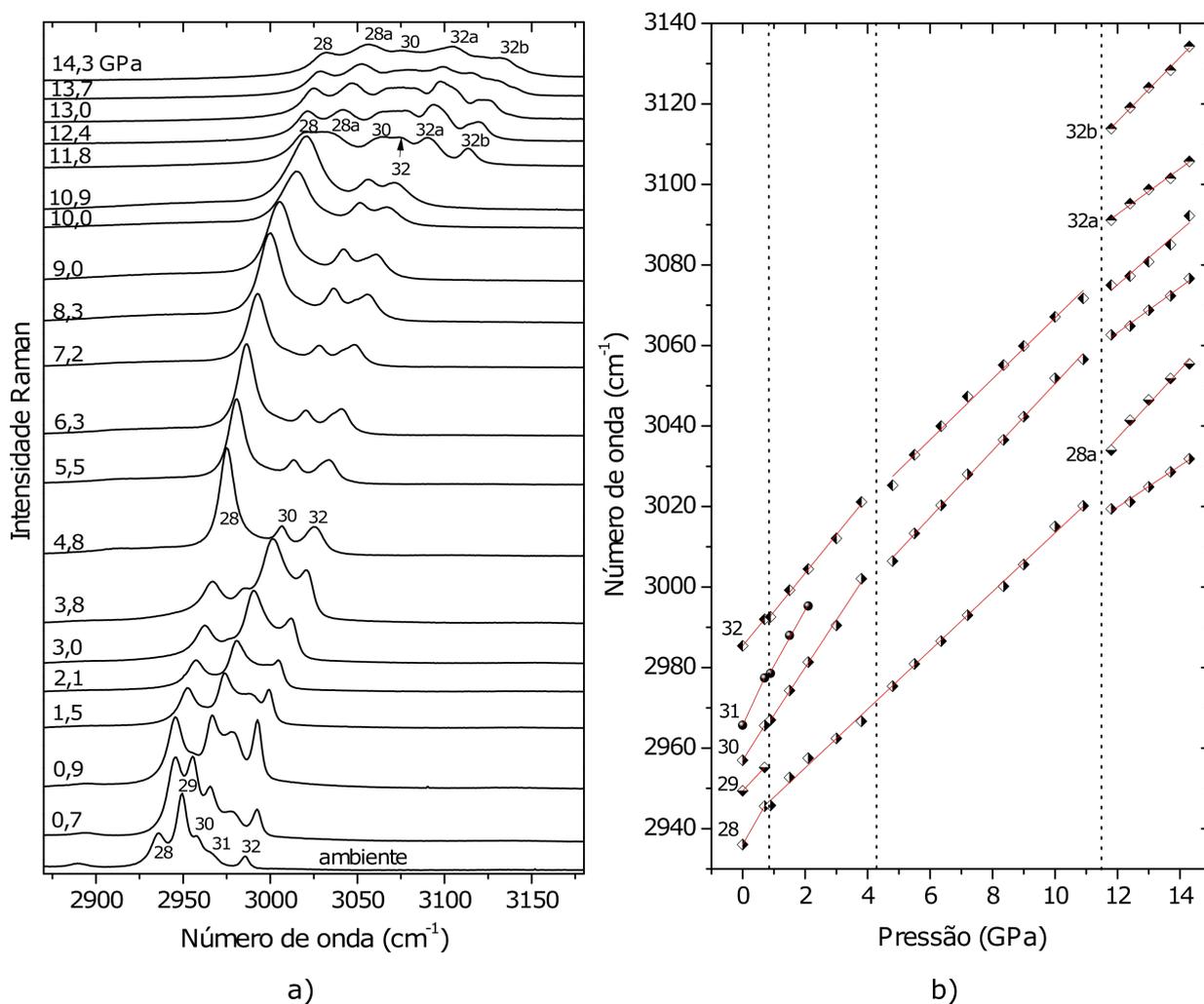
Antes da pressão de $4,8\text{ GPa}$ ser alcançada, onde ocorre a segunda transição de fase, os modos marcados como W e 23 apresentam aumento e diminuição de intensidade, respectivamente, na faixa de pressão $2,1 - 3,8\text{ GPa}$. Nessa mesma faixa, o modo marcado como 24 sofre uma diminuição de intensidade e um alargamento. Esses comportamentos podem ser correlacionados com as pequenas mudanças observadas na região dos modos de rede relacionados às ligações de hidrogênio. Quando $4,8\text{ GPa}$ é atingido, dois novos modos são observados (L e M) e o modo 24 se estreita novamente. De 1500 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} , todos os modos sofrem deslocamento para valores de menor frequência, quando a pressão atinge $4,8\text{ GPa}$. O aparecimento de três novos modos observados no espectro de $11,8\text{ GPa}$ (marcados com 24a, 25a e 27a) corroboram para a confirmação da terceira transição de fase. Pode-se citar também o aparecimento de um modo de baixa intensidade marcado como 26a, este pode ser visto de maneira clara em $11,8\text{ GPa}$. Além disso, todos os outros modos sofrem modificações tais como a junção dos modos M e 24, o ganho de intensidade do modo 23, e o desaparecimento do modo 26. Portanto, a terceira transição de fase causa fortes mudanças em várias partes das moléculas de ácido glutâmico. Em $12,4\text{ GPa}$, percebe-se o desaparecimento do modo 27, apenas com essa exceção, o espectro é semelhante ao de $11,8\text{ GPa}$. Esse padrão permanece até $14,3\text{ GPa}$. A Figura 6.7b mostra o gráfico de número de onda *versus* pressão para os modos nessa região, que apresentam descontinuidades em torno dos dois pontos de transição de fase mencionados.

6.5 Região espectral entre 2870 cm^{-1} e 3180 cm^{-1} .

A Figura 6.8a apresenta espectros Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral compreendida entre 2870 cm^{-1} e 3180 cm^{-1} nos intervalos de pressão ambiente à 14,3 GPa. No espectro ambiente pode-se observar cinco modos, ao se atingir 0,9 GPa, nota-se a presença de apenas quatro modos com uma configuração distinta da inicial, uma vez que o modo de maior intensidade (modo 29), relacionado ao estiramento do CH, desaparece, no entanto, nesse mesmo valor de pressão outro modo de estiramento do CH (modo 32) ganha intensidade.

Com exceção ao modo 31 que perdeu intensidade ou mesclou ao modo 30 entre 2,1 e 3,8 GPa, a configuração do espectro obtida em 0,9 GPa permanece até 3,8 GPa. Em 4,8 GPa pode-se ver apenas três modos e sua intensidade relativa é bem diferente daquela observada no espectro de 0,9 GPa. Nenhuma mudança espectral significativa foi observada na faixa de pressão de 4,8 GPa à 10,9 GPa. Por outro lado, a divisão do modo 28 em (28 e 28a) e o surgimento de dois novos modos, marcadas com 32a e 32b, são percebidos quando se alcança 11,8 GPa. Para pressões superiores a 11,8 GPa os novos modos observados se dividem e o espectro de 14,3 GPa apresenta modos largos e de baixa intensidade. Encontramos nessa região altos coeficientes de inclinação e descontinuidades nos valores de pressão em cerca de 4,8 e 12,4 GPa, como observado nas regiões analisadas anteriormente.

Figura 6.8 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 2870-3180 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



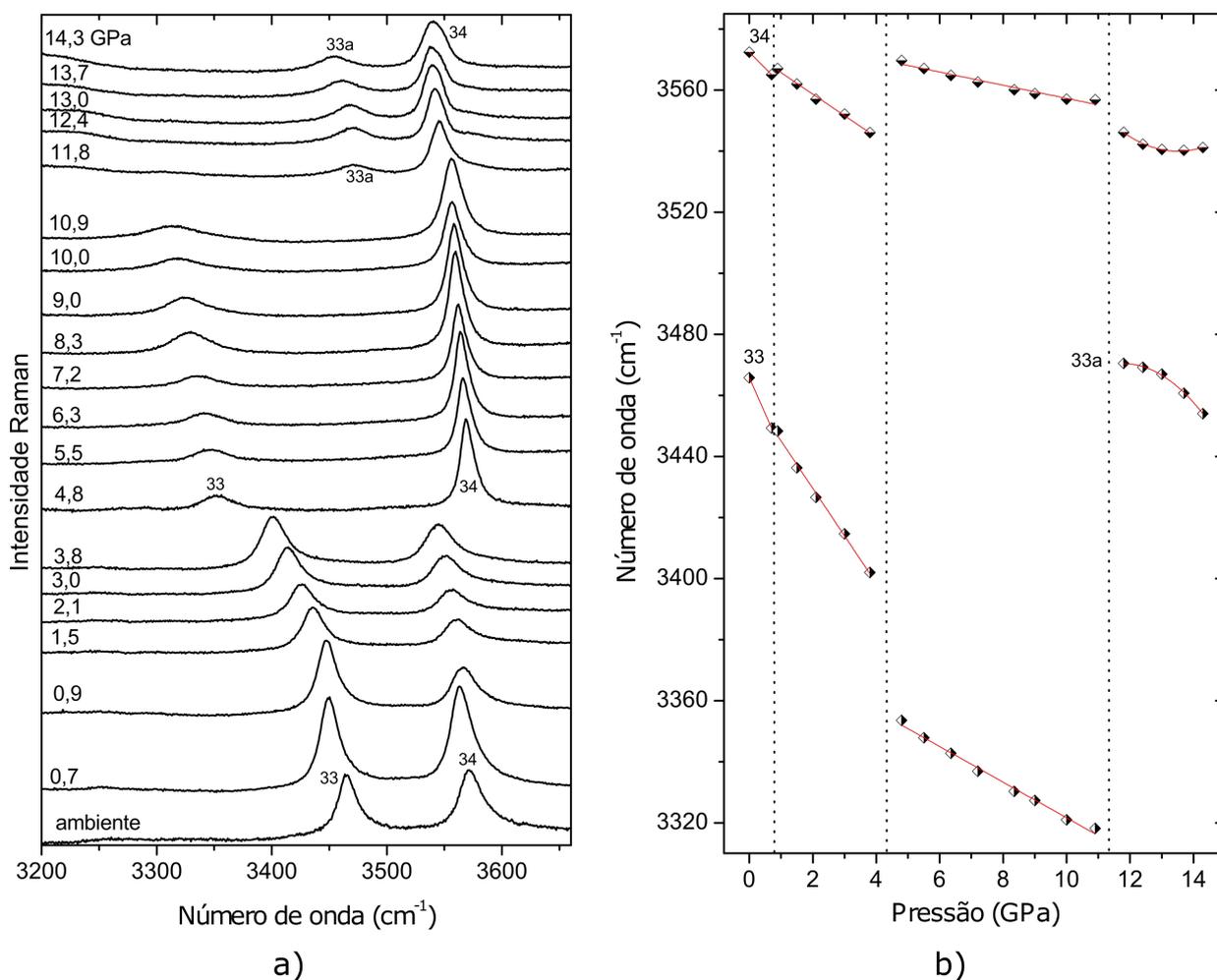
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

6.6 Região espectral entre 3200 cm^{-1} e 3750 cm^{-1} .

Apenas dois modos são observados na região espectral de 3200 cm^{-1} à 3750 cm^{-1} , a evolução espectral desses, desde $0,9\text{ GPa}$ até $14,3\text{ GPa}$ é mostrada na Figura 6.9a. Os modos nomeados como 33, centrado em 3463 cm^{-1} , e 34, centrado em 3573 cm^{-1} , representam o estiramento simétrico e antissimétrico associado à molécula de água. Como já mencionado no capítulo 5, aminoácidos que contém água na célula unitária apresentam esses modos em posições do espectro Raman semelhante, tais como o cristal de L-asparagina monohidratada, no qual os modos 33 e 34 foram observados em torno de 3401 cm^{-1} e 3461 cm^{-1} , já o cristal de L-lisina monohidroclorida dihidratada os apresentou em 3358 cm^{-1} e 3497 cm^{-1} . Pode-se perceber que a posição desses modos varia nesses cristais.

Isso mostra que a intensidade das interações das ligações de hidrogênio desempenha um papel fundamental nos modos vibracionais relacionados à molécula de água. Portanto, seria esperado o deslocamento dos modos 33 e 34 durante a compressão, para o ácido DL-glutâmico monohidratado, já que a interação entre as moléculas de água e de ácido glutâmico é diferente, por exemplo, daquelas apresentadas pela L-asparagina monohidratada [124] e pela L-lisina dihidratada [125]. No entanto, alguns pontos merecem atenção especial. O primeiro diz respeito ao deslocamento para menores número de onda de ambos os modos nas faixas de pressão entre $0,9\text{ GPa}$ e $3,8\text{ GPa}$, entre $4,8\text{ GPa}$ e $10,9\text{ GPa}$ e entre $11,8\text{ GPa}$ e $14,3\text{ GPa}$. O segundo ponto que mencionaremos aqui é o deslocamento inverso sofrido pelos modos quando os espectros de $4,8\text{ GPa}$ e $11,8$ são atingidos. Em outras palavras, enquanto o modo 33 sofre um salto e uma queda de número de onda, respectivamente, em $4,8$ e $11,8\text{ GPa}$, o inverso ocorre ao modo 34. Como será mostrado na seção de discussão de resultados, esse comportamento é intrínseco à interação molecular. Também nota-se mudanças na intensidade relativa dos dois modos quando a primeira transição ocorre. A Tabela 6.1 apresenta a posição e a atribuição de alguns modos, nas duas primeiras colunas, respectivamente. Além disso o valor dos coeficientes α e β entre a faixas de pressão onde as transições foram observadas também são mostrados.

Figura 6.9 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 3200-3750 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

6.7 Discussão dos resultados

A região espectral que vai de 0 até aproximadamente 150 cm^{-1} destaca o caráter das bandas associadas aos modos da rede, como já discutido. Estes modos são importantes pois carregam informações sobre a simetria da célula unitária do sistema, e quando submete-se o cristal a variações de pressão, é possível verificar-se mudanças no número de modos, isto é um forte indício de que a simetria do cristal sofreu alterações, originando o que denominamos de transição de fase estrutural. Nossos resultados indicam modificações nos modos de rede em três faixas de pressão. A primeira entre 0,7 e 0,9 GPa, a segunda entre 3,8 e 4,8 GPa e a terceira entre 11,8 GPa e 12,4 GPa.

Na primeira faixa de pressão citada observamos algumas modificações, tais como ganho de intensidade dos modos indicados por 1, 2 e 3, o desaparecimento do modo 4 e o surgimento do modo 4a. Na faixa de pressão onde ocorre a segunda transição observamos o desaparecimento dos modos 1 e 2 antes do espectro de 4,8 GPa ser alcançado. Surgimento dos modos marcados como “triângulo”, “retângulo”, 1a, 2a, 2b e 4b centrados em 83, 99, 103, 126, 134 e 187 cm^{-1} , no espectro de 4,8 GPa. Além disso, percebe-se que o padrão espectral obtido em 4,8 GPa distingue-se do observado em 0,9 GPa. Na terceira faixa de pressão citada, entre 11,8 GPa e 12,4 GPa, para a referida região, observa-se o desaparecimento do modo 2b, que aparecia bastante intenso no padrão espectral observado em 4,8 GPa, além do aparecimento de um modo de baixa intensidade marcado como cruz. Modificações no comportamento dos modos externos com a pressão também são percebidos pela descontinuidade do gráfico de número de onda *versus* pressão, nas mesmas faixas de pressão indicadas no parágrafo anterior. Essas modificações apresentam correlação com vários modos internos, como será discutido abaixo. Portanto, podemos afirmar sobre a ocorrência de transição de fase em torno de 0,9, entre 3,8 e 4,8 GPa e em cerca de 12,4 GPa.

Modificações também são observadas nos modos internos. O modo marcado como 5a, centrado em cerca de 269 cm^{-1} , foi atribuído à vibração do esqueleto da molécula, este sofreu um deslocamento para menores números de onda de $\sim 34 \text{ cm}^{-1}$ entre os espectros de 3,8 e 4,8 GPa. Este mesmo modo sofre um deslocamento para mais baixo número de onda quando a pressão de 12,4 GPa é atingida. A partir do comportamento de alguns modos normais de vibração é possível inferir algo sobre as ligações de hidrogênio. Por exemplo, modos associados a vibração do tipo torção do NH_3^+ . Sob pressão o comportamento do modo $\tau(\text{NH}_3^+)$ depende bastante do tipo de aminoácido investigado. Por exemplo, na α -glicina, que não apresenta transição de fase até cerca de 23 GPa, a frequência do modo permanece aproximadamente constante até 3 GPa e, a partir deste valor de pressão, desloca-se para maiores número de onda [43]. Na L-valina, o modo $\tau(\text{NH}_3^+)$ desloca-se para maiores número de onda em todo o intervalo no qual é observado [65]. Segundo os autores da referência [126], o comportamento do número de onda desse modo pode dar uma estimativa do comprimento médio das ligações de hidrogênio na célula unitária, portanto as modificações sofridas por este podem indicar mudanças no comprimento médio das ligações de hidrogênio. O modo marcado como 9 em nossos resultados está relacionado a torção do grupo NH_3^+ , e o referido modo sofre modificações nas três faixas de pressão mencionadas acima. Primeiro ganhando intensidade entre 0,7 e 0,9 GPa. No espectro de 4,8 GPa o mesmo apresenta deslocamento para maiores valores de frequência e ganho de intensidade, permanecendo quase sem variação de intensidade até 11,8 GPa. Quando o espectro de 12,4 GPa é atingido, este modo perde intensidade e apresenta aumento da largura de linha.

Percebe-se também modificações nos grupos CH_2 e H_2O , uma vez que o modo marcado como M surge no espectro de 4,8 GPa, este localiza-se entre duas vibrações do tipo estiramento do CH_2 o que pode indicar modificações nesse grupo. Uma vibração relacionada a ligações da molécula de água foi observada em 1570 cm^{-1} , $\delta(\text{H}_2\text{O})$, este modo sofre modificações nas três faixas de pressão entre 0,7 e 0,9 GPa, ganho de intensidade, entre 3,8 e 4,8 GPa, aumento de intensidade e deslocamento para menores número de onda, e entre 10,9 e 11,8 GPa, redução brusca de intensidade e deslocamento para maiores números de onda. Isso mostra que as ligações relacionadas à molécula de água sofreram alterações entre os valores de pressão citados. O modo 27 foi relacionado ao estiramento da ligação $\text{C} = \text{O}$ e este apresenta redução de intensidade entre os espectros de 0,7 e 0,9 GPa, ganho de intensidade e deslocamento para menores valores de frequência quando o espectro de 4,8 GPa é alcançado. O mesmo desaparece no espectro de 12,4 GPa. Esses resultados podem indicar modificações relacionadas aos grupos CO_2 da molécula de ácido glutâmico.

Na região espectral compreendida entre 2800 e 3200 cm^{-1} são observadas alterações relacionadas às ligações CH e CH_2 , isso pode ser notado pois o espectro de 0,9 GPa difere do espectro de 0,7 GPa, tanto no número de modos quanto na intensidade relativa. Tal diferença também pode ser notada entre os espectros de 3,8 e 4,8 GPa. Um contraste ainda maior pode ser observado quando o espectro de 11,8 GPa é alcançado, onde os três modos observados no espectro de 4,8 GPa perdem bastante intensidade e percebe-se o surgimento de três novos modos, entre eles o modo marcado como 32b relacionado ao estiramento antissimétrico do NH_3^+ .

Analisando as figuras 6.9a e 6.9b vemos que as moléculas de água participam de forma importante nas transições de fase sofridas pelo cristal de DL-ácido Glutâmico. Com o aumento da pressão, tanto o modo de estiramento simétrico quanto o antissimétrico, deslocam-se para valores menores de frequência até 3,8 GPa e entre 0,7 e 0,9 GPa há uma descontinuidade. Entre 3,8 e 4,8 uma nova descontinuidade é observada e ainda uma outra entre 10,9 e 11,8 GPa. Cada molécula de água faz três ligações de hidrogênio (com três moléculas de aminoácidos distintas) sendo uma com o nitrogênio do grupo NH_3^+ , $\text{N-H} \cdots \text{O}_A$, e outras duas com o oxigênio do grupo carboxílico, $\text{O}_A\text{-H} \cdots \text{O}_{AA}$. É importante destacar que a redução na frequência de estiramento $\text{O}_A\text{-H}$ reflete um amolecimento desta ligação uma vez que o próton (H) compartilhado se aproxima do oxigênio do grupo carboxílico O_{AA} fortalecendo a ligação de hidrogênio $\text{O}_A\text{-H} \cdots \text{O}_{AA}$ que se mantém até a segunda transição (entre 3,8 e 4,8 GPa) quando se quebra e novas ligações são formadas (acreditamos que novas ligações são formadas uma vez que o deslocamento no número de onda do estiramento simétrico foi de 49 cm^{-1}). O cenário é semelhante para a terceira transição. Já para a primeira (entre 0,7 e 0,9 GPa) talvez ocorra apenas uma reorientação das moléculas de água uma vez que há apenas uma sutil descontinuidade na frequência dos

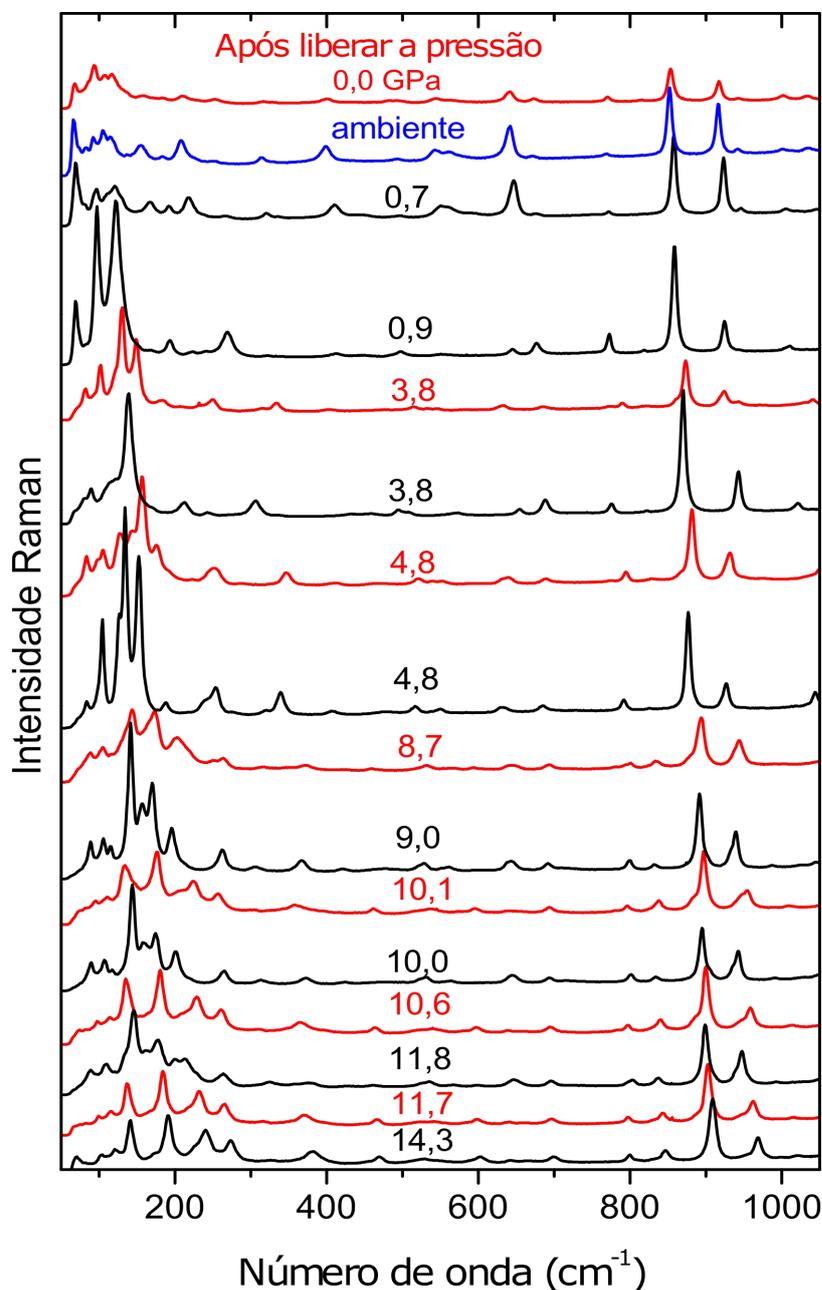
modos. Gostaríamos de ressaltar também que a participação da água na primeira transição não é tão forte, uma vez que o modo 25, relacionado à deformação da molécula de H_2O , não apresenta descontinuidade. O comportamento dos estiramentos da molécula de água sob pressão também podem ser explicados pelo fato desta estar ligada a três moléculas distintas de ácido DL-glutâmico [116], as quais sofrem alterações durante a compressão da célula unitária, uma vez que também observamos modificações em vários modos internos.

Gostaríamos de destacar que para o cristal de L-asparagina monohidratada também foi observada uma transição de fase em torno de 10 GPa onde os modos da molécula de água mostram fortes descontinuidades, mas neste caso o deslocamentos de frequência foi para valores mais altos de frequência. Medidas futuras de difração de raios-X (ou mesmo de difração de nêutrons) serão uteis para desvendar as semelhanças e diferenças no comportamento da água na estrutura destes dois materiais. Para termos noção de como este tema é interessante, foi reportado que a L-arginina dihidratada sofre uma transição de fase em 2,5 GPa, mas nenhuma alteração no comportamento dos modos de estiramento da água foi observada até 8 GPa [127].

Infelizmente não se pôde elevar a pressão a valores maiores que 14,3 GPa. Uma vez que a gaxeta começou a apresentar indícios de que não suportaria maiores valores de pressão, no entanto, observa-se claramente que no último espectro obtido, os modos de rede ainda são bem resolvidos e puderam ser ajustados sem problema. Assim, é importante destacar que neste valor de pressão a estrutura do cristal ainda é cristalina e não temos indício de amorfização. Este valor de pressão é próximo do valor onde observou-se amorfização na L-alanina, mas é perto da metade do valor registado na L-asparagina monohidratada [114] e da L-treonina [115].

Com o objetivo de investigar a reversibilidade das transições de fase apresentadas pelo cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado, realizamos experimentos de espalhamento Raman, baixando a pressão desde 14,3 GPa; valor máximo atingido nos experimentos, até a pressão atmosférica. A Figura 6.10 apresenta a evolução dos espectros Raman na região entre 50 e 1120 cm^{-1} para experimentos de compressão, em preto, e experimentos de descompressão, em vermelho. O espectro em azul mostra a medida ambiente anterior à compressão e o espectro nomeado como 0,0 GPa (após liberar a pressão) mostra a medida ambiente após retirada de toda a pressão da célula. Nesta região espectral observa-se que todas as mudanças são reversíveis, afora o fato de que nos espectros obtidos durante a compressão alguns picos encontram-se ligeiramente mais largos. Isto é consequência da introdução de defeitos durante o processo de compressão. Observa-se também uma histerese para as três transições de fase.

Figura 6.10 – Espectro Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado na região espectral entre 50-1050 cm^{-1} para alguns valores de pressão na compressão em preto e na descompressão em vermelho.



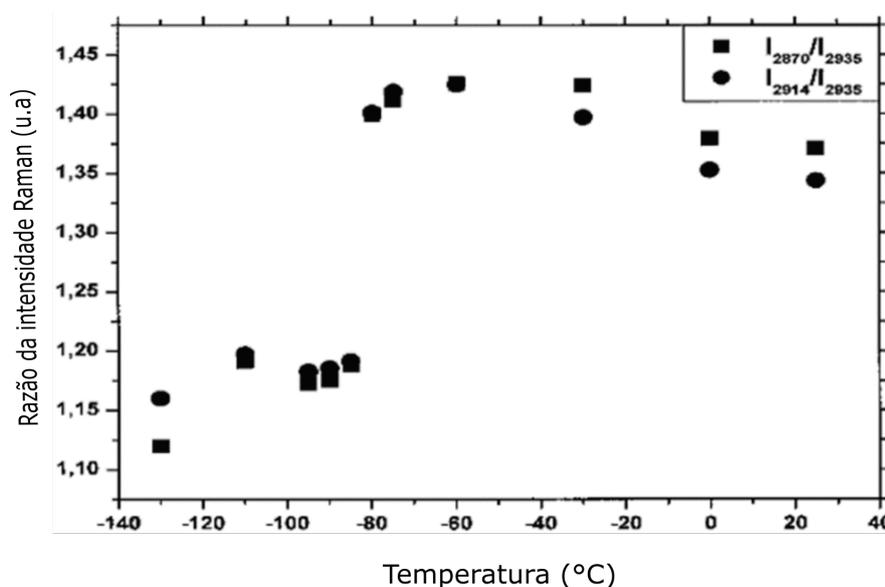
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Ainda podemos citar que este trabalho estende em mais de 7 GPa um anterior que submeteu o mesmo cristal até 6,9 GPa. Na dissertação de Marcelo Sousa [128] foi apontado que o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado sofre uma transição de fase entre 4,5 e 5,1 GPa. Esta transição foi evidenciada principalmente por um modo de rede que desaparece (modo 2 na Figura 6.1a) e por inúmeras discontinuidades no gráfico de

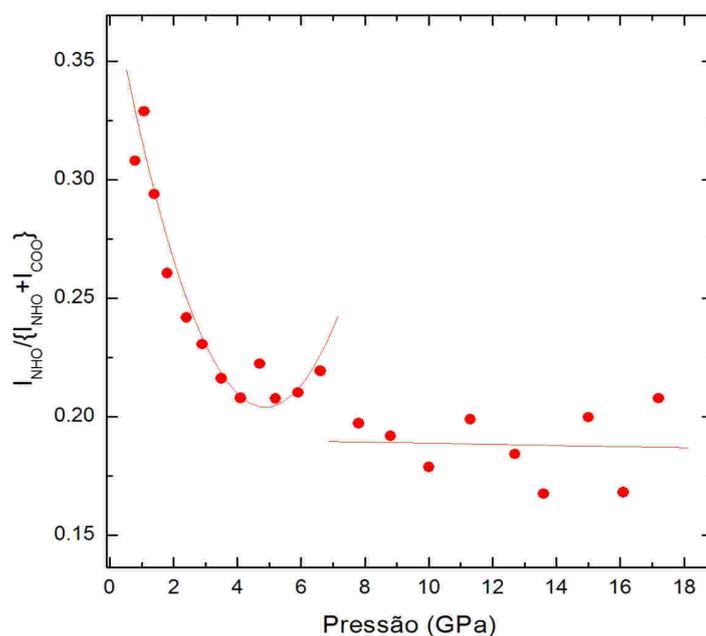
$\omega \times P$ neste mesmo intervalo de pressão. Nesta medida de Marcelo Sousa observamos uma “subida” nos espectros na região dos modos de rede (proveniente do espalhamento Reyleigh) e uma baixa intensidade de quase todos os modos. Embora Marcelo Sousa não tenha mencionado, é possível que um outro modo (modo 3 na figura 6.1a) também desapareça com o aumento da pressão, mas entre 0,6 e 1,0 GPa. Assim, esta modificação corroboraria com a nossa primeira transição que foi observada na mesma faixa de pressão (0,7 e 0,9 GPa). Já a segunda está numa faixa um pouco acima (~ 5 GPa) da observada agora (entre 3,8 e 4,8 GPa). Esta pequena alteração pode ser explicada pelo limite de hidrostaticidade do fluido usado, uma vez que Marcelo Sousa utilizou nujol, cujo limite está próximo de 5 GPa. Este resultado comparativo é importante, pois valida o fluido nujol como meio transmissor de pressão com limite de até 5 GPa [129].

Na Figura 6.4 é nítida a mudança de intensidade dos modos 12, 13 e 14 (classificados como deformações da unidade CO_2 , os dois primeiros, e um *rocking* do CH_2 , o último). A fim de obtermos um resultado mais quantitativo, traçamos um gráfico da razão entre as intensidades entre estes modos (Figura 6.13). Nesta Figura também vemos que entre 0,7 e 0,9 GPa há uma descontinuidade. Mais esta evidência reforça a hipótese de transição de fase uma vez que o grupo CO_2 faz ligações de hidrogênio e estas modificações nas intensidades dos modos correspondentes pode significar alterações nas ligações e conseqüentemente na estrutura cristalina. Mudanças na intensidade relativa de modos já foram relatadas em outros aminoácidos e também estavam associadas à transições de fase como no caso da DL-valina e da DL-norvalina. Ver Figuras 6.11 e 6.12

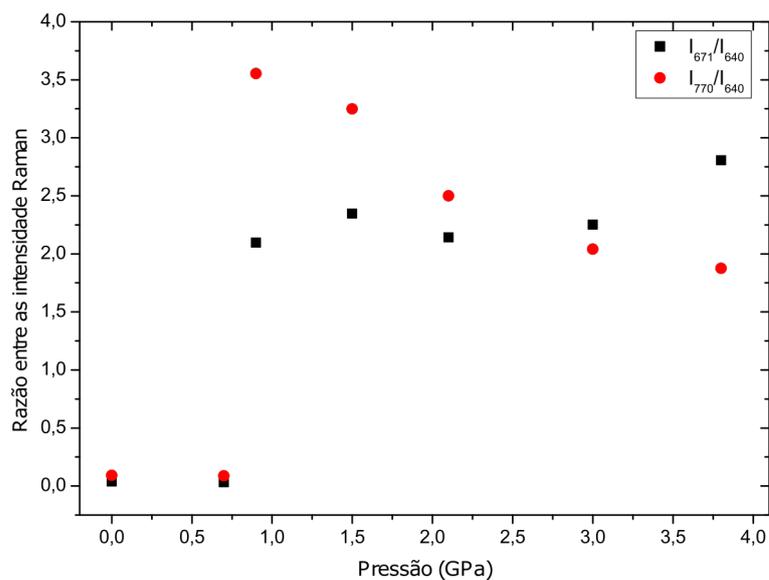
Figura 6.11 – Relação entre as intensidades dos modos centrados em 2870, 2914 e 2935 cm^{-1} em função da pressão para a DL-norvalina.



Fonte: Retirada da referência [130].

Figura 6.12 – Relação entre as intensidades dos modos de libração do NHO e torção do CO₂ em função da pressão para a DL-valina.

Fonte: Retirada da referência [66].

Figura 6.13 – Relação entre as intensidades dos modos de deformação do CO₂⁻ e *rocking* do CH₂ em função da pressão para o ácido DL-glutâmico monohidratado.

Fonte: Produzida a partir dos dados experimentais.

Tabela 6.1 – Tabela de atribuição e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

ω_{exp}	Atribuição	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
		0,0 GPa \leq P \leq 3,8			3,8 \leq P \leq 11,8 GPa			11,8 GPa \leq P \leq 14,3 GPa	
117	Modo de rede	117,0	6,2		131,8	4,2		112,46	5,43
103	Modo de rede				92,64	2,5			
126	Modo de rede				92,6	8,6	-0,3		
156	Modo de rede	156	14,9						
187	$\tau(\text{CO}_2^-)$				197,3	-3,7	0,4	144,2	6,9
400	$\delta(\text{skel})$	400,4	14	-1,2					
461	$\delta(\text{NH}_3^+ \text{ or } \text{CO}_2^-)$							420,54	3,36
494	$\tau(\text{NH}_3^+)$	393,6	3,9		502,84	2,95		514,01	2,30
545	$r(\text{CO}_2^-)$	544,6	7,5		538,91	2,47		509,48	5,68
673	$\delta(\text{CO}_2^-)$	672,9	4,5		680,1	1,4		680,1	1,4
770	$r(\text{CH}_2)$	770,7	1,8		791,8	0,71		791,8	0,71
1092	$\nu(\text{CC})$	1094,2	5,9		1103,5	4,7		1151,54	-0,24
1196	$\tau(\text{CH}_2)$	1196,8	4,3						
1217	$\tau(\text{CH}_2)$	1217,9	4,2						
1372	$\nu(\text{CC})$	1371,41	6,80						
1380	$\delta_s(\text{CH}_3)$				1370,9	2,02			
1420	$\nu(\text{CO}_2)$	1420,5	-0,9		1420,0	1,6			
1437	$\delta(\text{CH}_2)$				1424,7	2,70		1425,8	1,9
1452	$\delta(\text{CH}_2)$	1453,4	1,6		1453,0	1,27		1455,9	0,58
1513	$\delta(\text{NH}_3)$							1495,9	1,60
1580	$\delta(\text{H}_2\text{O})$	1579,5	-0,2		1570,7	-0,07		1576,5	0,25
1715	$\nu(\text{C=O})$	1715,2	0,9		1689,8	2,32			
1734								1715,8	1,70

τ = torção; δ = deformação; r = *rocking*; ν = estiramento; ν_s = estiramento simétrico; ν_{as} = estiramento antissimétrico

Tabela 6.1 (Continuação) Tabela de atribuição e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais, para alguns modos que apresentam descontinuidade entre a pressão ambiente e 0,9 GPa . Valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

ω_{exp}	Atribuição	$0,0 \leq P \leq 0,9$ GPa		$0,9 \leq P \leq 3,8$ GPa			$3,8 \leq P \leq 11,8$ GPa			$11,8 \leq P \leq 14,3$ GPa	
		ω_0	α	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α
67	Modo de rede	66,5	3,6	69,9	-1,95	1,22					
83	Modo de rede						82,0	0,6			
93	Modo de rede	93	4,3	91,2	6,2						
134	Modo de rede						86,7	12,0	-0,5		
192	$\tau(\text{CO}_2^-)$			187,85	6,42		226,4	3,9		228,7	2,7
208	$\tau(\text{CH})$	207,9	13,9								
264	$\delta(\text{skel})$	264,4	2,8	260,0	12,7		310,0	6,2		335,9	2,95
315		315,1	7,2								
448	$\delta(\text{COOH})$	435,8	14,6	443,57	4,20						
562	$r(\text{CO}_2^-)$	562,8	-3,6								
640	$\delta(\text{CO}_2^-)$	640,1	9,0	642,98	3,31		627,4	1,56		627,4	1,56
853	$r(\text{CH}_2)$	852,4	7,4	858,4	3,7		858,4	3,7		858,4	3,7
917	$\nu(\text{CC})$	916,8	9,4	920,16	6,52		916,7	2,58		916,7	2,58
1002	$\nu(\text{CC})$	1002	5,1	1007,02	4,36		1030,4	3,39			
1168	$r(\text{NH}_3^+)$	1168,3	3,9	1162,35	4,95		1193,2	2,1		1157,8	3,3
1274	$\delta(\text{CH}_2)$	1279,7	4,7	1276,01	2,37						
1646	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$	1646,4	-0,3	1647,02	-2,4		1619,8	1,96			
2936	$\nu_s(\text{CH}_2)$	2936,0	13,6	2940,5	7,3		2940,5	7,3		2958,28	5,13
2949	$\nu(\text{CH})$	2949,0	8,3	2956,39	11,8		2967,4	8,3		2995,7	5,6
2957	$\nu(\text{CH})$	2957,0	12,3								
2966	$\nu_{as}(\text{CH}_2)$	2965,7	16,8	2966,58	13,8						
2985	$\nu_{as}(\text{CH})$	2985,4	9,4	2984,3	9,6		2991,1	7,6		2994,6	6,7
3464	$\nu_s(\text{H}_2\text{O})$	3465,8	-23,5	3460,65	-15,5		3380,0	-5,8		3102,9	62,2
3571	$\nu_{as}(\text{H}_2\text{O})$	3572,4	-10,5	3572,8	-7,1		3578,9	-2,1		3920,1	-56,2

τ = torção; δ = deformação; r = *rocking*; ν = estiramento; ν_s = estiramento simétrico; ν_{as} = estiramento antissimétrico

Fonte: Elaborada pelo autor.

6.8 Conclusão dos resultados obtidos no cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado

Os espectros Raman do cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado foram adquiridos na região espectral entre 50 - 3750 cm^{-1} em condições ambientais e a classificação dos modos Raman foi feita em comparação com resultados de trabalhos já publicados com respeito a outros aminoácidos e as formas α e β do ácido L-glutâmico. Nossos resultados do experimento de espectroscopia Raman a altas pressões evidenciaram três transições de fase em torno de 0,9, 4,8 e 12,4 GPa. Pequenas mudanças associadas a um rearranjo das ligações de hidrogênio também foram observadas na faixa de pressão entre 2,1-3,8 GPa. Para a primeira transição de fase, apenas moléculas de ácido glutâmico sofrem modificações suficientes para fornecer a nova fase. Por outro lado, as moléculas de água não apresentaram alterações. Para as outras duas transições de fase estruturais, o ácido glutâmico e as moléculas de água mostraram-se flexíveis sob compressão. Além disso, o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado demonstra estabilidade semelhante em comparação com seus polimórficos ácido L- α -glutâmico e ácido L- β -glutâmico (para a primeira transição). No entanto, a fase II do ácido DL-glutâmico monohidratado demonstrou maior estabilidade estrutural. A inserção das moléculas de água na rede cristalina influencia a dinâmica estrutural com a pressão. Experimentos envolvendo difração de raios-X podem ajudar a esclarecer tais modificações. Finalmente, todas as transições observadas foram reversíveis.

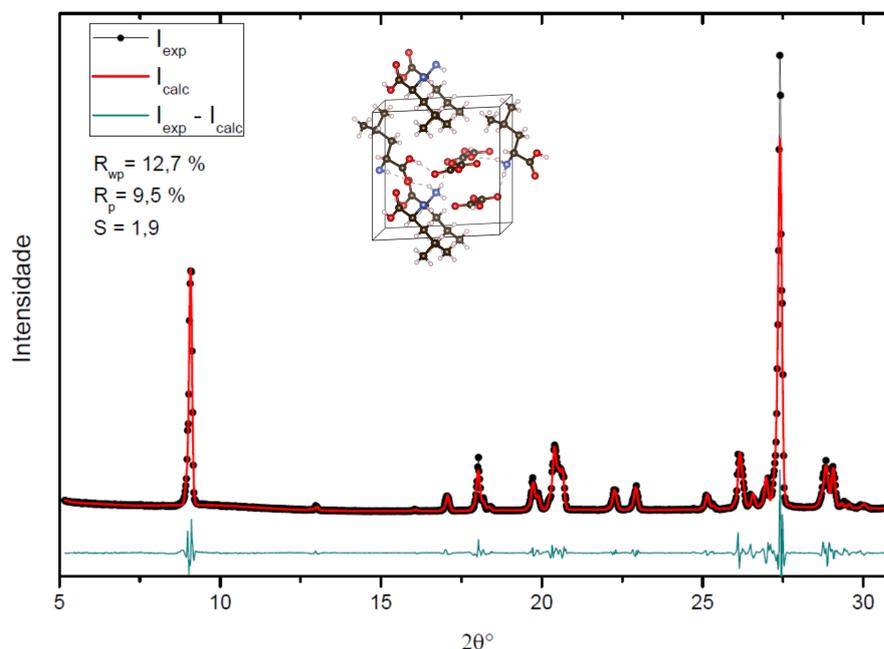
7 L-leucina Oxalato em condições ambientes

Neste capítulo serão apresentadas as propriedades estruturais do complexo L-leucina oxalato (LLO) baseado nos dados de difração de raios – X da referência [86], será feita uma análise de teoria de grupos a respeito dos modos vibracionais esperados para esse composto. Serão também descritos os resultados obtidos através de experimentos de espectroscopia Raman em condições ambiente, bem como a atribuição dos modos observados por comparação com trabalhos disponíveis na literatura.

7.1 Propriedades estruturais da L-leucina oxalato

Sob condições ambientes de temperatura e pressão a L-leucina oxalato, $C_6H_{14}NO_2^+ \cdot C_2HO_4^-$, pertence ao sistema cristalino triclinico, sem centro de inversão, com grupo espacial P1 (C_1). Apresenta os seguintes parâmetros de rede $a = 5,674 (3) \text{ \AA}$, $b = 9,803 (9) \text{ \AA}$, $c = 9,906 (8) \text{ \AA}$, $\alpha = 87,37 (7)^\circ$, $\beta = 99,64 (5)^\circ$ e $\gamma = 100,35 (6)^\circ$ e volume igual a $V = 534,3 (7) \text{ \AA}^3$ [86]. Para confirmação da estrutura da amostra de LLO, fez-se um experimento de difração de raios-X com o pó obtido da maceração de parte da amostra cristalina. As variáveis que avaliam a concordância entre as intensidades observadas e calculadas no método Rietveld apresentam uma boa concordância, com valor de $R_p = 9,5 \%$ e $R_{wp} = 12,7 \%$ e a razão entre esses valores, o *goodness of fit* (S) possui valor igual a 1,9. O padrão de difração de raios X da amostra em associação com o método de Rietveld são mostrados na Figura 7.1.

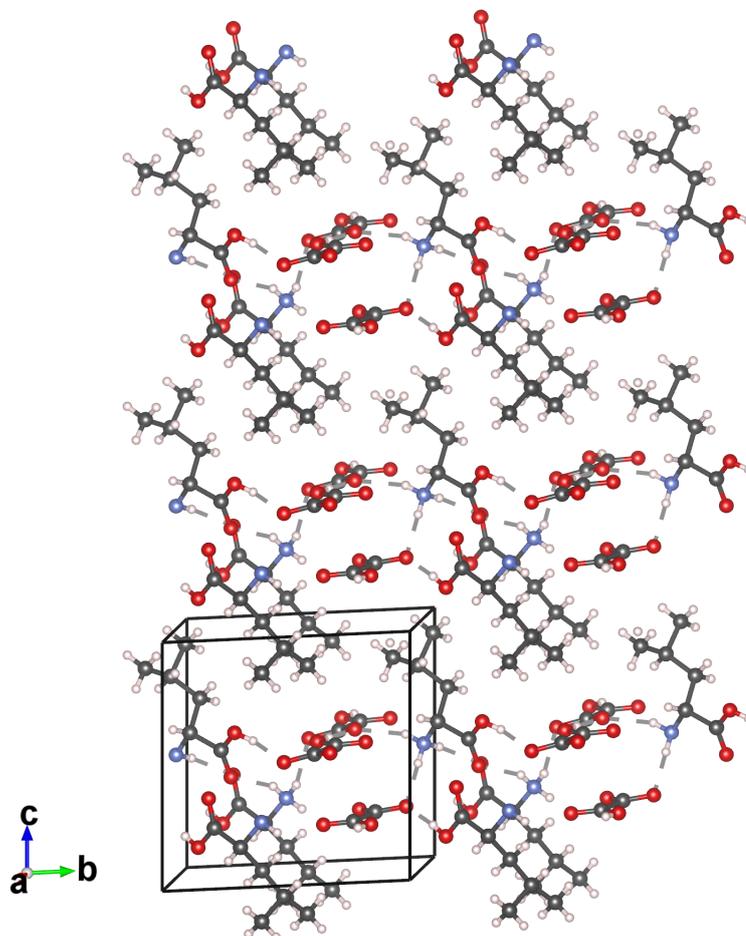
Figura 7.1 – Difratograma obtido do pó de parte dos cristais de L-leucina oxalato refinado pelo método de Rietveld.



Fonte: Produzida pelo autor a partir dos dados experimentais.

O difratograma mostrado acima foi utilizado como base para uma comparação entre os resultados obtidos experimentalmente com os da literatura e assim comprovar a estrutura da amostra. Os experimentos de difração de raios-X foram realizados no difratômetro D8 Advanced, da marca Bruker, utilizando radiação de cobre de comprimento de onda $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$, mediante a configuração $\theta - 2\theta$, em que o 2θ sofre variação de 5° até 50° , em passos de $0,02^\circ$, com tempo de 2s por passo. Com o resultado obtido deste experimento foi realizado o refinamento Rietveld utilizando-se o programa Expo 2013 [117]. Após o refinamento Rietveld, os valores obtidos para os parâmetros de rede da L-leucina oxalato foram: $a = 5,6820 \text{ \AA}$, $b = 9,8274 \text{ \AA}$, $c = 9,9025 \text{ \AA}$, $\alpha = 87,44^\circ$, $\beta = 99,54^\circ$, $\gamma = 100,35^\circ$ e volume $V = 536,37 \text{ \AA}^3$ que estão em boa concordância com os dados da referência [86]. A célula unitária desse composto é formada por duas moléculas de L-leucina e duas de ácido oxálico. A Figura 7.2 apresenta a célula unitária desse material vista ao longo do eixo cristalográfico **a**.

Figura 7.2 – Representação da célula unitária do cristal de L-leucina oxalato, vista ao longo do eixo cristalográfico a.



Fonte: Produzida pelo autor.

A unidade assimétrica contém dois cátions de L-leucina (grupos amina protonados e grupos de ácidos carboxílicos não carregados) e dois ânions de semi-oxalato (um grupo carboxílico neutro e um grupo carboxílico carregado negativamente). Os dois cátions exibem diferenças significativas na conformação, assim como os dois ânions. Um aspecto interessante é que os semi-oxalatos são relacionados entre si através de um pseudo centro de inversão e o mesmo é visto para os cátions de L-leucina, ignorando os átomos de carbono da cadeia lateral [86].

Dos 30 átomos de hidrogênio que compõem a unidade assimétrica da LLO, 10 participam das ligações de hidrogênio. Estas podem ocorrer entre duas moléculas de L-leucina, entre duas moléculas de ácido oxálico ou entre uma molécula de L-leucina e uma de ácido oxálico. A estrutura é interligada por ligações de hidrogênio. Os íons de leucina e semi-oxalato são ligados entre si através de ligações de hidrogênio N-H...O e O-H...O. Os

íons semi-oxalato são interconectados por interações diretas O-H...O, formando cadeias de ligação de hidrogênio ao longo do eixo celular mais curto, como observado em muitos outros complexos de aminoácidos + ácido oxálico [131]. Os íons de leucina e semi-oxalato formam camadas duplas conectadas por ligações de hidrogênio. Os cátions de leucina são dispostos nessas camadas duplas em lados opostos, levando a camadas alternadas hidrofóbicas e hidrofílicas. Essas camadas são mantidas juntas, além das interações de van der Waals, por alguns contatos curtos O12...O22 = 2,893 (4) Å, um contato carbonila-carbonila O22...C11 = 2,989 (5) Å [132] e C31...C41 = 3,164 (5) Å. Os comprimentos de ligação C-C dos ânions do semi-oxalato C31 - C32 = 1,546 (4) Å e C41 - C42 = 1,543 (4) Å são um pouco maiores e podem ser justificados pelo impedimento estérico intramolecular. Grandes desvios similares dos valores normalmente esperados nos comprimentos de ligação C-C também são observados no caso do ácido oxálico di-hidratado [133] e nas formas anidra α e β do ácido oxálico [134]. A Tabela 7.1 lista o comprimento das ligações de hidrogênio observadas no cristal de LLO, os índices i, ii, iii e iv são referentes aos códigos de simetria (i) = x, y - 1, z; (ii) = 1 + x, y, z; (iii) = x - 1, y, z; (iv) = x - 1, y - 1, z.

Tabela 7.1 – Comprimento das ligações da L-leucina oxalato, medidas em (Å).

D-H...A	D-H	H...A	D...A
O11 - H11...O43	0,82	1,82	2,593 (4)
O21 - H21...O33 ⁱ	0,82	1,79	2,600 (4)
O31 - H31...O34 ⁱⁱ	0,82	1,76	2,578 (3)
O41 - H41...O44 ⁱⁱⁱ	0,82	1,80	2,616 (3)
N11 - H11A...O44 ^{iv}	0,89	2,02	2,820 (4)
N11 - H11B...O33 ⁱ	0,89	1,97	2,856 (4)
N11 - H11C...O22 ⁱⁱⁱ	0,89	2,04	2,898 (4)
N21 - H21A...O32 ⁱⁱ	0,89	2,20	3,013 (4)
N21 - H21B...O12 ⁱ	0,89	1,97	2,795 (4)
N21 - H21C...O43	0,89	2,07	2,902 (4)

Fonte: Retirada da referência [86].

7.2 Teoria de grupos para o cristal de L-leucina oxalato

A estrutura molecular da L-leucina oxalato possui 30 átomos, com 2 moléculas por célula unitária, totalizando 60 átomos e pertencente ao grupo espacial P1 (C_1). Conforme a tabela 1A da referência [105], pode-se observar que todos os átomos ocupam os sítios de simetria C_1 . Da Tabela 1B da mesma referência pode-se ver que cada átomo presente no sítio de simetria C_1 colabora com 3 modos de vibração. A descrição total dos modos vibracionais nas representações irreduzíveis do grupo (C_1), Γ , é mostrada na equação 7.1 abaixo.

$$\Gamma = 3A, \quad (7.1)$$

Dessa forma, os 60 átomos presentes na célula unitária da LLO se distribuem em 60 sítios de simetria $C_1(1)$, cuja representação total dos modos vibracionais nas representações irreduzíveis do grupo (C_1) é descrita na equação 7.2 abaixo.

$$\Gamma_{total} = 60 \cdot (3A) = 180A, \quad (7.2)$$

A Tabela 7.2 apresenta a Tabela de caracteres do grupo (C_1), a qual foi retirada da referência [105] (Tabela 1E).

Tabela 7.2 – Tabela de caracteres do grupo (C_1).

C_1	E	Regra de seleção	
A	1	R,T	$\alpha^{x,y,z}$

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados da referência [105].

A Tabela 7.2 indica a presença de modos ativos no Raman e no infravermelho. Da Tabela 1B da referência [105] pode-se observar a contribuição dos modos acústicos, $\Gamma_{acústicos}$. Tal contribuição é mostrada na equação 7.3, abaixo.

$$\Gamma_{acústicos} = 3A, \quad (7.3)$$

Dessa forma, a quantidade de modos ópticos, $\Gamma_{ópticos}$, será dada pela diferença entre a quantidade total de modos e os modos acústicos, como mostrado na equação 7.4.

$$\Gamma_{ópticos} = \Gamma_{total} - \Gamma_{acústicos} = 177A, \quad (7.4)$$

Assim são previstos 177 modos Raman ativos e 177 modos infravermelho ativos para essa amostra.

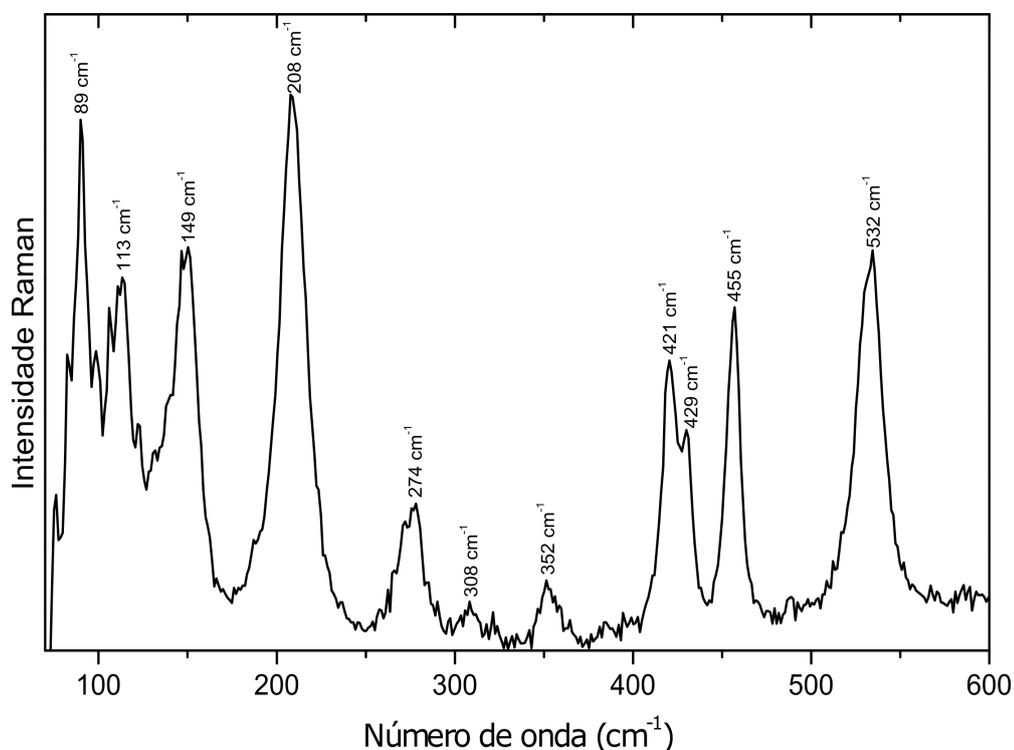
7.3 Classificação dos modos Raman a pressão ambiente

Experimentos de espectroscopia Raman em condições ambiente realizados no cristal de L-leucina oxalato foram utilizados para a obtenção de seus modos vibracionais. A classificação dos modos vibracionais obtidos foi realizada por comparação com a frequência de modos classificados previamente em outros cristais de aminoácidos, em cristais de L-leucina e em cristais de ácido oxálico dihidratado e anidro nas formas α e β . Para possibilitar uma melhor análise dos modos, o espectro foi dividido em regiões.

7.3.1 Região entre 50 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .

A primeira das regiões em estudo está compreendida entre 50 e 600 cm^{-1} , a mesma é apresentada na Figura 7.3. Como mencionado nas seções de classificação dos modos dos aminoácidos discutidos nos capítulos 3 e 5, os modos cujas posições encontram-se abaixo de 200 cm^{-1} são geralmente associados a vibrações da rede, nesse complexo, formado por um aminoácido e um ácido dicarboxílico, os modos centrados em 89 , 113 e 149 cm^{-1} foram associados a tais vibrações. O modo mais intenso dessa região centrado em 208 cm^{-1} foi associado a uma torção do CH, pois esta vibração foi observada em 205 cm^{-1} no cristal de L-leucina [88]. De acordo com as referências [73,88], o modo observado em 274 cm^{-1} foi associado à torção do CH_3 , $\tau(\text{CH}_3)$, já os modos em 308 , 352 , 429 e 455 cm^{-1} foram classificados como deformações do esqueleto da molécula. Em 421 cm^{-1} observa-se um modo, o qual foi associado à deformação do COO, $\delta(\text{COO})$, uma vez que tal vibração foi observada no composto ácido oxálico dihidratado [135–137]. O último modo observado nessa região, centrado em 532 cm^{-1} foi atribuído à vibração de *rocking* do CO_2^- , $r(\text{CO}_2^-)$, pois a mesma foi observada em 536 cm^{-1} na L-leucina [88].

Figura 7.3 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 50 - 600 cm^{-1} em pressão ambiente.



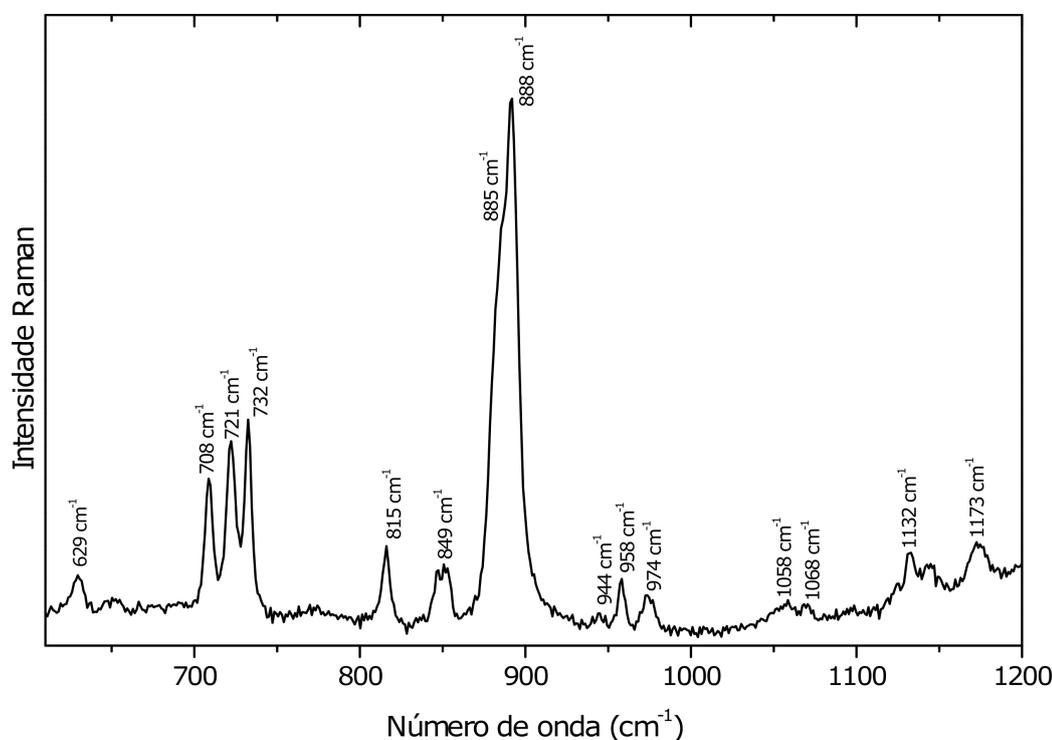
Fonte: Produzida pelo autor.

7.3.2 Região entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Na Figura 7.4 é apresentado o espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 600 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} em condições ambientes. Entre 600 e 800 cm^{-1} foram observadas vibrações do grupo CO_2^- . O modo em 629 cm^{-1} foi classificado como um *wagging* do CO_2^- , $w(\text{CO}_2^-)$, essa vibração foi observada no espectro infravermelho do cristal de L-leucina oxalato, de acordo com a referência [32]. Deformações do CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$, foram atribuídos aos três modos próximos, centrados em 708 , 721 e 732 cm^{-1} , bem como ao modo em 815 cm^{-1} [32,88]. O modo em 849 cm^{-1} foi associado ao *rocking* do CH_3 , uma vez que essa mesma classificação foi dada a um modo observado na mesma posição no cristal de L-leucina [88]. O modo de maior intensidade dessa região, centrado em 888 cm^{-1} obteve a mesma classificação [32].

Baseado nas referências [32,56], podemos associar os três modos de baixa intensidade, centrados em 944 , 958 e 974 cm^{-1} como estiramentos do C-C, $\nu(\text{C-C})$. As bandas em 1058 e 1068 cm^{-1} , segundo essas mesmas referências, foram classificadas como estiramentos do CN, $\nu(\text{CN})$. Vibrações do tipo *rocking* do NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$, foram atribuídas aos dois últimos modos observados nessa região posicionados em 1132 e 1173 cm^{-1} [32].

Figura 7.4 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 600 - 1200 cm^{-1} em pressão ambiente.

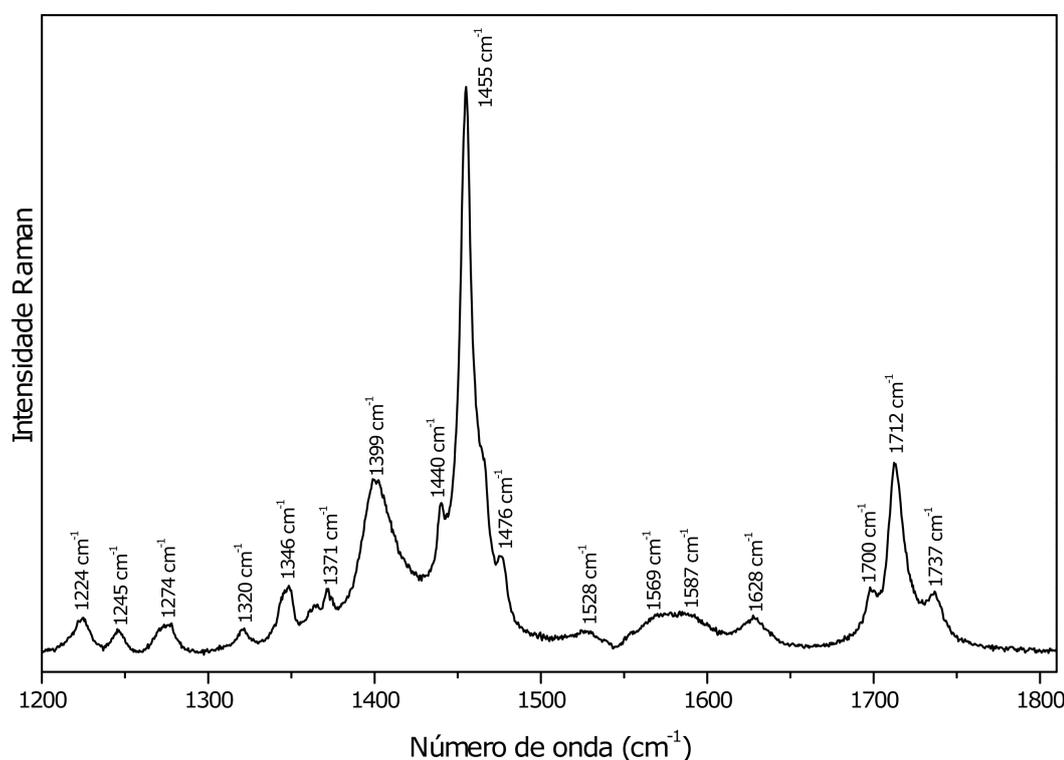


Fonte: Produzida pelo autor.

7.3.3 Região entre 1200 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

A região do espectro Raman entre 1200 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} , em condições ambientes para o cristal de L-leucina oxalato é apresentado na Figura 7.5. A banda centrada em 1245 cm^{-1} foi relacionada a uma torção do grupo CH_2 , $\tau(\text{CH}_2)$, tal vibração foi observada em 1240 cm^{-1} no cristal de L-leucina [88] e em 1256 cm^{-1} no cristal de L-isoleucina [73]. Vibração do tipo estiramento C-O, $\nu(\text{C-O})$ e deformação do CH, $\delta(\text{CH})$, foram observadas em 1274 cm^{-1} e 1320 cm^{-1} , respectivamente. Tal associação foi feita em acordo com a referência [32]. A banda em 1346 cm^{-1} foi associada a uma deformação do CH, uma vez que essa vibração foi encontrada em 1352 cm^{-1} na L-isoleucina [73] e em 1343 cm^{-1} na L-leucina [88]. Em 1371 cm^{-1} encontram-se uma banda de baixa intensidade, a qual foi associada a deformação no plano da ligação C-C-H, tal banda foi classificada pelos autores da referência [32], em um estudo na amostra de LLO através da técnica de absorção no infravermelho. Autores dessa mesma referência relataram uma vibração em torno de 1399 cm^{-1} que foi associada à uma deformação simétrica do CH_3 , $\delta_s(\text{CH}_3)$. OS modos observados em 1440 e 1455 cm^{-1} foram associados à deformações antissimétricas do CH_3 , $\delta_{as}(\text{CH}_3)$, conforme sugestão das referências [32, 88]. Foi também observado um modo em aproximadamente 1476 cm^{-1} que obteve a mesma classificação que os dois anteriores, $\delta_{as}(\text{CH}_3)$, esta classificação também foi sugerida pela referência [88].

Continuando a análise, chega-se ao modo em 1528 cm^{-1} , este não pôde ser classificado, uma vez que tal vibração não foi observada nos cristais de L-leucina e ácido oxálico separadamente. No entanto, acreditamos que este esteja relacionado à vibrações de estiramento do CO_2^- , $\nu(\text{CO}_2^-)$, pois os modos seguintes em torno de 1569 e 1589 cm^{-1} obtiveram esta classificação [32, 88]. O modo seguinte em 1628 cm^{-1} foi atribuído à uma deformação do NH_3^+ , $\delta(\text{NH}_3^+)$, pois os autores da referência [32] a observaram no espectro infravermelho da L-leucina oxalato. Em $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ pode-se ver um modo de baixa intensidade, o qual foi associado a uma combinação das vibrações de estiramento do CO e OH, $\nu(\text{CO}) + \nu(\text{OH})$, tal vibração foi observada no cristal de ácido oxálico dihidratado [92]. Os dois últimos modos observados nessa região foram associados a estiramentos do C=O, $\nu(\text{C=O})$, pois esta vibração foi observada em 1714 cm^{-1} no espectro infravermelho da LLO [32] e em 1740 cm^{-1} no espectro Raman do oxálico dihidratado [92].

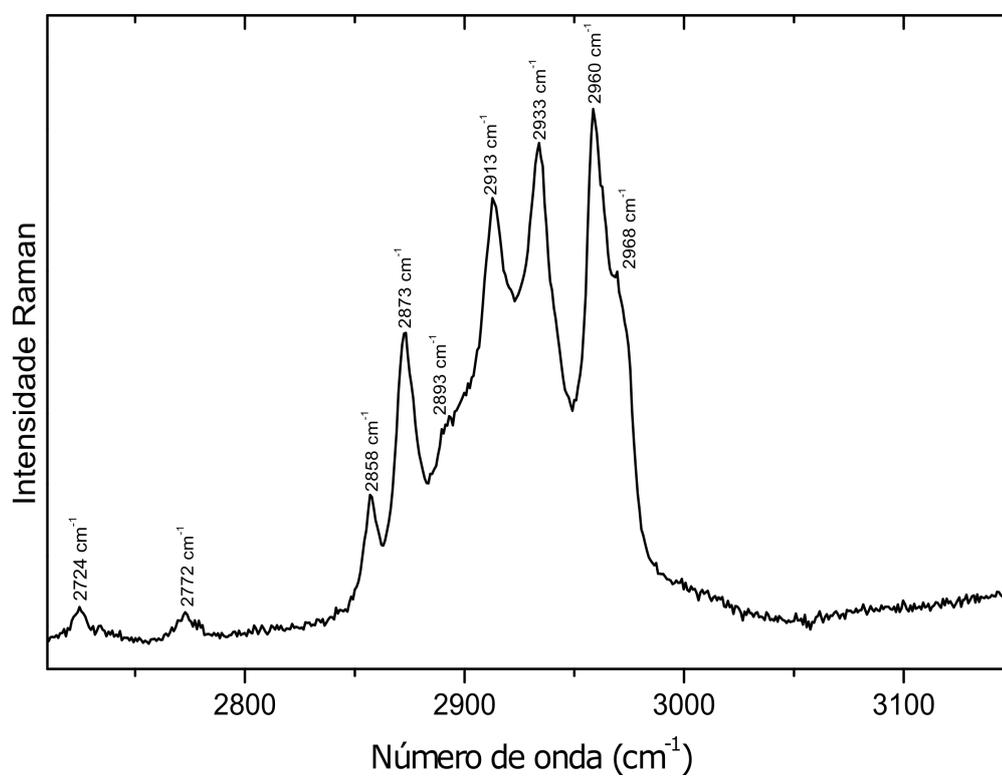
Figura 7.5 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 1370-1800 cm^{-1} em pressão ambiente.

Fonte: Produzida pelo autor.

7.3.4 Região entre 2710 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} .

O espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato entre 2710 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} em condições ambientes é apresentado na Figura 7.6. Essa região contém bandas associadas a vibrações de estiramento das unidades CH, CH₂ e CH₃. Os três primeiros modos observados nessa região, centrados em $2724, 2772$ e 2858 cm^{-1} , não são observados nos espectros Raman da L-leucina e do ácido oxálico, o que dificultou bastante sua classificação, no entanto acreditamos que tais modos estejam relacionados a vibrações do tipo estiramento das unidades CH, CH₂ ou CH₃. Uma vez que, os modos centrados em 2873 e 2893 cm^{-1} foram classificados como estiramento antissimétrico do CH₃, $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ [32, 88]. Em 2913 e 2933 cm^{-1} estão presentes dois modos, os quais foram associados a estiramento do CH₂, $\nu(\text{CH}_2)$, em acordo com a referência [88]. O modo mais intenso dessa região localizado em torno de 2960 cm^{-1} foi atribuído a uma vibração de estiramento do CH [32]. Finalmente, o último modo observado nessa região em torno de 2968 cm^{-1} foi associado a um estiramento antissimétrico do CH₃, $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ em acordo com a referência [88]. É importante ressaltar que, nessa região, todas as bandas observadas devem-se provavelmente a leucina, já que o ácido oxálico não apresenta ligações do tipo CH. A Tabela 7.3 reúne os modos observados no cristal de L-leucina oxalato, bem como suas respectivas atribuições.

Figura 7.6 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na faixa espectral entre 2750-3200 cm^{-1} em pressão ambiente.



Fonte: Produzida pelo autor.

Tabela 7.3 – Identificação dos modos normais de vibração da L-leucina oxalato à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1} .

Modos	Atribuição
89	Modo de rede
113	Modo de rede
149	Modo de rede
208	$\tau(\text{CH})$
274	$\tau(\text{CH}_3)$
308	$\delta(\text{skl})$
352	$\delta(\text{skl})$
421	$\delta(\text{CO}_2)$
429	$\delta(\text{skl})$
455	$\delta(\text{skl})$
532	$r(\text{CO}_2^-)$
629	$w(\text{CO}_2^-)$
708	$\delta(\text{CO}_2^-)$
721	$\delta(\text{CO}_2^-)$
732	$\delta(\text{CO}_2^-)$
815	$\gamma(\text{CO}_2^-)$
849	$r(\text{CH}_3)$
888	$r(\text{CH}_3)$
944	$\nu(\text{CC})$
958	$\nu(\text{CC})$
974	$\nu(\text{CC})$
1058	$\nu(\text{CN})$
1068	$\nu(\text{CN})$
1132	$r(\text{NH}_3^+)$
1173	$r(\text{NH}_3^+)$
1224	$\delta(\text{CH})$
1245	$\tau(\text{CH}_2)$

τ = torção; δ = deformação; r = *rocking*; w = *wagging*; γ = deformação fora do plano; ν = estiramento; ν_s = estiramento simétrico; ν_{as} = estiramento antissimétrico

Tabela 7.3 (Continuação) Identificação dos modos normais de vibração da L-leucina oxalato à temperatura ambiente. Os valores das frequências são dados em cm^{-1} .

Modos	Atribuição
1274	$\nu(\text{CO})$
1320	$\delta(\text{CH})$
1346	$\delta(\text{CH})$
1371	$\delta(\text{CH})$
1399	$\delta_s(\text{CH}_3)$
1440	$\delta_{as}(\text{CH}_3)$
1455	$\delta_{as}(\text{CH}_3)$
1476	$\delta_{as}(\text{CH}_3)$
1569	$\nu(\text{CO}_2^-)$
1587	$\nu(\text{CO}_2^-)$
1628	$\delta(\text{NH}_3^+)$
1700	$\nu(\text{CO})$
1712	$\nu(\text{CO})$
1737	$\nu(\text{CO})$
2873	$\nu_{as}(\text{CH}_3)$
2893	$\nu_{as}(\text{CH}_3)$
2913	$\nu(\text{CH}_2)$
2933	$\nu(\text{CH}_2)$
2960	$\nu(\text{CH})$
2968	$\nu_{as}(\text{CH}_3)$

τ = torção; δ = deformação; r = *rocking*; w = *wagging*; γ = deformação fora do plano; ν = estiramento; ν_s = estiramento simétrico; ν_{as} = estiramento antissimétrico

Fonte: Elaborada pelo autor

8 Resultados no cristal de L-leucina oxalato sob altas pressões

Neste capítulo serão apresentados os resultados de espectroscopia Raman no cristal de L-leucina oxalato submetido a altas pressões. Nesses experimentos, atingiram-se pressões de até 20,1 GPa. Os espectros Raman obtidos entre 50 e 3200 cm^{-1} , indicam fortes modificações no número de modos, como também descontinuidades do gráfico de número de onda *versus* pressão, às quais foram interpretadas como transições de fase sofridas pelo cristal entre 0,9 e 1,0 GPa e entre 2,6 e 3,1 GPa. Além disso, todas as transições observadas foram reversíveis.

8.1 Região espectral entre 50 cm^{-1} e 400 cm^{-1} .

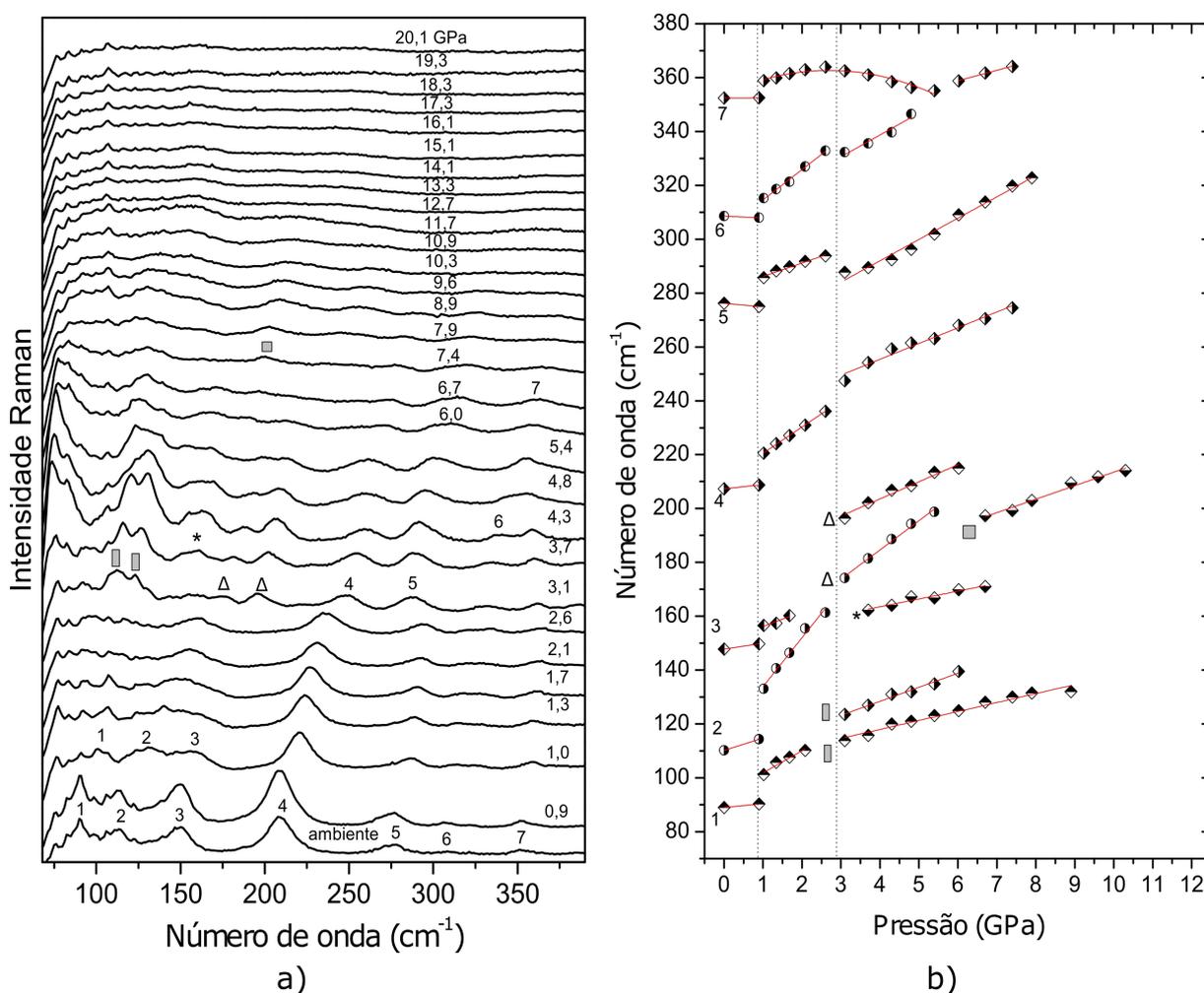
A evolução dos espectros Raman do cristal de L-leucina oxalato desde a pressão ambiente até 20,1 GPa na faixa espectral de 50-400 cm^{-1} é apresentado na Figura 8.1a e o gráfico de número de onda *versus* pressão, para essa mesma região, apresenta-se na Figura 8.1b. Os modos de rede, mesmo em condições ambientes, possuem baixa intensidade e mostram-se muito sensíveis à compressão, no entanto, algumas modificações podem ser percebidas, analisando a Figura 8.1a, percebe-se que os três primeiros modos marcados por 1, 2 e 3 ganham intensidade no espectro de 0,9 GPa, no entanto, a partir de 1,0 GPa diminuem intensidade até o espectro de 2,6 GPa. No gráfico de ω *versus* P é possível observar uma nítida descontinuidade na frequência destes modos em 1,0 GPa. No espectro de 3,1 GPa são observados quatro novos modos, indicados por dois retângulos e dois triângulos. Os dois modos marcados com retângulos ganham certa intensidade, mas a partir de 5,4 GPa começam a apresentar redução de intensidade. Os modos marcados com triângulos mantém baixa intensidade até aproximadamente 6,7 GPa, quando ambos não são mais observados. No espectro de 3,7 GPa ainda vemos uma banda larga que aparece em torno de 150 cm^{-1} . O surgimento destes cinco modos nos leva a sugerir que o cristal de LLO sofra uma transição de fase estrutural entre 2,6 e 4,3 GPa, uma vez que os modos situados nessa região são classificados como modos de rede. Um fato interessante a ser mencionado é que estudos anteriores no cristal de L-leucina sob altas pressões [87] apresentaram comportamento similar na relação sinal-ruído na região dos modos externos.

O modo 4, que foi associado a uma torção do CH, $\tau(\text{CH})$, pode ser observado até 7,4 GPa. Os três últimos modos dessa região (5,6 e 7) têm baixa intensidade nos primeiros espectros, no entanto, o modo 5 ganha intensidade e apresenta um deslocamento para menor número de onda entre 2,6 e 3,1 GPa e juntamente com o modo indicado por 7, pode

ser acompanhado até 7,4 GPa.

A intensidade de todos os modos dessa região é atenuada até o valor mais alto de pressão atingido nesse experimento, 20,1 GPa, de modo que apenas uma banda de baixa intensidade, marcada como um “quadrado”, foi registrada em alguns espectros para pressões superiores a 7,4 GPa. Na Figura 8.1b é fácil observar que quase todos os modos, exceção apenas ao modo 7, apresentam descontinuidades em sua frequência nos valores de pressão entre 0,9 e 1,0 GPa e entre 2,6 e 3,7 GPa.

Figura 8.1 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 50-400 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



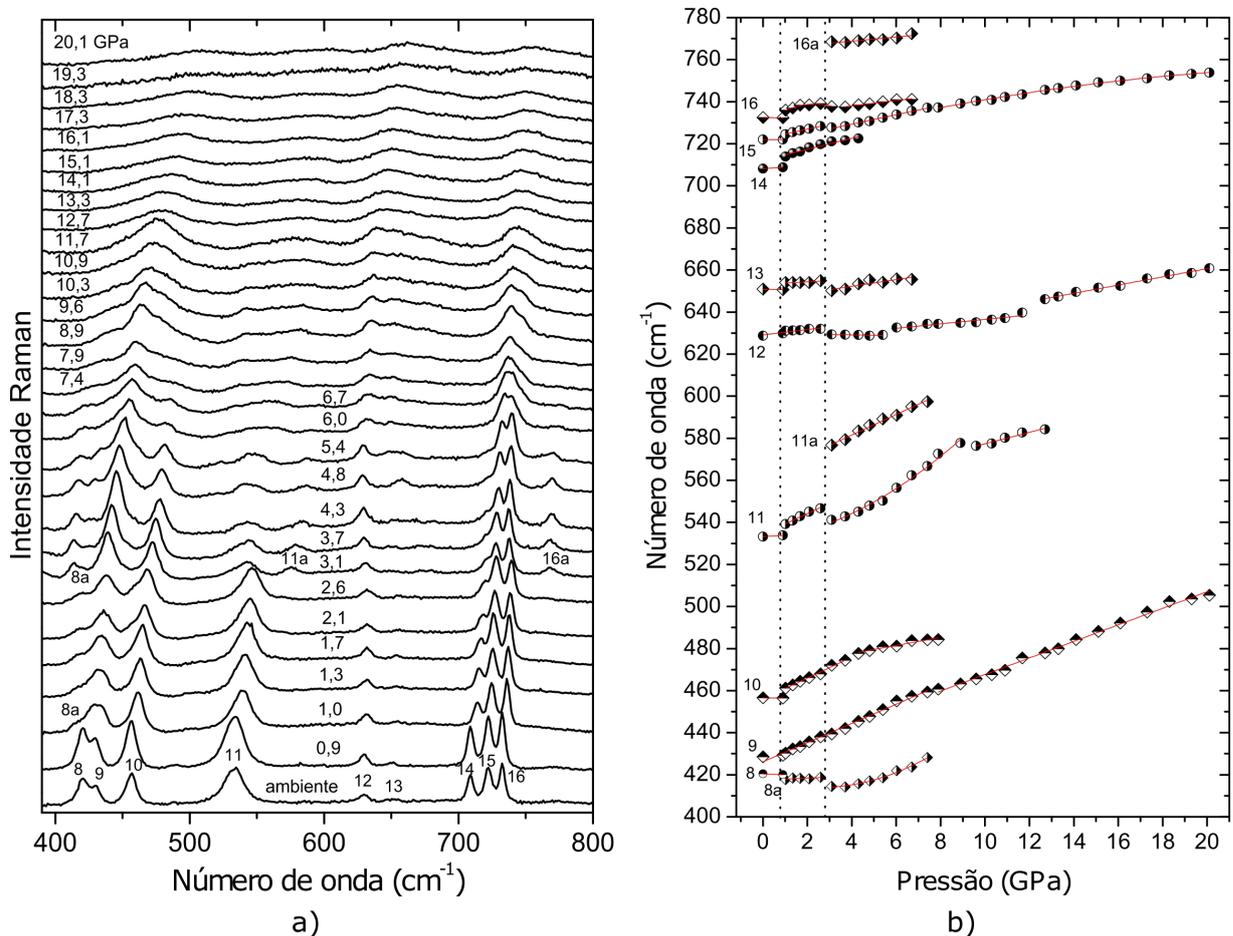
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

8.2 Região espectral entre 400 cm^{-1} e 800 cm^{-1} .

A Figura 8.2 mostra a evolução dos espectros Raman do cristal de L-leucina oxalato desde a pressão ambiente até 20,1 GPa na faixa espectral de 400-800 cm^{-1} em a) e o gráfico de número de onda *versus* pressão em b). Nessa região, em condições ambientes, pode-se ver 9 modos. Os modos 8 e 9 aparecem bem próximos no espectro ambiente, com a compressão, estes se aproximam e quando 1,0 GPa é atingido, percebe-se apenas uma única banda larga. Pode-se perceber ainda que entre 0,9 e 1,0 GPa todos os modos deslocam-se para maiores valores de frequência. Tal comportamento também foi notado na primeira região estudada. Chamamos a atenção também para o surgimento de uma banda de baixa intensidade, marcada como 8a, nesse mesmo espectro. A configuração espectral obtida em 1,0 GPa permanece quase sem alterações até 2,6 GPa, com exceção apenas ao modo 14 que segue perdendo intensidade com relação aos demais modos nessa faixa de pressão. Quando 3,1 GPa é alcançado, nota-se que os modos 8a e 9 ganham intensidade, enquanto que o modo 11 perde bruscamente intensidade e desloca-se para menores números de onda. Ainda nesse espectro, pode-se notar o surgimento de dois modos de baixa intensidade, nomeados como 11a e 16a. Vale ressaltar que modificações no espectro Raman também foram percebidas nesse mesmo valor de pressão na região anterior.

A partir de 3,1 GPa os modos 15 e 16 tendem a aproximar-se e no espectro de 6,7 GPa, estes apresentam-se como uma única banda, que embora perca intensidade com a compressão, pode ser observada até 20,1 GPa. Os modos 9 e 10 apresentam-se bem intensos no espectro de 3,1 GPa, com o aumento da pressão ambos perdem intensidade e entre 6,7 e 7,4 GPa apenas um deles é percebido, sendo este acompanhado até 16 GPa. Chamamos atenção também para o fato de que entre 6,7 e 7,4 GPa, os modos 8a, 11a e 16a desaparecem. No espectro de 20,1 GPa apenas 3 bandas largas são observadas.

Figura 8.2 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 400-800 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

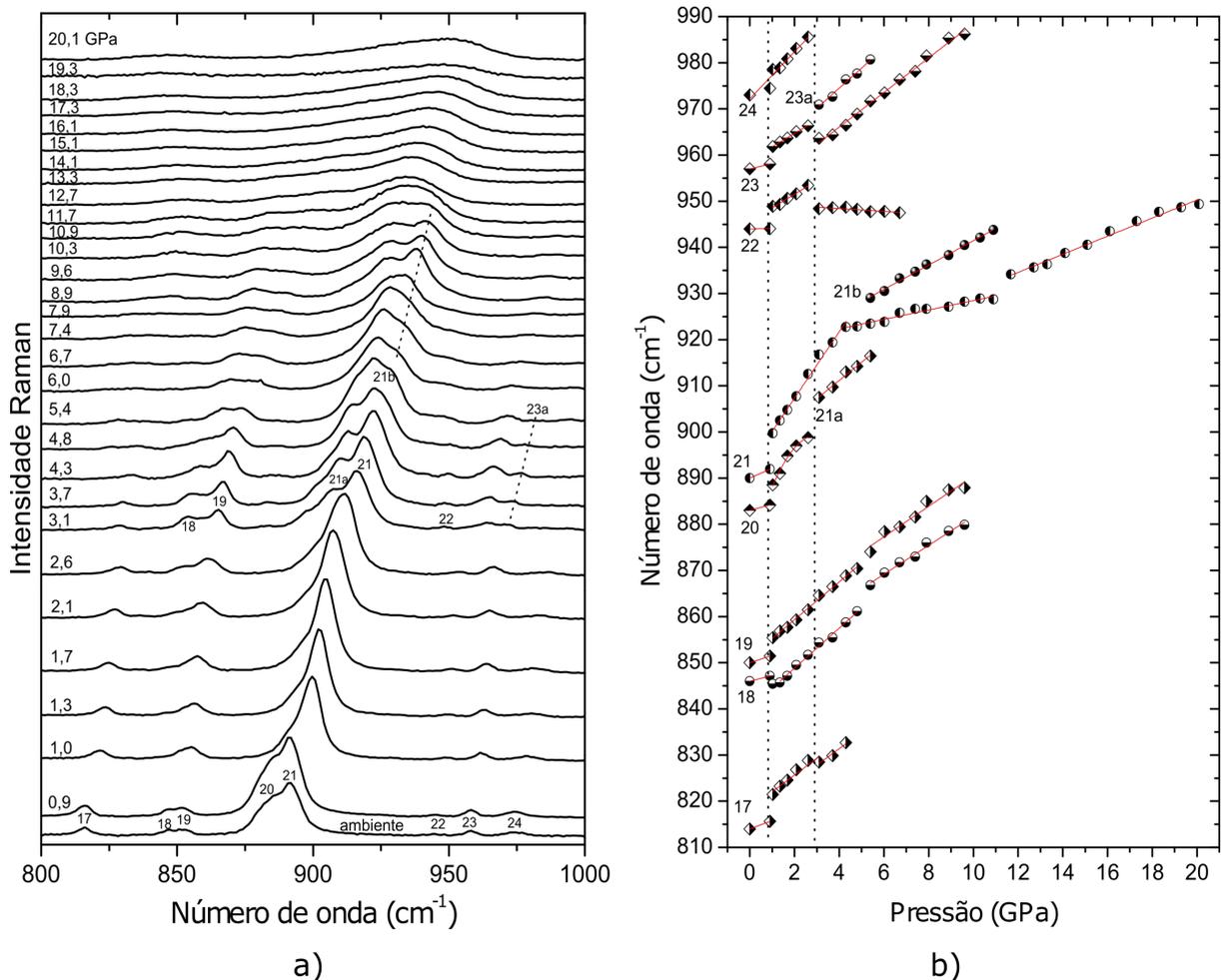
8.3 Região espectral entre 800 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} .

Os espectros Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 800 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} na faixa de pressão de ambiente à 20,1 GPa são apresentados nas Figuras 8.3a e 8.4a, os respectivos gráficos de número de onda *versus* pressão são apresentados nas Figuras 8.3b e 8.4b. Optamos por analisar essa região dividindo-a em duas partes devido a alta intensidade relativa dos modos centrado em $\sim 890 \text{ cm}^{-1}$, o que dificultava a análise dos modos próximos. Nesta região espectral, encontramos modos relacionados à unidades de deformação do CO_2^- , estiramento do C-C e C-N e *rocking* do NH_3^+ .

O deslocamento brusco de todos os modos observados para maiores número de onda entre 0,9 e 1,0 GPa é observado nessa região, tal como nas regiões anteriores. O espectro

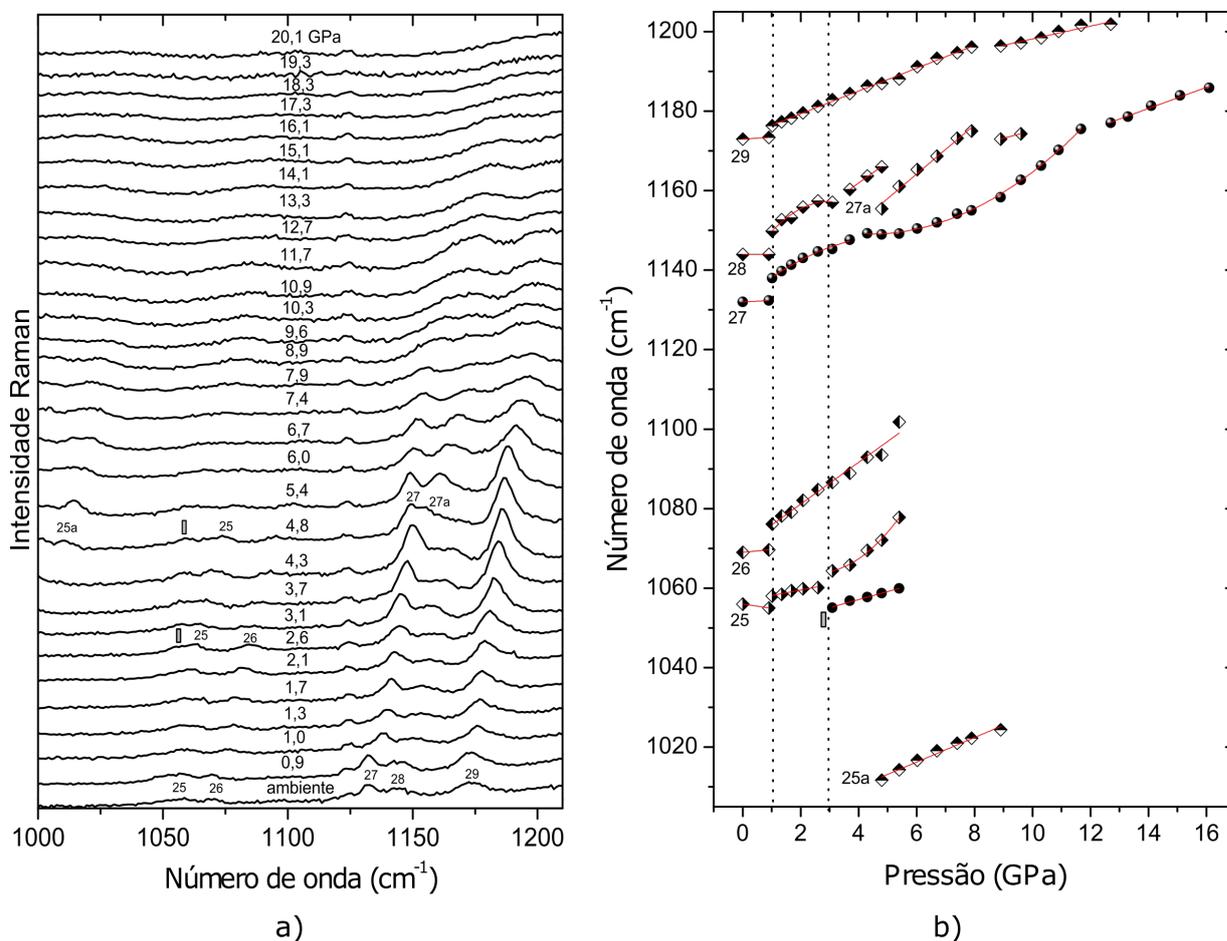
obtido em 1,0 GPa segue quase sem alterações até 2,6 GPa. Entre 2,6 e 3,1 GPa nota-se a nítida separação dos modos 18 e 19, além disso há o surgimento dos modos 21a, 23a e do modo marcado como “retângulo”, tais modificações fortalecem a afirmação que o cristal sofra uma transição de fase entre 2,6 e 3,1 GPa. Nessa região também é possível apontar modificações no espectro Raman entre 4,8 e 5,4 GPa, onde percebe-se o surgimento das bandas 21b, 25a e 27a, além do desaparecimento dos modos 23a e 28. Mudanças também são notadas no gráfico de número de onda *versus* pressão para vários modos nessa região. Para pressões superiores a 12 GPa apenas uma banda larga é vista e essa segue até o ultimo valor de pressão estudado.

Figura 8.3 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 800-1000 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Figura 8.4 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

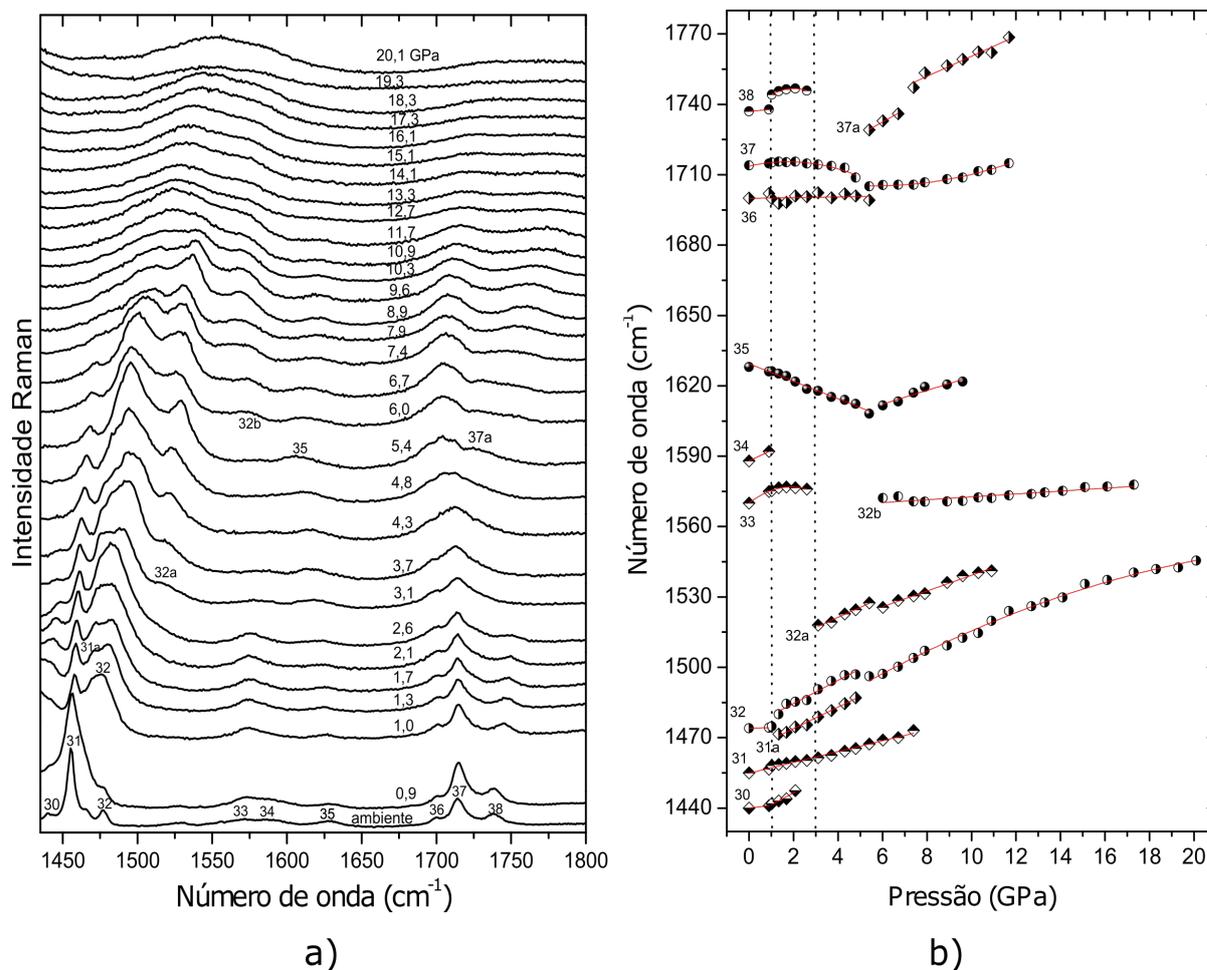
8.4 Região espectral entre 1400 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

A Figura 8.5a apresenta espectros do cristal de L-leucina oxalato desde a pressão ambiente até 20,1 GPa na região espectral de 1400 cm^{-1} à 1800 cm^{-1} . As primeiras mudanças notadas no espectro Raman ocorrem entre 0,9 e 1,0 GPa. O modo 31, que se apresentava como o mais intenso dessa região, perde bruscamente intensidade. O modo 32 que em condições ambientes apresentava-se com intensidade bastante reduzida, ganha intensidade e mostra-se como uma banda assimétrica. Ainda nessa faixa de pressão pode-se perceber o surgimento de um modo nomeado como 31a, no entanto o modo 34 não pôde mais ser ajustado. Entre 1,0 e 2,6 GPa o espectro Raman não apresenta grandes mudanças. Quando 3,1 GPa é alcançado podemos notar o surgimento do modo 32a, e três modos

(30,33 e 38), que pertenciam ao espectro ambiente, desaparecem.

Mudanças espectrais também são notadas na faixa de pressão entre 5,4 e 6,0 GPa. Os modos 31a e 32 tornam-se apenas uma banda e há o surgimento de dois modos, nomeados como 32b e 37a. Após 6,7 GPa com a compressão os modos seguem perdendo intensidade e no ultimo valor de pressão alcançado apenas uma banda larga é notada. Tais modificações analisadas aqui, podem ser também percebidas no gráfico de número de onda *versus* pressão, apresentada na Figura 8.5b. Vale ressaltar que as modificações relatadas nessa região estão em concordância com as observadas nas regiões anteriores, confirmando que o cristal de LLO sofre duas transições de fase até 20,1 GPa.

Figura 8.5 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre $1400-1800\text{ cm}^{-1}$ para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



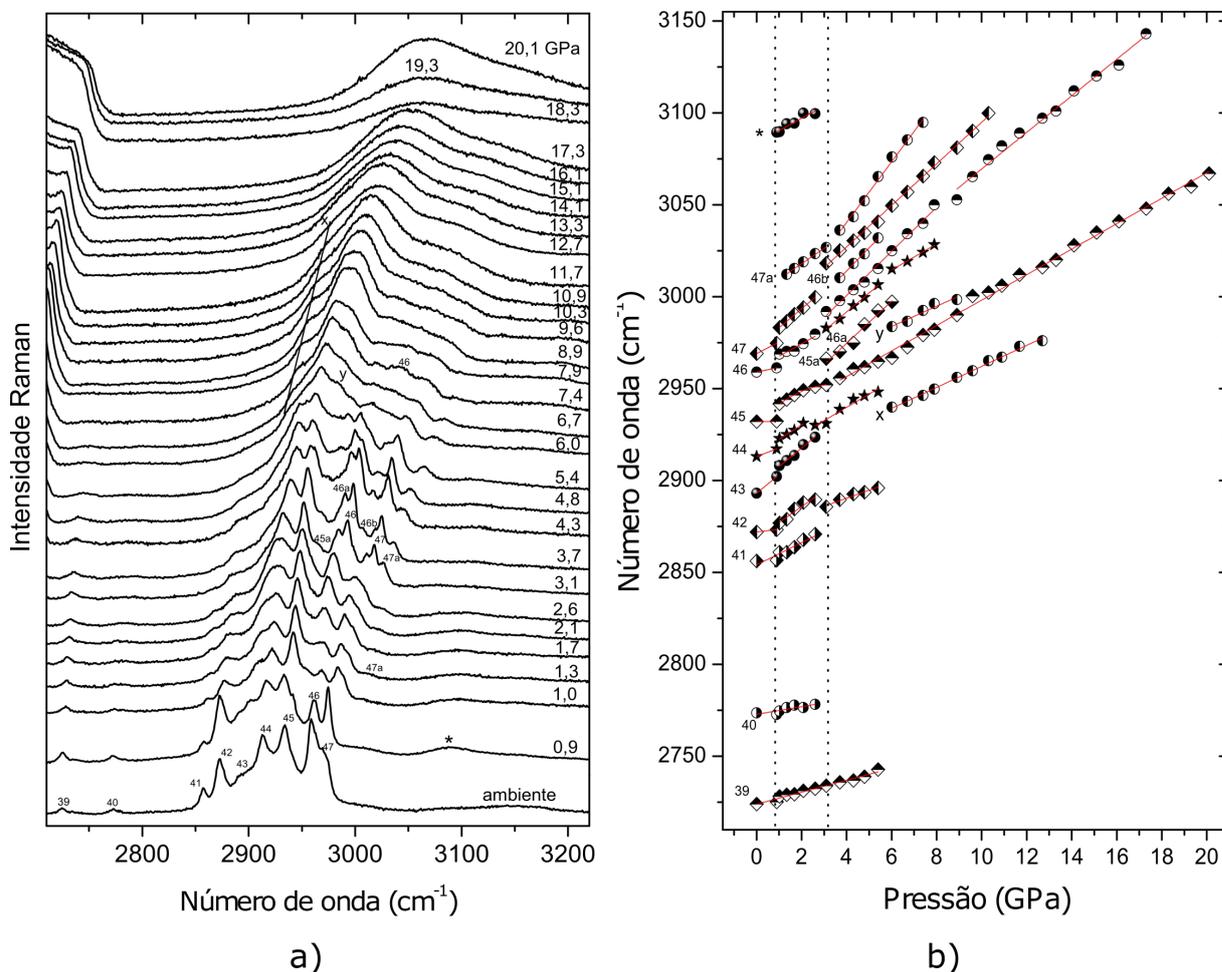
Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

8.5 Região espectral entre 2700 cm^{-1} e 3150 cm^{-1} .

A Figura 8.6a apresenta espectros Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral compreendida entre 2700 cm^{-1} e 3150 cm^{-1} nos intervalos de pressão de ambiente à 20,1 GPa. Na faixa de pressão em que ocorre a primeira transição de fase, entre 0,9 e 1,0 GPa, nota-se descontinuidades no gráfico de número de onda *versus* pressão dos modos 42 à 47. Nessa mesma faixa de pressão surgem duas bandas, a primeira nomeada como “estrela” e a segunda como 47a, embora essa última seja melhor percebida no espectro de 1,3 GPa. Quando a segunda transição de fase ocorre, entre 2,6 e 3,1 GPa, podemos citar o surgimento do modo 45a e o desaparecimento de três modos (40, 41 e 43). No espectro de 3,7 GPa nota-se também o surgimento de um modo de baixa intensidade nomeado como 46b. Tal modificação também deve estar relacionada à segunda transição de fase sofrida pelo cristal.

A partir de 6,0 GPa, as bandas apresentam-se largas e dois novos modos são observados (x e y). Com a compressão as bandas tornam-se ainda mais largas e apenas uma delas, com grande largura de linha, é percebida no espectro de 20,1 GPa. Encontramos nessa região altos coeficientes de inclinação e descontinuidades nos valores de pressão em cerca de 0,9 e 1,0 GPa e entre 2,6 e 3,1 GPa, como observado nas regiões analisadas anteriormente. A Tabela 8.1 apresenta a posição e a atribuição de alguns modos, nas duas primeiras colunas, respectivamente, além disso o valor dos coeficientes α e β entre as faixas de pressão onde as transições foram observadas também são mostrados.

Figura 8.6 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 2700-3150 cm^{-1} para diversos valores de pressão em a) e Gráfico de Número de onda *versus* pressão dos modos Raman do cristal de L-leucina oxalato na mesma faixa espectral em b).



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

8.6 Discussão dos resultados

As bandas associadas aos modos de rede estão distribuídas na região que vai de 0 à aproximadamente 150 cm^{-1} . Como já discutido nos capítulos 4 e 6, tais modos carregam informações sobre a célula unitária do material e são sensíveis à mudanças causadas por condições externas, tais como variação de pressão. Na amostra de L-leucina oxalato notam-se fortes mudanças em duas faixas de pressão. A primeira entre 0,9 e 1,0 GPa e a segunda entre 2,6 e 3,1 GPa, o que é um forte indício que este material sofra duas transições de fase nessas faixas, mudanças espectrais também foram observadas para pressões acima de 5,4 GPa.

Na primeira faixa de pressão citada notamos o deslocamento brusco para maiores frequências de todas as bandas na região dos modos de rede e de várias bandas na região dos modos internos, descontinuidades no gráfico de número de onda *versus* pressão para diversas bandas também são notadas. A forte inversão de intensidade das bandas 31 e 32, relacionadas à leucina é uma forte evidência da transição sofrida por esse material, é menos provável que tenha ocorrido uma mudança de sistema cristalino, já que o número de modos de rede não sofre alteração. Dessa forma, é provável que tenham ocorrido modificações nas ligações de hidrogênio, provocando conformações moleculares e uma súbita redução do volume da célula unitária. Podemos também citar o aparecimento de quatro bandas na região dos modos internos, a saber 8a, 31a 47a e “estrela” (última região), o que confirma a ocorrência de uma transição de fase nessa faixa de pressão. A segunda transição de fase, entre 2,6 e 3,1 GPa, foi caracterizada pelo surgimento de três bandas na região dos modos externos, 1a, 2a e “estrela”, surgimento de várias bandas na região dos modos internos, bandas 11a, 16a, 21a, 23a, 32a, 45a, 46a e 46b, além disso alguns modos percebidos em condições ambientes não foram percebidos nessa faixa de pressão. Por fim, descontinuidades no gráfico de frequência *versus* pressão também foram notadas. Vibrações com contribuições das unidades CO_2^- e NH_3^+ , apresentam modificações com a compressão. Lembramos, em particular, que tais unidades estão envolvidos em ligações de hidrogênio entre moléculas vizinhas e que na célula unitária da L-leucina oxalato as ligações de hidrogênio podem ocorrer entre moléculas de L-leucina, entre moléculas de oxálico ou entre uma molécula de L-leucina e uma de oxálico. Tais evidências reforçam nossa suposição de que o rearranjo molecular é acompanhado por alteração estrutural na rede de ligações de hidrogênio. Dessa forma, a L-leucina oxalato pode ser vista como um cristal onde as transições de fase induzem modificações nos modos externos e internos, como relatado anteriormente em outros complexos de aminoácidos + ácido oxálico [58].

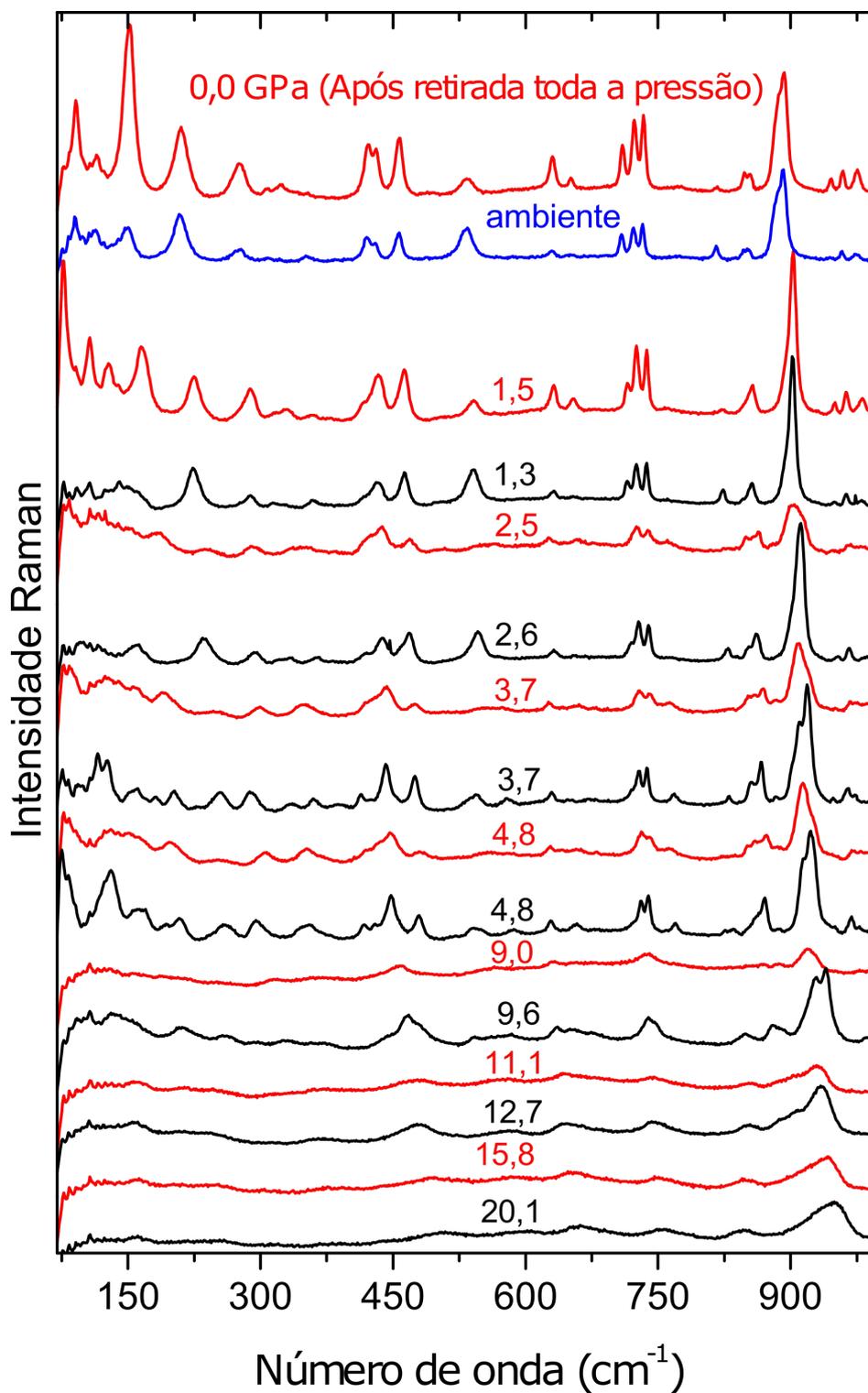
Assim, é interessante comparar os resultados obtidos para o complexo LLO e seus constituintes separadamente, bem como com outros complexos sob efeito de altas pressões. Duas transições de fase até 1,46 GPa foram relatadas para o cristal de L-leucina [87]. As anomalias observadas estão relacionadas às unidades CH e CH_3 , modificações nas ligações

de hidrogênio também foram percebidas através do modo de torção do CO_2^- durante as transições de fase. O cristal de ácido oxálico dihidratado apresenta uma transição de fase acima de 2 GPa e uma segunda próximo a 9 GPa relacionado à modificações nas ligações de hidrogênio que conectam os grupos carboxílicos às moléculas de água. Nota-se que o comportamento da LLO é um pouco distinto de seus constituintes. Esta apresenta-se mais estável que a L-leucina, contudo menos estável que o oxálico.

Transições de fase induzidas por pressão foram reportadas em um outro complexo de aminoácido + ácido oxálico, o bis(glycinium oxalato) que apresenta uma transição abaixo de 1,6 GPa e outra em $\sim 4,5$ GPa caracterizada pelo alargamento de bandas relacionadas ao estiramento do O-H que sugeriram o fortalecimento da curta ligação de hidrogênio O-H \cdots O [58], outro ponto que devemos chamar a atenção é o fato de que o deslocamento brusco para maiores número de onda de alguns modos relacionados ao estiramento do OH após a transição de fase foram interpretadas como mudanças nas ligações de hidrogênio entre as moléculas de glicina e oxálico, tal comportamento foi observado em vários modos no cristal de L-leucina oxalato após as transições de fase.

Com o objetivo de investigar a reversibilidade das transições de fase apresentadas pelo cristal de L-leucina oxalato, foram realizados experimentos de espalhamento Raman, baixando a pressão desde 20,1 GPa até a pressão atmosférica. A Figura 8.7 apresenta a evolução dos espectros Raman na região entre 50 e 1180 cm^{-1} para experimentos de compressão, em preto, e experimentos de descompressão, em vermelho. O espectro em azul mostra a medida ambiente anterior à compressão e o espectro nomeado como 0,0 GPa (após retirada toda a pressão) mostra a medida ambiente após retirada de toda a pressão da célula. Nesta região espectral observa-se que todas as mudanças são reversíveis. Nota-se também a existência de uma histerese.

Figura 8.7 – Espectro Raman do cristal de L-leucina oxalato na região espectral entre 50-1100 cm^{-1} para alguns valores de pressão na compressão em preto e na descompressão em vermelho.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando os dados experimentais.

Tabela 8.1 – Tabela de classificação e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de L-leucina oxalato à pressão ambiente (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Os valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	$0,0 \text{ GPa} \leq P \leq 0,9$			$0,9 \leq P \leq 3,1 \text{ GPa}$			$3,1 \text{ GPa} \leq P \leq 7,4 \text{ GPa}$			$7,4 \text{ GPa} \leq P \leq 20,1 \text{ GPa}$		
		ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α	β
1	89	89	1,42		101	3,89		101	3,89				
2	110	110,02	4,58		115,8	18,1		141,2	10,8				
3	148	147,0	2,8		150,6	5,5							
4	207	207,3	1,6		210,8	9,7		231,9	5,6				
5	276	276,2	-1,3		281,2	5		260,3	7,9				
6	308	308,5	-0,6		303,3	11,3		306,2	8,1				
8	421	420,4	-0,41										
9	429	426,1	4,6		426,1	4,6		426,1	4,6		428,3	3,9	
10	455	456,6	-0,1		456	5		470,1	1,9				
11	532	533,2	0,6		534,4	4,9		530,9	1,6	0,4	550,2	2,7	
13	651	650,9	-0,3		653,3	0,5		645,8	1,6				
14	708	708,2	0,7		712,1	2,6							
15	721	722	0,03		722,3	2,3		720,3	2,2		718	2,8	0,05
16	732	732,5	-0,06		729,4	8,1	-1,8	732,9	1,3				
17	815	814	1,81		818,4	3,6		817,3	3,5				
20	888	883	1,3		873,9	16,9	-2,4						
22	944	944	0,01		945,6	3		949,6	-0,3				
23	958	957	1,2		958,9	2,9		951,1	3,7				
25	1058	1056	-1,1		1056,7	1,4		1075,2	-8,9	1,7			
28	1132	1144	-0,01		1140,1	11,6	-1,9	1141	5,2				
29	1173	1173	0,4		1173,6	2,9		1173,6	2,9		1182,1	1,6	
30	1440	1440	1,1		1436,2	5,1							

Tabela 8.1 (Continuação) Tabela de classificação e dos coeficientes de pressão dos modos Raman observados no cristal de L-leucina oxalato à pressão ambiente (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) e do ajuste parabólico ($\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$) aos pontos experimentais. Os valores de pressão (P) estão em GPa. Os valores de ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} .

Modos	ω_{exp}	$0,0 \text{ GPa} \leq P \leq 0,9$			$0,9 \leq P \leq 3,1 \text{ GPa}$			$3,1 \text{ GPa} \leq P \leq 7,4 \text{ GPa}$			$7,4 \text{ GPa} \leq P \leq 20,1 \text{ GPa}$		
		ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α	β	ω_0	α	β
31	1455	1454,8	2,3		1454,8	2,3		1454,8	2,3				
32	1476	1474	0,3		1474,7	4,9		1463,2	6,4	-0,1	1463,2	6,4	0,1
33	1569	1570	7,3	-1,9	1570	7,3	-1,9						
34	1589	1588	4,4										
38	1737	1737	0,9		1736,1	-2,6							
40	2772	2772,8	2,1		2772,8	2,1							
41	2858	2854,1	6,1		2854,1	6,1							
42	2873	2872	1,4		2868,5	8,6		2873,1	4,3				
43	2893	2893	10,2		2897,5	10,1							
44	2813	2913	4,7		2914,7	7,8		2910,9	7,2				
45	2833	2932	0,2		2930,8	12,4	-1,8	2928,9	6,9		2928,9	6,9	
46	2860	2959	2,5		2960,8	6,8		2952,5	12		2970	9,9	
47	2968	2969	6,3		2972,7	10,4		2981,8	11,3		2981,8	11,3	

Fonte: Elaborada pelo autor a partir dos dados experimentais.

8.7 Conclusão dos resultados obtidos no cristal de L-leucina oxalato

Os espectros Raman do cristal de L-leucina oxalato foram obtidos na região espectral entre 50 - 3150 cm^{-1} em condições ambientes e a classificação dos modos Raman foi realizada por comparação com a frequência de modos classificados previamente em outros cristais de aminoácidos, em cristais de L-leucina e em cristais de ácido oxálico dihidratado e anidro nas formas α e β . Os experimentos a altas pressões foram feitos utilizando neônio como meio compressor. Modificações não apenas nos modos externos, mas também nos internos, sustentam nossa suposição de que o cristal de L-leucina oxalato sofre duas transições de fase com o aumento da pressão. A primeira ocorre entre 0,9 e 1,0 GPa, e a segunda entre 2,6 e 3,1 GPa. Essas duas transições de fase são reversíveis.

9 Conclusões e Perspectivas

Este capítulo consiste em um apanhado geral dos resultados obtidos mediante realização de diversos experimentos nas amostras de DL-isoleucina ($C_6H_{13}NO_2$), ácido DL-glutâmico monohidratado ($C_5H_9NO_4 \cdot H_2O$) e L-leucina oxalato ($C_6H_{14}NO_2^+ \cdot C_2HO_4^-$). Tais experimentos possuem o objetivo de caracterizá-las e ainda estudar a estabilidade das três amostras quando submetidas às condições extremas de pressão.

9.1 Conclusões

Os cristais das três amostras em estudo foram obtidos a partir do método de evaporação lenta do solvente. Suas estruturas foram confirmadas através de experimentos de difração de raios-X. A DL-isoleucina apresenta estrutura triclínica, pertencendo ao grupo espacial $P\bar{1}$, o ácido DL-glutâmico monohidratado possui estrutura ortorrômbica, pertencente ao grupo espacial $Pbca$ (D_{2h}) e a L-leucina oxalato possui estrutura triclínica, sem centro de inversão, pertencendo ao grupo espacial $P1$ (C_1). Espectros Raman foram utilizados, em condições ambientes de temperatura e pressão, na classificação dos modos vibracionais dessas amostras, por meio de comparação com trabalhos encontrados na literatura. Para a amostra de DL-isoleucina também foram utilizadas atribuições com base no PED.

Foram realizados dois experimentos de espectroscopia Raman sob altas pressões no cristal de DL-isoleucina. No experimento 1, o cristal dessa amostra foi submetido às pressões de até 7,1 GPa, no intervalo espectral de 50 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} , utilizando nitrogênio como meio transmissor de pressão. No experimento 2, foram atingidas pressões de até 17,3 GPa, utilizando neônio como meio transmissor de pressão. Modificações não apenas nos modos externos, mas também nos internos, sustentam nossa suposição de que o cristal de DL-isoleucina sofre duas transições de fase na compressão. A primeira ocorre entre 1,3 e 1,9 GPa, envolvendo principalmente o esqueleto de moléculas de isoleucina e o grupo CH_3 , e o segundo entre 3,6 e 4,4 GPa. Essas duas transições de fase são reversíveis. Com os dois fluidos observamos as duas transições nas mesmas faixas de pressão.

O cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado foi analisado por espectroscopia Raman desde a pressão ambiente até 14,3 GPa, no intervalo espectral de 50 a 3750 cm^{-1} . A classificação dos modos Raman foi feita em comparação com resultados de trabalhos já publicados com respeito a outros aminoácidos e às formas α e β do ácido L-glutâmico. Os resultados dos experimentos de espectroscopia Raman a altas pressões evidenciaram três transições de fase em torno de 0,9, 4,8 e 12,4 GPa. Para estas três transições de

fase, o ácido glutâmico e as moléculas de água mostraram-se flexíveis sob compressão. Além disso, o cristal de ácido DL-glutâmico monohidratado apresenta alta estabilidade em comparação com o polimorfo ácido L- β -glutâmico e apresenta-se menos estável que o ácido L- α -glutâmico. Finalmente, todas as transições observadas foram reversíveis.

O cristal de L-leucina oxalato foi estudado por espectroscopia Raman desde pressão ambiente até 20,1 GPa, no intervalo espectral de 50 cm^{-1} à 3200 cm^{-1} , utilizando neônio como meio transmissor de pressão. A classificação dos modos vibracionais obtidos foi realizada por comparação com a frequência de modos classificados previamente em outros cristais de aminoácidos, em cristais de L-leucina e em cristais de ácido oxálico dihidratado e anidro nas formas α e β . Os resultados dos experimentos de espectroscopia Raman a altas pressões evidenciaram duas transições estruturais, a primeira entre 0,9 e 1,0 GPa e a segunda entre 2,6 e 3,1 GPa, evidenciadas pelo surgimento e desaparecimento de bandas tanto na região de modos externos quanto na região de modos internos. Modificações no espectro Raman também foram observadas para pressões acima de 5,4 GPa. Os experimentos de descompressão confirmaram que as transições de fase observadas são reversíveis.

9.2 Perspectivas

As principais perspectivas para o desenvolvimento do trabalho apresentado nesta tese incluem:

- Complementar os dados obtidos nos experimentos de espectroscopia Raman a altas pressões com experimentos de difração de raios-X nas mesmas condições, afim de determinar a estrutura das três amostras estudadas após as transições de fase.
- Realizar medidas experimentais adicionais de espectroscopia Raman a altas e baixas temperaturas nas amostras de DL-isoleucina e L-leucina oxalato buscando investigar a estabilidade ou não destes materiais nestas condições.
- Realizar cálculos de DFT para uma atribuição mais precisa dos modos Raman ativos da amostra de L-leucina oxalato.

Referências

- [1] E. V. Boldyreva, “High-pressure studies of the hydrogen bond networks in molecular crystals,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 700, pp. 151–155, aug 2004. Citado na página 24.
- [2] V. S. Minkov, N. A. Tumanov, R. Q. Cabrera, and E. V. Boldyreva, “Low temperature high pressure polymorphism in DL - cysteine,” *CrystEngComm*, vol. 12, no. 9, p. 2551, 2010. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 35.
- [3] B. A. Zakharov, B. A. Kolesov, and E. V. Boldyreva, “Effect of pressure on crystalline L - and DL -serine: revisited by a combined single-crystal X-ray diffraction at a laboratory source and polarized Raman spectroscopy study,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 68, pp. 275–286, jun 2012. Citado na página 24.
- [4] N. P. Funnell, W. G. Marshall, and S. Parsons, “Alanine at 13.6 GPa and its pressure-induced amorphisation at 15 GPa,” *CrystEngComm*, vol. 13, no. 19, p. 5841, 2011. Citado 3 vezes nas páginas 24, 31 e 75.
- [5] S. Guerin, A. Stapleton, D. Chovan, R. Mouras, M. Gleeson, C. McKeown, M. R. Noor, C. Silien, F. M. F. Rhen, A. L. Kholkin, N. Liu, T. Soulimane, S. A. M. Tofail, and D. Thompson, “Control of piezoelectricity in amino acids by supramolecular packing,” *Nature Materials*, vol. 17, pp. 180–186, dec 2017. Citado na página 24.
- [6] A. Heredia, V. Meunier, I. K. Bdikin, J. Gracio, N. Balke, S. Jesse, A. Tselev, P. K. Agarwal, B. G. Sumpter, S. V. Kalinin, and A. L. Kholkin, “Nanoscale Ferroelectricity in Crystalline γ -Glycine,” *Advanced Functional Materials*, vol. 22, pp. 2996–3003, jul 2012. Citado na página 24.
- [7] A. H. Reshak, G. Lakshminarayana, H. Kamarudin, I. V. Kityk, S. Auluck, J. Berdowski, and Z. Tylczynski, “Amino acid 2-aminopropanoic $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ crystals: materials for photo- and acoustoinduced optoelectronic applications,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 23, pp. 1922–1931, oct 2012. Citado na página 24.
- [8] I. Antal, M. Koneracka, M. Kubovcikova, V. Zavisova, I. Khmara, D. Lucanska, L. Jelenska, I. Vidlickova, M. Zatovicova, S. Pastorekova, N. Bugarova, M. Micusik, M. Omastova, and P. Kopcansky, “d,l-lysine functionalized Fe_3O_4 nanoparticles for detection of cancer cells,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 163, pp. 236–245, mar 2018. Citado na página 24.

- [9] C. J. Lynch and S. H. Adams, “Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, pp. 723–736, dec 2014. Citado na página 24.
- [10] R. A. Harris, M. Joshi, N. H. Jeoung, and M. Obayashi, “Overview of the Molecular and Biochemical Basis of Branched-Chain Amino Acid Catabolism,” *The Journal of Nutrition*, vol. 135, pp. 1527S–1530S, jun 2005. Citado na página 24.
- [11] C. B. Newgard, J. An, J. R. Bain, M. J. Muehlbauer, R. D. Stevens, L. F. Lien, A. M. Haqq, S. H. Shah, M. Arlotto, C. A. Slentz, J. Rochon, D. Gallup, O. Ilkayeva, B. R. Wenner, W. S. Yancy, H. Eisenson, G. Musante, R. S. Surwit, D. S. Millington, M. D. Butler, and L. P. Svetkey, “A Branched-Chain Amino Acid-Related Metabolic Signature that Differentiates Obese and Lean Humans and Contributes to Insulin Resistance,” *Cell Metabolism*, vol. 9, pp. 311–326, apr 2009. Citado na página 24.
- [12] Y. Huang, M. Zhou, H. Sun, and Y. Wang, “Branched-chain amino acid metabolism in heart disease: an epiphenomenon or a real culprit?,” *Cardiovascular Research*, vol. 90, pp. 220–223, may 2011. Citado na página 24.
- [13] B. C. Batch, S. H. Shah, C. B. Newgard, C. B. Turer, C. Haynes, J. R. Bain, M. Muehlbauer, M. J. Patel, R. D. Stevens, L. J. Appel, L. K. Newby, and L. P. Svetkey, “Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness,” *Metabolism*, vol. 62, pp. 961–969, jul 2013. Citado na página 24.
- [14] M. M. Harding and H. A. Long, “The crystal and molecular structure of L-cysteine,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 24, pp. 1096–1102, aug 1968. Citado na página 24.
- [15] K. A. Kerr and J. P. Ashmore, “Structure and conformation of orthorhombic L-cysteine,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 29, no. 10, pp. 2124–2127, 1973. Citado na página 24.
- [16] M. Mallikarjunan and S. T. Rao, “Crystal structure of DL-valine,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 25, pp. 296–303, feb 1969. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 34.
- [17] B. Dalhus and C. H. Görbitz, “Triclinic Form of DL-Valine,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 52, pp. 1759–1761, jul 1996. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 34.
- [18] B. J. M. Rajkumar and V. Ramakrishnan, “Infrared and Raman spectra of L-valine nitrate and L-leucine nitrate,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 31, pp. 1107–1112, dec 2000. Citado na página 24.

- [19] B. J. Rajkumar and V. Ramakrishnan, “Vibrational spectroscopic study of dl-methionine dihydrogen phosphate,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 57, pp. 247–254, feb 2001. Citado na página 24.
- [20] S. Hoshino, Y. Okaya, and R. Pepinsky, “Crystal Structure of the Ferroelectric Phase of (Glycine)₃ · H₂SO₄,” *Physical Review*, vol. 115, pp. 323–330, jul 1959. Citado na página 24.
- [21] A. Wojciechowska, A. Gągor, M. Duczmal, Z. Staszak, and A. Ozarowski, “L - Tyrosinatonickel(II) Complex: Synthesis and Structural, Spectroscopic, Magnetic, and Biological Properties of 2{[Ni(1-Tyr) 2 (bpy)]}·3H₂O·CH₃OH,” *Inorganic Chemistry*, vol. 52, pp. 4360–4371, apr 2013. Citado na página 24.
- [22] T. Sakurai, H. Iwasaki, T. Katano, and Y. Nakahashi, “Bis(L -histidinato)nickel(II) monohydrate,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 34, pp. 660–662, feb 1978. Citado na página 24.
- [23] P. Deschamps, P. P. Kulkarni, and B. Sarkar, “X-ray Structure of Physiological Copper(II) Bis(L -histidinato) Complex,” *Inorganic Chemistry*, vol. 43, pp. 3338–3340, may 2004. Citado na página 24.
- [24] M. Subha Nandhini, R. V. Krishnakumar, and S. Natarajan, “L -Alaninium oxalate,” *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, vol. 57, pp. o633–o635, jul 2001. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 32.
- [25] R. Chitra and R. R. Choudhury, “Investigation of hydrogen-bond network in bis(glycinium) oxalate using single-crystal neutron diffraction and spectroscopic studies,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 63, pp. 497–504, jun 2007. Citado na página 24.
- [26] R. Chitra, V. Thiruvengatam, R. R. Choudhury, M. V. Hosur, and T. N. Guru Row, “Conformation and structure of bis(glycyl- L -aspartic acid) oxalate 0.4-hydrate,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 63, pp. o11–o13, jan 2007. Citado na página 24.
- [27] C. H. Görbitz and P. H. Backe, “Structures of L -valyl- L -glutamine and L -glutamyl- L -valine,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 52, pp. 999–1006, dec 1996. Citado na página 24.
- [28] C. H. Görbitz and E. Gundersen, “L-Valyl-L-alanine,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 52, pp. 1764–1767, jul 1996. Citado na página 24.

- [29] C. H. Görbitz, “L -Phenylalanyl- L -alanine dihydrate,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 57, pp. 575–576, may 2001. Citado na página 24.
- [30] C. H. Görbitz, “L -Leucyl- L -isoleucine 0.75 hydrate,” *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, vol. 60, pp. o647–o650, apr 2004. Citado na página 24.
- [31] H. Birkedal, D. Schwarzenbach, and P. Pattison, “Observation of Uniaxial Negative Thermal Expansion in an Organic Crystal,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 41, p. 754, mar 2002. Citado na página 25.
- [32] M. Anbuechziyan, S. Ponnusamy, and C. Muthamizhchelvan, “Synthesis, characterization and nonlinear optical studies of L-leucinium oxalate: A single crystal,” *Optoelectronics and Advanced Materials, Rapid Communications*, vol. 3, no. 11, pp. 1161–1167, 2009. Citado 5 vezes nas páginas 25, 41, 126, 127 e 128.
- [33] S. Dhanuskodi and K. Vasantha, “Structural, thermal and optical characterizations of a NLO material: L-alaninium oxalate,” *Crystal Research and Technology*, vol. 39, pp. 259–265, mar 2004. Citado na página 25.
- [34] C. R. Raja and A. A. Joseph, “Crystal growth and comparative studies of XRD, spectral studies on new NLO crystals: l-Valine and l-valinium succinate,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 74, pp. 825–828, oct 2009. Citado na página 25.
- [35] M. Prakash, D. Geetha, M. Lydia Caroline, and P. Ramesh, “Crystal growth, structural, optical, dielectric and thermal studies of an amino acid based organic NLO material: l-Phenylalanine l-phenylalaninium malonate,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 83, pp. 461–466, dec 2011. Citado na página 25.
- [36] A. B. Ahmed, N. Elleuch, H. Feki, Y. Abid, and C. Minot, “Vibrational spectra and non linear optical proprieties of l-histidine oxalate: DFT studies,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 79, pp. 554–561, aug 2011. Citado na página 25.
- [37] A. O. Surov, A. N. Manin, A. P. Voronin, K. V. Drozd, A. A. Simagina, A. V. Churakov, and G. L. Perlovich, “Pharmaceutical salts of ciprofloxacin with dicarboxylic acids,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 77, pp. 112–121, sep 2015. Citado na página 25.
- [38] C. Florindo, A. Costa, C. Matos, S. L. Nunes, A. N. Matias, C. M. Duarte, L. P. N. Rebelo, L. C. Branco, and I. M. Marrucho, “Novel organic salts based on fluoro-

- quinolone drugs: Synthesis, bioavailability and toxicological profiles,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 469, no. 1, pp. 179–189, 2014. Citado na página 25.
- [39] G. Barret and D. Elmore, *Amino Acids and Peptides*, vol. 136. 1998. Citado na página 29.
- [40] S. Datta and D. J. W. Grant, “Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering,” *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 3, pp. 42–57, jan 2004. Citado na página 30.
- [41] J. Henck and M. Kuhnert-Brandstatter, “Demonstration of the Terms Enantiotropy and Monotropy in Polymorphism Research Exemplified by Flurbiprofen,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 88, pp. 103–108, jan 1999. Citado na página 30.
- [42] L. Misoguti, A. Varela, F. Nunes, V. Bagnato, F. Melo, J. Mendes Filho, and S. Zilio, “Optical properties of L-alanine Organic Crystals,” *Optical Materials*, vol. 6, pp. 147–152, sep 1996. Citado na página 31.
- [43] C. Murli, S. M. Sharma, S. Karmakar, and S. Sikka, “ α -Glycine under high pressures: a Raman scattering study,” *Physica B: Condensed Matter*, vol. 339, pp. 23–30, nov 2003. Citado 4 vezes nas páginas 31, 32, 75 e 111.
- [44] S. Goryainov, E. Kolesnik, and E. Boldyreva, “A reversible pressure-induced phase transition in β -glycine at 0.76GPa,” *Physica B: Condensed Matter*, vol. 357, pp. 340–347, mar 2005. Citado na página 31.
- [45] E. V. Boldyreva, S. N. Ivashevskaya, H. Sowa, H. Ahsbahs, and H.-P. Weber, “Effect of High Pressure on Crystalline Glycine: A New High-Pressure Polymorph,” *Doklady Physical Chemistry*, vol. 396, pp. 111–114, may 2004. Citado na página 31.
- [46] S. A. Moggach, W. G. Marshall, and S. Parsons, “High-pressure neutron diffraction study of L -serine-I and L -serine-II, and the structure of L -serine-III at 8.1 GPa,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 62, pp. 815–825, oct 2006. Citado na página 31.
- [47] A. Teixeira, P. Freire, A. Moreno, J. Sasaki, A. Ayala, J. Mendes Filho, and F. Melo, “High-pressure Raman study of l-alanine crystal,” *Solid State Communications*, vol. 116, pp. 405–409, oct 2000. Citado na página 31.
- [48] J. Staun Olsen, L. Gerward, A. G. Souza Filho, P. T. C. Freire, J. Mendes Filho, and F. E. A. Melo, “High-pressure X-ray diffraction of L -ALANINE crystal,” *High Pressure Research*, vol. 26, pp. 433–437, dec 2006. Citado na página 31.

- [49] N. A. Tumanov, E. V. Boldyreva, B. A. Kolesov, A. V. Kurnosov, and R. Quesada Cabrera, “Pressure-induced phase transitions in L -alanine, revisited,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 66, pp. 458–471, aug 2010. Citado na página 31.
- [50] E. Belo, J. Lima, P. Freire, F. Melo, J. M. Filho, H. Bordallo, and A. Polian, “High-pressure Raman spectra of racemate dl-alanine crystals,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 54, pp. 107–111, nov 2010. Citado 2 vezes nas páginas 31 e 96.
- [51] N. A. Tumanov and E. V. Boldyreva, “X-ray diffraction and Raman study of DL-alanine at high pressure: revision of phase transitions,” *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, vol. 68, pp. 412–423, aug 2012. Citado na página 31.
- [52] A. Aubrey, H. J. Cleaves, J. H. Chalmers, A. M. Skelley, R. A. Mathies, F. J. Grunthaler, P. Ehrenfreund, and J. L. Bada, “Sulfate minerals and organic compounds on Mars,” *Geology*, vol. 34, no. 5, pp. 357–360, 2006. Citado na página 31.
- [53] S. L. Miller and L. E. Orgel, *The Origins of Life on the Earth*. dec 1974. Citado na página 31.
- [54] K. A. Kvenvolden, J. G. Lawless, and C. Ponnampereuma, “Nonprotein amino acids in the murchison meteorite.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 68, pp. 486–490, feb 1971. Citado na página 31.
- [55] M. S. Lehmann, T. F. Koetzle, and W. C. Hamilton, “Precision neutron diffraction structure determination of protein and nucleic acid components. I. Crystal and molecular structure of the amino acid L-alanine,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 94, pp. 2657–2660, apr 1972. Citado na página 32.
- [56] R. C. Vilela, *Estudo de transições de fase em cristais de L-Alanina + Ácido oxálico*. PhD thesis, Universidade Federal do Ceará, 2013. Citado 3 vezes nas páginas 32, 35 e 126.
- [57] A. K. Mishra, C. Murli, N. Garg, R. Chitra, and S. M. Sharma, “Pressure-Induced Structural Transformations in Bis(glycinium)oxalate,” *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 114, pp. 17084–17091, dec 2010. Citado na página 32.
- [58] H. Bhatt, C. Murli, N. Garg, M. Deo, R. Chitra, R. R. Choudhury, and S. M. Sharma, “High pressure phase transformations in Bis(glycinium)oxalate – An infrared absorption study,” *Chemical Physics Letters*, vol. 532, pp. 57–62, apr 2012. Citado 3 vezes nas páginas 32, 141 e 142.
- [59] V. S. Minkov, A. S. Krylov, E. V. Boldyreva, S. V. Goryainov, S. N. Bizyaev, and A. N. Vtyurin, “Pressure-Induced Phase Transitions in Crystalline l - and dl

- Cysteine,” *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 112, pp. 8851–8854, jul 2008. Citado 2 vezes nas páginas 33 e 96.
- [60] V. S. Minkov, E. V. Boldyreva, T. N. Drebuschak, and C. H. Görbitz, “Stabilizing structures of cysteine-containing crystals with respect to variations of temperature and pressure by immobilizing amino acid side chains,” *CrystEngComm*, vol. 14, no. 18, p. 5943, 2012. Citado na página 33.
- [61] B. A. Zakharov and E. V. Boldyreva, “Reversible pressure-induced disordering in bis(dl-serinium) oxalate dihydrate,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1078, pp. 151–157, dec 2014. Citado na página 33.
- [62] J. A. Lima, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, and P. S. Pizani, “High pressure Raman spectra of L-methionine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 39, pp. 1356–1363, oct 2008. Citado na página 34.
- [63] W. Melo, P. Freire, J. M. Filho, F. Melo, J. Lima, and W. Paraguassu, “Raman spectroscopy of d-methionine under high pressure,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 72, pp. 57–61, may 2014. Citado na página 34.
- [64] G. O. d. M. Gusmão, *Estudo das propriedades vibracionais do aminoácido Dl-metionina por espectroscopia Raman*. PhD thesis, 2014. Citado na página 34.
- [65] J. H. da Silva, V. Lemos, P. T. C. Freire, F. E. a. Melo, J. M. Filho, J. a. Lima, and P. S. Pizani, “Stability of the crystal structure of L-valine under high pressure,” *physica status solidi (b)*, vol. 246, pp. 553–557, mar 2009. Citado 2 vezes nas páginas 34 e 111.
- [66] F. Rêgo, J. Lima, P. Freire, F. Melo, J. Mendes Filho, and A. Polian, “Raman spectroscopic study of DL valine under pressure up to 20 GPa,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1109, pp. 220–225, apr 2016. Citado 2 vezes nas páginas 34 e 116.
- [67] V. S. Minkov, S. V. Goryainov, E. V. Boldyreva, and C. H. Görbitz, “Raman study of pressure-induced phase transitions in crystals of orthorhombic and monoclinic polymorphs of L-cysteine: dynamics of the side chain,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 41, pp. 1748–1758, dec 2010. Citado na página 35.
- [68] C. Fu, C. Dai, B. Du, P. Li, L. Lei, F. Hu, and Z. Jiang, “Raman spectroscopic study of orthorhombic L - cysteine under pressure up to 20.2 GPa,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1171, pp. 196–201, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 35 e 75.
- [69] D. VOET and J. G. VOET, *Bioquímica*. 4 ed., 2013. Citado na página 36.
- [70] F. Ehrlich, “Ueber das natürliche Isomere des Leucins,” *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, vol. 37, pp. 1809–1840, mar 1904. Citado na página 36.

- [71] K. Torii and Y. Iitaka, "The crystal structure of L-isoleucine," *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 27, pp. 2237–2246, nov 1971. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 39.
- [72] C. H. Görbitz and B. Dalhus, "L-Isoleucine, Redetermination at 120K," *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 52, pp. 1464–1466, jun 1996. Citado na página 38.
- [73] F. M. Almeida, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, C. M. R. Remédios, J. Mendes Filho, and F. E. A. Melo, "Raman spectra of L-isoleucine crystals," *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 37, pp. 1296–1301, nov 2006. Citado 9 vezes nas páginas 38, 54, 55, 56, 57, 59, 89, 125 e 127.
- [74] A. Sabino, G. De Sousa, C. Luz-Lima, P. Freire, F. Melo, and J. Mendes Filho, "High-pressure Raman spectra of L-isoleucine crystals," *Solid State Communications*, vol. 149, pp. 1553–1556, oct 2009. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 74.
- [75] E. Benedetti, C. Pedone, and A. Sirigu, "The crystal structure of DL -isoleucine and structural relations between racemic and optically active pairs in some amino acids," *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 29, pp. 730–733, apr 1973. Citado 3 vezes nas páginas 39, 49 e 74.
- [76] B. Dalhus and C. H. Görbitz, "Structural relationships in crystals accommodating different stereoisomers of 2-amino-3-methylpentanoic acid," *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 56, pp. 720–727, aug 2000. Citado 2 vezes nas páginas 39 e 50.
- [77] J. D. Bernal, "The Crystal Structure of the Natural Amino Acids and Belated Compounds," *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials*, vol. 78, jan 1931. Citado na página 39.
- [78] S. Hirokawa, "A new modification of L-glutamic acid and its crystal structure," *Acta Crystallographica*, vol. 8, pp. 637–641, oct 1955. Citado na página 39.
- [79] C. Sano, T. Kashiwagi, N. Nagashima, and T. Kawakita, "Effects of additives on the growth of L-glutamic acid crystals (β -form)," *Journal of Crystal Growth*, vol. 178, pp. 568–574, jul 1997. Citado na página 39.
- [80] J. T. L. Navarrete, V. Hernández, and F. J. Ramírez, "Vibrational spectra of [15N]glutamic acid and [2H4]glutamic acid," *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 25, pp. 861–867, nov 1994. Citado 2 vezes nas páginas 40 e 91.
- [81] P. Dhamelincourt and F. J. Ramírez, "Polarized micro-Raman and Fourier transform infrared spectra of L-glutamic acid," *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 22, pp. 577–582, oct 1991. Citado 7 vezes nas páginas 40, 88, 89, 90, 91, 96 e 99.

- [82] M. T. Ruggiero, J. Sibik, J. A. Zeitler, and T. M. Korter, “Examination of l - Glutamic Acid Polymorphs by Solid-State Density Functional Theory and Terahertz Spectroscopy,” *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 120, pp. 7490–7495, sep 2016. Citado na página 40.
- [83] C. Luz-Lima, J. A. Borges, J. V. Moura, G. S. Pinheiro, B. C. Viana, J. Mendes-Filho, and P. T. Freire, “ α -L-Glutamic acid under high pressure: Phase transitions studied by Raman spectroscopy,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 86, pp. 343–349, 2016. Citado na página 40.
- [84] P. Filho, P. Freire, A. dos Santos, and L. da Silva, “High pressure Raman spectra of l-glutamic acid hydrochloride crystal,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 72, pp. 15–19, may 2014. Citado 3 vezes nas páginas 40, 89 e 90.
- [85] F. M. D. Paiva, *Propriedades vibracionais de cristais de valina e ácido glutâmico monohidratado na forma DL*. Tese, Universidade Federal do Ceará, 2017. Citado na página 40.
- [86] K. Rajagopal, R. V. Krishnakumar, M. Subha Nandhini, R. Malathi, S. S. Rajan, and S. Natarajan, “L-Leucinium oxalate,” *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, vol. 59, no. 6, pp. 878–880, 2003. Citado 5 vezes nas páginas 41, 120, 121, 122 e 123.
- [87] P. F. Façanha Filho, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani, and D. Z. Rossatto, “Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 40, pp. 46–51, jan 2009. Citado 4 vezes nas páginas 41, 96, 132 e 141.
- [88] P. F. Façanha Filho, P. T. C. Freire, K. C. V. Lima, J. Mendes Filho, F. E. A. Melo, and P. S. Pizani, “High temperature Raman spectra of L-leucine crystals,” *Brazilian Journal of Physics*, vol. 38, pp. 131–137, mar 2008. Citado 7 vezes nas páginas 41, 53, 74, 125, 126, 127 e 128.
- [89] T. M. Sabine, G. W. Cox, and B. M. Craven, “A neutron diffraction study of α -oxalic acid dihydrate,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 25, pp. 2437–2441, dec 1969. Citado na página 41.
- [90] P. Coppens and T. M. Sabine, “Neutron diffraction study of hydrogen bonding and thermal motion in deuterated α and β oxalic acid dihydrate,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 25, pp. 2442–2451, dec 1969. Citado 2 vezes nas páginas 41 e 42.
- [91] R. G. Delaplane and J. A. Ibers, “An X-ray study of α -oxalic acid dihydrate (COOH)₂ · 2H₂O and of its deuterium analogue, (COOD)₂ · 2D₂O: isotope effect in

- hydrogen bonding and anisotropic extinction effects,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 25, pp. 2423–2437, dec 1969. Citado na página 41.
- [92] H. Bhatt, A. K. Mishra, C. Murli, A. K. Verma, N. Garg, M. N. Deo, and S. M. Sharma, “Proton transfer aiding phase transitions in oxalic acid dihydrate under pressure,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 18, no. 11, pp. 8065–8074, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 42 e 127.
- [93] Horiba, “Advanced Research Raman System. Disponível em: <<http://www.horiba.com/br/scientific/products/raman-spectroscopy/raman-spectrometers/triple-raman-spectrometers/details/triple-raman-spectrometers-140/>>. Acesso em 28.02.2019.” Citado na página 46.
- [94] J. C. Chervin, B. Canny, J. M. Besson, and P. Pruzan, “A diamond anvil cell for IR microspectroscopy,” *Review of Scientific Instruments*, vol. 66, pp. 2595–2598, mar 1995. Citado na página 46.
- [95] R. A. Forman, G. J. Piermarini, J. D. Barnett, and S. Block, “Pressure Measurement Made by the Utilization of Ruby Sharp-Line Luminescence,” *Science*, vol. 176, pp. 284–285, apr 1972. Citado na página 47.
- [96] A. Jayaraman, “Diamond anvil cell and high-pressure physical investigations,” *Reviews of Modern Physics*, vol. 55, pp. 65–108, jan 1983. Citado na página 47.
- [97] J. C. Chervin, B. Canny, and M. Mancinelli, “Ruby-spheres as pressure gauge for optically transparent high pressure cells,” *High Pressure Research*, vol. 21, pp. 305–314, dec 2001. Citado 2 vezes nas páginas 47 e 48.
- [98] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, “Gaussian,” 2009. Citado 2 vezes nas páginas 49 e 52.

- [99] W. Kohn and L. J. Sham, “Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects,” *Physical Review*, vol. 140, pp. A1133–A1138, nov 1965. Citado na página 49.
- [100] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, and M. J. Frisch, “Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 98, pp. 11623–11627, nov 1994. Citado na página 49.
- [101] N. M. O’boyle, A. L. Tenderholt, and K. M. Langner, “cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 29, pp. 839–845, apr 2008. Citado na página 49.
- [102] M. H. Jamróz, “Vibrational Energy Distribution Analysis (VEDA): Scopes and limitations,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 114, pp. 220–230, oct 2013. Citado na página 49.
- [103] S. J. Clark, M. D. Segall, C. J. Pickard, P. J. Hasnip, M. I. J. Probert, K. Refson, and M. C. Payne, “First principles methods using CASTEP,” *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials*, vol. 220, pp. 567–570, jan 2005. Citado na página 49.
- [104] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, “Generalized Gradient Approximation Made Simple,” *Physical Review Letters*, vol. 77, pp. 3865–3868, oct 1996. Citado na página 49.
- [105] D. L. Rousseau, R. P. Bauman, and S. P. S. Porto, “Normal mode determination in crystals,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 10, pp. 253–290, jan 1981. Citado 6 vezes nas páginas 51, 52, 86, 87, 123 e 124.
- [106] J. A. Lima, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, A. J. D. Moreno, J. Mendes Filho, and F. E. A. Melo, “Raman scattering of L-valine crystals,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 36, no. 11, pp. 1076–1081, 2005. Citado 9 vezes nas páginas 53, 55, 57, 58, 88, 89, 90, 92 e 93.
- [107] a. Pawlukoje, L. Bobrowicz, I. Natkaniec, and J. Leciejewicz, “The IINS spectroscopy of amino acids: l- and dl-valine,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 51, pp. 303–308, feb 1995. Citado 2 vezes nas páginas 55 e 88.
- [108] J. Batista, J. Lima, P. Freire, F. Melo, and J. Mendes-Filho, “High pressure Raman spectra of DL-lysine hydrochloride,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 86, pp. 337–342, sep 2016. Citado na página 55.

- [109] F. Paiva, J. Batista, F. Rêgo, J. Lima, P. Freire, F. Melo, J. Mendes Filho, A. de Menezes, and C. Nogueira, “Infrared and Raman spectroscopy and DFT calculations of DL amino acids: Valine and lysine hydrochloride,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1127, pp. 419–426, jan 2017. Citado na página 57.
- [110] R. Holanda, C. Silva, J. Silva Filho, C. Lima, J. Lima, and P. Freire, “Raman spectroscopy under high pressures and DFT calculations of the amino acid l-glutamine,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 98, pp. 69–76, sep 2018. Citado 2 vezes nas páginas 57 e 99.
- [111] S. A. Moggach, S. Parsons, and P. A. Wood, “High-pressure polymorphism in amino acids,” *Crystallography Reviews*, vol. 14, pp. 143–184, apr 2008. Citado na página 74.
- [112] E. Boldyreva, “Combined X-ray diffraction and Raman spectroscopy studies of phase transitions in crystalline amino acids at low temperatures and high pressures: selected examples,” *Phase Transitions*, vol. 82, pp. 303–321, apr 2009. Citado na página 74.
- [113] C. Luz-Lima, G. De Sousa, J. Lima, F. Melo, J. M. Filho, A. Polian, and P. Freire, “High pressure Raman spectra of β -form of l-glutamic acid,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 58, pp. 181–187, jan 2012. Citado na página 75.
- [114] J. Silva, P. Freire, J. Lima, J. M. Filho, F. Melo, A. Moreno, and A. Polian, “Raman spectroscopy of monohydrated l-asparagine up to 30GPa,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 77, pp. 35–39, mar 2015. Citado 2 vezes nas páginas 75 e 113.
- [115] R. Holanda, J. Lima, P. Freire, F. Melo, J. Mendes Filho, and A. Polian, “New pressure-induced phase transitions of l-threonine crystal: A Raman spectroscopic study,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1092, pp. 160–165, jul 2015. Citado 2 vezes nas páginas 75 e 113.
- [116] Z. Ciunik and T. Głowiak, “DL-Glutamic acid monohydrate, C₅H₉NO₄.H₂O,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 39, pp. 1271–1273, sep 1983. Citado 6 vezes nas páginas 81, 82, 83, 85, 86 e 113.
- [117] A. Altomare, C. Cuocci, C. Giacovazzo, A. Moliterni, R. Rizzi, N. Corriero, and A. Falcicchio, “EXPO2013 : a kit of tools for phasing crystal structures from powder data,” *Journal of Applied Crystallography*, vol. 46, pp. 1231–1235, aug 2013. Citado 2 vezes nas páginas 82 e 121.
- [118] S. T. Rao, “Refinement of DL-aspartic acid,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 29, pp. 1718–1720, aug 1973. Citado na página 85.

- [119] J. L. Derissen, H. J. Endeman, and A. F. Peerdeman, “The crystal and molecular structure of L-aspartic acid,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 24, pp. 1349–1354, oct 1968. Citado na página 85.
- [120] B. Rajkumar, V. Ramakrishnan, and R. Rajaram, “Infrared and Raman spectra of dl-aspartic acid nitrate monohydrate,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 54, pp. 1527–1532, sep 1998. Citado na página 89.
- [121] B. Silva, P. Freire, F. Melo, I. Guedes, M. Araújo Silva, J. Mendes Filho, and A. Moreno, “Polarized Raman Spectra and Infrared Analysis of Vibrational Modes in L-Threonine Crystals,” *Brazilian Journal of Physics*, vol. 28, pp. 19–24, mar 1998. Citado na página 89.
- [122] S. Forss, “A Raman spectroscopic temperature study of NH₃⁺ torsional motion as related to hydrogen bonding in the L-alanine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 12, pp. 266–273, jun 1982. Citado na página 89.
- [123] J. T. Navarrete, V. Hernández, and F. J. Ramírez, “Vibrational study of aspartic acid and glutamic acid dipeptides,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 348, pp. 249–252, 1995. Citado 3 vezes nas páginas 90, 91 e 92.
- [124] A. Moreno, P. Freire, I. Guedes, F. Melo, J. Mendes-Filho, and J. Sanjurjo, “Raman scattering studies of monohydrated L-asparagine,” *Brazilian Journal of Physics*, vol. 29, pp. 380–387, jun 1999. Citado 3 vezes nas páginas 92, 93 e 109.
- [125] A. Petrosyan and V. Ghazaryan, “Vibrational spectra of l-lysine monohydrochloride dihydrate and its two anhydrous forms,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 917, pp. 56–62, jan 2009. Citado 3 vezes nas páginas 92, 93 e 109.
- [126] P. Freire, F. Melo, J. Mendes Filho, R. Lima, and A. Teixeira, “The behavior of NH₃ torsional vibration of l-alanine, l-threonine and taurine crystals under high pressure: A Raman spectroscopic study,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 45, pp. 99–102, nov 2007. Citado na página 111.
- [127] R. O. Gonçalves, *L-arginina . HCl . H₂O e estudo da L-arginina . 2 H₂O sob altas pressões e sob altas temperaturas, 128f, Dissertação (Mestrado em Física), Programa de Pós Graduação em Física*. PhD thesis, 2012. Citado na página 113.
- [128] F. M. S. Victor, *Estudo de Altas Pressões do Cristal de DL- Ácido Glutâmico Monohidratado*. Dissertação, Universidade Federal do Maranhão, 2017. Citado na página 114.

- [129] J. W. Otto, J. K. Vassiliou, and G. Frommeyer, “Nonhydrostatic compression of elastically anisotropic polycrystals. I. Hydrostatic limits of 4:1 methanol-ethanol and paraffin oil,” *Physical Review B*, vol. 57, pp. 3253–3263, feb 1998. Citado na página 115.
- [130] P. Chatzigeorgiou, N. Papakonstantopoulos, N. Tagaroulia, E. Pollatos, P. Xynogalas, and K. Viras, “Solid Solid Phase Transitions in dl -Norvaline Studied by Differential Scanning Calorimetry and Raman Spectroscopy,” *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 114, pp. 1294–1300, jan 2010. Citado na página 115.
- [131] M. Subha Nandhini, R. V. Krishnakumar, and S. Natarajan, “Glycinium oxalate,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 57, pp. 115–116, jan 2001. Citado na página 123.
- [132] F. H. Allen, C. A. Baalham, J. P. M. Lommerse, and P. R. Raithby, “Carbonyl–Carbonyl Interactions can be Competitive with Hydrogen Bonds,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. 54, pp. 320–329, jun 1998. Citado na página 123.
- [133] F. R. Ahmed and D. W. J. Cruickshank, “A refinement of the crystal structure analyses of oxalic acid dihydrate,” *Acta Crystallographica*, vol. 6, no. 5, pp. 385–392, 1953. Citado na página 123.
- [134] J. L. Derissen and P. H. Smith, “Refinement of the crystal structures of anhydrous α - and β -oxalic acids,” *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol. 30, pp. 2240–2242, sep 1974. Citado na página 123.
- [135] Y. Ebisuzaki and S. M. Angel, “Raman study of hydrogen bonding in α and β -oxalic acid dihydrate,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 11, pp. 306–311, aug 1981. Citado na página 125.
- [136] A. K. Mishra, C. Murli, H. Bhatt, and S. M. Sharma, “Hydrogen bonds in α -oxalic acid dihydrate-A Raman spectroscopic study,” in *AIP Conference Proceedings*, vol. 1591, pp. 136–138, 2014. Citado na página 125.
- [137] V. Mohaček-Grošev, J. Grdadolnik, J. Stare, and D. Hadži, “Identification of hydrogen bond modes in polarized Raman spectra of single crystals of α -oxalic acid dihydrate,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 40, pp. 1605–1614, nov 2009. Citado na página 125.
- [138] B. Schrader, *Infrared and Raman spectroscopy : methods and applications*. New york: VHC Publishers, 1995. Citado 2 vezes nas páginas 164 e 165.

-
- [139] G. M. de Oliveira, *Simetria de Moléculas e Cristais : Fundamentos da Espectroscopia Vibracional*. Porto Alegre: Bookman, 1 ed., 2009. Citado na página 165.
- [140] K. N. John R. Ferraro and C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*. Elsevier Inc, 2 ed., 2003. Citado na página 167.
- [141] E. Smith and G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy - A Pratical Approach*. Wiley VCH, 2005. Citado na página 167.

APÊNDICE A – Aspectos Teóricos da Espectroscopia Raman

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação com a matéria, consistindo na emissão, absorção ou espalhamento da radiação pelos átomos ou moléculas. De maneira geral, a luz é direcionada para a amostra, interage com ela e carrega informações sobre suas propriedades vibracionais, sobre a distribuição eletrônica dos átomos, entre outras.

Existem várias técnicas espectroscópicas, destaca-se aqui o espalhamento inelástico da luz ou espalhamento Raman. A espectroscopia Raman é uma técnica que permite a identificação de materiais orgânicos e inorgânicos fornecendo informações químicas e estruturais. Sua análise se baseia na investigação da luz dispersada por um material ao incidir com um feixe de luz monocromática. Esta luz permite “pequena” trocas de frequência específicas do material que está sendo analisado. Dessa forma, indiretamente, é possível enxergar as vibrações que ocorrem na estrutura cristalina do material em estudo.

A.1 O efeito Raman

Ao incidir uma radiação eletromagnética de frequência ν_i sobre um sólido transparente, parte da radiação é transmitida sem qualquer mudança de suas propriedades, enquanto outra parte da mesma é espalhada. Fazendo análise da parcela espalhada, verifica-se que além da frequência ν_i , outras duas porções estão presentes com frequências ligeiramente acima e abaixo de ν_i . Denomina-se de espalhamento Rayleigh a porção da luz espalhada que possui a mesma frequência que a onda incidente, ν_i neste caso. Denomina-se espalhamento Raman¹ a parte da radiação espalhada que possui frequências diferentes da radiação incidente.

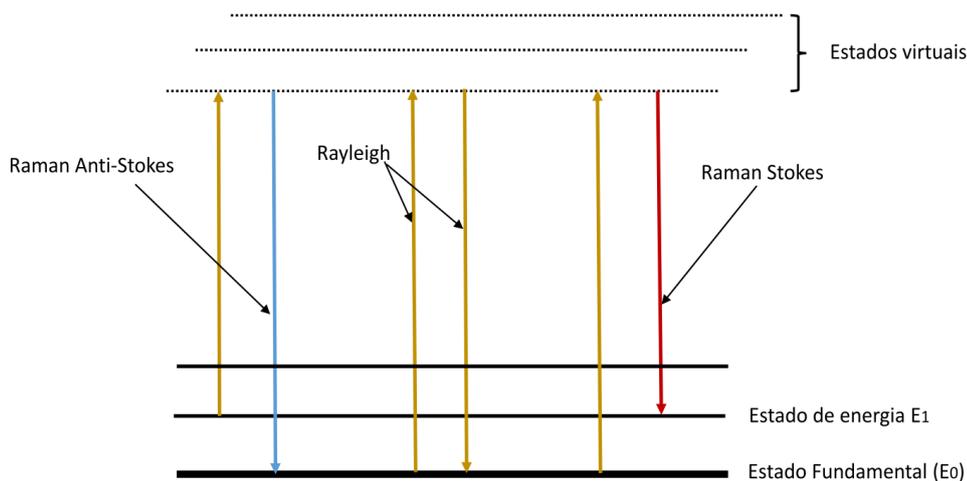
O espalhamento Raman consiste em um fóton de luz, de energia $h\nu_i$, interagindo com uma molécula. Dessa forma, o fóton excita a molécula para um nível de energia instável, que será chamado aqui de estado de energia virtual, E_{virt} , de modo que a molécula permanece neste nível por um tempo bastante curto, logo após, retorna ao nível fundamental E_0 (espalhamento Rayleigh) ou a um nível de energia superior E_1 . Este caso é denominado espalhamento Raman Stokes² [138].

¹ O efeito Raman leva esse nome em homenagem a seu descobridor, Chandrasekhara Venkata Raman, o qual foi agraciado com o prêmio Nobel de física de 1930 pela descoberta de tal efeito.

² George Gabriel Stokes - Matemático e físico inglês com importantes contribuições à dinâmica de fluidos, ótica e matemática física. Foi o primeiro a descrever o fenômeno de fluorescência.

É possível que o fóton interaja com moléculas que já vibram em seu primeiro nível de energia E_1 , e após a interação retornem ao estado fundamental E_0 . Esse caso, é denominado espalhamento Raman anti-Stokes [138]. A Figura A.1 mostra um diagrama dos efeitos Rayleigh, Raman Stokes e Raman anti-Stokes.

Figura A.1 – Diagrama esquemático dos espalhamentos Rayleigh, Raman Stokes e Raman Anti-Stokes.



Fonte: Produzida pelo autor.

De acordo com a função de distribuição de Boltzmann, a relação entre o número de moléculas que se encontra no estado vibracional $E = 1$, primeiro estado excitado, e o número de moléculas no nível fundamental, $E = 0$ para uma dada vibração é dado por:

$$\frac{n_1}{n_0} = \exp^{-(\hbar\nu_e/kT)}, \quad (\text{A.1})$$

Em temperaturas medianas, a maioria das moléculas encontram-se no estado fundamental, devido a esse fato, linhas Stokes apresentam maiores intensidades do que as linhas anti-Stokes, as quais se originam do estado excitado de menor população. Esta diferença aumenta com o aumento da frequência vibracional [139].

A.2 Abordagem clássica do efeito Raman

Pelo princípio de conservação da energia pode-se obter informações sobre as energias de vibração das moléculas, utilizando para isso o fenômeno de espalhamento Raman. As energias envolvidas nesse processo devem ser tais que:

$$E_{\text{espalhado}} = E_{\text{fóton}} \pm [E_0 - E_1], \quad (\text{A.2})$$

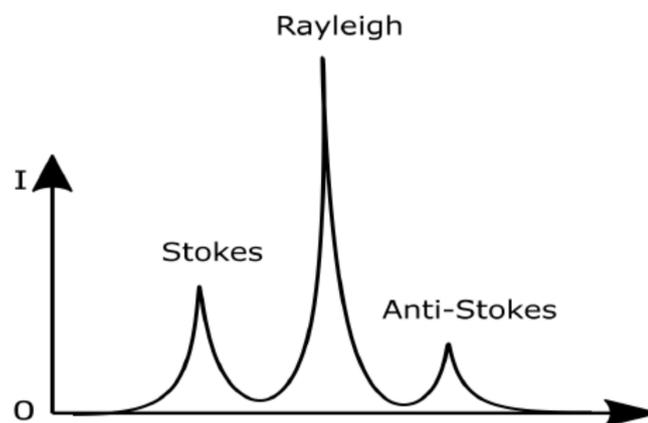
Pondo em função das frequências, teremos:

$$\nu_e = \nu_i \pm [\nu_0 - \nu_1], \quad (\text{A.3})$$

Onde, ν_e refere-se a frequência da radiação espalhada, ν_i a frequência do fóton incidente e $[\nu_0 - \nu_1]$ refere-se a frequência de vibração da molécula. Uma observação deve ser feita com respeito ao sinal (\pm), que refere-se às duas transições prováveis para a molécula após a interação com a luz.

Analisando a caso em que uma molécula esteja vibrando com a energia do nível fundamental E_0 , é excitada pela luz incidente, passando assim a um estado de energia “virtual”, após isso decai para o primeiro nível de energia E_1 , absorvendo assim energia do fóton incidente. Dessa forma, a frequência do fóton espalhado será $\nu_e = \nu_i + [\nu_0 - \nu_1]$, o que representa o espalhamento Raman Stokes. Passando ao caso em que a molécula já esteja vibrando com a energia do primeiro nível energético E_1 e então é excitada pela luz incidente, passa a um estado “virtual” e após, esta decai para o nível de energia fundamental E_0 . Dessa forma a frequência do fóton espalhado será $\nu_e = \nu_i - [\nu_0 - \nu_1]$, que representa o espalhamento Raman anti-Stokes. A representação esquemática das três contribuições é apresentada na Figura A.2.

Figura A.2 – Diagrama esquemático do espectro Raman, mostrando as linhas de espalhamento Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes.



Fonte: Produzida pelo autor.

Faz-se importante destacar que ambos os fenômenos, espalhamento Rayleigh e Raman, ocorrem juntos. No entanto, a maior parte da luz incidente é espalhada elasticamente, sendo assim destinada ao espalhamento Rayleigh, enquanto que apenas 10^{-3} da luz

espalhada destina-se ao espalhamento Raman Stokes e anti-Stokes. Esse fato mostra a razão do efeito Raman só ter sido percebido muito tempo após a descoberta do espalhamento Rayleigh.

O processo acima descrito pode ser deduzido matematicamente. Ao expor uma molécula, livre somente para vibrar, a um campo elétrico oscilante de alta frequência, ν_i , isso acarretará em uma separação entre os núcleos e os elétrons na molécula, gerando assim um momento de dipolo induzido [140], que pode ser decomposto numa componente que oscila com a mesma frequência do campo elétrico incidente e em outras componentes cujas frequências são moduladas pelas frequências vibracionais da molécula, no entanto, o momento de dipolo induzido depende de um termo descrito por uma grandeza tensorial denominado polarizabilidade, α [141], que pode-se considerar como uma medida da facilidade de deformação da nuvem eletrônica na presença de um campo elétrico. Dessa forma, em primeira aproximação, o momento de dipolo induzido terá a forma:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} \quad (\text{A.4})$$

ou em representação matricial:

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

Onde α é o tensor de polarizabilidade da molécula e \vec{E} é o campo elétrico da radiação incidente. Para cada modo normal da molécula, a polarizabilidade deve variar em relação as coordenadas normais das mesmas. Dessa forma, expandindo a polarizabilidade em série de Taylor com relação a uma dada configuração de equilíbrio, teremos:

$$P_i = \sum_j \alpha_{ij} \cdot E_j, \quad (\text{A.5})$$

onde,

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_0 + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 \cdot Q_k + \frac{1}{2} \sum_{r,l} \left(\frac{\partial^2 \alpha_{ij}}{\partial Q_r \partial Q_l} \right)_0 \cdot Q_r Q_l + \dots, \quad (\text{A.6})$$

Sendo, $(\alpha_{ij})_0$ o valor que α_{ij} possui na configuração de equilíbrio, as coordenadas normais associadas aos modos normais de frequência $\nu_k, \nu_r, \nu_l, \dots$ são designadas por Q_k, Q_r, Q_l, \dots com somatório sobre todas as coordenadas normais. Utilizando apenas uma aproximação até primeira ordem em Q . A polarizabilidade na equação A.6 pode ser escrita como:

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_0 + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 \cdot Q_k, \quad (\text{A.7})$$

onde, $k = 1, 2, 3, \dots, m, \dots$

Dessa forma, pode-se escrever a polarizabilidade com respeito a uma coordenada normal qualquer, m , do sistema. Assim a equação A.7 pode ser escrita como:

$$(\alpha_{ij})_m = (\alpha_{ij})_0 + \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_m} \right)_0 \cdot Q_m, \quad (\text{A.8})$$

ou

$$\alpha_m = \alpha_0 + \alpha'_m \cdot Q_m, \quad (\text{A.9})$$

onde $\alpha_m = (\alpha_{ij})_m$, é a polarizabilidade em relação a coordenada normal Q_m . $\alpha'_m = \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_m} \right)_0$ é a derivada das componentes da polarizabilidade em relação a coordenada Q_m . Supondo que a coordenada normal Q_m oscile de maneira harmônica, pode-se escrever a seguinte equação de movimento.

$$Q_m = Q_{m0} \cdot \cos(2\pi\nu_m t + \phi_m), \quad (\text{A.10})$$

O campo elétrico é variável no tempo obedecendo a seguinte expressão:

$$\vec{E}_j = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t), \quad (\text{A.11})$$

Dessa forma, a expressão para o momento de dipolo induzido na molécula para o modo vibracional m , é descrita como:

$$\vec{P}^m = \alpha_m \cdot \vec{E}_j = \alpha_m \cdot \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t), \quad (\text{A.12})$$

Substituindo (A.9) em (A.12) e distribuindo os termos teremos:

$$\vec{P}^m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \alpha'_m Q_m E_0 \cos(2\pi\nu_0 t), \quad (\text{A.13})$$

Usando, (A.10) em (A.13), obteremos:

$$\vec{P}^m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \alpha'_m Q_{m0} E_0 [\cos(2\pi\nu_m t + \phi_m) \cdot \cos(2\pi\nu_0 t)], \quad (\text{A.14})$$

Trazendo a relação trigonométrica:

$$\cos(a) \cdot \cos(b) = \frac{1}{2} [\cos(a - b) + \cos(a + b)], \quad (\text{A.15})$$

Comparando (A.15) com o segundo termo de (A.14), percebemos que:

$$a = 2\pi\nu_m t + \phi_m; b = 2\pi\nu_0 t, \quad (\text{A.16})$$

Substituindo (A.16) em (A.15), obtém-se:

$$\begin{aligned} \cos[2\pi\nu_m t + \phi_m] \cdot \cos[2\pi\nu_0 t] &= \frac{1}{2}[\cos(2\pi t(\nu_m - \nu_0) + \phi_m) + \\ &+ \cos(2\pi t(\nu_m + \nu_0) + \phi_m)], \end{aligned} \quad (\text{A.17})$$

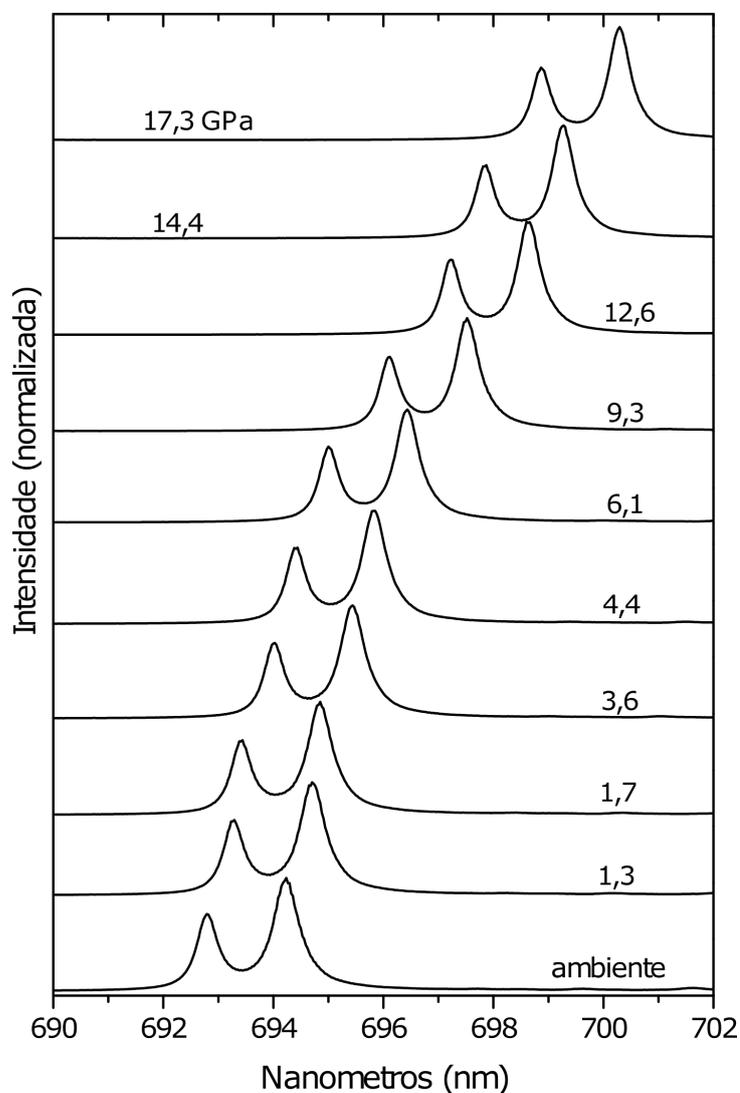
Fazendo agora a substituição da equação (A.17) em (A.14), obtêm-se a seguinte relação para o momento de dipolo induzido:

$$\begin{aligned} \vec{P}^m &= \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2}\alpha'_m Q_{m0} E_0 \cos[(2\pi t(\nu_m - \nu_0) + \phi_m)] + \\ &+ \frac{1}{2}\alpha'_m Q_{m0} E_0 \cos[(2\pi t(\nu_m + \nu_0) + \phi_m)], \end{aligned} \quad (\text{A.18})$$

Percebe-se da equação (A.18) que o momento de dipolo induzido possui três componentes distintas de frequência. A primeira delas contém apenas a frequência ν_0 , frequência da radiação incidente, referindo-se ao espalhamento Rayleigh. As duas parcelas seguintes com frequências, $(\nu_m - \nu_0)$ e $(\nu_m + \nu_0)$ referem-se respectivamente aos espalhamentos Raman Stokes e anti-Stokes. Vê-se ainda de (A.18) que a condição necessária para que ocorra o efeito Raman é que $(\alpha'_m \neq 0)$, caso contrário, as componentes de frequência Raman teriam amplitude nula.

ANEXO A – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento da pressão no experimento 2 do aminoácido DL-isoleucina.

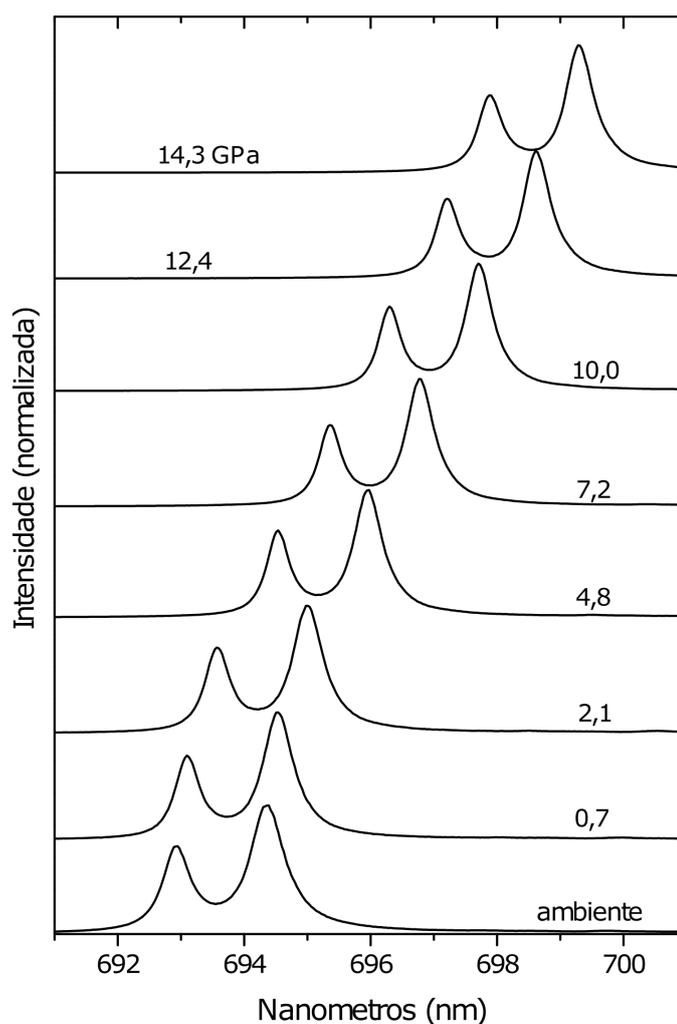
Figura A.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).



Fonte: Produzida a partir dos resultados experimentais.

ANEXO B – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento da pressão no experimento de espectroscopia Raman do ácido DL-glutâmico monohidratado.

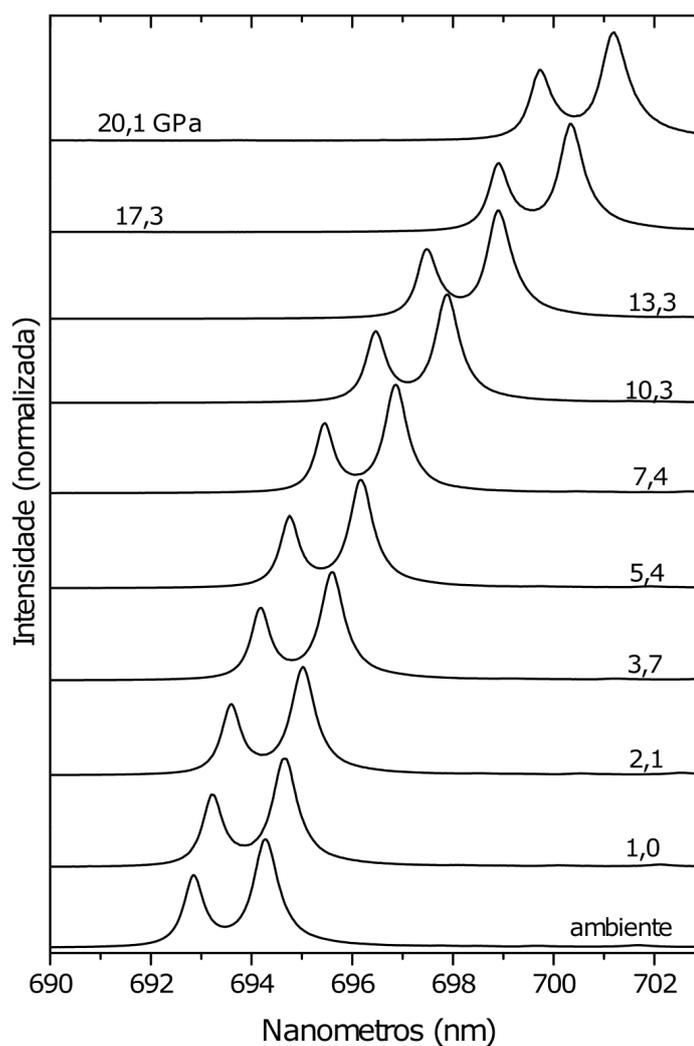
Figura B.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).



Fonte: Produzida a partir dos resultados experimentais.

ANEXO C – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento da pressão no experimento de espectroscopia Raman do complexo de L-leucina + ácido oxálico (LLO).

Figura C.1 – Evolução da banda de fluorescência do Rubi com o aumento da pressão (em GPa).



Fonte: Produzida a partir dos resultados experimentais.