

Dissertação de mestrado

Estudo da transformação de fase do cristal de L-iso-leucina.HCl.H₂O

Aluno: Ricardo de Sousa Ferreira Júnior

Orientador: Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da S. Ribeiro

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

***Estudo da transformação de fase do
crystal de L-isoleucina.HCl.H₂O***

RICARDO DE SOUSA FERREIRA JÚNIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: PROF. DR. ADENILSON OLIVEIRA DOS SANTOS

Coorientador: PROF. DR. PAULO ROBERTO DA SILVA RIBEIRO

Imperatriz, março de 2016

Membros da Comissão julgadora da dissertação de Mestrado de **Ricardo de Sousa Ferreira Júnior** apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM).

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos (Orientador do Candidato)

PPGCM/UFMA

Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho

PPGCM/UFMA

Prof. Dr. Cláudio Márcio Rocha Remédios

PPGF/UFPA

DEDICO:

Aos meus pais Ricardo Ferreira (*in memorian*) e Lucilene Ferreira por todo esforço para garantir a minha educação, à minha filha Ráiza Vitoria e minha esposa Valéria Ferreira por todo o apoio.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Difração de Raios-X da Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais da Universidade Federal do Maranhão, com o apoio financeiro da CAPES, FAPEMA e CNPq.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de forma especial ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos, sugestões, cobranças, incentivos, dedicação, amizade e por toda colaboração dada durante o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro pela orientação nos primeiro seis meses de trabalho no mestrado, compreensão, ensinamentos e discussões.

Ao Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho, pela atenção, disponibilidade, sugestões e discussões dos resultados desse trabalho.

À Prof.^a Dr.^a. Luzeli Moreira da Silva pelos ensinamentos dado durante a disciplina de Metodologia Científica e pela disponibilidade do laboratório e fornos.

À Prof.^a Dr.^a. Franciana Pedrochi pelo aprendizado que me foi garantido durante a disciplina Técnicas de Preparação e Caracterização de Materiais e pela disponibilidade do LEOF.

À Dr.^a. Andreia Cardoso Pereira pela disponibilidade e apoio na escrita do artigo gerado por esse trabalho.

Ao Ms. Geanso Miranda de Moura pela ajuda dada nos refinamentos de estrutura e pela disponibilidade aos finais de semana e feriado.

Ao Ms. Emanuel Laurertan Tavares França pela disponibilidade sempre que necessário, principalmente durante o tratamento térmico das amostras.

Aos colegas da Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais da Universidade Federal do Maranhão, em especial aos colegas da turma 2014.2: Ana Regina, Adriano Bezerra, Delcicleide Costa, Johnny Clécio, Silvério Ferreira e Thays Baldez.

À CAPES, CNPQ e FAPEMA pelo apoio financeiro ao projeto.

Resumo

Atualmente, os cristais de sais de aminoácidos são amplamente estudados, principalmente devido à sua possível aplicação em dispositivos opto eletrônicos. Muitos cristais de aminoácidos complexados com cloro foram sintetizados, caracterizados e sugeridos como materiais promissores na conversão de frequência. No entanto, a caracterização de cristais de L-isoleucina hidrocloreídrica monohidratada (L-Ile.H₂O.HCl) é deficiente, pois até o momento, um único artigo foi publicado e os autores apenas determinaram a estrutura cristalina do material sintetizado. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi sintetizar cristais de L-Ile.HCl.H₂O pelo método de evaporação lenta e caracterizá-los por Fluorescência de Raios-X (FRX), Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Termogravimétrica (TG), Difração de Raios-X (DRX) em função da temperatura e do tempo, espalhamento Raman em função da temperatura e tratar termicamente o material em um tubo de vidro selado com atmosfera de argônio por 24h a 170 °C. A FRX confirmou a presença de cloro. O DRX a 25 °C mostrou que o cristal pertence ao sistema ortorrômbico, com parâmetros de rede $a = 5,873(3) \text{ \AA}$, $b = 24,814(4) \text{ \AA}$, $c = 6,873(5) \text{ \AA}$. O TG, DTA e DSC indicaram que o material perde água de solvatação e cristalização em aproximadamente 55 °C e 132 °C, respectivamente. O DRX em função da temperatura, revelou que o material inicia transformação de fase em 60 °C e se estende até 155 °C. O DRX a 140 °C mostrou que após 32h, o cristal perdeu água e cloro. Os espectros Raman em função da temperatura, confirmaram as transformações de fase em 60 °C e 100 °C. O material quando submetido a 170 °C, por um período de 24h selado em um tubo de vidro com atmosfera inerte (Ar), sofreu vaporização e ressublimou na mesma fase ortorrômbica, quando teve sua temperatura reduzida a 25 °C. Portanto, o cristal de L-Ile.HCl.H₂O não é um material indicado para ser utilizado em dispositivos ópticos devido a sua baixa estabilidade térmica.

Palavras-chave: L-Isoleucina hidrocloreídrica mono-hidratada, Transformação de fase, Difração de Raios-X, Análise Térmica.

Abstract

Currently, the amino acid salt crystals are extensively studied, primarily because of their possible application in opto-electronic devices. Many amino acids complexed with chlorine crystals were synthesized and characterized, and suggested as promising materials in frequency conversion. However, the characterization of L-isoleucine hydrochloride monohydrate crystals (L-Ile.H₂O.HCl) is poor because to date, one article has been published and only the authors determined the crystal structure of the synthesized material. Thus, the objective of this study was to synthesize crystals of L-Ile.HCl.H₂O by the method of slow evaporation and characterize them by X-Ray Fluorescence (XRF), Differential Thermal Analysis (DTA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetric Analysis (TG), X-Ray diffraction (XRD) as a function of temperature and time, Raman scattering as a function of temperature and heat treating the material in a sealed glass tube with argon atmosphere for 24h at 170 °C. The XRF confirms the presence of chlorine. The XRD at 25 °C shows that the crystal belongs to orthorhombic system with lattice parameters $a = 5.873 (3) \text{ \AA}$, $b = 24.814 (4) \text{ \AA}$, $c = 6.873 (5) \text{ \AA}$. The TG, DTA and DSC indicated that the material loses water of solvation and crystallization at approximately 55 °C and 132 °C, respectively. The DRX as a function of temperature, the material shows phase transformation starts at 60 °C and 155 °C extends to. The XRD at 140 °C shows that after 32h, the crystal loses water and chlorine. Raman spectra as a function of temperature, confirm the phase transformation at 60 °C and 100 °C. The material when subjected to 170 °C, for a period of 24 sealed in a glass tube with an inert atmosphere (Ar) and undergoes vaporization sublimate the same orthorhombic phase, when it has its temperature reduced to 25 °C. Therefore, the L-Ile.HCl.H₂O crystal is not a material suitable for use in optical devices due to their low thermal stability.

Keywords: L-Isoleucine hydrochloride monohydrate. Phase transformation. X-ray diffraction. thermal analysis.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1- Estrutura de t-BOC-L-isoleucina</i>	15
<i>Figura 2 - Célula unitária de L-Ile.HCl.H₂O vista ao longo do plano (100)</i>	15
<i>Figura 3 - Estrutura básica de um α-aminoácido</i>	16
<i>Figura 4 - Estrutura dos 20 aminoácidos básicos</i>	18
<i>Figura 5 - Célula unitária de L-Ile com quatro moléculas . A parte hidrofílica está posicionada frente a frente e a parte hidrofóbica (hidrocarbônica) em lados opostos</i>	20
<i>Figura 6 - Esterioisômeros da isoleucina. (a) L-isoleucina (2S,3S), (b) D-isoleucina (2R,3R), (c) L-allo-isoleucina (2S,3R) e (d) D-allo-isoleucina (3S, 2R)</i>	21
<i>Figura 7 - “Ampola de Crooks”</i>	23
<i>Figura 8 - Wilhelm Conrad Roentgen, Físico que descobriu os Raios-X e por isso ganhou o primeiro Prêmio Nobel de Física em 1901</i>	24
<i>Figura 9 - (I) átomo de um material metálico sofrendo colisão de um elétron altamente energético; (II) perda de um elétron da camada k na forma de fotoelétron após a colisão; (III) elétron da camada L libera energia na forma de Raios-X e salta para camada k</i>	25
<i>Figura 10 - Relação entre a diferença de potencial entre os eletrodos e a intensidade de cada comprimento de onda. A curva vermelha é chamada de radiação característica. As demais curvas são chamadas de radiação branca</i>	25
<i>Figura 11 - Níveis atômicos e as energias de emissão e excitação referente a cada transição</i>	27
<i>Figura 12 a) primeira fotografia de difração de Raios-X obtida por Laue e colaboradores utilizando um cristal de sulfeto de cobre; b) difração de Raios-X do sulfeto de zinco, de melhor qualidade. Figuras retiradas da referência [44]</i>	28
<i>Figura 13 - Interferência (I) construtiva e (II) destrutiva</i>	29
<i>Figura 14- Difração de raios-x por um cristal</i>	30
<i>Figura 15 - Esquema de um equipamento genérico para análise térmica diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). a) DTA; b) DSC com fluxo de calor; c) DSC com compensação de potência</i>	32
<i>Figura 16 Modelo de curvas TG e DTG</i>	32
<i>Figura 17 Representação de picos endotérmico e exotérmico em uma curva DTA</i>	33
<i>Figura 18- Esquema de uma curva DSC</i>	33
<i>Figura 19 - Prováveis transições eletrônicas de uma radiação espalhada: Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. Onde E_0 é a energia das moléculas no estado fundamental, E_1 a energia das moléculas no primeiro estado vibracional excitado e as linhas pontilhadas um estado energético chamado de virtual</i>	35
<i>Figura 20 - Esquema de excitação-amostra-detecção</i>	36

Figura 21 - Sala de crescimento de cristais mantida a 25°C..... 40

Figura 22 - Difratorômetro de raios-X da PANalytical..... 41

Figura 23 - Espectrômetro Epsilon 1 da PANalytical..... 42

Figura 24- a) DSC 60 da SHIMADZU; b) SHIMADZU DTG 60..... 43

Figura 25 – Forno tipo Mufla utilizada no tratamento térmico de L-Ile.HCl.H₂O..... 43

Figura 26 - Instruments espectrômetro triplo Trivista 557 da Princeton..... 44

Figura 27- Esquema de uma curva de saturação da concentração [] versus temperatura (T). A linha 1 é denominada “curva de supersaturação; a linha 2 é a curva de saturação; a região “A” é denominada Zona Lábil, onde ocorre a formação espontânea do cristal; a região “B” é denominada zona metaestável, onde a taxa de nucleação é baixa e por isso não há crescimento de cristais; região C é a região da solução monofásica (estável). 46

Figura 28 - Becker para síntese do cristal por evaporação lenta do solvente..... 47

Figura 29- Cristal de L-Ile.HCl.H₂O 47

Figura 30 - Padrão de difração de raios-x a temperatura ambiente de L-Ile.HCl.H₂O refinada pelo método de Rietveld – sistema ortorrômbico. 49

Figura 31 - Curvas TG/DTA de L-Ile.HCl.H₂O 50

Figura 32 - Curva DSC de L-Ile.HCl.H₂O 51

Figura 33 Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O entre 25 e 155 °C. 25 é a análise de retorno. Pode-se observar que a transformação de fase é irreversível..... 52*

Figura 34 - Padrão de difração de raios-x de L-Ile.HCl.H₂O medidos a 140 °C nos tempos 0, 12, 24, 32 e 33 h..... 54

Figura 35 - Difratogramas de L-Ile.HCl.H₂O obtidos em diferentes condições. azul) obtido por análise em função da temperatura, medida a 60°C; verde) obtido por análise em função da temperatura a 155°C; vermelho) obtido por análise em função do tempo, 0h. A figura no interior do difratograma simboliza a transformação de fase ocorrida. 55

Figura 36 - Difratogramas de L-Ile.HCl.H₂O medidos em (vermelho) 140 °C por 12 h e (azul) a 150 °C na análise em função da temperatura. A molécula no interior da figura representa L-Ile.HCl. 56

Figura 37 - Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O em função do tempo (vermelho) e em função da temperatura (azul)..... 57

Figura 38 - Curvas TG/DTA de (a) L-Ile comercial; (b) L-Ile.HCl.H₂O ; (c) L-Ile retorno..... 58

Figura 39 - Difratograma de L-Ile obtido após 33 h a 140 °C e refinamento Rietveld e a célula unitária de L-Ile. 59

Figura 40 - Espectro Raman de L-Ile.HCl.H₂O em função da temperatura..... 60

Figura 41 - Espectro Raman da região de 2700 a 3470 cm- na faixa de temperatura de 30 a 170 °C. 61

Figura 42 - L-Ile.HCl.H₂O ressublimado..... 62

Figura 43 - Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O antes do tratamento térmico (vermelho) e após a sublimação (azul)..... 63

<i>Figura 44 - Diagrama de fases que mostra as transformações ocorridas com L-Ile.HCl.H₂O durante o tratamento térmico.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 45 - Curvas TG/DTA de L-Ile.HCl.H₂O ressublimado e a molécula de L-Ile.HCl.H₂O.....</i>	<i>64</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 TEORIA	16
2.1 AMINOÁCIDOS	16
<i>2.1.1 Estrutura e propriedades</i>	16
<i>2.1.2 Isoleucina</i>	19
<i>2.1.3 Sais de Isoleucina</i>	21
2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	23
<i>2.2.1 Difração de Raios-X</i>	23
<i>2.2.2 Análise Térmica</i>	30
<i>2.2.3 Espectroscopia Raman</i>	34
<i>2.3.4 Fluorescência de Raios-X</i>	35
<i>2.3.5 Refinamento de Rietveld</i>	37
3 EXPERIMENTAL	40
3.1 SÍNTESE DE L-Ile.HCl.H₂O	40
3.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	41
3.3 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X POR ENERGIA DISPERSIVA	42
3.4 ANÁLISES TÉRMICAS	42
3.5 TRATAMENTO TÉRMICO DE L-Ile.HCl.H₂O	43
3.6 ESPECTROSCOPIA RAMAN EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 SÍNTESE DO CRISTAL DE L-Ile.HCl.H₂O	45
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO CRISTAL DE L-Ile.HCl.H₂O	48
<i>4.2.1 Difração de Raios-X a temperatura ambiente</i>	48
<i>4.2.2 Análise Térmica de L-Ile.HCl.H₂O</i>	50
<i>4.2.3 Difração de Raios-X em função da temperatura</i>	52
<i>4.2.4 Difração de Raios-X em função do tempo</i>	54
<i>4.2.5 Raman em função da temperatura</i>	59
<i>4.2.6 Tratamento térmico</i>	62
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	65
6 REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o interesse na síntese e caracterização de materiais com propriedades ópticas não lineares (ONL) vem crescendo devido às suas aplicações em dispositivos opto eletrônicos, conversores de frequência e armazenamento de dados [1-6]. Cristais inorgânicos, como Di-hidrogênio Fosfato de Potássio (KDP) e seus isomorfos, são bastante utilizados atualmente, pois possuem elevada estabilidade térmica, resistência mecânica e inércia química, no entanto, apresentam limitações quanto às propriedades ONL, pois possuem alto índice de refração, além de alto custo para produção em larga escala [7-8]. Os cristais orgânicos possuem elevado coeficiente não linear, boa transparência na região do ultravioleta, crescem em grandes dimensões, porém, possuem baixa estabilidade térmica e são pouco resistentes [9]. Nesse contexto, necessita-se de um material que possua características desejáveis dos cristais orgânicos e inorgânicos. Com isso, muitos autores têm publicado estudos sobre a síntese e caracterização de cristais híbridos (semi-orgânicos), sugerindo esses materiais como possíveis substitutos aos cristais inorgânicos.

Muitos pesquisadores sugerem os cristais de sais de aminoácidos como uma alternativa. Dentre os possíveis compostos orgânicos, a escolha dos aminoácidos se deve ao fato de que as moléculas dessas substâncias possuem carbono quiral, que garante assimetria molecular, pré-requisito básico para que um material apresente propriedades não lineares [10].

Poucos trabalhos sobre cristais de sal de aminoácido de cadeia alifática apolar foram publicados até o momento e esse número diminui com o aumento da cadeia carbônica (glicina > alanina > valina > leucina > isoleucina) [10]. Várias haletos de aminoácidos com propriedades ópticas não linear foram publicados recentemente [11-12], no entanto, só foi publicado até o momento, um único artigo sobre cloreto de isoleucina e os autores apenas determinaram a estrutura do cristal e nenhuma outra caracterização foi realizada [13].

Varughese e Srinivasan [13], dissolveram t-BOC-L-isoleucina Figura 1 em ácido clorídrico diluído, com o objetivo de sintetizar t-BOC-L-isoleucina.HCl por meio da técnica de evaporação lenta, no entanto, de forma inesperada, sintetizaram L-isoleucina.HCl.H₂O, um isomorfo de L-isoleucina.HBr.H₂O.

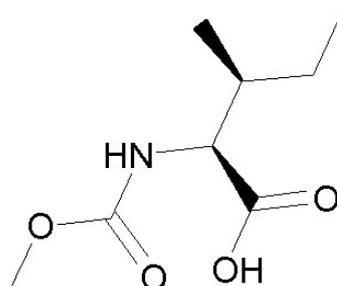


Figura 1- Estrutura de t-BOC-L-isoleucina

A estrutura do cristal de L-isoleucina hidrocloreídrica monohidratada (L-Ile.HCl.H₂O) foi então determinada. Os parâmetros de rede da célula unitária foram determinados como sendo: $a = 5,87(1)$, $b = 24,77(2)$ e $c = 6,85(1)$; portanto, pertencente ao sistema ortorrômbico, com grupo espacial $P2_12_12_1$ e quatro moléculas por célula unitária. A densidade observada foi de $1,240 \text{ g/cm}^3$ e a calculada de $1,238 \text{ g/cm}^3$. A Figura 2 mostra a célula unitária do cristal de L-Ile.HCl.H₂O ao longo do plano (100).

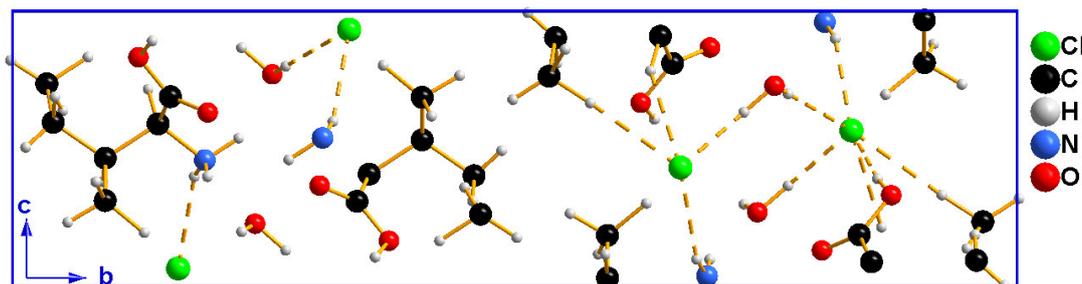


Figura 2 - Célula unitária de L-Ile.HCl.H₂O vista ao longo do plano (100)

Motivado pela busca constante dos pesquisadores por novos cristais de sais de aminoácidos e pela escassez de informações quanto a caracterização de cristais de L-Ile.HCl.H₂O, esse trabalho tem como objetivo sintetizar esse cristal por reação direta de L-isoleucina com ácido hidrocloreídrico diluído, bem como caracterizar o material sintetizado por Fluorescência de Raios-X, Difração de Raios-X em função da temperatura e do tempo, TG, DTA e DSC, Espectroscopia Raman em função da temperatura e estudar o comportamento térmico do material em tubo de vidro selado.

2 TEORIA

Neste tópico, será apresentada uma base teórica sobre a estrutura e propriedades dos aminoácidos e dos seus complexos. Serão descritos os fundamentos das técnicas de caracterização térmica (TG, DTA e DSC), DRX, FRX e Espectroscopia Raman. Todas as estruturas químicas deste trabalho foram feitas utilizando o programa Chem3D pró 12.0.

2.1 AMINOÁCIDOS

2.1.1 Estrutura e propriedades

Quimicamente, os aminoácidos podem ser definidos como sendo substâncias orgânicas que possuem em sua molécula pelo menos um grupo funcional amina e um ácido, não importando se em sua estrutura apresente outros grupos funcionais (Figura 3). Partindo desse conceito, pode-se considerar que o número de aminoácidos que possam existir tende ao infinito [14-15].

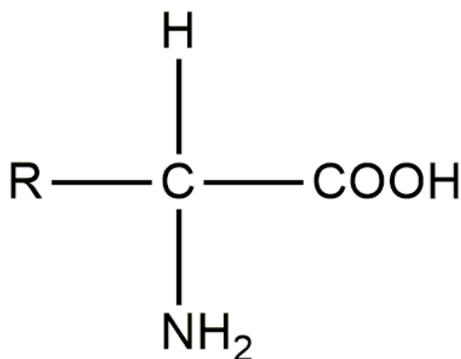
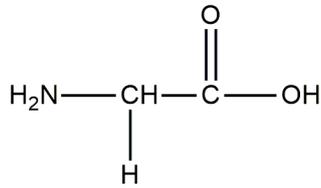


Figura 3 - Estrutura básica de um α -aminoácido

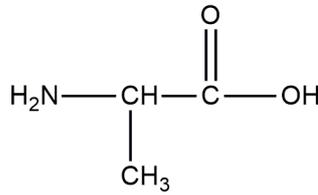
Um grupo de 20 aminoácidos (Figura 4) é, provavelmente, o mais importante grupo de moléculas com função biológica, pois fazem parte da estrutura básica das proteínas [16-17]. Esses aminoácidos podem ser classificados de acordo com a cadeia lateral (R) em:

- *Aminoácidos com cadeia lateral não polar e alifático*

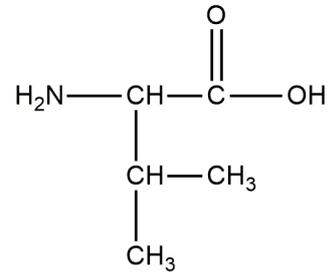
Glicina (Gly/G)



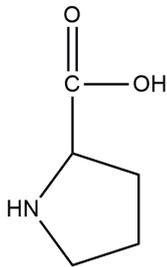
Alanina (Ala/A)



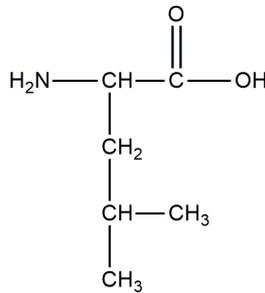
Valina (Val/V)



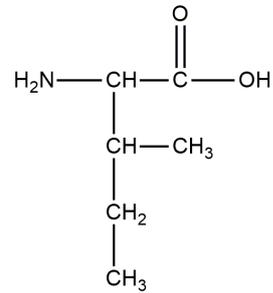
Prolina (Pro/P)



Leucina (Leu/L)

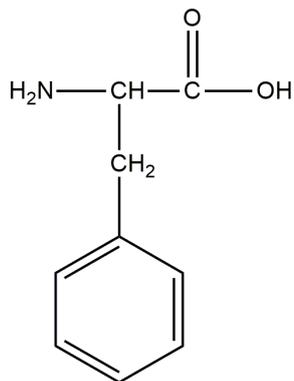


Isoleucina (Ile/I)

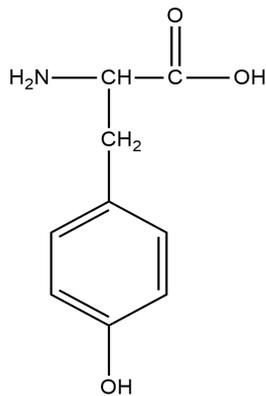


- *Aminoácidos com cadeia lateral aromática*

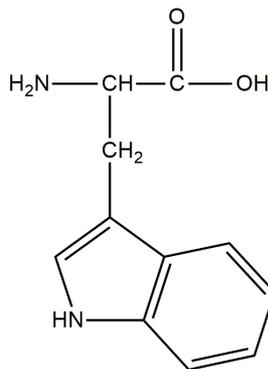
Fenilalanina (Phe/F)



Tirosina (Tyr/Y)

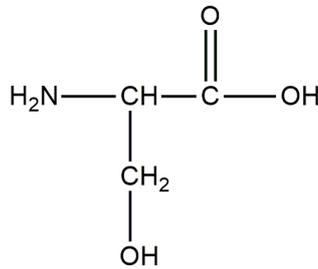


Triptofano (Trp/W)

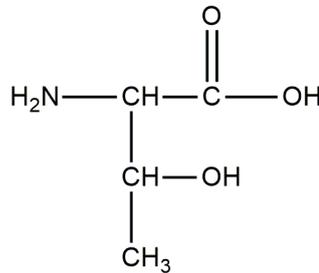


- *Aminoácidos com cadeia lateral polar não carregado*

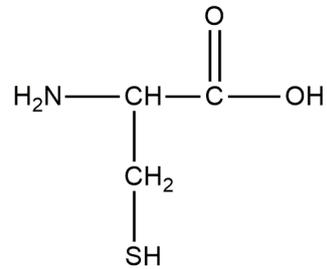
Serina (Ser/S)



Treonina (Thr/T)

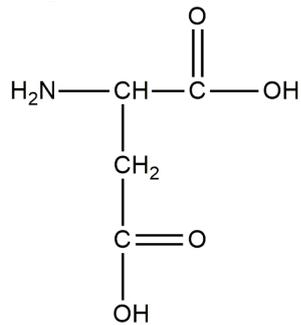


Cisteína (Cys/C)

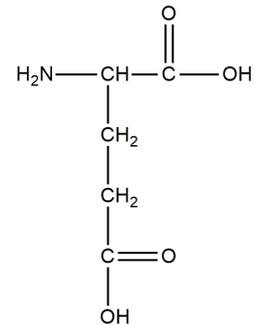


- *Aminoácido com cadeia lateral ácida*

Aspartato (Asp/D)

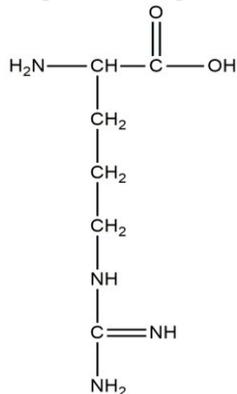


Glutamato (Glu/E)

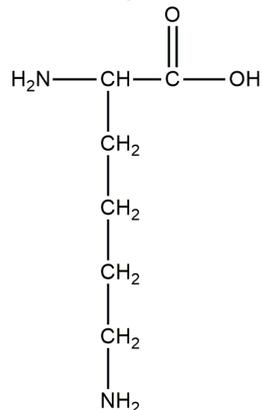


- *Aminoácidos com cadeia lateral alcalina*

Arginina (Arg/R)



Lisina (Lys/K)



Histidina (His/H)

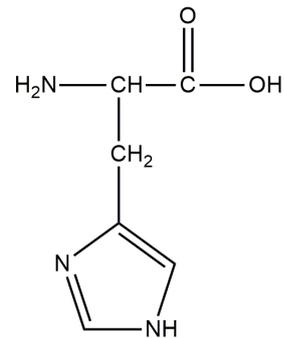


Figura 4 - Estrutura dos 20 aminoácidos básicos.

Outra característica interessante dos aminoácidos quanto à sua estrutura, é o fato de suas moléculas possuírem um átomo de carbono assimétrico, fazendo com que essas substâncias possuam duas configurações enantioméricas, uma Dextrogira (D) e outra Levógira (L) e, portanto, formam cristais não centrossimétricos [18-20]. A única exceção é a Glicina, que não possui nenhum carbono assimétrico, a isoleucina e treonina possuem dois. Por alguma razão, ainda não bem esclarecida, a forma L é aquela que prevalece nos sistemas biológicos [21-22].

A simetria de um cristal é de suma importância, pois está diretamente relacionada com algumas propriedades físicas. Podemos citar, por exemplo, o efeito piezoelétrico, que não pode ocorrer em cristais centrossimétricos [23-24]. Assim, a quiralidade e a simetria de um cristal não são importantes somente para a classificação cristalográfica, mas também propiciam propriedades ópticas relevantes para tais cristais. Portanto, como a maioria dos aminoácidos são quirais, eles são possíveis candidatos para aplicações em tecnologia que requerem cristais não centrossimétricos.

2.1.2 Isoleucina

A isoleucina é um isômero de posição da leucina, como pode ser visto nas estruturas da página 16. L-isoleucina foi descoberta em 1904 pelo Bioquímico alemão Felix Ehrlich em melão de açúcar de beterraba e sua estrutura cristalina foi determinada pela primeira vez em 1970 [25]. Comparando-se os parâmetros de rede (Tabela 1) da célula unitária, percebe-se que os da L-leucina são próximos aos da L-isoleucina e os da DL-Leucina aos da DL-isoleucina.

Aminoácido	Grupo Espacial	a	b	c	α	β	Γ	Ref.
L- Leu	P ₂₁	9,61	5,31	14,72	90	86,2	90	[26]
L-Ile	P ₂₁	9,75	5,32	14,12	90	95,8	90	[27]
DL-Leu	P-1	14,12	5,39	5,27	111,1	97,0	86,4	[28]
DL-Ile	P-1	14,66	5,39	5,27	109,2	114,0	85,2	[29]

Tabela 1- Grupo espacial e parâmetros de rede dos cristais de L-Leu, L-Ile, DL-Leu e DL-Ile medidos em condições ambientes de pressão e temperatura.

A estrutura de L-Ile a 120 K foi redeterminada por Gorbitz e Dalhus [30]. A L-isoleucina cristaliza na forma monoclinica ou ortorrômbica [27] e [25]. A estrutura reportada em [27] mostra a disposição das moléculas na célula unitária (Figura 5), onde se observa que

estão interligadas pela parte hidrofílica e com a parte hidrocarbônica (hidrofóbica) voltada para lados opostos. O mesmo ocorre com a DL-isoleucina [29], na L-metionina [31], L-valina [32], L-leucina [26], DL-isoleucina [33].

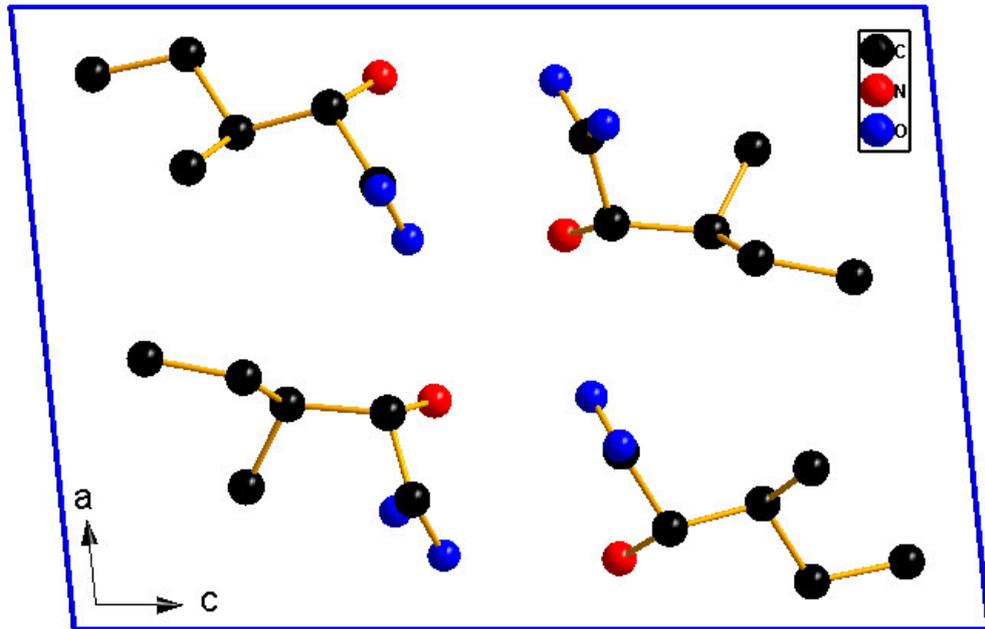


Figura 5 - Célula unitária de L-Ile com quatro moléculas . A parte hidrofílica está posicionada frente a frente e a parte hidrofóbica (hidrocarbônica) em lados opostos.

É importante destacar que a isoleucina possui dois carbonos assimétricos (C2 e C3) e por isso possui quatro estereoisômeros: (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoico; (2S, 3R)-2-amino-3-metilpentanoico; (2R, 3S)-2-amino-3-metilpentanoico e (2R, 3R)-2-amino-3-metilpentanoico. Esses compostos são comumente denominados, respectivamente, por: L-isoleucina, L-allo-isoleucina, D-isoleucina e D-allo-isoleucina (Figura 6) [10].

A morfologia do cristal de L-isoleucina foi determinada por meio de cálculos teóricos utilizando simulação molecular e comparada com cristais crescidos em diferentes ambientes. Os resultados obtidos por meio da simulação teórica utilizada no trabalho são similares aos resultados experimentais [34].

Estudos sobre transições de fase dos cristais de L-Ile quando submetidos a pressões de até 7,3 GPa foram investigados por espectroscopia Raman [35]. Os autores identificaram uma mudança de estrutura em 2,5 e 5,0 GPa. Em outro artigo [36], foi estudado o comportamento vibracional de L-Ile em baixas temperaturas (entre -256 e 17 °C) utilizando espectroscopia

Raman. Nesse trabalho os autores não identificaram transição de fase no intervalo de temperatura investigado.

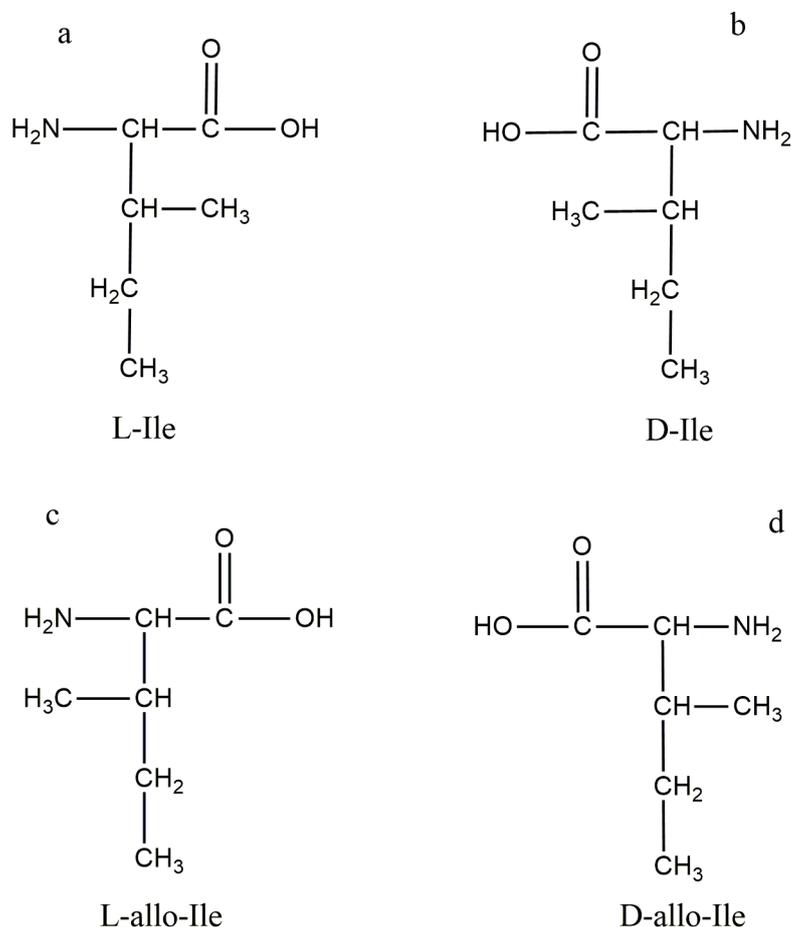


Figura 6 - Esterioisômeros da isoleucina. (a) L-isoleucina (2S,3S), (b) D-isoleucina (2R,3R), (c) L-allo-isoleucina (2S,3R) e (d) D-allo-isoleucina (3S, 2R).

2.1.3 Sais de Isoleucina

Sais de aminoácidos são compostos ácidos aminados complexados com cátions, ânions ou ambos, existentes na forma hidratada ou anidra. Alguns autores consideram um aminoácido na forma zwitteriônica como sendo um sal interno, devido a desprotonação do grupo carboxila e protonação do grupamento amina [10]. Nos aminoácidos complexados com cátions, a grande maioria, o metal encontra-se na forma monovalente (M^+AA^-) ou divalente ($M^{2+}(AA^-)_2$), onde M representa o metal e AA o aminoácido, embora existam aqueles complexados com metais trivalentes (M^{3+}). Existem poucos trabalhos envolvendo a síntese

de sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos, pois a grande maioria dos aminoácidos é complexada com metais de transição [37], [38]. Existe um número muito grande de sais de aminoácidos complexados com cátions e ânions, visto que a possibilidade é maior, $(AA)M^+X^-$, $(AA)M^{2+}X^{2-}$, $(AA)M^{2+}X^-$ entre outros; onde AA é o aminoácido na forma zwitteriônica, M é um metal e X um ânion qualquer (haletos, nitratos, sulfatos etc) [39].

Outro grupo de sais de aminoácidos, no qual se enquadra o cristal do presente trabalho, é obtido por meio da reação de um aminoácido e um ácido (inorgânico ou orgânico), AAX^- , onde X^- é o ânion proveniente do ácido (haletos, nitratos, sulfatos, acetatos etc). É importante observar, que o simples fato de misturar em um meio reacional uma proporção estequiométrica de aminoácido e ácido, não garante que a reação ocorra com formação do sal. Pode ser que ocorra reação parcial ou não ocorra reação alguma.

Este grupo de sais pode ser dividido em três subgrupos: sal simples, formado por um cátion (monoprotonado ou diprotonado) de aminoácido e um ânion; sal duplo quanto ao cátion, no qual possui dois cátions e um ânion e sal misto, que é formado por diferentes cátions, diferentes ânions ou ambos [10].

A Tabela 2 resume alguns sais de isoleucina. Cristais de D-isoleucina hidrocloreídrica monohidratada (D-Ile.HCl.H₂O) e D-isoleucina hidrobromídrica monohidratada (D-Ile.HBr.H₂O) foram publicados em 1954 [40]. Nesse trabalho os autores afirmam que a obtenção dos cristais, foi realizada com ácido clorídrico ou bromídrico adicionados a uma suspensão de D-isoleucina e acetona pura. A mistura foi acondicionada em um tubo selado em vácuo, onde ocorreu evaporação da acetona e obtenção dos cristais. Os cristais crescidos ao ar perdem lentamente a água de cristalização.

Cristal	G, E, Z	a,b,c (Å)	Referência
D-Ile.HCl.H₂O	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ , 4	6.13(2), 25.01(8), 6.79(2)	[40]
D-Ile.HBr.H₂O	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ , 4	6.21(4), 24.4(2), 7.00(4)	[40]
L-Ile.HCl.H₂O	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ , 4	5.87(1), 24.77(2), 6.85(1)	[13]
D-alloIle.HCl.H₂O	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ , 4	6.13(1), 24.03(2), 6.80(1)	[41]

Tabela 2 - Sais de isoleucina com ânions inorgânicos

Varughese e Srinivasan em 1976 [13], na tentativa de obter cristais de t-BOC-L-isoleucina hidrocloreídrica, sintetizaram de forma inesperada os cristais de L-isoleucina hidrocloreídrica monohidratada L-IleHCl.H₂O, dissolvendo t-BOC-L-isoleucina em ácido

clorídrico diluído e utilizando a técnica de evaporação lenta para o crescimento de cristais. Nesse artigo (o único que trata da síntese de L-Ile.HCl.H₂O), os autores caracterizaram a amostra por DRX em temperatura ambiente, somente. De fato, até o momento não foi publicado nenhum trabalho com outras técnicas de caracterização do cristal de L-Ile.HCl.H₂O.

2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

2.2.1 Difração de Raios-X

A descoberta dos Raios-X está relacionada aos experimentos realizados por Wilhelm Conrad Roentgen (1845-1923) quando trabalhava com as “Ampolas de Crooks”. Essas ampolas consistem em um tubo de vidro (Figura 7) ligado a uma bomba de vácuo, onde é aplicada uma grande diferença de potencial (cerca de 10000 Volts) entre dois eletrodos opostos. Roentgen (Figura 8) observou no interior do tubo, a emissão de uma radiação de natureza desconhecida e por isso, foi batizada por ele de Raios-X. Roentgen ganhou o 1º Prêmio Nobel de Física em 1901 por sua descoberta [42-43].



Figura 7 - “Ampola de Crooks”



Figura 8 - Wilhelm Conrad Roentgen, Físico que descobriu os Raios-X e por isso ganhou o primeiro Prêmio Nobel de Física em 1901.

Em 1905, Charles Glover Barkla provou que os Raios-X se comportam como a luz, já que eles são polarizáveis. William Henry Bragg, nesta mesma época, sugeriu que os Raios-X são de natureza corpuscular, já que tinha a capacidade de ionizar o ar, semelhante à radiação β . Albert Einstein propôs a ideia de fóton de energia (onde se admite a natureza corpuscular para luz) e a partir daí foi possível calcular o comprimento de onda associado aos Raios-X. A ideia de Einstein foi confirmada experimentalmente em 1912, quando Max von Laue e seus alunos, descobriram a difração de Raios-X em cristais de sulfeto de zinco (ZnS). Vale ressaltar, que a característica dual da matéria só foi verdadeiramente aceita com os trabalhos de Louis Victor P. R de Broglie em 1923 [42,44].

Após ser relatada a descoberta dos Raios-X e alguns fatos históricos relacionados a tal, surge um questionamento: o que são os Raios-X? Como são produzidos? Atualmente, definem-se Raios-X, como sendo ondas eletromagnéticas de alta frequência e, portanto, de pequeno comprimento de onda e grande energia, oriundas de transições eletrônicas de níveis e subníveis internos dos átomos. A Figura 9 resume de forma didática, o fenômeno da produção de Raios-X [45].

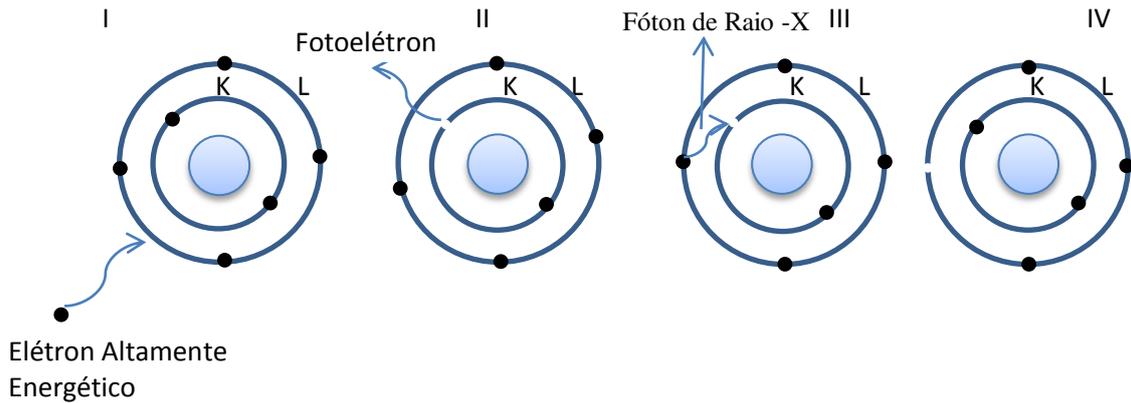


Figura 9 - (I) átomo de um material metálico sofrendo colisão de um elétron altamente energético; (II) perda de um elétron da camada k na forma de fotoelétron após a colisão; (III) elétron da camada L libera energia na forma de Raios-X e salta para camada k.

Para produção de Raios-X, um elétron de alta energia cinética deve ser rapidamente desacelerado. Para isso, deve-se fazer com que um elétron altamente energético gerado no cátodo de uma Ampola de Crooks, colida com um metal que funciona como ânodo. Quando esse elétron colidir com o anteparo, um elétron da camada K do átomo do metal é liberado na forma de fotoelétron, deixando um vazio nessa camada. Para ocupar essa vacância, outro elétron da camada mais externa (de maior energia) salta para camada K (de menor energia), liberando energia na forma de Fótons de Raios-X, essa energia liberada é igual à diferença de energia entre as camadas.

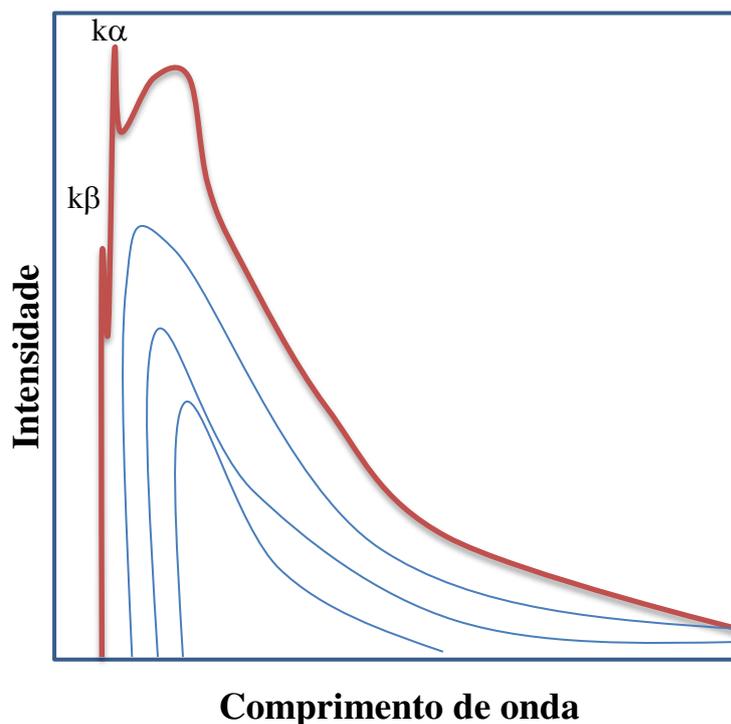


Figura 10 - Relação entre a diferença de potencial entre os eletrodos e a intensidade de cada comprimento de onda. A curva vermelha é chamada de radiação característica. As demais curvas são chamadas de radiação branca.

Quanto maior a diferença de potencial entre os eletrodos, maior a intensidade e a faixa de comprimento de onda produzido pelo tubo. A linha de maior intensidade (em vermelho, Figura 10) representam as *radiações característica*. As demais linhas (em azul) de menor intensidade são chamadas de *radiação branca* [45-46]. Uma forma de explicar esse comportamento é por meio das transições eletrônicas, onde cada comprimento de onda observado está relacionado a um salto quântico.

A Figura 11 resume algumas transições eletrônicas. A radiação $K\alpha_1$ corresponde a transição do elétron da camada L_{III} para camada K; $K\alpha_2$ o elétron transita de L_{II} para K; $K\beta_1$ é gerada pela transição de M_{III} para K e $K\beta_2$ de M_{II} para K; $L\alpha$ corresponde a transição de M para L e $M\alpha$ de N para M.

A energia emitida por cada transição eletrônica (energia do fóton) é igual à diferença de energia entre cada camada. No caso da radiação $K\alpha_1$, $E_{\text{fóton}} = \phi_K - \phi_{L_{III}}$; para $K\beta_1$, $E_{\text{fóton}} = \phi_K - \phi_{M_{III}}$. Assim, o comprimento de onda (λ) característico do metal que compõe o anodo pode ser calculado por $\lambda = hc/E_{\text{fóton}}$, onde h é a constante de Planck e c a velocidade da luz. A energia de cada nível eletrônico depende do tipo de átomo, logo cada elemento químico possui um comprimento de onda característico [45]. A Tabela 3 mostra a radiação característica para alguns metais utilizados em tubos de Raios-X.

Elemento	$K\alpha_1$ (Å)	$K\beta_1$ (Å)
Cu	1,54056	1,39221
Mo	0,70930	0,63228
Cr	2,28970	2,08487
Co	1,78896	1,62079
W	0,20901	0,18437
Ni	1,65791	1,50013
Fe	1,93604	1,75661

Tabela 3 - Radiação característica de alguns metais utilizados em tubos de Raios-X.

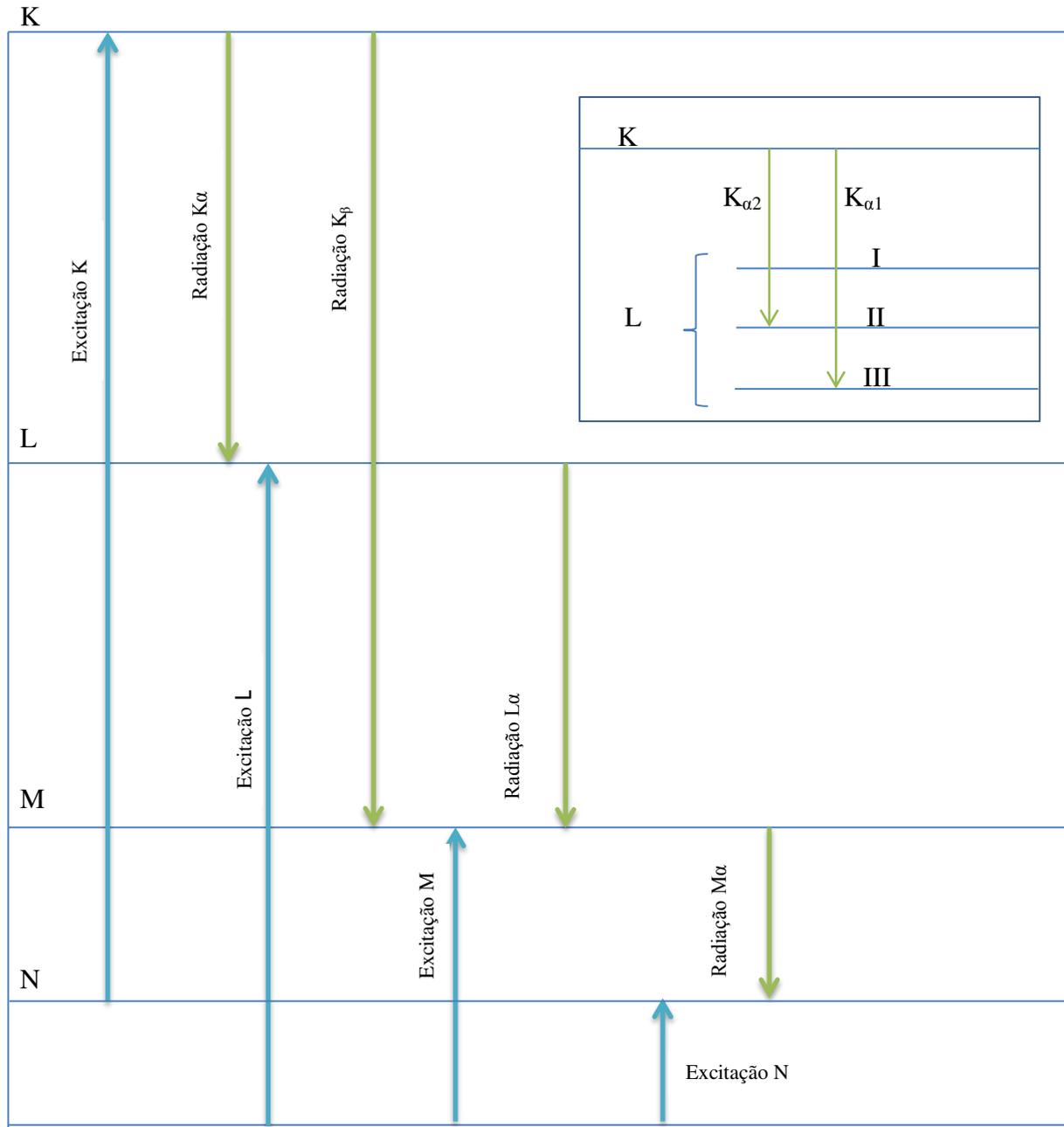


Figura 11 - Níveis atômicos e as energias de emissão e excitação referente a cada transição.

A identificação de estrutura pode ser feita por meio da incidência de Raios-X sobre o material de interesse. Com a incidência, os Raios-X podem sofrer difração e o estudo dessa onda difratada é que nos permite entender a estrutura a nível atômico do material em estudo. E o que se entende por difração de Raios-X? A difração ocorre quando os Raios-X (ondas eletromagnéticas) passam através de espaços da mesma ordem de grandeza do seu comprimento de onda.

Como dito anteriormente, Max von Laue, em 1912, foi o primeiro pesquisador a publicar um trabalho sobre difração de Raios-X por um cristal. A Figura 12 mostra a primeira fotografia de difração (difratograma), publicada a mais de cem anos em “*Proceedings of the Royal Bavarian Academy of Science*” e em “*Annalen der Physik*” [44].

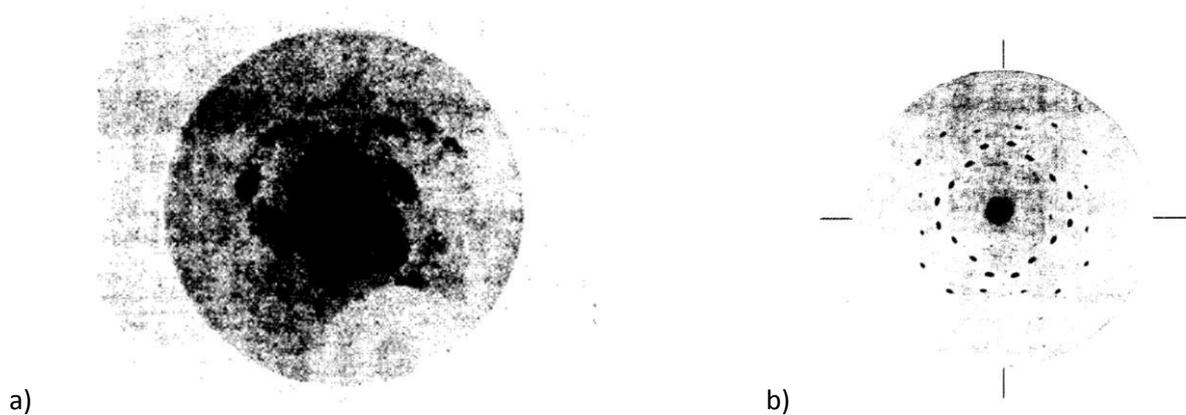


Figura 12 - a) primeira fotografia de difração de Raios-X obtida por Laue e colaboradores utilizando um cristal de sulfeto de cobre; b) difração de Raios-X do sulfeto de zinco, de melhor qualidade. Figuras retiradas da referência [44].

Laue relacionou as manchas que apareciam nas fotografias à difração, e estava correto, mas não explicou de forma satisfatória, já que manchas previstas por von Laue não apareciam nas imagens [44].

William Henry Bragg e seu filho, William Laurence Bragg, estudaram profundamente o fenômeno da difração observado por Laue. Tendo o pai se dedicado aos estudos das propriedades espectroscópicas e Laurence Bragg, as estruturas cristalinas [43].

W. L. Bragg, mesmo sendo um jovem estudante na época, conseguiu demonstrar matematicamente uma equação que expressa às condições de difração. Mas antes de demonstrar a lei de Bragg, vamos entender como ocorre à difração de uma onda. Uma onda eletromagnética (como os Raios-X) sofre difração, quando for possível passar por um espaço vazio que possui a mesma ordem de grandeza do seu comprimento de onda (entre dois átomos, por exemplo). Isso ocorre devido a diferença de fase entre duas ou mais ondas que interagem entre si. Essa interação pode ocorrer de forma construtiva ou destrutiva e depende de suas trajetórias. A Figura 13 resume a interação entre duas ondas, que para facilitar, será

mostrado apenas um dos campos da radiação eletromagnética- elétrico ou magnético-polarizado em um plano. Na situação I pode-se perceber que as ondas estão em fase. Quando a amplitude da onda resultante é a soma das amplitudes de cada uma, a interferência é dita construtiva. Na situação II, as ondas estão fora de fase, logo a interferência é destrutiva e a soma das amplitudes é zero. É importante lembrar que as interferências citadas no exemplo são totalmente construtiva ou totalmente destrutivas, mas podem ocorrer de forma parcial [45].

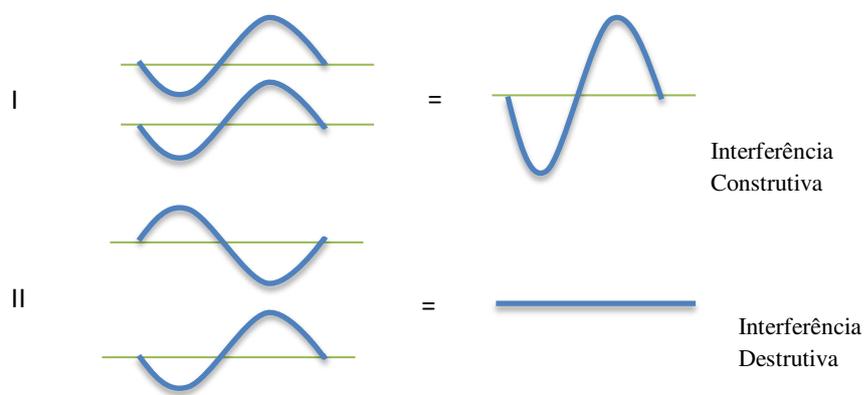


Figura 13 - Interferência (I) construtiva e (II) destrutiva.

A Figura 14 mostra um arranjo atômico em um conjunto de planos paralelos A, B e C de um cristal, espaçados por uma distância d chamado de parâmetro de rede (distância entre planos paralelos de uma rede cristalina). Suponha que dois raios monocromáticos e paralelos incidam sobre a superfície do cristal sob um ângulo θ (ângulo entre o raio e o plano cristalográfico). Os raios 1 e 2 difratam em todas as direções ao incidirem sobre os átomos P e Q. Contudo, apenas nas direções 1' e 2' eles se reforçam e estão em fase. A distância entre os raios 1P1' e 2Q2' será

$$YQ + XQ = d\sin\theta + d\sin\theta = 2d\sin\theta \quad (1)$$

Os raios estarão em fase se a distância entre eles ($2d\sin\theta$) for igual a um múltiplo inteiro n de comprimentos de onda. Logo temos que

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

Essa expressão é conhecida como lei de Bragg, formulada por W. L. Bragg, onde n é um número inteiro conhecido como ordem de reflexão. Todas essas explicações sobre o fenômeno da difração de Raios-X estão detalhadas em Cullity, referência [45].

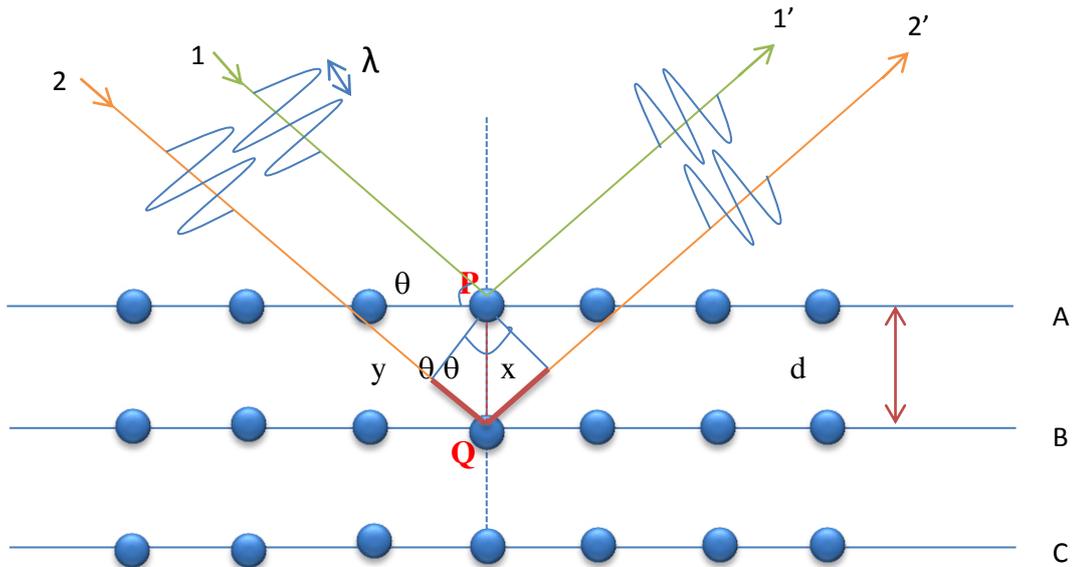


Figura 14- Difração de raios-x por um cristal

2.2.2 Análise Térmica

Análise Térmica consiste em “um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medido como função da temperatura enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura” [47-48]. As técnicas de análise térmicas que serão abordadas nesse trabalho serão: Termogravimetria (TG) e Termogravimetria Derivada (DTG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Caloria Exploratória Diferencial (DSC).

A TG relaciona alterações na massa da amostra em função do aumento ou abaixamento controlado da temperatura. Os equipamentos utilizados atualmente para obtenção de curvas TG funcionam como termobalanças modernas, que são equipadas por um conjunto de sistema de alta precisão: balança registradora, forno e programador de temperatura, suporte de amostra e sensor de temperatura, registrador e controlador de atmosfera do forno [49]. Esse

sistema é conectado a um computador com *software* adequado, que traduz os resultados em forma de gráfico (curvas TG).

Por se tratar de uma técnica bastante sensível, alguns fatores como razão de aquecimento, atmosfera do forno, tipo de cadinho, tamanho de partículas, quantidade de amostra, calor de reação, compactação da amostra, natureza e condutividade térmica da amostra, podem interferir no resultado, levando o analisador a possíveis erros [49]. É importante salientar que, equipamentos diferentes, mesmo nas mesmas condições de análise, podem resultar em curvas TG diferentes. Por isso, o analisador deve conhecer bem o equipamento utilizado para análise e as características da amostra [50]. As curvas obtidas por meio da DTG permitem informações adicionais em relação à TG, como por exemplo, o instante em que a velocidade da reação é máxima, distinguir reações em sequência, determinações quantitativas das perdas de massa etc.

Por meio da técnica de DTA, pode-se aferir a diferença entre a temperatura da amostra e de um material de referência (cadinho), à medida que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados. A DSC é uma técnica que analisa a diferença de energia fornecida à amostra e uma referência (ΔH), enquanto ambas são submetidas à mesma taxa de calor. Essa técnica pode fornecer informações a respeito das transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, alterações estruturais) ou fenômenos associados à desidratação e decomposição [50].

Há dois tipos de equipamentos DSC, um com fluxo de calor e outro com compensação de potência. Uma diferença entre eles está na forma de armazenamento da amostra e referência no forno. Em um modelo (fluxo de calor) estão sobre um único aquecedor elétrico, enquanto que no outro (compensação de potência), estão sobre aquecedores individuais (Figura 15).

As respostas de cada análise são dadas em gráficos denominados de curvas TG, DSC e DTA. As curvas TG são dadas em m em função de T ou t , onde m é a massa da amostra (geralmente em mg), T é a temperatura e t o tempo e as curvas DTG são dadas em dm/dt (derivada da variação da massa em relação ao tempo) em função de T ou t . A Figura 16 representa um modelo de curvas TG e DTG.

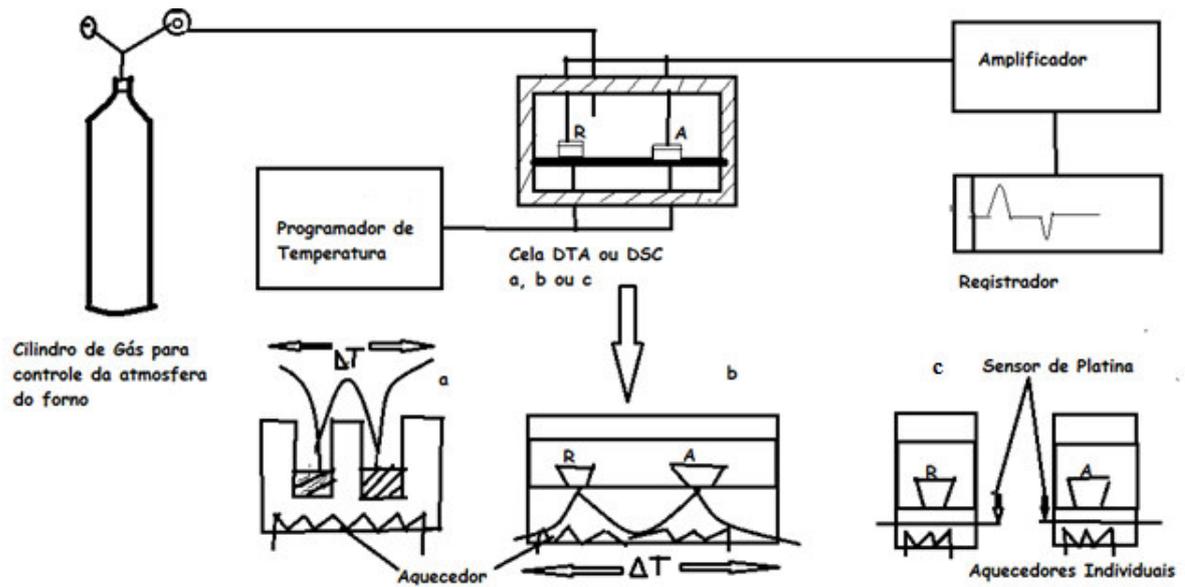


Figura 15 - Esquema de um equipamento genérico para análise térmica diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). a) DTA; b) DSC com fluxo de calor; c) DSC com compensação de potência.

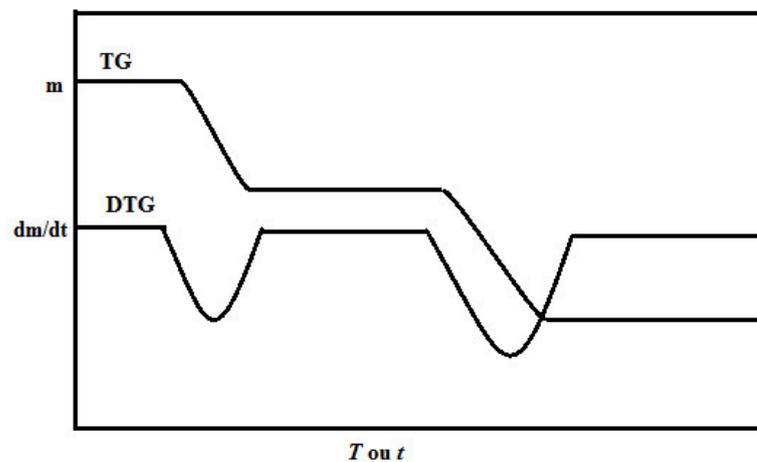


Figura 16- Modelo de curvas TG e DTG

Os resultados das análises de DTA são obtidos através de curvas que relacionam ΔT ($T_r - T_a$) em função T ou t , onde ΔT é a diferença entre a temperatura da referência (T_r) e a temperatura da amostra (T_a), T e t são valores de temperatura e tempo, respectivamente. A Figura 17 representa um modelo de curvas DTA.

Os picos que caracterizam eventos exotérmicos ocorrem quando a amostra sofre algum fenômeno (físico ou químico) com liberação de energia na forma de calor, com isso, a

temperatura do termopar da amostra (dispositivo que mede a temperatura do forno e que está em contato com a amostra) tende a aumentar em relação ao termopar da referência. Os eventos endotérmicos indicam que a amostra absorveu energia na forma de calor, logo a temperatura do termopar da amostra diminui em relação ao da referência. É importante observar, que não existe convenção quanto aos picos para cima ou para baixo serem exotérmicos ou endotérmicos, por isso é aconselhado que o autor indique, por meio de uma legenda, a identificação dos picos [48-49].

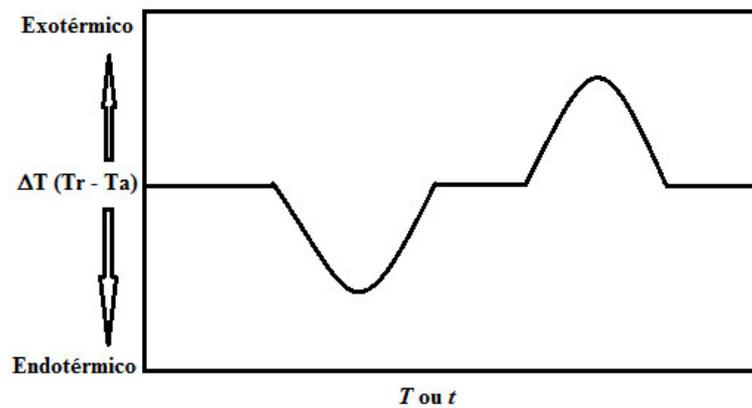


Figura 17- Representação de picos endotérmico e exotérmico em uma curva DTA

As curvas de DSC são gráficos da derivada da diferença entre a energia fornecida a amostra e a um material de referência em relação ao tempo (dH/dt) em função do tempo ou temperatura. As curvas DTA são semelhantes às curvas DSC, sendo diferentes quanto às unidades de medidas no eixo das ordenadas. A Figura 18 representa um modelo de curvas DSC.

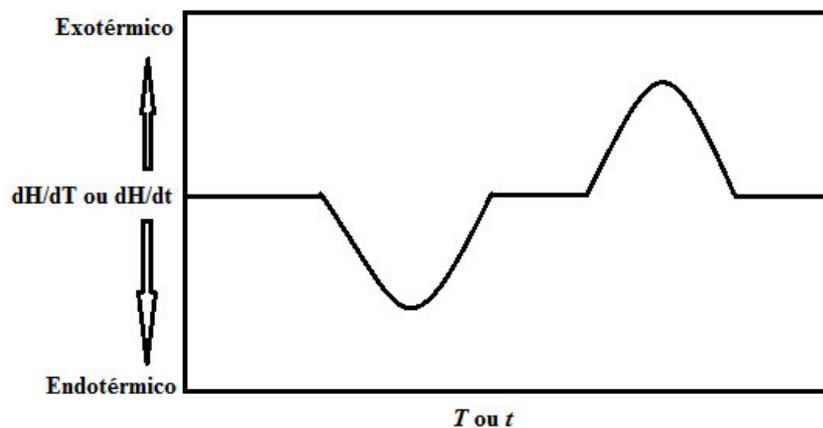


Figura 18- Esquema de uma curva DSC

2.2.3 Espectroscopia Raman

Quando uma radiação monocromática incide sobre um material, parte dela é transmitida e parte é espalhada. A energia da radiação espalhada pode ser igual, maior ou menor comparado a radiação incidente. Quando a radiação espalhada é de mesma energia da incidente, diz-se que houve espalhamento Rayleigh. O espalhamento Raman (menor parte da radiação espalhada) são exatamente aquelas em a energia da radiação são diferentes da incidente. Quando a energia da luz espalhada é maior do que a incidente ela é chamada de espalhamento ou linha anti-Stokes e quando for menor, de espalhamento ou linha Stokes [51]. A Figura 19 demonstra esses efeitos.

Supondo que uma molécula que se encontra em um estado energético fundamental de vibração receba a incidência de um fóton de energia, esta molécula absorve esse fóton e transita momentaneamente para um estado energético instável superior (Estado Virtual) e libera parte desta energia absorvida, retornando à um estado energético E_1 , maior do que estado fundamental, então o espalhamento é chamado de Stokes. Se a molécula retornar para o estado fundamental, liberando um fóton com mesma energia daquele incidente, o espalhamento é dito espalhamento Rayleigh. Se a molécula já estiver vibrando no primeiro estado energético E_1 , e com a incidência de um fóton de energia, passar para o estado virtual e retornar para o estado energético fundamental, houve um espalhamento chamado de Anti-Stokes [51-52]. No entanto, é mais provável a ocorrência de espalhamentos Stokes do que Anti-Stokes, pois a maioria das moléculas vibra no estado fundamental.

É importante observar que $E_1 - E_0$ equivale à energia de vibração das moléculas e, portanto, se extrai daí a informação vibracional de grupos funcionais, como C = O, NH_3^+ , CH_3 dentre outros (tratando-se de cristais orgânicos ou semi-orgânicos). Com isso, baseado nos modos normais de vibração das moléculas (que são característicos), é possível a identificação das mesmas. Logo, a espectroscopia Raman pode ser utilizada para identificar espécies químicas de uma determinada substância. Além disso, a técnica é bastante sensível à variação de comprimento de ligações, o que torna possível estimar constantes de forças intramoleculares e intermoleculares, daí a sensibilidade da técnica para se detectar transições de fase em materiais submetidos a pressões e temperaturas extremas.

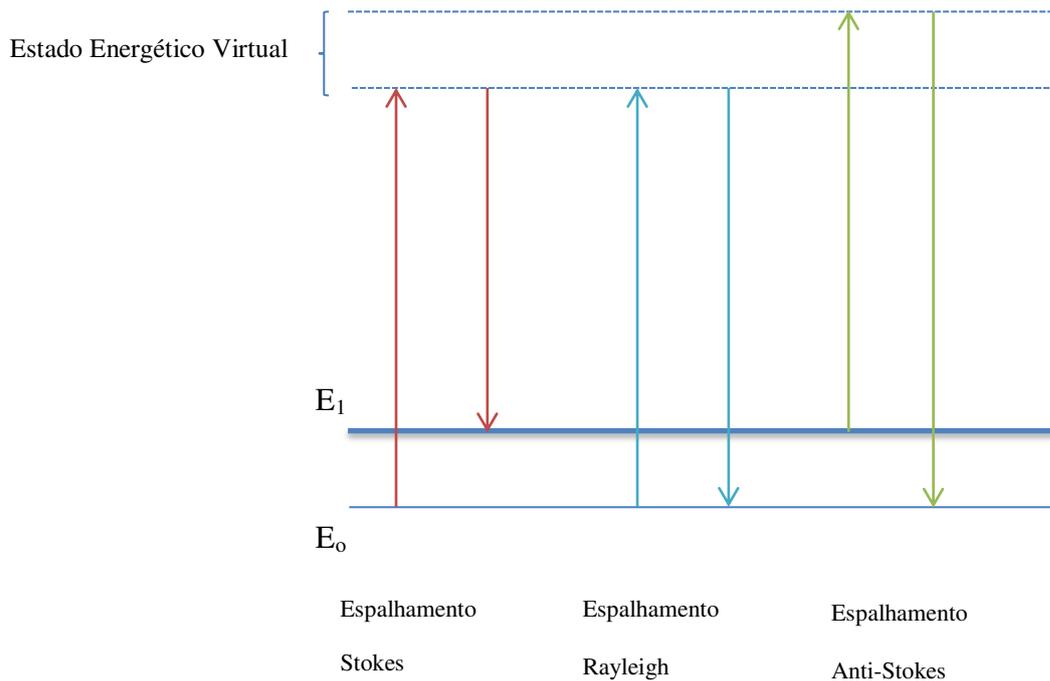


Figura 19 - Prováveis transições eletrônicas de uma radiação espalhada: Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. Onde E_0 é a energia das moléculas no estado fundamental, E_1 a energia das moléculas no primeiro estado vibracional excitado e as linhas pontilhadas um estado energético chamado de virtual.

O uso da espectroscopia Raman nesse trabalho teve como objetivo identificar mudanças de fase devido ao aquecimento, analisando os modos normais de vibração, bem como identificar a perda de água estrutural do cristal.

2.3.4 Fluorescência de Raios-X

A técnica analítica de fluorescência de Raios-X baseia-se na medida das intensidades dos Raios-X característicos (número de Raios-X detectado por unidade de tempo) emitidos por elementos que constituem a amostra. Com essa técnica é possível identificar e quantificar elementos químicos de uma amostra qualquer.

A Figura 20 mostra um esquema de funcionamento de obtenção de dados por fluorescência de Raios-X. Um feixe de radiação incide sobre a amostra e retira os elétrons das camadas mais internas dos átomos, camadas K, L, M, através do efeito fotoelétrico, e como consequência, elétrons das camadas mais externas saltam para preencher a vacância deixada pelo elétron retirado, liberando fóton de Raios-X (Figura 9). Cada átomo possui uma radiação característica, que torna possível sua identificação e quantificação. A intensidade dessa radiação é diretamente proporcional à concentração do elemento na amostra. Basicamente,

pode-se dizer que a técnica se baseia em três fases: excitação dos elementos que constituem a amostra, dispersão dos Raios-X característico de cada átomo e detecção desses Raios-X.

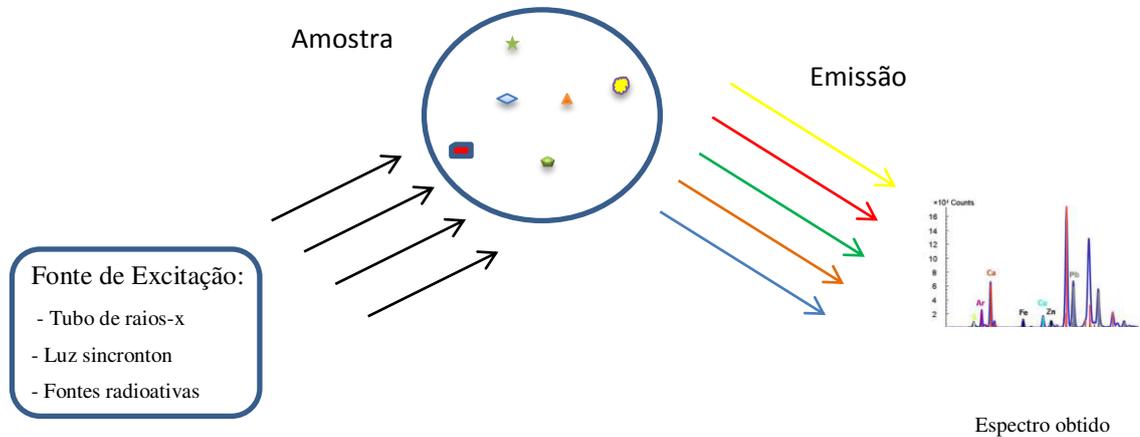


Figura 20 - Esquema de excitação-amostra-deteção

Para provocar a excitação dos elementos da amostra pode-se utilizar como fonte: elétrons, prótons ou íons acelerados; partículas alfa, beta negativo ou raios gama oriundos de radionuclídeos; e o mais utilizado atualmente, Raios-X produzidos em tubos.

Para que haja a produção de Raios-X característico pelos átomos da amostra, a energia da fonte de excitação deve ser superior à energia de ligação do elétron e sua camada. Essa energia pode ser calculada de modo aproximado aplicando a teoria atômica de Bohr para o átomo de hidrogênio, dada pela equação:

$$E = \frac{me^4(Z - b)^2}{8\varepsilon^2 h^2 n^2} \quad (3)$$

onde:

E = energia de ligação eletrônica (Joule)

m = massa de repouso do eletron ($9,11 \times 10^{-31}$ Kg)

e = carga do elétron ($1,6 \times 10^{-19}$ C)

Z = número atômico do elemento emissor do Raio-X

b = constante de Moseley (1 para camada K e 7,4 para camada L)

ε = permissividade elétrica no vácuo ($8,85 \times 10^{-12}$ C/N.m²)

h = constante de Plank ($6,62 \times 10^{-34}$ J.s)

n = número quântico principal do nível eletrônico (1 para camada K, 2 para L, etc)

A partir da Equação 4, pode-se concluir que a energia de ligação (E) é diretamente proporcional ao quadrado do número atômico (Z^2) do elemento. A energia do Raio-X

característico emitido pode ser calculado pela diferença de energia entre as camadas envolvidas no salto quântico.

A detecção dos Raios-X característicos podem ser feitos por dispersão de energia, onde os Raios-X são selecionados através dos pulsos eletrônicos produzidos em um detector apropriado, sendo estes pulsos diretamente proporcionais às energias dos Raios-X. Os detectores mais utilizados são os cintiladores sólidos de NaI(Tl) e os semicondutores de Si(Li), Ge(Li) e Ge hiperpuro. A escolha do detector vai depender do elemento que se deseja determinar/quantificar. Na análise de elementos de número atômico compreendido entre 13 e 50 utiliza-se Si(Li).

2.3.5 Refinamento de Rietveld

O método de Rietveld é um procedimento matemático que permite qualificar e/ou quantificar fases de um material por difração de Raios-X, quando o difratograma medido é comparado à um padrão (calculado), por meio de um processo chamado refinamento.

O que é o ato de refinar? Isso pode ser respondido de forma simples: quando o cristal pulverizado é submetido à análise de difração de Raios-X, as informações sobre as posições atômicas são obtidas na forma de gráficos (difratograma), só que a posição, intensidade e perfil dos picos obtidos no difratograma não representam de forma fiel 100% do padrão de difração esperado (teórico ou calculado), pois alguns fatores, como preparo da amostra e o próprio instrumento, contribuem para essa diferença, então refinar, significa diminuir ao máximo essas contribuições.

O método de Rietveld tem por base, a minimização da diferença entre um difratograma obtido experimentalmente e um calculado (teórico) por meio do método de mínimo quadrado. A quantidade de minimização no refinamento é chamada de resíduo, S_y :

$$S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{ic})^2 \quad (4)$$

Onde $w_i = 1/y_i$, é a soma sobre todos os pontos medidos, y_i = intensidade observada no i-ésimo passo, y_{ic} = intensidade calculada no i-ésimo passo.

A intensidade calculada pode ser descrita como:

$$y_{ic} = s \sum_K P_k L_k |F|_k^2 G(\Delta\theta_{iK}) P'_k + y_i(\text{back}) \quad (5)$$

em que S é o fator de escala, L_k fator de polarização de Lorentz que pode ser expresso por:

$$L_k = \frac{1 + \cos^2 2\theta_m \cos^2 2\theta}{2 \sin 2\theta \sin \theta} \quad (6)$$

F_k é o fator de estrutura que pode ser expresso por:

$$F_k = \sum_j N_j f_j \exp[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)] \exp[-2M_j] \quad (7)$$

em que N_j é a multiplicidade do j-ésimo átomo do sítio e f_j , x_j , y_j , z_j e M_j são os fatores de espalhamento atômico, coordenada atômica e fator de temperatura. O termo P_k é o fator de multiplicidade, P'_k é a função orientação preferencial, K são os índices de Miller (hkl), $G(\Delta\theta_{ik})$ é a função perfil e $y_i(\text{back})$ a intensidade de fundo (background).

No processo de refinamento, procura-se ajustar o padrão calculado ao experimental, de tal forma que fiquem o mais próximo possível. Para que o refinamento seja satisfatório, os picos do difratograma calculado devem sobrepor os picos do difratograma experimental e a linha da diferença o mais próximo de uma reta.

Alguns parâmetros obtidos durante o processo de refinamento indicam a sua qualidade, são os chamados fator R (R_p , R_{wp} , R_{Bragg}) e podem ser expressos pelas equações:

$$R_p = 100 \frac{\sum_i |Y_{oi} - Y_{ci}|}{\sum_i |Y_{oi}|} \quad (8)$$

$$R_{wp} = 100 \left\{ \frac{\sum_i w_i |Y_{oi} - Y_{ci}|^2}{\sum_i w_i |Y_{oi}|^2} \right\} \quad (9)$$

$$R_{Bragg} = 100 \left\{ \frac{\sum |I_o - I_c|}{\sum |I_o|} \right\} \quad (10)$$

$$R_{expected} = 100 \left\{ \frac{N - P + C}{\sum_i W_i Y_{oi}} \right\}^{1/2} \quad (11)$$

Onde N é o número total de pontos observados, P é o número de parâmetros ajustados e C o número de correlações aplicadas. S é o goognes-of-fit e pode ser calculado por:

$$S = \frac{R_{wp}}{R_{expected}} \quad (12)$$

Do ponto de vista matemático o R_{wp} é o parâmetro mais significativo, porque o numerador é o resíduo que está sendo minimizado. Teoricamente, o R_{wp} (R-weighted-pattern) para um bom refinamento, deve está entre 2 e 10%, mas entre 10 e 20% é aceitável na pratica. O S deve ser equivalente a 1,0; mas em torno de 5,0 caracteriza um bom refinamento. Existem vários programas que podem ser utilizados para o processo de refinamento de Rietveld, no presente trabalho foi utilizado o GSAS.

3 EXPERIMENTAL

Neste tópico, será apresentado de forma detalhada a síntese do cristal de L – isoleucina hidrocloreídrica monohidratada (L-Ile.HCl.H₂O), a caracterização do material sintetizado utilizando as técnicas de Difração de Raios-X (DRX) em função da temperatura e do tempo, Análise Térmica Diferencial (DTA), Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia Raman em função da temperatura e Fluorescência de Raios-X (XRF) e o tratamento térmico do cristal. A síntese e as caracterizações da amostra foram realizadas na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais e Biocombustíveis, UFMA Imperatriz-Ma. A análise de XRF foi realizada na PANalitical Brasil, São Paulo-SP.

3.1 SÍNTESE DE L-Ile.HCl.H₂O

Os cristais de L-Ile.HCl.H₂O foram sintetizados utilizando a técnica de evaporação lenta do solvente. Inicialmente, misturou-se 8 mL de ácido clorídrico (SIGMA-ALDRICH 37%) e 12 mL de água deionizada em um béquer de 50 mL. Posteriormente, foram adicionados à solução ácida, 10 g de L-Isoleucina (SIGMA-ALDRICH, > 98,5 %) aos poucos, sob agitação (200 rpm) constante utilizando um agitador magnético C-MAG HS 4 à temperatura de 50 °C até total dissolução do aminoácido. A solução foi resfriada lentamente (5 °C a cada 10 min) até 25 °C, ainda sob agitação, mantendo a homogeneidade. Em seguida, a solução resultante foi filtrada em papel de filtro qualitativo ISOFAR, armazenada em um béquer de 50 mL e coberto por um filme plástico onde foram feitos 15 orifícios com diâmetro aproximado de 1 mm. A solução foi mantida em repouso em uma sala de crescimento de cristais a uma temperatura de 25 °C (Figura 21).



Figura 21 - Sala de crescimento de cristais mantida a 25°C.

3.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

O cristal de L-Ile.HCl.H₂O foi triturado utilizando almofariz e pistilo de ágata previamente lavado com solução alcoólica 30%. Em seguida, a amostra foi peneirada em uma peneira com malha de 20 microns para obtenção do pó. As análises de DRX do pó foram realizadas em um difratômetro EMPYREAN da PANalytical (Figura 22) utilizando a geometria de Bragg-Brentano, um monocromador de grafite pirolítico, radiação Cu K_α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando com uma tensão de 40 kV e corrente de 30 mA, um passo angular de 0,02°, tempo de aquisição de 2s/passos e uma faixa angular de 5 à 50° (2 θ). Foi realizado ainda, análise de DRX do material sem peneirar, ou seja, apenas triturado (pois transformações de fase podem ocorrer durante o preparo da amostra) e também do pó de L-isoleucina comercial (SIGMA-ALDRICH, > 98,5 %).

As análises de DRX em função da temperatura foram realizadas numa câmara de temperatura Anton-Paar TTK 450 acoplado ao difratômetro (EMPYREAN). O suporte da amostra da câmara é de cobre cromado e possui dimensões de 14 mm x 10 mm. Foi utilizado um passo angular de 0,02° e tempo de aquisição de 2s/passos, numa faixa de temperatura entre 25 e 170 °C, faixa angular 5 à 45° (2 θ). As análises foram realizadas a cada 10 °C e a taxa de aquecimento entre as medidas foi de 1 °C/min. Para as análises de DRX em função do tempo, a amostra foi aquecida de 25 °C a 140 °C, numa rampa de aquecimento de 5 °C/min e monitorada por 33 h.



Figura 22 - Difratômetro de raios-X da PANalytical

3.3 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X POR ENERGIA DISPERSIVA

As análises de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (ED-FRX) foram realizadas em um espectrômetro Epsilon 1 da PANalitical (Figura 23) utilizando a técnica de pó solto. No porta- amostra foi acoplado um filme plástico transparente (Myler) e adicionado o pó do cristal até uma altura média de 1 cm. As análises foram realizadas utilizando o módulo standardless Omnian. As condições do espectrômetro estão resumidas na Tabela 4:

Condição	Tensão (Kv)	Filtro	Detector	Tempo de Medição (s)
Omnian	50	Ag	Normal	120
Omnian 1	50	Cu - 500	Normal	300
Omnian 2	12	Al - 50	High Resolution	180
Omnian 3	10		High Resolution	600

Tabela 4- Parâmetros analíticos do espectrômetro utilizado na análise de ED-FRX



Figura 23 - Espectrômetro Epsilon 1 da PANalitical

3.4 ANÁLISES TÉRMICAS

As curvas DSC foram obtidas em um equipamento DSC 60 da SHIMADZU (Figura 24.a) calibrado com padrão de índio puro (99,99%). Foi utilizado uma massa de amostra de 2,8 mg, taxa de aquecimento de 5 °C/min, atmosfera de nitrogênio, fluxo de gás de 100 mL/min, uma faixa de temperatura de 25 a 180 °C.

As curvas TG-DTA de L-Ile.HCl.H₂O e de L-isoleucina comercial, foram obtidas em um analisador termogravimétrico SHIMADZU DTG 60 (Figura 24.b) utilizando um cadinho de alumina. A massa da amostra utilizada foi de 3,2 mg, uma taxa de aquecimento de 5

°C/min, atmosfera de nitrogênio, fluxo de gás 100 mL/min, uma faixa de temperatura de 25 à 400 °C.

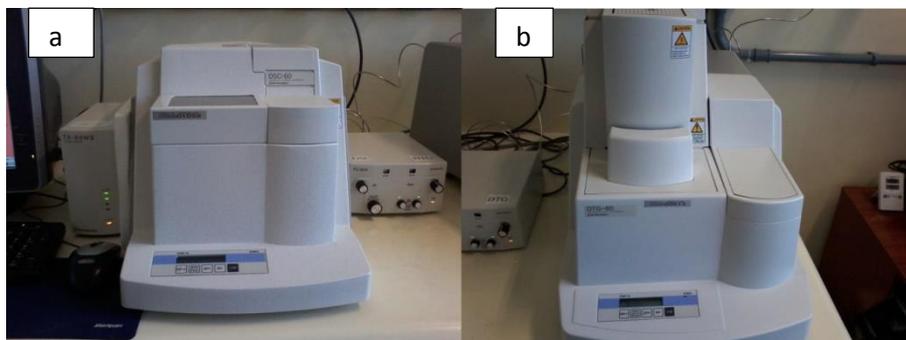


Figura 24- a) DSC 60 da SHIMADZU; b) SHIMADZU DTG 60

3.5 TRATAMENTO TÉRMICO DE L-Ile.HCl.H₂O

A fim de se determinar o comportamento do material em altas temperaturas, uma amostra de 85 mg do pó de L-Ile.HCl.H₂O foi selada em um tubo de vidro de aproximadamente 10 cm com atmosfera inerte (Ar), armazenado em forno tipo mufla EDG modelo FC-2 (Figura 25) por 24h a 150 °C. O material obtido após o aquecimento foi analisado por difração de Raios-X, TG/DTA e DSC utilizando os equipamentos e condições operacionais citados anteriormente, para que sejam feitas comparações com o material de origem.



Figura 25 – Forno tipo Mufla utilizada no tratamento térmico de L-Ile.HCl.H₂O

3.6 ESPECTROSCOPIA RAMAN EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA

Os espectros Raman em função da temperatura foram obtidos utilizando um espectrômetro triplo Trivista 557 da Princeton Instruments (Figura 26) operando na configuração subtrativa, equipado com detector CCD. Foi utilizado um laser de íons hélio-neônio operando na linha de 632,8 nm como fonte de excitação. Pó do cristal foi colocado num tubo de vidro e posicionado em um forno, cujo termopar é acoplado a um controlador de temperatura Lake Shore 335. As análises foram realizadas em temperaturas entre 30 e 170 °C, a cada 10 °C, em toda região espectral de baixa (20 a 120 cm^{-1}) e alta (2700 a 3500 cm^{-1}) frequência. A amostra foi resfriada a temperatura ambiente e realizado uma nova varredura.

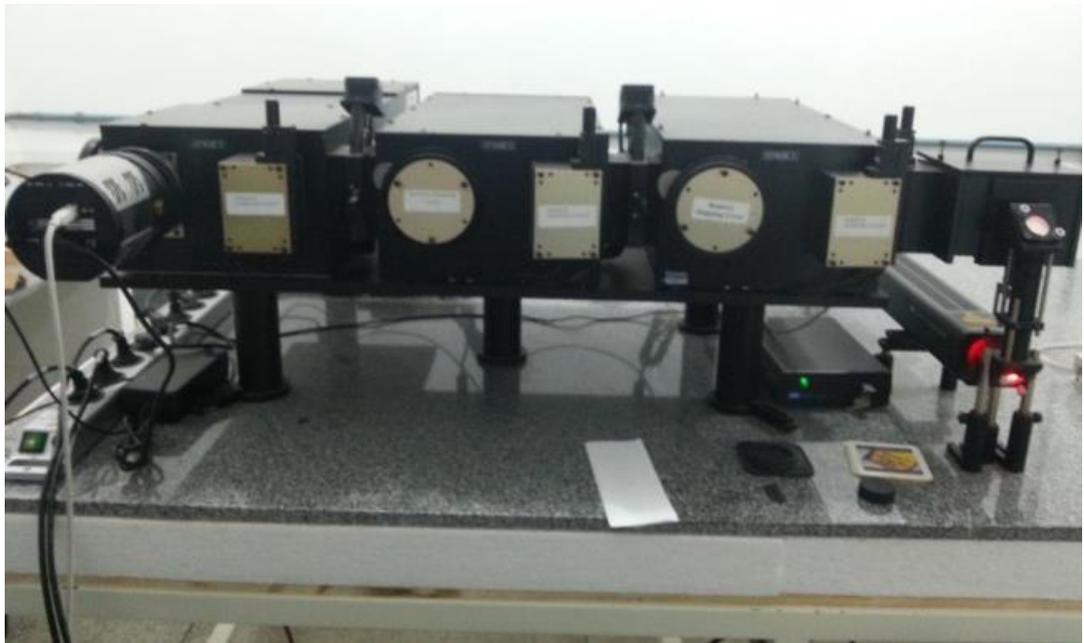


Figura 26 - Espectrômetro triplo Trivista 557 da *Princeton Instruments*

A dissolução da L-isoleucina em água é levemente endotérmica, logo a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura [57], por isso a solução foi preparada em uma temperatura elevada (50 °C). Durante a dissolução (que ocorreu por um período de 2h), o *Becker* foi coberto por um filme plástico para evitar a evaporação do ácido ou água. Após a dissolução, a solução teve sua temperatura reduzida lentamente, 5 °C à cada 10 min (até 25 °C, temperatura da sala de crescimento) de tal forma que não houvesse precipitação de material, tal procedimento é justificado pelo fato de que, com o abaixamento da temperatura, a solução passa da zona insaturada para a saturada (ou próximo à curva de saturação, Figura 27) e assim, se obtenha um cristal em um período de tempo menor. A filtração foi realizada com o intuito de se obter uma solução mais homogênea e livre de impurezas, e com isso, obter um cristal de melhor qualidade. Após a filtração, o *Becker* da solução foi coberto por um filme plástico perfurado (Figura 28), com isso, a pressão de vapor sobre a superfície da solução se torna maior quando comparado com o recipiente sem cobertura. Com a pressão de vapor maior, a evaporação da água se torna mais lenta e os cristais crescem sem defeitos.

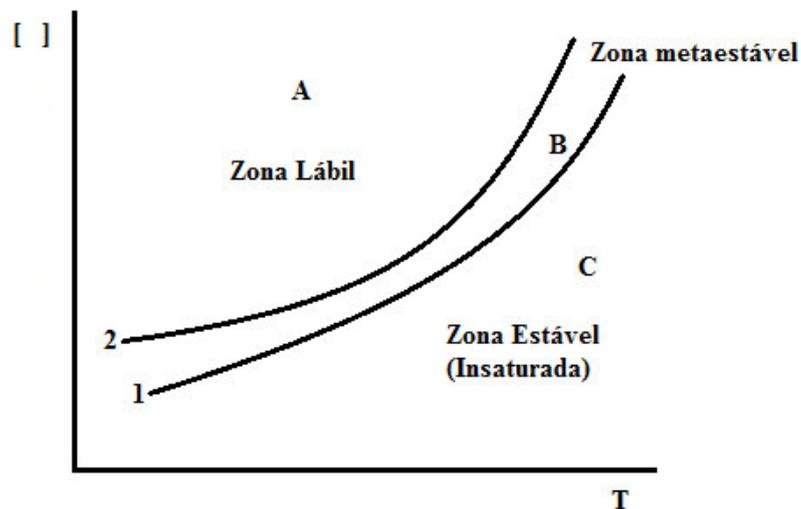


Figura 27- Esquema de uma curva de saturação da concentração [] versus temperatura (T). A linha 1 é denominada “curva de saturação”; a linha 2 é a curva de supersaturação; a região “A” é denominada Zona Lábil, onde ocorre a formação espontânea do cristal; a região “B” é denominada zona metaestável, onde a taxa de nucleação é baixa e por isso não há crescimento de cristais; região C é a região da solução monofásica (estável).



Figura 28 - Becker para síntese do cristal por evaporação lenta do solvente.

Vários monocristais (tamanho médio 28 x 5 x 6 mm) de Ile.HCl.H₂O (Figura 29) com formato de bastão foram sintetizados após um período de sete dias. Esse é um tempo relativamente curto para síntese de cristais de aminoácidos quando se utiliza a técnica de evaporação lenta, como pode ser verificado quando se compara com dados da literatura [2,7,58]. A confirmação do cristal sintetizado pode ser verificada com os resultados de DRX apresentados e discutidos no tópico 4.2.1.



Figura 29- Cristal de L-Ile.HCl.H₂O

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO CRISTAL DE L-Ile.HCl.H₂O

4.2.1 Difração de Raios-X a temperatura ambiente

A simples dissolução de um aminoácido em solução ácida, não garante que a reação com formação de sal seja efetivada. No caso da dissolução de L-Isoleucina em ácido hidrocloreídrico, algumas possibilidades de reação podem ocorrer:

- I) $\text{L-Ile} + \text{HCl} \rightarrow \text{L-Ile.HCl.nH}_2\text{O}$
- II) $\text{L-Ile} + \text{HCl} \rightarrow \text{L-Ile.HCl}$
- III) $\text{L-Ile} + \text{HCl} \rightarrow \text{L-Ile} \dots \text{L-Ile.HCl}$
- IV) $\text{L-Ile} + \text{HCl} \rightarrow \text{L-Ile} \dots \text{L-Ile.HCl.nH}_2\text{O}$

Existe ainda, a possibilidade de não ocorrer reação ou de formar uma mistura de cristais diferentes (mais de uma fase). Além disso, durante a cristalização pode ocorrer a formação de polimorfos ao invés do cristal desejado. Assim, vários fatores podem influenciar na obtenção do produto final, tais como: pH, solvente, estequiometria da reação, temperatura, taxa de evaporação entre outros [59]. Fleck [60] criticou duramente alguns artigos em que os pesquisadores cometeram erros graves. Nesses artigos, os autores informam que sintetizaram e caracterizaram sais de aminoácidos, quando na realidade, cristalizaram o aminoácido precursor, ou seja, não houve reação alguma.

No presente trabalho, para que seja confirmado que o cristal sintetizado foi L-Ile.HCl.H₂O dentre as possibilidades possíveis, foi realizado DRX do pó do material a 25 °C e refinado pelo método de Rietveld, já que na base de dados cristalográficos – CCDC (Cambridge Crystallographic Data Center) – possui o CIF do cristal.

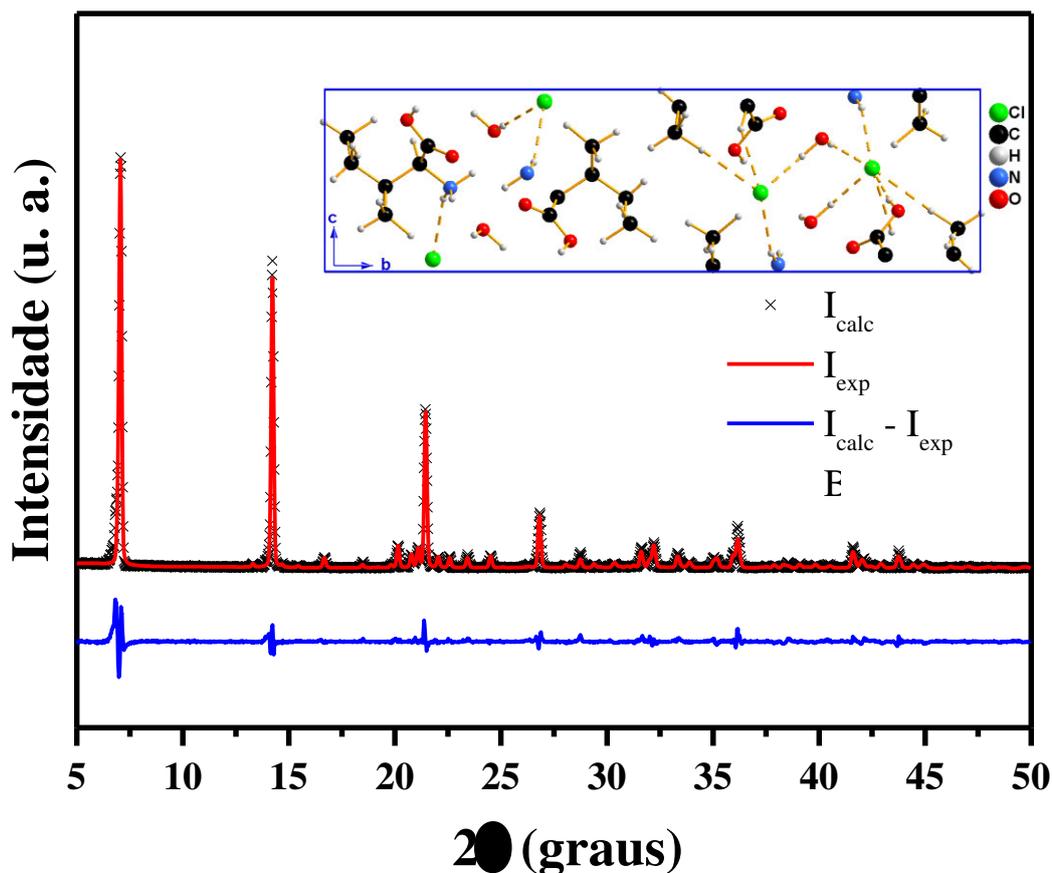


Figura 30 - Padrão de difração de raios-x a temperatura ambiente de L-Ile.HCl.H₂O refinada pelo método de Rietveld – sistema ortorrômbico.

A Figura 30 apresenta o refinamento Rietveld de L-Ile.HCl.H₂O e a célula unitária vista ao longo do plano (100). Verificou-se que os indicadores de qualidade do refinamento foram $R_{wp} = 17\%$ e $R_p = 15\%$ e, portanto dentro dos padrões de confiabilidade. Os parâmetros de rede obtidos com o refinamento estão de acordo com aqueles reportados na literatura, como pode ser observado na Tabela 5.

Parâmetros de Rede	Presente nesse Trabalho	Reportados na Literatura [27]
a (Å)	5.873(3)	5.87(1)
b (Å)	24.814(4)	24.77(2)
c (Å)	6.873(5)	6.85(1)
Sistema	Ortorrômbico	Ortorrômbico
Grupo Espacial	P ₂₁₂₁₂₁	P ₂₁₂₁₂₁

Tabela 5 - Parâmetros de rede de L-Ile.HCl.H₂O obtidos nesse trabalho e aquele reportado na literatura.

Por meio desses resultados, pode-se ter a certeza de que o material sintetizado, dentre as possibilidades, foi L-isoleucina hidrocloreídrica mono-hidratada (L-Ile.HCl.H₂O). Após ter sido confirmado que o cristal sintetizado é aquele se pretendia obter, foram realizados estudos térmicos visando buscar possíveis transições de fase, já que esse estudo até o presente momento não foi relatado na literatura.

4.2.2 Análise Térmica de L-Ile.HCl.H₂O

Foram utilizados 3,2 mg de amostra para as análises de TG/DTA e uma taxa de aquecimento de 5 °C/min. Como se trata de um material orgânico, e por isso possuem baixa temperatura de decomposição, quando comparado aos inorgânicos, foi utilizado um fluxo de gás de 100 mL/min. A Figura 31 mostra os resultados das análises de TG/DTA do pó do material.

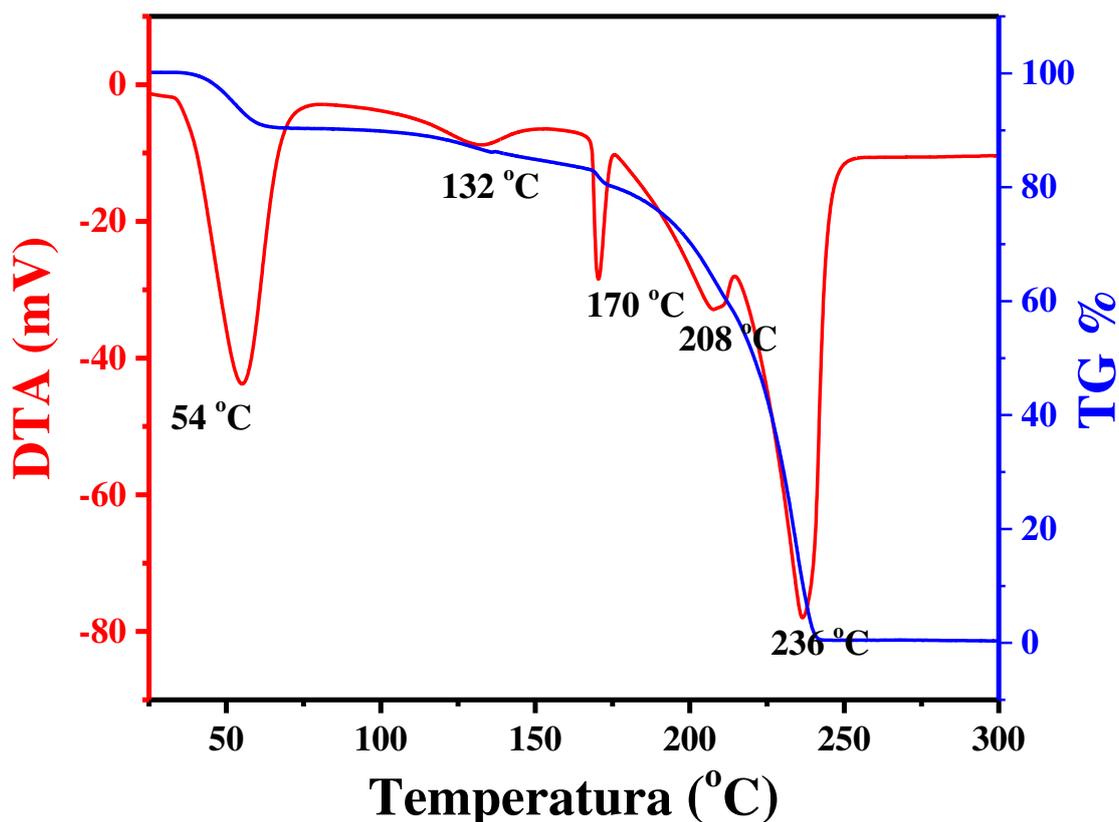


Figura 31 - Curvas TG/DTA de L-Ile.HCl.H₂O

É possível identificar na curva TG, que entre 30 e 76 °C ocorre uma perda de massa de 9,85% e na curva DTA, ocorre um evento endotérmico nessa mesma faixa de temperatura,

com pico em 54 °C aproximadamente. Esse evento está relacionado à perda de água de solvatação, característico de material higroscópico.

Um pico largo em 132 °C observado na curva DTA, acompanhado da redução gradual de massa, está relacionado a perda da água de cristalização. Outros eventos em 170 e 208 °C, podem estar relacionados com a decomposição e/ou transições de fase do material anidro. É importante frisar, analisando a curva TG, que o material perde 100% de sua massa de forma ininterrupta no intervalo entre 25 e 236 °C, sendo que entre 170 e 236 °C o cristal perde 82% da massa inicial.

Para a análise de DSC, foram utilizados 2,8 mg do pó de L-Ile.HCl.H₂O numa faixa de temperatura entre 25 e 170 °C e nas mesmas condições das análises TG/DTA. A curva DSC (Figura 32), mostra eventos endotérmicos em 48, 133 e 174 °C , que correspondem àqueles observados em 54, 132 e 170 °C na curva DTA.

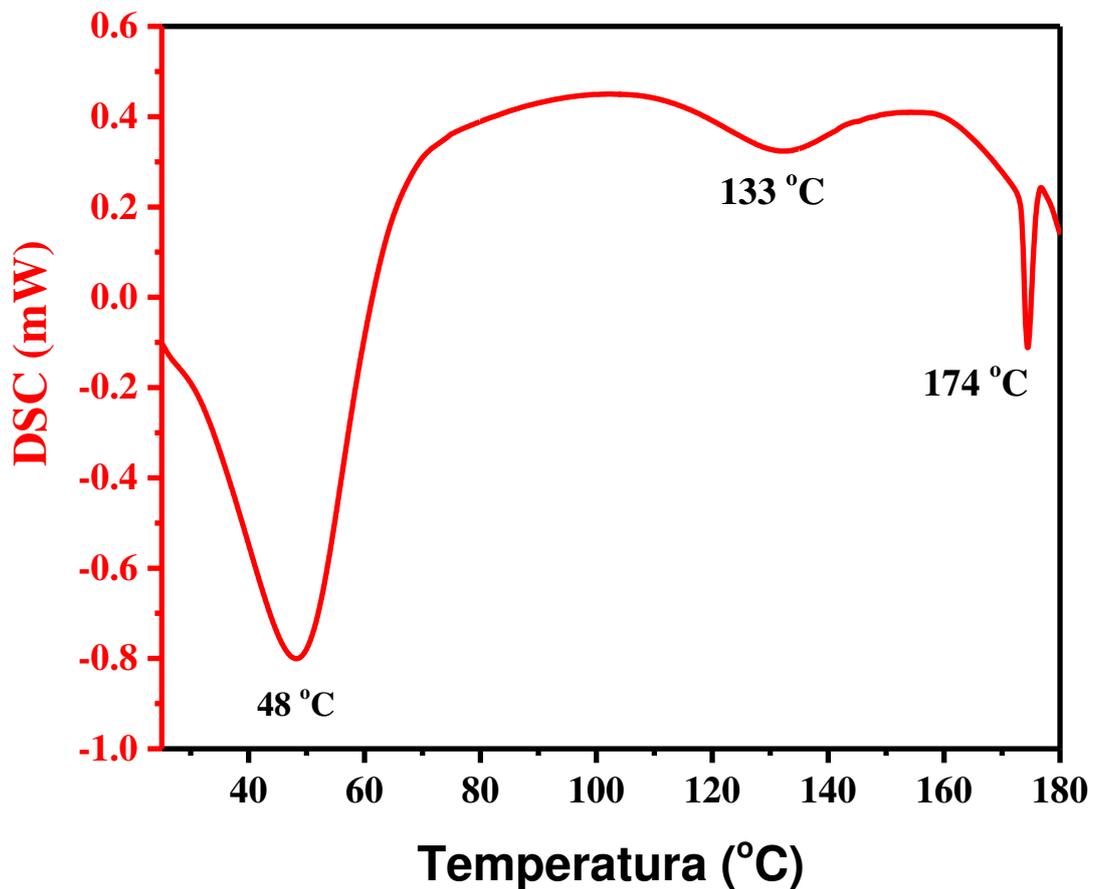


Figura 32 - Curva DSC de L-Ile.HCl.H₂O

Esses resultados observados por meio da análise térmica sugerem possíveis transições de fase em torno das temperaturas em que ocorrem os eventos endotérmicos nas curvas DTA

e DSC. Para que essa hipótese seja confirmada, foi realizada análise de DRX em função do aumento de temperatura, que será discutido no item 4.2.3.

4.2.3 Difração de Raios-X em função da temperatura

De posse dos resultados da análise térmica, foi realizado DRX no intervalo de temperatura compreendido entre 25 e 170 °C. As medidas foram feitas nessa faixa de temperatura porque a partir de 170 °C, mais de 80% da amostra sofre decomposição. As análises foram realizadas a cada 10 °C e a taxa de aquecimento utilizada entre cada medida foi de 1°C/min, para uma maior garantia no equilíbrio térmico da amostra. O tempo total para realização de todas as medidas foi de 15 h, aproximadamente. Após o resfriamento do equipamento, que durou 2h, foi realizada a análise chamada de retorno.

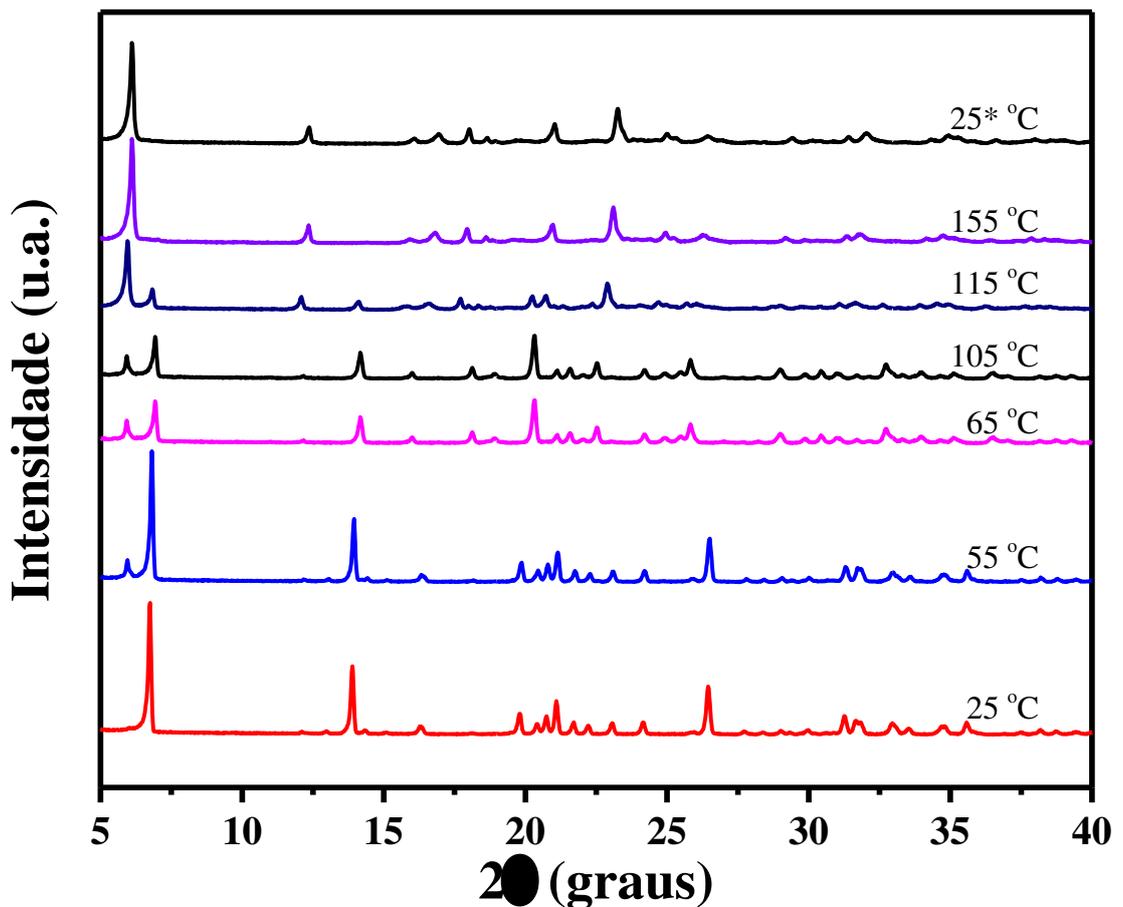


Figura 33 Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O entre 25 e 155 °C. 25* é a análise de retorno. Pode-se observar que a transformação de fase é irreversível.

A Figura 33 mostra os padrões de difração em função da temperatura (25 a 155 °C) onde são mostradas aquelas cujo intervalo de temperatura caracterizam transição de fase, que é identificada por rearranjos nas posições e intensidades dos picos.

Analisando os padrões de difração, observou-se que as alterações iniciam em 55 °C, com o surgimento do pico em 6,20° (2 θ) o que indica que o material é estável apenas em temperaturas menores que esta. Entre 55 e 65 °C pode-se perceber um aumento na intensidade do pico em 6,20° e redução do pico 7,15° em (2 θ); deslocamento do 14,15° para direita; surgimento do pico 20,52°, entre outras alterações. Com isso, pode-se afirmar que o material sofre transformação de fase nessa faixa de temperatura, como sugere as análises de DTA (Figura 31) e DSC (Figura 32). Essa transição está relacionada à perda de água de solvatação.

Na faixa compreendida entre 65 e 105 °C não há alteração no padrão de difração; entre 105 e 115 °C ocorreram outras alterações, principalmente entre 20 e 30° (2 θ). Essa segunda alteração está relacionado à perda de água de cristalização do material, como previsto na análise térmica em aproximadamente 132 °C. Essa diferença na temperatura da perda de água de cristalização entre análise térmica e DRX, está relacionado a diferença no tempo de análise de cada técnica, já que a água de cristalização está sendo liberada gradualmente. A partir de 155 °C foi possível observar que os padrões de difração não sofrem grandes alterações.

Além disso, observou-se que durante todo o processo de aquecimento, ocorre redução do pico 7,157 e aumento do 6,203° (2 θ). Provavelmente isso ocorreu devido à formação de ligações entre moléculas de L-Isoleucina, pois esse último corresponde ao pico característico do cristal desse aminoácido [30]. Comparando-se o difratograma obtido da análise em 155 °C e o difratograma da medida do retorno (25* °C), observou-se que não houve diferença considerável entre eles, apenas um pequeno deslocamento para direita, que está relacionado à expansão do material em altas temperaturas.

Esses resultados sugerem que as transições de fase parecem depender não somente do aumento de temperatura, mas também do tempo em que a amostra é submetida ao aquecimento, já que a transição ocorreu gradualmente em uma faixa de temperatura (entre 55 e 155 °C). Para verificar a influência do tempo na transição de fase do cristal de L-Ile.HCl.H₂O, foi realizado um estudo de DRX em função do tempo.

4.2.4 Difração de Raios-X em função do tempo

A difração de Raios-X em função do tempo foi realizada no mesmo equipamento em que foram feitas as análises de DRX em função da temperatura e nas mesmas condições, para que possam ser comparadas posteriormente. Primeiramente, foi feita uma medida a temperatura ambiente (25 °C) e logo em seguida, a temperatura foi aumentada de 25 °C para 140 °C numa taxa de aquecimento de 5 °C/min, mesma taxa utilizada nas análises térmicas. Logo em seguida, foi realizada a primeira análise a 140 °C (medida em tempo zero). Desse ponto em diante, as medidas foram realizadas a cada hora, por um período de 32h. Após a última análise, o equipamento foi desligado e 15 h depois, foi realizada a medida de retorno. Foram feitas 35 medidas no total, mas só serão expostas aquelas que melhor evidenciam as transformações de fase.

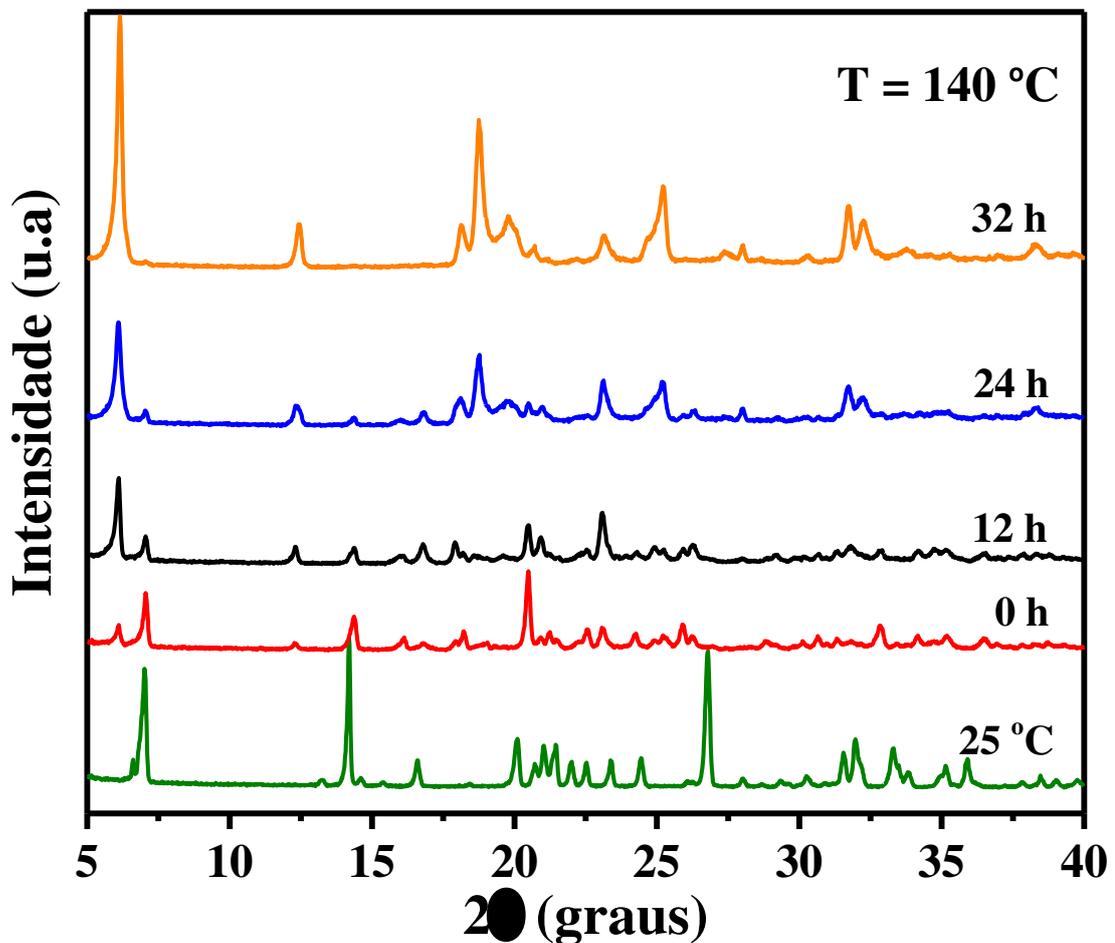


Figura 34 - Padrão de difração de Raios-X de L-Ile.HCl.H₂O medidos a 25°C e a 140 °C nos tempos 0, 12, 24, 32 e 33 h.

A Figura 34 mostra as alterações entre os difratogramas obtidos à temperatura ambiente (25°C) e em diferentes tempos de aquecimento (0, 12, 24 e 32h). No tempo zero, como esperado, o material já sofreu algumas transformações no padrão de difração, devido à perda de água de solvatação, no entanto a nova fase ainda não havia sido estabilizada, como pode ser verificado na Figura 35, que compara a medida em 140 °C no tempo 0h com aquela obtida a 155 °C na medida de DRX em função da temperatura. Na realidade o espectro no tempo 0h é equivalente àquele em 65 °C, com pequenas diferenças.

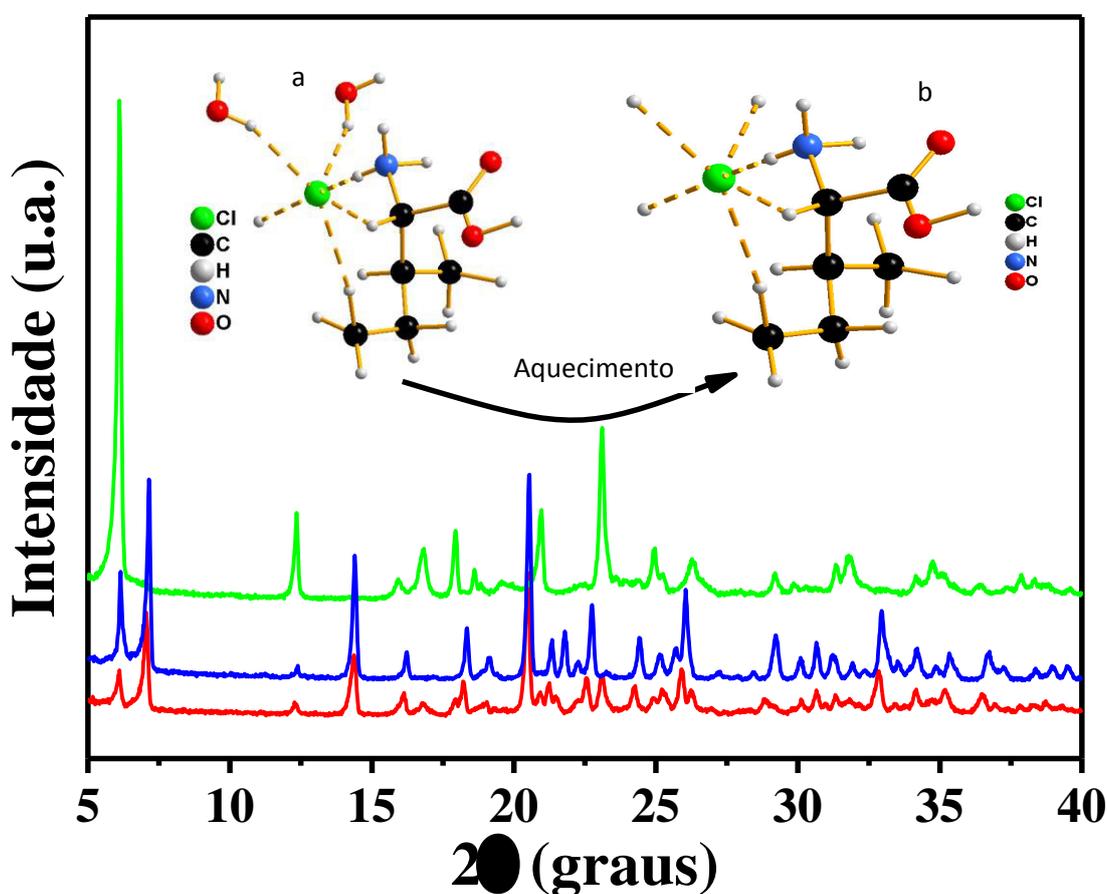


Figura 35 - Difratogramas de L-Ile.HCl.H₂O obtidos em diferentes condições. azul) em função da temperatura, 65 °C; verde) em função da temperatura a 155°C; vermelho) em função do tempo, 0h. As estruturas químicas no interior do difratograma simbolizam a transformação de fase ocorrida, (a) L-Ile.HCl.H₂O e (b) L-Ile.HCl.

No espectro em 12 h, comparado ao de 0 h, é possível observar uma alteração na intensidade dos picos em 6,20 ° e 7,15 ° (2θ), assim como foi observado nas análises de DRX em função da temperatura. Outras alterações nos padrões de difração também podem ser identificadas, principalmente entre 10 e 35 ° (2θ). O espectro de difração em 12h foi compatível com aquele obtido a 115 °C na análise de DRX em função da temperatura (Figura 36). Esta alteração está relacionada à perda de água de cristalização, percebida próximo a 132

°C na análise térmica e 115 °C no DRX em função da temperatura. O conjunto desses resultados leva à conclusão de que a perda de água de solvatação ocorre de forma rápida e a perda de água de cristalização ocorre de forma gradual.

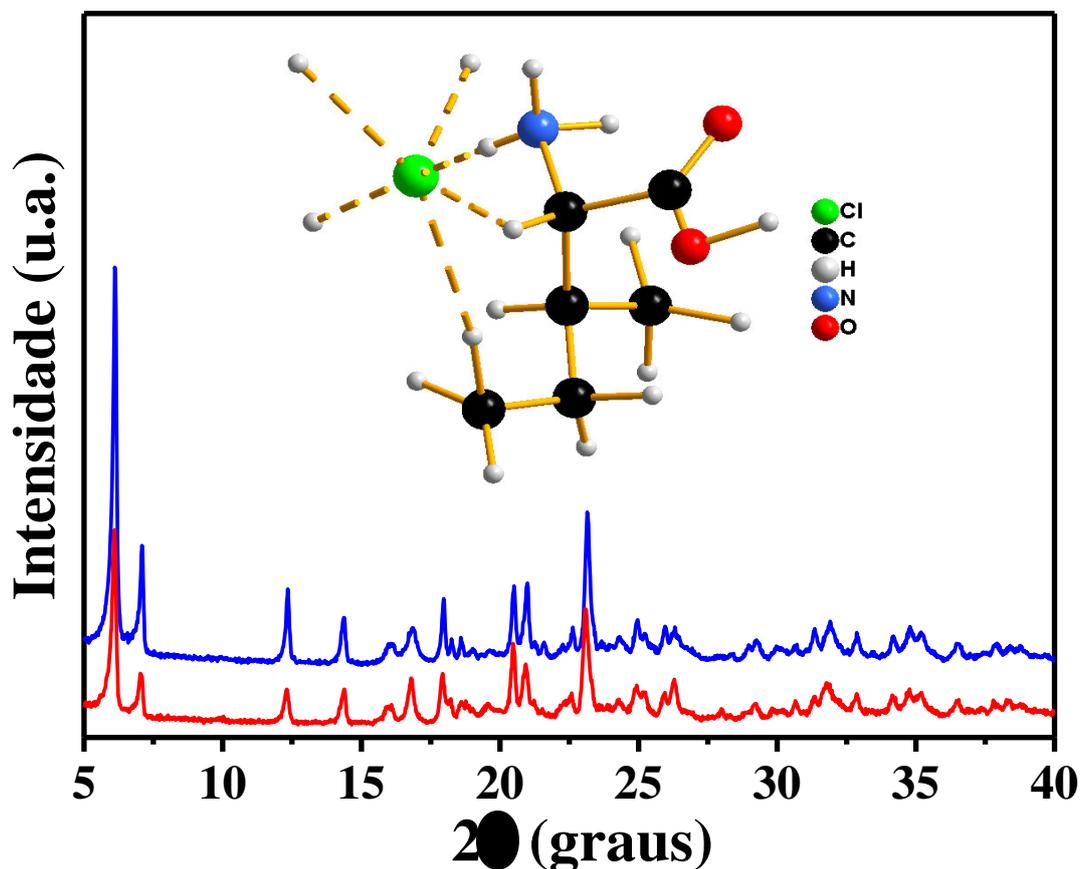


Figura 36 - Difratogramas de L-Ile.HCl.H₂O medidos em (vermelho) 140 °C por 12 h e (azul) a 150 °C na análise em função da temperatura. A molécula no interior da figura representa L-Ile.HCl.

A partir de 24 h, sob aquecimento a 140 °C, não foram observadas alterações nas posições dos picos, mas somente aumento na intensidade de alguns e o desaparecimento de outros, indicando que a nova fase está próxima da estabilização. Percebeu-se também a redução na cristalinidade do material, devido ao alargamento dos picos.

Comparando-se os espectros de DRX em 32h a 140 °C com aquele obtido em 155 °C (Figura 37), percebeu-se em 155°C a coexistência de uma mistura de fases, indicada pela presença de picos extras em 15,914 e 16,812°, por exemplo. Assim, a transformação de fase de L-Ile.HCl.H₂O depende tanto do aumento da temperatura quanto do tempo.

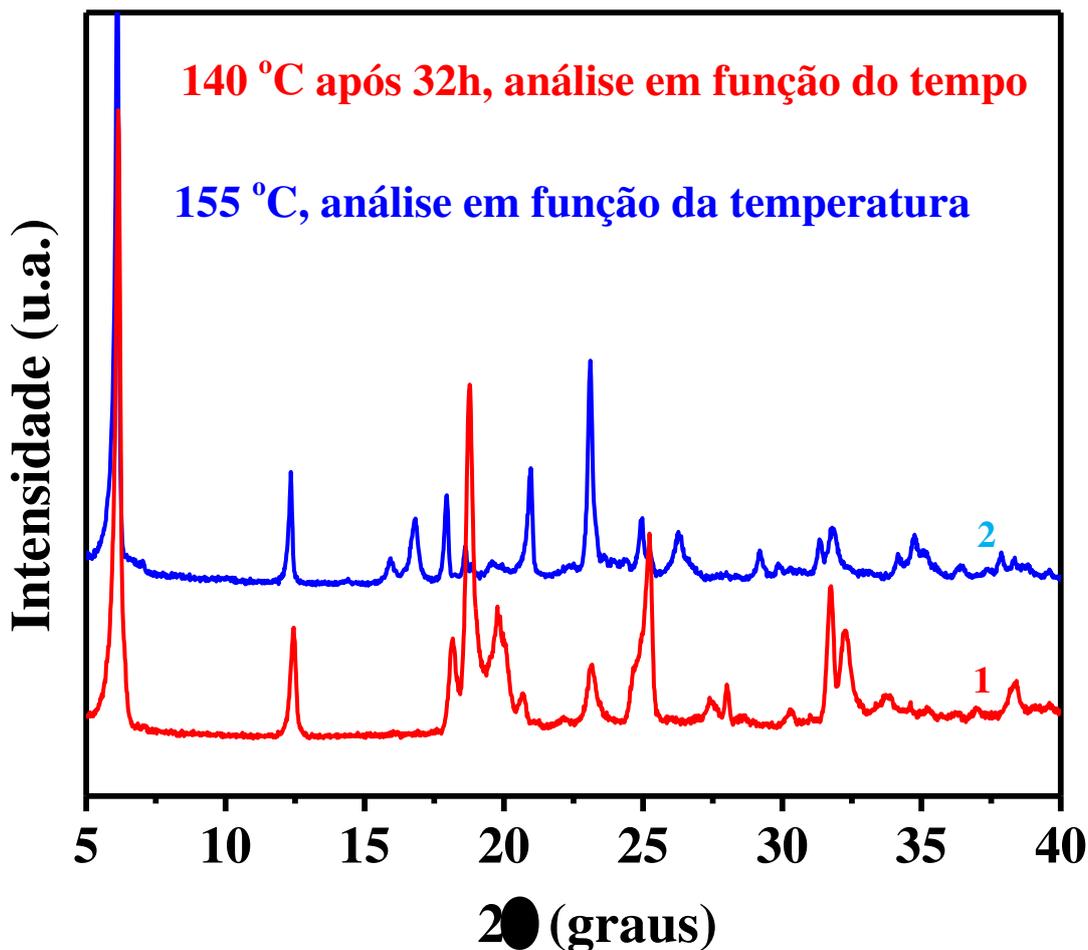


Figura 37 - Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O em função do tempo (1) e em função da temperatura (2).

A partir dos resultados obtidos neste estudo, foi possível sugerir algumas transformações de fase que possa ter ocorrido com material:

- I) Solvato de L-Ile.HCl.H₂O → L-Ile.HCl.H₂O
- II) L-Ile.HCl.H₂O → L-Ile.HCl
- III) L-Ile.HCl → L-Ile

Sendo que as fases intermediárias ainda não foram relatadas na literatura e nem inserida no banco de dados cristalográficos, portanto, não é possível fazer o refinamento de Rietveld destas fases. Para se confirmar tais sugestões, uma amostra do material obtido após a análise de DRX em função do tempo (possivelmente L-Ile) foi retirada do porta-amostra e foi submetida à análise térmica (TG e DTA) e os resultados foram comparados com L-Ile.HCl.H₂O e L-Isoleucina comercial Figura 38.

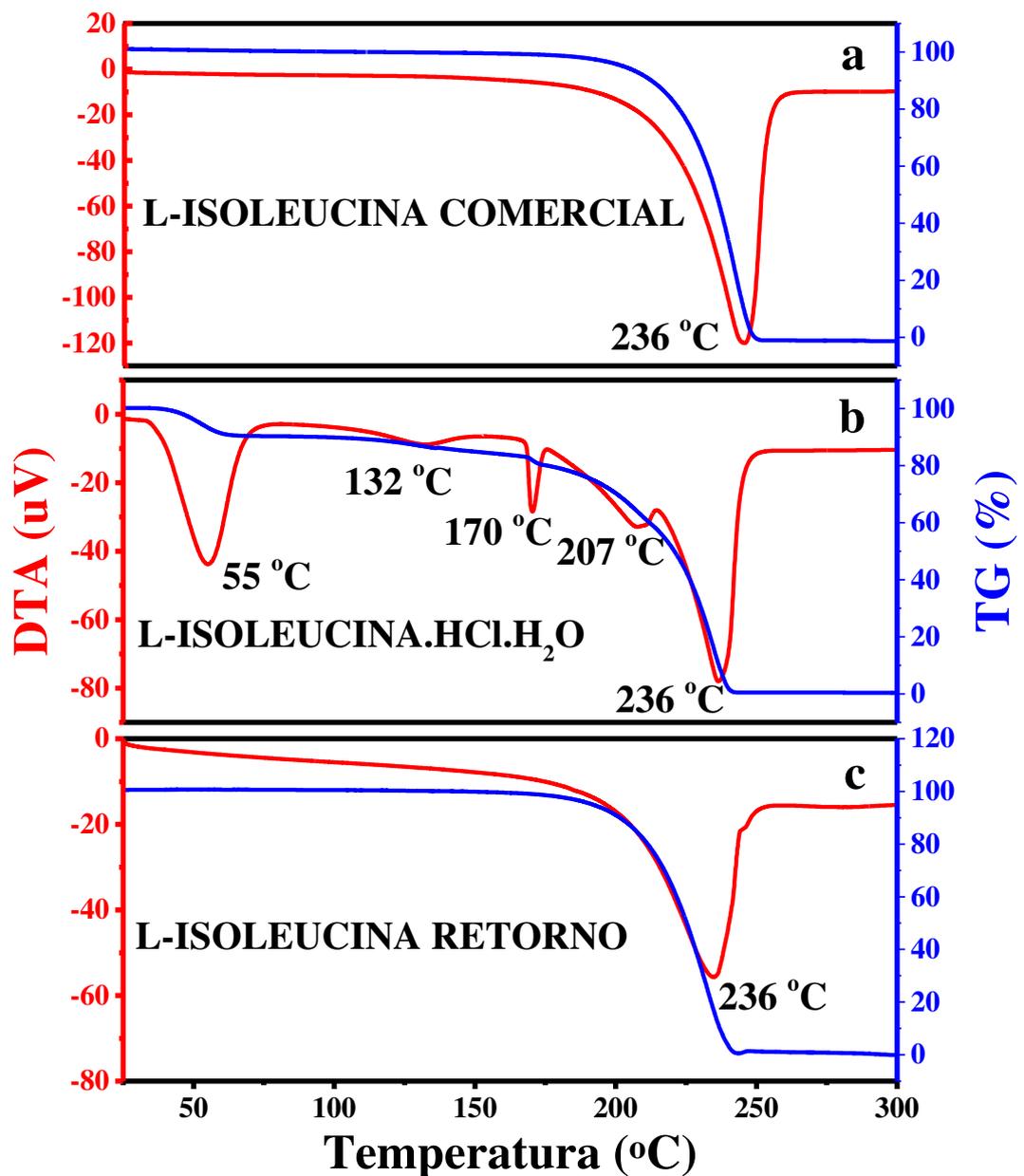


Figura 38 - Curvas TG/DTA de (a) L-Ile comercial; (b) L-Ile.HCl.H₂O ; (c) L-Ile retorno

Por meio da análise das curvas TG/DTA, percebeu-se que o comportamento da amostra após um período de 32h a 140 °C foi idêntico ao da L-Ile comercial, confirmando a hipótese de que o material obtido foi L-isoileucina pura. Portanto, o material perdeu água de hidratação, de cristalização e cloro. A Figura 39 mostra o refinamento de Rietveld para a amostra de retorno (L-Ile), com parâmetros de rede $a = 9.746(3) \text{ \AA}$, $b = 5.317(2) \text{ \AA}$, $c = 14.123(4) \text{ \AA}$ e $\beta = 95.73^\circ$. Outro indício que o material perde cloro, foi que após a análise de Raios-X em altas temperaturas, foram encontrados pontos verdes no porta-amostra.

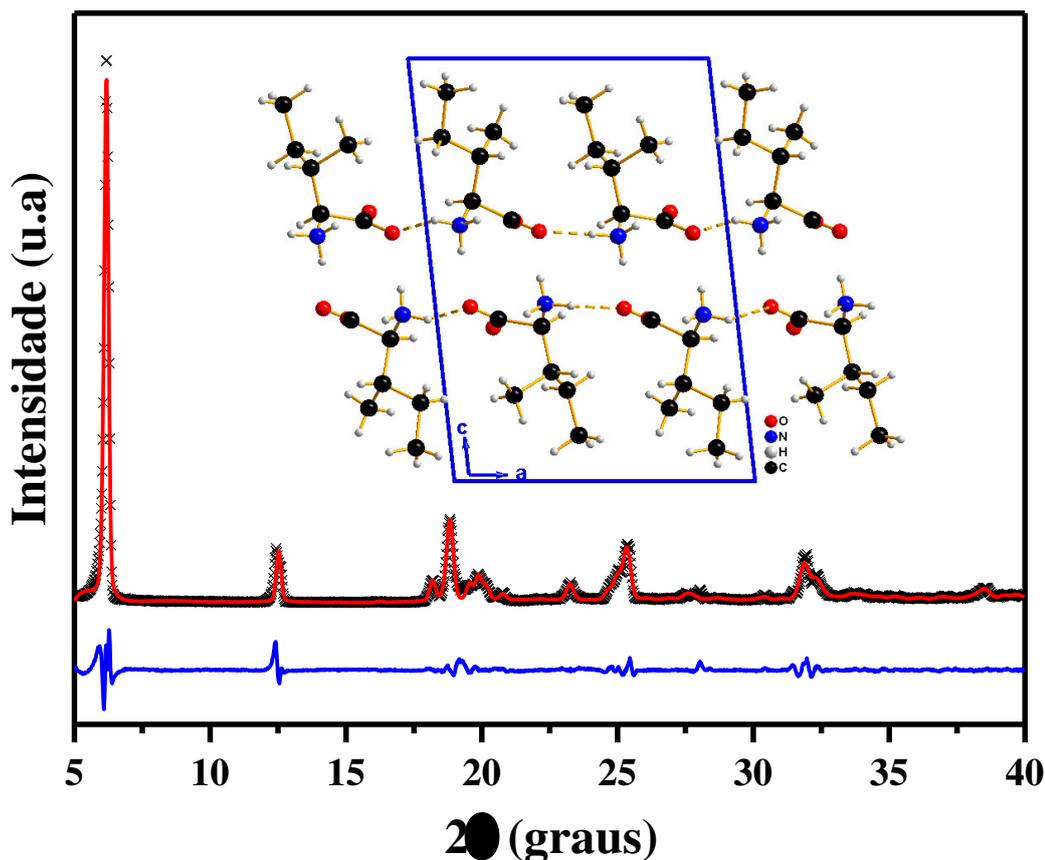


Figura 39 - Difratoograma de L-Ile obtido após 33 h a 140 °C e refinamento Rietveld e a célula unitária de L-Ile.

4.2.5 Espectroscopia Raman em função da temperatura

Como técnica complementar, foi realizado espectroscopia Raman de L-Ile.HCl.H₂O com o objetivo de reforçar as transformações de fase evidenciadas por meio da análise térmica e DRX. Os espectros Raman de uma substância, quando submetidos à elevação de temperatura, podem apresentar algumas alterações nas bandas características, indicando assim, que houve transição ou transformação de fase.

A Figura 40 mostra os espectros Raman de L-Ile.HCl.H₂O em diferentes temperaturas na região de número de onda compreendido entre 20 e 120 cm⁻¹. Essa região espectral está relacionada aos modos de rede, ou seja, vibrações das moléculas como um todo, envolvendo as ligações de hidrogênio. Entre 30 e 70 °C observa-se um deslocamento para esquerda das banda em 27 e 39, 44 e 73 cm⁻¹, além de variações nas intensidades relativas das bandas em 54 e 61 cm⁻¹.

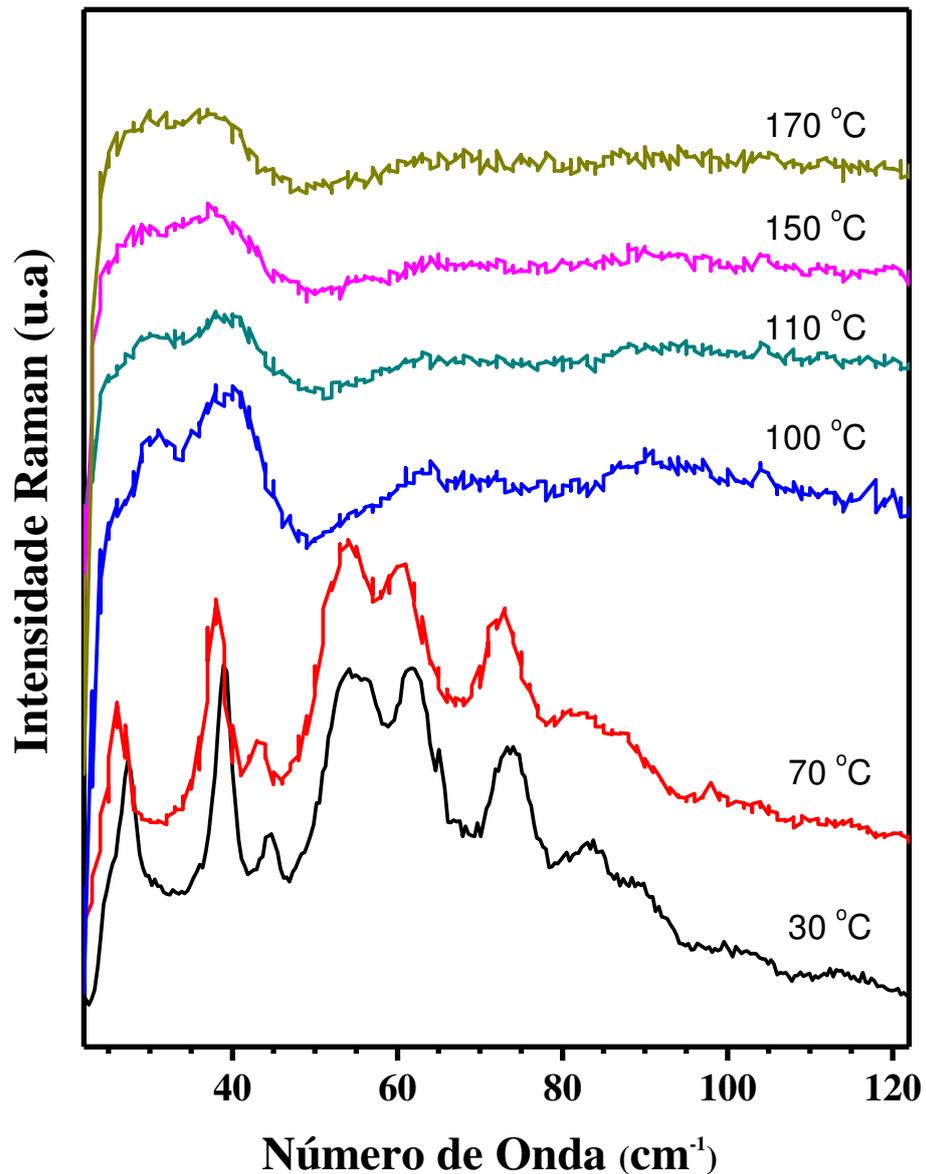


Figura 40 - Espectro Raman de L-Ile.HCl.H₂O em função da temperatura.

Essas mudanças nos modos de rede nessa faixa de temperatura estão relacionadas à perda de água de hidratação, como verificado por meio das análises de DRX em função da temperatura e análise térmica (TG/DTA). Como a água de solvatação é pouco ligada à rede, sua saída não deve afetar fortemente os modos normais de vibração do material. Outras modificações claras nos modos de rede ocorreram a 100 °C, através do desaparecimento das bandas desde 45 a 120 cm^{-1} e o alargamento das bandas abaixo de 40 cm^{-1} . Aqui está a clara influência da água de cristalização (mais fortemente ligada à rede do que a de solvatação) para a estabilidade do cristal.

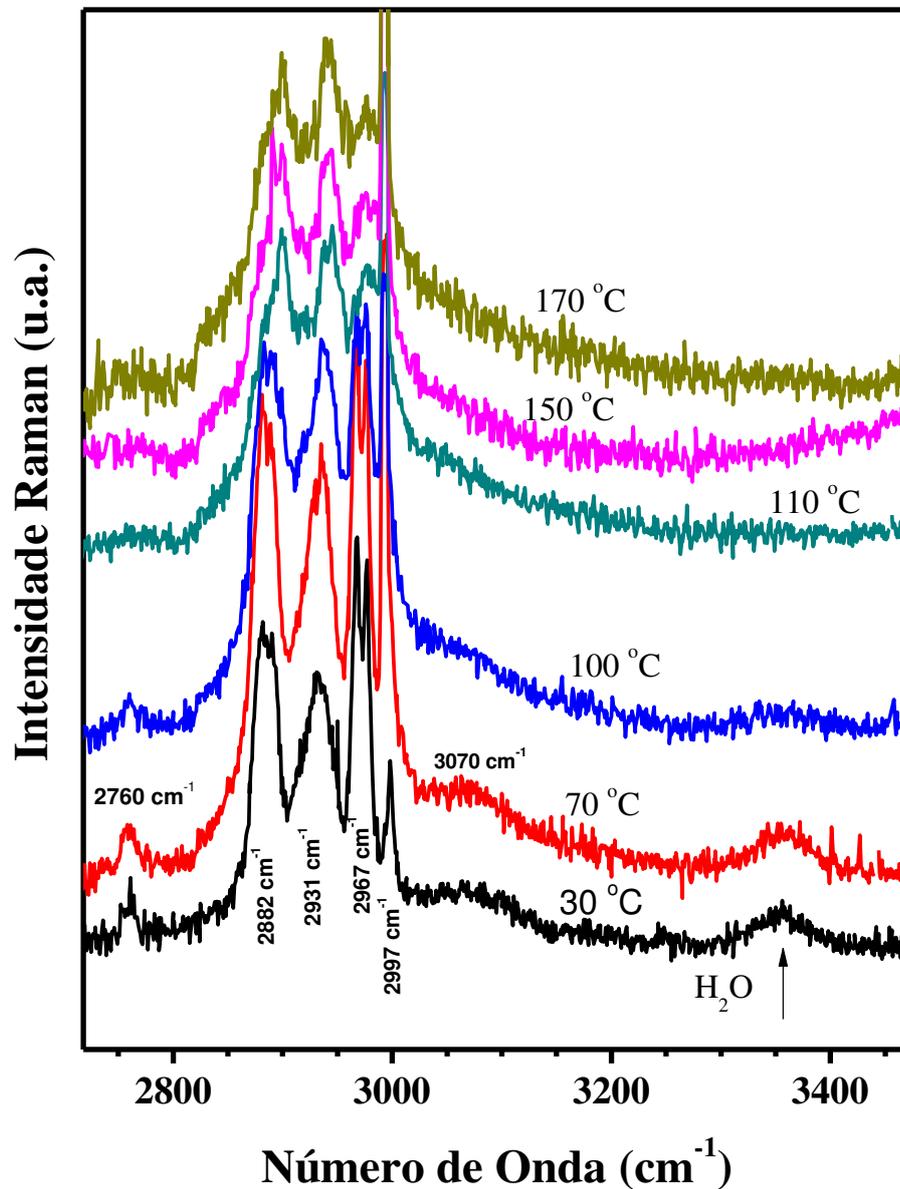


Figura 41 - Espectro Raman da região de 2700 a 3470 cm^{-1} na faixa de temperatura de 30 a 170 $^{\circ}\text{C}$.

A Figura 41 evidencia melhor a perda de água de cristalização, devido ao desaparecimento da banda característica da água em 3350 cm^{-1} , identificado com uma seta.

Outras evidências podem ser observadas nas bandas, em 3070 e 2760 cm^{-1} , que desaparecem em temperaturas acima de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. As bandas compreendidas entre 2800 e 3000 cm^{-1} (que estão relacionadas ao estiramento simétrico de CH_3 em 2882 cm^{-1} , estiramento simétrico de CH em 2931 cm^{-1} e estiramento assimétrico de CH_3 em 2967 e 2997 cm^{-1}) observou-se que no intervalo 30 a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ocorreu um deslocamento para esquerda; em $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ ocorreu um deslocamento para direita, além de uma redução na intensidade dessas bandas e, a partir de $110\text{ }^{\circ}\text{C}$, observa-se um deslocamento para esquerda quando a temperatura é

aumentada até 170 °C. A identificação das bandas do cristal de L-isoleucina a 17 °C foi realizada experimentalmente em 2016 por Almeida e colaboradores [36].

4.2.6 Tratamento térmico

Tratamento térmico é o termo utilizado quando a amostra é selada em um tubo de vidro sob atmosfera inerte (Ar) e submetido a um aquecimento a temperatura constante por um determinado período de tempo. Como descrito anteriormente, pó do cristal foi submetido a um tratamento térmico por 24 h a 170 °C.

Ao retirar o tubo do forno, observou-se que todo o material em estudo havia se transformado em vapor e, quando ele foi resfriado à temperatura ambiente (25 °C), formou-se uma névoa branca no interior do tubo, seguida de precipitação de sólido (ressublimação) nas paredes do tubo (Figura 42) .



Figura 42 - L-Ile.HCl.H₂O ressublimado.

A Figura 43 mostra a análise de DRX do pó do material ressublimado e evidencia que o sólido obtido corresponde ao cristal de L-Ile.HCl.H₂O. Assim, assume-se que o pó do cristal sublimou e ressublimou na mesma fase. Os picos largos da amostra ressublimada indicam que o material teve sua cristalinidade reduzida, isso está relacionado à rapidez do processo de ressublimação. Também foi possível observar, a partir da comparação dos padrões de difração, que os picos encontram-se nas mesmas posições (2θ).

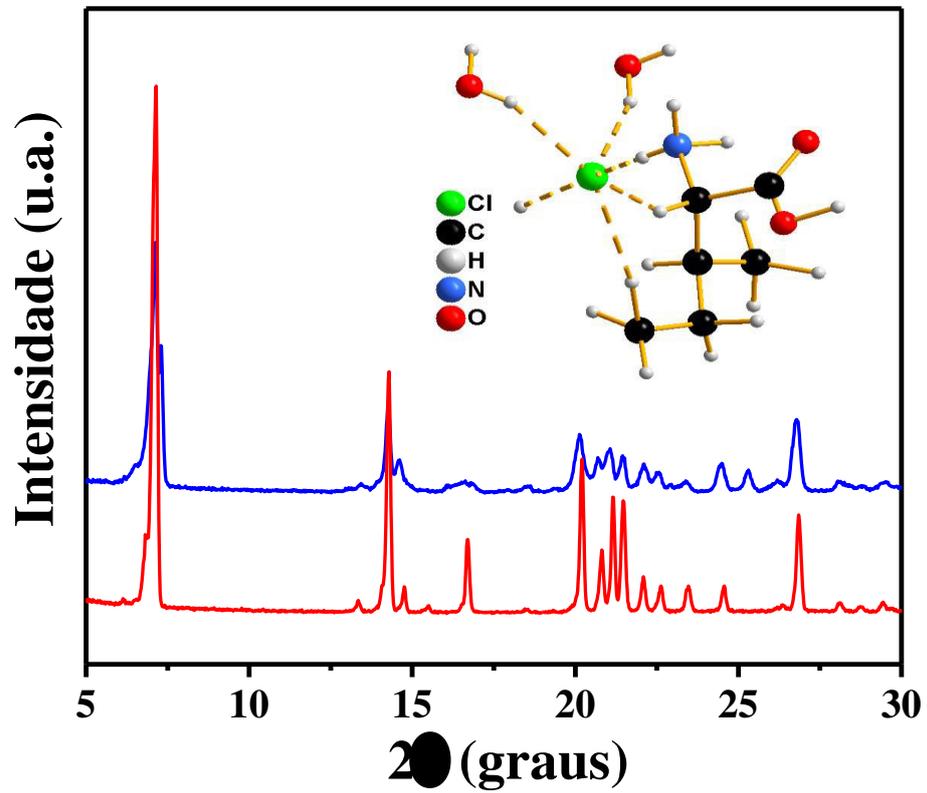


Figura 43 - Padrão de difração de L-Ile.HCl.H₂O antes do tratamento térmico (vermelho) e após a sublimação (azul).

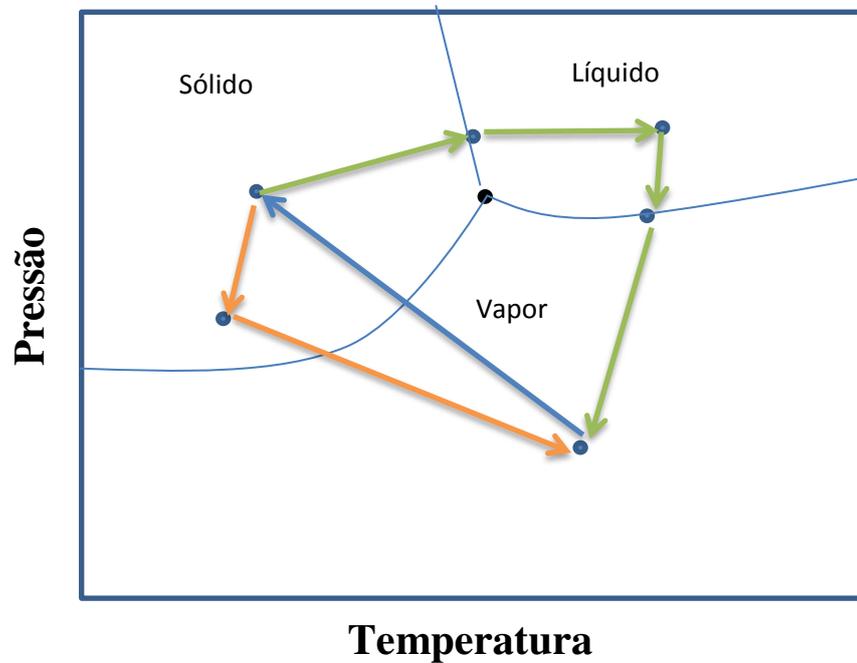


Figura 44 - Diagrama de fases que mostra as transformações ocorridas com L-Ile.HCl.H₂O durante o tratamento térmico.

Estima-se que 2/3 de todos os compostos orgânicos são capazes de sofrer sublimação[61], mas até o presente momento, ainda não foi relatado na literatura esse

comportamento com L-Ile.HCl.H₂O. A Figura 44 mostra um diagrama de fases de pressão x temperatura que sugere as transformações que possivelmente tenha ocorrido.

A trajetória em verde sugere que parte do material sofre fusão e depois vaporização; o caminho em laranja indica que parte do material sofre sublimação; o ponto preto indica a coexistência das três fases (sólido, líquido e gasoso). A seta em azul sugere que independente do caminho em que o material tenha alcançado a fase gasosa, o retorno para fase sólida será de forma direta (ressublimação) e por uma trajetória diferente.

A Figura 45 mostra as curvas TG e DTA de L-Ile.HCl.H₂O ressublimado. Observa-se que o comportamento térmico é idêntico ao do cristal de L-Ile.HCl.H₂O, reforçando a hipótese de que o material é de fato o cristal de origem.

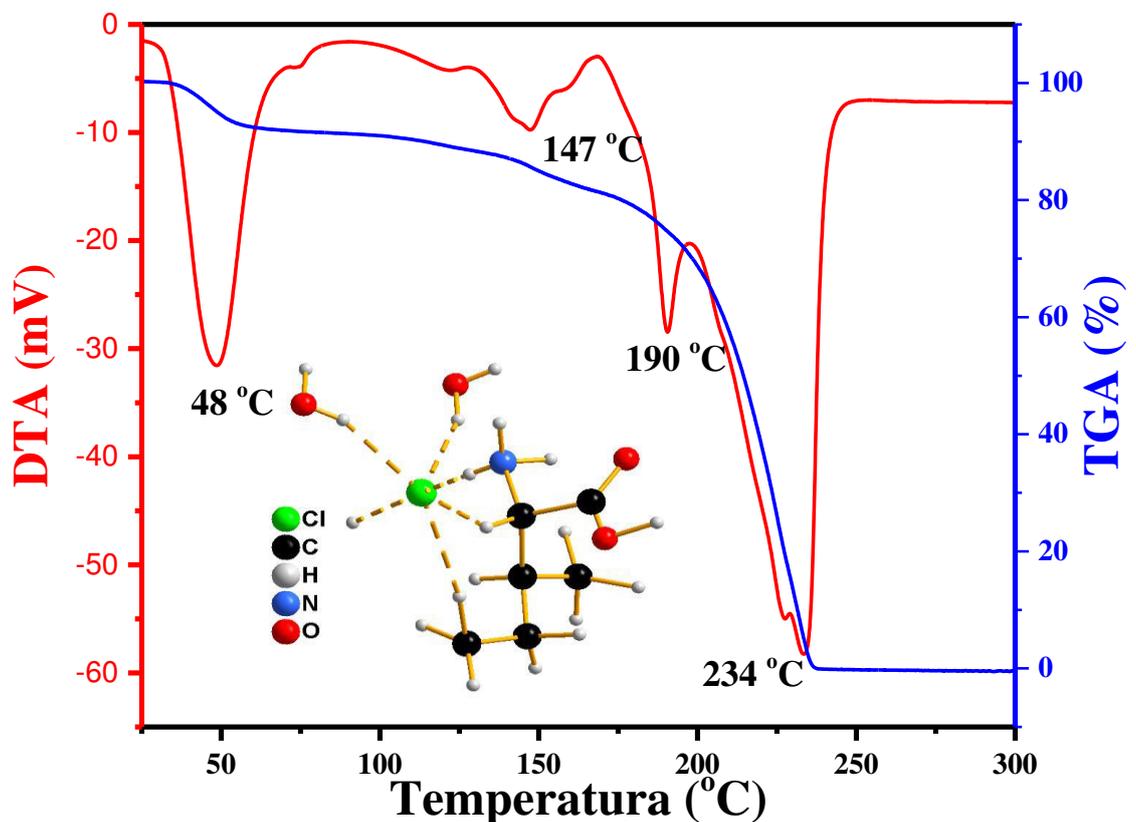


Figura 45 - Curvas TG/DTA de L-Ile.HCl.H₂O ressublimado e a molécula de L-Ile.HCl.H₂O

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesse trabalho o cristal de L-isoleucina hidrocloreídrica mono-hidratada foi sintetizado por meio da reação direta de L-isoleucina e ácido clorídrico diluído – forma diferente daquela reportada na literatura [13] - utilizando a técnica de evaporação lenta do solvente. Dessa forma, Cristais com boa qualidade cristalina foram obtidas em sete dias a temperatura ambiente (25 °C).

A análise de difração de Raios-X à temperatura ambiente confirmou, por meio do refinamento de Rietveld, que o material sintetizado é de fato L-Ile.HCl.H₂O. Essa confirmação se torna importante, visto que outros autores na tentativa de sintetizar cristais de aminoácidos alifáticos de grupo R apolar complexados com cloro, acabaram por sintetizar o cristal do aminoácido puro. O cristal sintetizado é altamente higroscópico e possui baixa estabilidade, pois perde água de cristalização com facilidade.

As medidas de análise térmica do cristal sintetizado (TG, DTA e DSC), mostraram que o material perde água de solvatação em aproximadamente 55 °C e, a partir de 100 °C, ocorrem eventos endotérmicos acompanhados de perda de massa que caracterizam decomposição do cristal. Em 236 °C observou a decomposição total da amostra.

Os dados obtidos por difração de Raios-X em função da temperatura permitiram afirmar que o material sofre transformações de fase a partir 60 °C e essas mudanças ocorrem de forma gradual até 155 °C, evidenciando assim, a influência do tempo de aquecimento nas transformações fase. Espalhamento Raman confirma a perda de água de cristalização próximo a 100 °C.

Os resultados de difração de Raios-X em função do tempo, revelaram que após 33h de aquecimento a 140 °C, o cristal de L-Ile.HCl.H₂O perdeu água de solvatação, água de cristalização e cloro. Portanto, o material obtido após o aquecimento é isoleucina pura, o aminoácido precursor. Além disso, quando o cristal tratado a 170 °C por 24 h em tubo selado com atmosfera de argônio, passou para o estado de vapor e recristalizou-se na mesma fase (ortorrômbica) quando a temperatura foi reduzida a 25 °C.

Por fim, o cristal de L-Ile.HCl.H₂O não é um material promissor na aplicação em dispositivos opto eletrônico, devido principalmente a sua baixa estabilidade térmica. Acredita-se que fenômenos semelhantes ocorram com outros cristais de aminoácidos com cadeia lateral alifático apolar complexado com cloro, e as análises desses materiais são sugestões para trabalhos futuros.

6 REFERÊNCIAS

1. Balaprabhakaran, S.; Chandrasekaran, J.; Babu, B.; Thirumurugan, R.; Anitha, K. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, p. 700–706, 2015.
2. Geetha, P.; Krishnan, S.; Natarajan, R. K; Chithambaram, V. **Current Applied Physics**, v. 15, p. 201-207, 2015.
3. Hasmuddin, Mohd.; Abdullah M.; Singh, Preeti; Mohd, Shkir; N.Vijayan. **Optics & Laser Technology**, v. 74, p. 53–59, 2015.
4. Arul, H; Rajan Babu, D; EzhilVizhi, R; Bhagavannarayana, G. **Journal of Crystal Growth**, v. 423, p. 22-27, 2015.
5. Mania, Jothi R.; Selvarajana P.; Devadossb, Alex H.; Shanthia D. **Optik**, v. 126, p. 213-218, 2015.
6. Ponnuswamy, S; Mohanraj V.; Ilango S.; Thenmozhi, M.; Ponnuswamy M. **Journal of Molecular Structure**, v. 1081, p. 449–456, 2015.
7. Huang, Hongwei; Yao, Wenjiao; He, Ying; Tian, Na; Chen, Chuangtian; Zhang, Yihe. **Materials Research Bulletin**, v. 48, p. 3077-3081, 2013.
8. Adhikari, Soma; Kar, Saikat Kumar Seth; Tanusree. **Cryst Eng Comm**, v.15, p. 7372-7379, 2013.
9. Moitra, Sweta; Tanusree Kar. **Journal of Crystal Growth**, v. 310, p. 4539–4543, 2008.
10. PETROSYAN, M.; FLECK. **Salts of Amino Acids: Crystallization, Structure and Properties**. [S.I.]: Springer International Publishing Switzerland, 2014.
11. Amalanathan, M.; Hubert, I. Joe; Rastogi, V.K. **Journal of Molecular Structure**, v. 985, p. 48-56, 2011.
12. Sugandhi, K.; Verma, Sunil; Jose, M.; Joseph, V.; Das, S. Jerome.. **Optics And Laser Technology**, v. 54, p. 347-352, 2013.
13. Varughese, K.; Srinivasan, R. **Pramana**, v. 06, p. 189-195, 1976.
14. Thompson, J. F.; Morris, C. J.; Smith, I. K. **Annual Review of Biochemistry**, v. 38, p. 137-158, 1969.
15. Gutiérrez-Preciado, A.; Romero, H.; Peimbert, M. **Nature Education**, p. 3(9):29, 2010. <http://www.nature.com/scitable/nated/topicpage/an-evolutionary-perspective-on-amino-acids-14568445> Acessado em 04 de Janeiro 2016
16. Soil, D.. **Nature**, v. 331, p. 662-663, 1988.
17. Longtin, R.. **Journal of the Cational Cancer Institute**, v. 96, p. 504-505, 2004.

18. Flores, J. J.; Bonner, W. A.; Massey, G. A. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, p. 3622-3625, 1977.
19. Bailey, J; Chrysostomou, A; Hough, J; Gledhill, M; Mccall, A; Clark, S; Menard, F; Tamura, M. **Science**, v. 281, p. 672-674, 1998.
20. Cronin, J.; Pizzarello, S. **Science**, v. 275, p. 951-955, 1997.
21. D'Aniello, S; Somorjai, I; Garcia-Fernandez, J; Topo, E; D'Aniello, A. **Faseb Journal**, v. 25, p. 1014-1027, 2011.
22. Cava, Felipe; Lam, Hubert; De Pedro, Miguel A; Waldor, Matthew K. **Cellular And Molecular Life Sciences**, v. 68, p. 817-831, 2011.
23. Isakov, Dmitry; Gomes, Etelvina De Matos; Almeida, Bernardo; Belsley, Michael; Bdikin, Igor; Costa, Margarida; Rodrigues, Vitor; Heredia, Alejandro. **Crystal Growth and Design**, v. 11, p. 4288-4291, 2011.
24. Tylczynski, Z.; Sterczynska, A.; Wiesner, M. **Journal Of Physics-Condensed Matter**, v. 23, 2011.
25. Khawas, B. **Acta Crystallographica Section B**, v. B 26, p. 1385-1387, 1970.
26. Harding, M.; Howieson, R. **Acta Crystallographic**, v.B 32, p. 633-634, 1976.
27. Torii, K.; Iitaka, Y. **Acta Crystallographica**, v. B 37, p. 2237-2246, 1971.
28. Diblasio, B.; Pedone, C.; Sirigu, A. **Acta crystallographica** ,v. B 31 p. 601-602, 1975.
29. Benedett, E.; Pedone, C.; Sirigu, A. **Acta Crystallographica** , v. B 29, p.730-733, 1973.
30. Gorbitz, H. C.; Dalhus, B. **Acta Cryst**, v. C 52 p. 1464–1466, 1996.
31. Torii, K.; Iitaka, Y. **Act Cryst** , v B 29 p. 2799-2807, 1975.
32. Torii, K.; Iitaka, Y. The crystal structure of L-valine. **Acta Cryst B26**, p. 1317–1326, 1970.
33. Diblasio, B.; Pedone, C.; Sirigu, A. **Acta Cryst**, v. B 31 p. 601-602, 1975.
34. Givand, J. C.; Rousseau, R. W.; Ludovice, P. J. **Journal of Crystal Growth**, v. 194, p. 228-238, 1998.
35. Sabino, A.S.; Sousa, G.P.; Luz-Lima, C.; Freire, P.T.C.; Melo, F.E.A.; Filho, J. Mendes **Solid State Communications**, v. 149, p. 1553-1556, 2009.
36. Almeida, F. M.; Freire, P. T. C.; Lima, R. J. C.; Remédios, C. M. R.; Filho, J. Mendes; Melo, F. E. A. **J. Raman Spectrosc.**, v. 37, p. 1296-1301, 2006.
37. Bush, M. F.; J, Omens; R., Saykally J.; Williams, R. E.. **J Am Chem Soc**, v. 130, p. 6463–6471,

- 2008.
38. Daniele, G. P.; C, Foti; A, Gianguzza; E, Prenesti; S, Sammartano. **Coord Chem Rev**, v. 152, p. 1093–1107, 2008.
39. Allen, H. F. **Acta Crystallographica Section B**, v. 58, p. 380-388, 2002.
40. Trommel, J.; Bijvoet, M. **Acta Crystallographica**, v. 07, p. 703-709, 1954.
41. Varughese, K.; Srinivasan, R. **Acta Crystallogr.**, v. B 32 p. 994–998, 1976.
42. Lima, R. D. S.; Afonso, J. C. **Química Nova**, v. 32, p. 263-270, 2009.
43. Martins, R. **Revista Brasileira de Ensino**, v. 20, p. 373-391, 1998.
44. FILHO, O. S.. **Química Nova**, v. 18, p. 574-583, 1995.
45. Cullity, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**. [S.l.]: Addison-Wesley Publishing Company, 1956.
46. Azároff, V. L. **Elements of X-Ray Crystallography**. [S.l.]: McGraw-Hill Book Company, 1968.
47. Ionashiro, M. A.; Giolito, I. **Cerâmica**, v. 26, p. 17-24, 1980.
48. Giolito, I.; Ionashiro, M. A. **Química Industrial**, v. 32 p. 12-20, 1988.
49. Ionashiro, M. **Fundamentos de termogravimetria, análise termica diferencial, calorimetria exploratoria diferencial**. [S.l.]: Giz, 2004.
50. Bernal, Cláudia; Couto, Andréa Boldarini; Cavalheiro; Breviglieri, Susete Trazzi; Gomes, Éder Tadeu. **Química Nova**, v. 25, p. 849-855, 2002.
51. Long, D. A. **The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman**. [S.l.]: [s.n.], 2002.
52. Daniel C. Harris, M. D. B. **Symmetry and Spectroscopy: an Introduction to Vibrational and Electronic Spectroscopy**. [S.l.]: [s.n.], 1978.
53. Tsenga, Hsieng Cheng; Leeb, Ching-Yi; Wengb, Wen-Lu; Shiahb, I-Min. **Fluid Phase Equilibria**, v. 285, p. 90-95, 2009.
54. Hitchcock; David, I. **Journal of General Physiology**, v. 6, p. 747-753, 1924.
55. Chandran, S. K.; Paulraj, R.; Ramasamy, P. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 151, p. 432-437, 2015.
56. Soma Adhikari, T. K. **Materials Chemistry and Physics**, v. 148, p. 457-462, 2014.
57. Carta, R. **J. Chem. Thermodynamics**, v. 30, p. 379]387, 1998.

58. Moitra, S.; Saikat Kumar Seth; Tanusreekar. **Journal of Crystal Growth**, v. 312, p. 1977–1982, 2010.
59. Mullin, J. W. **Crystallization**. [S.l.]: Butterworth-Heinemann, 2001.
60. Fleck, M.; M. Petrosyan, A. **Journal of Crystal Growth**, v. 312, p. 2284–2290, 2010.
61. Yu, Qiushuo; Dang, Leping; Black, Simon; Wei, Hongyuan. **Journal of Crystal Growth**, v. 340, p. 209–215, 2012.
62. Parasuramana, K; Murugesanb, K. Sakthi; R. Samuel, Selvaraj; S Jerome, Das; Uthrakumard, R; Boaz, B. Milton. **Optik**, v. 125, p. 3534-3539, 2014.
63. Shkir, M.; Ganesh, V.; Vijayan, N.; Riscob, B.; Kumar, A.; Rana, D.K.; Hasmuddi, M.; Wahab, M.A.; Babu, R. Ramesh; Bhagavannarayana, G. **Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.** v. 103 p. 199-204, 2012.
64. Zhuang, X.; Ye, L.; Zheng, G.; Su, G.; He, Y.; Lin, X.; Xu, Z. **J. Cryst. Growth**, v. 318, p. 700-702, 2011.
65. Chen, M.; Pang, Q.; Wang, J.; Cheng, K. **Mater. Chem. Phys.** v. 112, p. 1-4, 2008.
66. MUKERJI, S.; KAR, T. **Metallurgical and materials transactions A**, v. 31, p. 3087-3090, 2000.