

DIEGO LUIZ TITA

Refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld:
aplicação na caracterização de fármacos e excipientes

Tese apresentada no Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Oliveira Paiva Santos
Coorientadora: Dra. Selma Gutierrez Antonio

Araraquara
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

T617r Tita, Diego Luiz
Refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld: aplicação na caracterização de fármacos e excipientes / Diego Luiz Tita. – Araraquara-SP : [s.n.], 2018
211 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Carlos de Oliveira Paiva Santos

Coorientador: Selma Gutierrez Antonio

1. Cristalografia de raio X. 2. Método de Rietveld.
3. Polimorfismo (Cristalografia). 4. Espironolactona. 5. Física do estado sólido. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld: aplicação na caracterização de fármacos e excipientes"

AUTOR: DIEGO LUIZ TITA

ORIENTADOR: CARLOS DE OLIVEIRA PAIVA SANTOS

COORIENTADORA: SELMA GUTIERREZ ANTONIO


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Dra. SELMA GUTIERREZ ANTONIO
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química de Araraquara - UNESP


Prof. Dr. MARLUS CHORILLI
Depto de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Dr. VINÍCIUS DANILO NONATO BEZZON
Departamento de Farmácia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - São Paulo


Prof. Dr. FLÁVIO MACHADO DE SOUZA CARVALHO
Departamento de Mineralogia e Petrologia / Instituto de Geociências - USP - São Paulo


Prof. Dr. ALEXANDRE URBANO
Departamento de Física / Centro de Ciências Exatas - UEL - Londrina

Araraquara, 20 de abril de 2018

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Diego Luiz Tita

Nome em citações bibliográficas: TITA, D. L.; TITA, DIEGO LUIZ;

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara. Rua Professor Francisco Degni, 55, Quitandinha, CEP: 14800-060 - Araraquara, SP – Brasil.

URL: <http://www.labcacc.iq.unesp.br/>

Formação Acadêmica/Titulação

2014 - Atual Doutorado em Química
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld: aplicação na caracterização de fármacos e excipientes.
Orientador: Prof. Dr. Carlos de Oliveira Paiva-Santos
Coorientadora: Dr. Selma Gutierrez Antonio

2012 - 2014 Mestrado em Química
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Caracterização de polimorfos em comprimidos distribuídos pela Secretaria de Saúde de Araraquara por difração de raios X.
Orientador: Prof. Dr. Carlos de Oliveira Paiva-Santos
Coorientadora: Dr. Selma Gutierrez Antonio
Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2007 - 2011 Graduação em Licenciatura em Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Formação Complementar

2017 - 2017 Curso de curta duração: Cálculo de Incerteza de Medição. (Carga horária: 12h).
Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Protocolos em Nanotecnologia, CCDPN, Brasil.

2015 - 2015 Curso de curta duração: I Workshop on Advanced and Functional Materials. (Carga horária: 25h).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

- 2014 - 2014** Curso de curta duração: 1st Brazilian Hands-on Workshop: SIR/EXPO2014. (Carga horária: 60h).
Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, Brasil.
- 2012 - 2012** Curso de curta duração em Papel da equipe multidisciplinar na P&D de Medicamentos.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2012 - 2012** Curso de curta duração em Questionamento sócio - científico e o desenvolvimento da argumentação na aprendizagem das Ciências Naturais.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Segurança no Laboratório.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Analogias no ensino de Química: Solução ou Problema?
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Interpretação dos Princípios Legais da RDC 44/09.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em Guerra Química: conceitos e operações em atividades e operações militares.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2011 - 2011** Curso de curta duração em O ensino de química a alunos com deficiência visual.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2010 - 2010** Curso de curta duração em Forças Armadas.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Das crônicas às animações em 3D: benefícios e dificuldades.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.

- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Análise e tratamento de água: princípios, técnicas, modelos e legislação.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2008 - 2008** Curso de curta duração em Mídias audiovisuais na sala de aula de Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2008 - 2008** Curso de curta duração em Química e Investigação em Criminalística.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil.
- 2008 - 2008** Curso de curta duração em Cinema e contextualização no Ensino de Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil
- 2007 - 2007** Curso de curta duração em Química Verde.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil
- 2007 - 2007** Curso de curta duração em A química como recurso para promover a educação ambiental na escola.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

Vínculo institucional

- 2017 - Atual** Vínculo: Bolsista da FACTER, Enquadramento funcional: Técnico - Microscopia Eletrônica de Varredura e de Feixe Duplo, Carga horária: 40h.
Outras informações:
- Operação de microscópio eletrônico de varredura de alta resolução e microscópio de feixe duplo para usuários da rede UNESP, outras universidades particulares e públicas e empresas.
- Participa ativamente da implementação/funcionalidade do Sistema de Gestão de Qualidade, ISO 17025, aplicada ao microscópio eletrônico de varredura de alta resolução que opera.

- 2014 - 2017** Vínculo: Bolsista da CNPq – DTI-B, Enquadramento funcional: Técnico - Microscopia Eletrônica de Varredura e de Feixe Duplo, Carga horária: 40h.
Outras informações:
- Operação de microscópio eletrônico de varredura de alta resolução e microscópio de feixe duplo para usuários da rede UNESP, outras universidades particulares e públicas e empresas.
- Participa ativamente da implementação/funcionalidade do Sistema de Gestão de Qualidade, ISO 17025, aplicada ao microscópio eletrônico de varredura de alta resolução que opera.
- 2015 - 2015** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Bolsista didático – Professor, Carga horária: 3h.
Outras informações:
Disciplina ministrada: Elementos de geologia e mineralogia / Turma: Licenciatura em Química 2015 - 2ºSemestre / Instituição: Instituto de Química - UNESP – Araraquara.
- 2015 - 2015** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Bolsista didático – Professor, Carga horária: 3h.
Outras informações:
Disciplina ministrada: Elementos de geologia e mineralogia / Turma: Bacharel em Química 2015 - 1ºSemestre / Instituição: Instituto de Química - UNESP - Araraquara
- 2011 - 2012** Vínculo: Bolsista da FACTER, Enquadramento funcional: Apoio técnico - Difração de Raios X, Carga horária: 12h
- 2009 - 2009** Vínculo: Bolsista BAAE II - Ciência na UNESP, Enquadramento funcional: Monitor, Carga horária: 12h
Outras informações:
Participação em diversas atividades do CCA (Centro de Ciências de Araraquara) e nos seguintes Projetos: Ciência Viva - programa de visitação ao CCA de alunos de escolas públicas, particulares e comunidade em geral, que são acompanhados e assistidos por monitores. Ciência vai à Escola - laboratório volante visitando as escolas com experimentos e recursos audiovisuais, nas diferentes áreas da ciência.

2008 - 2008 Vínculo: Bolsa BAAE II Proex, Enquadramento funcional: Monitor, Carga horária: 12h

Outras informações:

Participação em diversas atividades do CCA (Centro de Ciências de Araraquara) e nos seguintes Projetos: Plantão de Dúvidas - programa de tira-dúvidas destinado a estudantes do ensino fundamental, do ensino médio e de cursos pré-vestibulares de Araraquara, nas disciplinas de física e matemática. Ciência Viva - programa de visitaçã ao CCA de alunos de escolas públicas, particulares e comunidade em geral, que são acompanhados e assistidos por monitores.

2007 - 2007 Vínculo: Bolsista BAAE II Proex, Enquadramento funcional: Monitor, Carga horária: 12h

Outras informações:

Participação em diversas atividades do CCA (Centro de Ciências de Araraquara) e nos seguintes Projetos: - Plantão de Dúvidas - programa de tira-dúvidas destinado a estudantes do ensino fundamental, do ensino médio e de cursos pré-vestibulares de Araraquara, na disciplina de física. Ciência Viva - programa de visitaçã ao CCA de alunos de escolas públicas, particulares e comunidade em geral, que são acompanhados e assistidos por monitores.

Atividades

2008 - 2009 Membro do Conselho da Unidade Auxiliar “Centro de Ciências de Araraquara – CCA” como suplente do corpo docente.

Artigos completos publicados em periódicos

DE SALVI, SIMONE T. B.; TITA, DIEGO LUIZ; PAIVA-SANTOS, CARLOS DE O; ANTONIO, SELMA G. Characterization of hydrochlorothiazide in solid formulations. **Powder Diffraction**, v. 30, p. S127-S130, 2015.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo).

1. TITA, D. L., ANTONIO, S. G., SALVI, S. T. B., PAIVA-SANTOS, C. O.
A aplicação do método de Rietveld, em dados de difração de raios X por pó, para a identificação polimórfica da espirolactona em comprimidos.
XXI Jornadas Jóvenes Investigadores del Grupo Montevideo - AUGM, 2013, Corrientes - Argentina. ISBN: 978-987-3619-00-7, v II, p. 1228, 2013.

2. TITA, D. L., LORDELLO, V., SALVI, S. T. B., PERRUCI, N. A. F., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Aplicação do método de Rietveld, a partir de dados de difração de raios X por pó, para a identificação de polimorfos de espironolactona em comprimidos.

59ª Jornada Farmacêutica da Unesp / II Congresso Farmacêutico da UNESP, 2012, Araraquara.

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. ISSN: 1808-4532, v 33, n. 3, Supl. 1, p. 99, 2012.

3. SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PERRUCI, N. A. F., LORDELLO, V., BEZZON, V. D. N., TITA, D. L., PAIVA-SANTOS, C. O.

Comprimidos comerciais de atenolol: aplicação da difração de raios X por policristais.

59ª Jornada Farmacêutica da Unesp / II Congresso Farmacêutico da UNESP, 2012, Araraquara.

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. ISSN: 1808-4532, v 33, n. 3, Supl. 1, p. 108, 2012.

4. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Análise, através de difração de raios X por pó e método de Rietveld, de carbamazepinas distribuídas pela Secretaria de Saúde de Araraquara.

58ª Jornada Farmacêutica da Unesp / I Congresso Farmacêutico da UNESP, 2011, Araraquara.

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. ISSN: 1808-4532, v 32, n. 2, Supl. 1, p. 77, 2011.

5. ANTONIO, S. G., TITA, D. L., PERRUCI, N. A. F., SALVI, S. T. B., PAIVA-SANTOS, C. O.

Difração de raios X no controle de qualidade de medicamentos: polimorfismo do ácido mefenâmico.

58ª Jornada Farmacêutica da Unesp / I Congresso Farmacêutico da UNESP, 2011, Araraquara.

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. ISSN: 1808-4532, v 32, n. 2, Supl. 1, p. 103, 2011.

6. SALVI, S. T. B., TITA, D. L., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Análise de comprimidos comerciais de carbamazepina.

57ª Jornada Farmacêutica da Unesp, 2010, Araraquara.

Anais. ISSN: 1807-1554, p. 185, 2010.

7. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Análise de medicamentos da RENAME pelo método de Rietveld a partir de dados de difração de raios X por policristais: ácido acetilsalicílico.

57ª Jornada Farmacêutica da Unesp, 2010, Araraquara.

Anais. ISSN: 1807-1554, p. 123, 2010.

Apresentação de trabalho

1. TITA, D. L., ANTONIO, S. G., SALVI, S. T. B., PAIVA-SANTOS, C. O.

A aplicação do método de Rietveld, em dados de difração de raios X por pó, para a identificação polimórfica da espirolactona em comprimidos, 2013.

(Congresso, Pôster)

Referências adicionais: Argentina/Espanhol; Local: Universidad Nacional del Nordeste; Cidade: Corrientes; Evento: XXI Jornadas Jóvenes Investigadores del Grupo Montevideo – AUGM.

2. TITA, D. L., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

X-ray powder diffraction with Rietveld method in polymorph identification the spironolactone in the tablets, 2013. (Simpósio, Pôster)

Referências adicionais: Brasil/Inglês; Local: Centro Internacional de Convenção de Araraquara "Dr. Nelson Barbieri"; Cidade: Araraquara; Evento: III International Symposium on Drug Discovery.

3. TITA, D. L., LORDELLO, V., SALVI, S. T. B., PERRUCI, N. A. F., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Aplicação do método de Rietveld, a partir de dados de difração de raios X por pó, para a identificação de polimorfos de espirolactona em comprimidos, 2012. (Congresso, Pôster)

Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Campus UNESP; Cidade: Araraquara; Evento: 59ª Jornada Farmacêutica da Unesp / II Congresso Farmacêutico da UNESP.

4. TITA, D. L., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Application the Rietveld method to polymorph identification of spironolactone in tablets, 2012. (Congresso, Pôster)

Referências adicionais: França/Inglês; Local: Minatec; Cidade: Grenoble; Evento: 13th European Powder Diffraction Conference (EPDIC 13)

5. SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PERRUCI, N. A. F., LORDELLO, V., BEZZON, V. D. N., TITA, D. L., PAIVA-SANTOS, C. O.

Comprimidos comerciais de atenolol: aplicação da difração de raios X por policristais, 2012. (Congresso, Pôster)

Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Campus UNESP; Cidade: Araraquara; Evento: 59ª Jornada Farmacêutica da Unesp / II Congresso Farmacêutico da UNESP.

6. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.

Análise de comprimidos de Carbamazepina através da difração de raios X por pó, 2011. (Reunião, Pôster)

Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Laboratório Nacional de Luz Síncrotron; Cidade: Campinas; Evento: 20ª Reunião da Associação Brasileira de Cristalografia.

7. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.
Estudos, através de difração de raios X por pó, de comprimidos comercializados de carbamazepina, 2011. (Reunião, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Cidade: Florianópolis; Evento: 34ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química.

8. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.
Análise, através de difração de raios X por pó e método de Rietveld, de carbamazepinas distribuídas pela Secretaria de Saúde de Araraquara, 2011. (Congresso, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Campus UNESP; Cidade: Araraquara; Evento: 58ª Jornada Farmacêutica da Unesp / I Congresso Farmacêutico da UNESP.

9. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.
Método de Rietveld, com dados de difração de raios X por pó, na análise de polimorfismo em comprimidos de carbamazepina distribuídos pela Secretaria de Saúde de Araraquara, 2011. (Encontro, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: UFABC; Cidade: Santo André; Evento: I Encontro dos Usuários de Técnicas de Difração da CEM.

10. SALVI, S. T. B., TITA, D. L., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.
Análise de comprimidos comerciais de carbamazepina, 2010. (Jornada, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Cidade: Araraquara; Evento: 57ª Jornada Farmacêutica da Unesp.

11. TITA, D. L., PAIVA-SANTOS, C. O., ANTONIO, S. G., SALVI, S. T. B.
Análise de comprimidos de carbamazepina por difração de raios X por policristais, 2010. (Congresso, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Instituto de Química - Araraquara; Cidade: Araraquara; Evento: XXII Congresso de Iniciação Científica – UNESP.

12. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., CARVALHO, F. M. S., PAIVA-SANTOS, C. O.
Análise de medicamentos da RENAME do método de Rietveld e difração de raios X por policristais: ácido acetilsalicílico, 2010. (Reunião, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Cidade: Águas de Lindóia; Evento: 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

13. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., ANTONIO, S. G., PAIVA-SANTOS, C. O.
Análise de medicamentos da RENAME pelo método de Rietveld a partir de dados de difração de raios X por policristais: ácido acetilsalicílico, 2010. (Jornada, Pôster)
Referências adicionais: Brasil/Português; Cidade: Araraquara; Evento: 57ª Jornada Farmacêutica da UNESP.

Demais produções

1. TITA, D. L.

Curso de Microscopia Eletrônica de Varredura

Fundação de Apoio à Ciência, Tecnologia e Educação (FACTE) e UNESP – Instituto de Química – Araraquara-SP, 2017

(Minicurso – Turma 2017)

Referências adicionais: 30h.

Tutor – parte prática

2. TITA, D. L.

Princípios e aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura

Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – Rio Grande-RS, 2017

(Minicurso)

Referências adicionais: 4h.

Professor convidado

3. TITA, D. L.

Aplicações de Microscopia de Duplo Feixe

Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – Rio Grande-RS, 2017

(Palestra)

Referências adicionais: 1h.

Professor convidado

4. TITA, D. L.

Técnicas de caracterização: MEV-FEG, MET, AFM e FIB. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal – PPGB-MRQM – Universidade de Araraquara (UNIARA) – Araraquara-SP, 2017.

(Aula ministrada – disciplina BIO 021 – Técnicas instrumentais de análise)

Referências adicionais: 4h.

Professor Convidado

5. TITA, D. L.; ANTONIO, S. G.; PAIVA-SANTOS, C. O.

1º Ciclo de Minicursos de Cristalografia – “Refinamentos sequenciais e paramétricos com o método de Rietveld” – USP – São Carlos-SP, 2016.

(Minicurso)

Referências adicionais: 4 dias.

Instrutor – refinamento sequencial e paramétrico.

6. TITA, D. L.

Tópicos de microscopia. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal – PPGB-MRQM – Universidade de Araraquara (UNIARA) – Araraquara-SP, 2016.

(Aula ministrada - disciplina BIO 021 – Técnicas instrumentais de análise)

Referências adicionais: 4h.

Professor Convidado

7. TITA, D. L.

Curso de Microscopia Eletrônica de Varredura

Fundação de Apoio à Ciência, Tecnologia e Educação (FACTE) e UNESP – Instituto de Química – Araraquara-SP, 2016

(Minicurso – Turma 2016)

Referências adicionais: 35 horas.

Tutor – parte prática

8. TITA, D. L.

Apresentação de seminário

Programa de Pós-Graduação em Química – Instituto de Química – UNESP – Araraquara-SP.

Título: A necessidade do controle de formas polimórficas em medicamentos. 2016

(Seminário Geral)

Referências adicionais: 1h e 30min.

Aluno de pós-graduação

9. TITA, D. L.

Apresentação de seminário

Programa de Pós-Graduação – Centro Universitário de Araraquara (UNIARA) – Araraquara-SP. Título: Introdução à difração de raios X e sua potencialidade na área de caracterização de Biomateriais. 2015

(Seminário)

Referências adicionais: 2h.

Professor convidado

10. TITA, D. L.

Curso de Microscopia Eletrônica de Varredura

Fundação de Apoio à Ciência, Tecnologia e Educação (FACTE) e UNESP – Instituto de Química – Araraquara-SP, 2015

(Minicurso – Turma 2015)

Referências adicionais: 40 horas.

Tutor – parte prática

11. TITA, D. L.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld – IPEN/CNEN, 2014.

(Minicurso)

Referências adicionais: 4 dias.

Monitor

12. TITA, D. L.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld - UFABC, 2013.

(Minicurso)

Referências adicionais: 4 dias.

Monitor

13. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., BEZZON, V. D. N.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld – Instituto de Química, UNESP, 2013.

(Minicurso)

Referências adicionais: 4 dias.

Monitor

14. TITA, D. L.

Caracterização de polimorfos em comprimidos distribuídos pela Secretaria Municipal de Saúde de Araraquara, 2013.

Sala de Reuniões da Secretaria Municipal de Saúde de Araraquara; Cidade: Araraquara.

(Palestra)

Referências adicionais: 2h.

Palestrante convidado - Parceria entre o grupo e a Sec. Mun. De Saúde de Araraquara.

15. TITA, D. L., SALVI, S. T. B., SAVASSA, S. M., CATELANI, T. A.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld – Instituto de Química, UNESP, 2010.

(Minicurso)

Referências adicionais: 4 dias.

Monitor

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Pôster na **XXI Jornadas Jóvenes Investigadores del Grupo Montevideo - AUGM**, 2013. (Congresso)

A aplicação do método de Rietveld, em dados de difração de raios X por pó, para a identificação polimórfica da espirolactona em comprimidos.

2. Apresentação de Pôster no **III International Symposium on Drug Discovery**, 2013. (Simpósio)

X-ray powder diffraction with Rietveld method in polymorph identification the spironolactone in the tablets.

3. Apresentação de Pôster no **II Congresso Farmacêutico da UNESP**, 2012. (Congresso)

Aplicação do Método de Rietveld, a partir de dados de difração de raios X por pó, para a identificação de polimorfos de espirolactona em comprimidos.

4. Apresentação de Pôster na **13th European Powder Diffraction Conference (EPDIC13)**, 2012. (Congresso)

Application the Rietveld method to polymorph identification of spironolactone in tablets.

5. **Workshop 2012 de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia - IQ-UNESP**, 2012.

6. **X Evento de Educação em Química**, 2012.

7. Apresentação de Pôster no **I Congresso Farmacêutico da UNESP**, 2011. (Congresso)

Análise, através de difração de raios X por pó e método de Rietveld, de comprimidos de carbamazepina distribuídos pela Secretaria de Saúde de Araraquara - SP.

8. Apresentação de Pôster na **20ª Reunião da Associação Brasileira de Cristalografia**, 2011. (Encontro)
Análise de comprimidos de Carbamazepina através da difração de raios X por pó.
9. Apresentação de Pôster na **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011. (Congresso)
Estudos, através de difração de raios X por pó, de comprimidos comercializados de carbamazepina.
10. Apresentação de Pôster no **XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, 2011. (Congresso)
Método de Rietveld com dados de difração de raios X por pó, para análise de polimorfismo em comprimidos de carbamazepina distribuídos pela Secretaria de Saúde da Cidade de Araraquara.
11. **IX Evento de Educação em Química**, 2011.
12. **I Encontro dos Usuários de Técnicas de Difração da CEM**, 2011.
13. **41ª Semana da Química**, 2011.
14. Apresentação de Pôster no **XXII Congresso de Iniciação Científica - UNESP**, 2010. (Congresso)
Análise de comprimidos de carbamazepina por difração de raios X por policristais.
15. Apresentação de Pôster na **57ª Jornada Farmacêutica da Unesp**, 2010. (Jornada)
Análise de medicamentos da RENAME pelo método de Rietveld a partir de dados de difração de raios X por policristais: ácido acetilsalicílico.
16. Apresentação de Pôster na **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010. (Reunião)
Análise de medicamentos da RENAME do método de Rietveld e difração de raios X por policristais: ácido acetilsalicílico.
17. **XXXIX Semana da Química**, 2009.
18. Apresentação de experimentos na **XI Feira de Profissões UNESP**, 2008. (Feira)
19. Apresentação de experimentos na **V Exposições de Profissões e Universidades**, 2008. (Feira)
20. **II Seminário de Extensão Universitária**, 2008.
21. **VI Evento de Educação em Química**, 2008.
22. **XXXVII Semana da Química**, 2007.
23. **V Evento de Educação em Química**, 2007.

24. I Seminário de Extensão Universitária de Química da Unesp, 2007.

Organização de evento

1. TITA, D. L., ANTONIO, S. G.

1º Ciclo de Minicursos de Cristalografia – Uniara-Araraquara / USP-São Carlos, 2016.

(Curso de curta duração)

2. TITA, D. L., ANTONIO, S. G.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld – IPEN/CNEN, 2014.

(Curso de curta duração)

3. TITA, D. L., FERREIRA, F. F., ANTONIO, S. G.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld - UFABC, 2013.

(Curso de curta duração)

4. TITA, D. L., ANTONIO, S. G., PERRUCI, N. A. F.

Minicurso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld, 2013.

(Curso de curta duração)

5. TITA, D. L., et al.

Curso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld, 2012.

(Curso de curta duração)

6. TITA, D. L., PERRUCI, N. A. F.

Curso de Cristalografia Básica e Método de Rietveld, 2010.

(Curso de curta duração)

7. TITA, D. L., et al.

VIII Evento de Educação em Química, 2010.

(Evento)

8. TITA, D. L., et al.

VII Evento de Educação em Química, 2009.

(Evento)

9. MARUYAMA, J. A., SILVA, C. S., NARDO, R. C. G. F., OLIVEIRA, L. A. A., TITA, D. L.

Com Ciência: você pode compreender melhor o mundo! 2007.

(Exposição)

Cidade: Araraquara; Local: SESC –Araraquara; Exposição cadastrada na Semana Nacional de Ciência e Tecnologia do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Produção técnica
Programa de computador sem registro.

1. TITA, D. L.

Planilha SP-DLT

Finalidade: Programação para Refinamentos Sequenciais e Paramétricos pelo Método de Rietveld.

UNESP - Instituto de Química; Programa de Pós-Graduação em Química.

Dedico esse trabalho
aos meus pais José Luiz Tita e Ana Maria Alécio Tita,
ao meu irmão Marcelo Luiz Tita,
à minha doce Camila Aguiar Rocha,
ao Elcio Benedicto Tita (*in memoriam*), chamado carinhosamente de tio Bola e
ao meu vô Luiz Alécio Sobrinho (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso, criador do céu e da Terra.

Ao dom da vida.

Ao Prof. Dr. Carlos de Oliveira Paiva Santos pela oportunidade, confiança e convívio.

À Dra. Selma Gutierrez Antonio pela orientação, paciência e amizade.

Ao Prof. Dr. Marcelo Orlandi pelas oportunidades e aprendizagem em microscopia.

Ao Prof. Dr. Mario Cilense pelo convívio e amizade.

Aos professores, centros de pesquisas e empresas que contribuíram nos ensaios de difração de raios X, dentre eles destaque: Renato Figueira da Silva, da Bruker, Alexandre Cuin, da Univ. Federal de Juiz de Fora, e Marcelo Luiz Calegari, da Química da USP-São Carlos.

Aos professores Marisa Veiga Capela e Marcelo Luiz Calegari, pelas contribuições devido a composição da minha banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Miguel Ruiz pela confiança e oportunidade de me escolher como bolsista didático.

Aos meus pais José e Ana, ao meu irmão Marcelo, aos meus sobrinhos Gabriel e Arthur, à minha cunhada Maria Carla por todo o convívio e ajuda nessa caminhada.

À minha amada namorada Camila Aguiar Rocha pela cumplicidade e carinho de todas as horas.

Você me faz sonhar e me faz realizar.

Aos técnicos do coração Neide, Sebastião, Ricardo, Sonia e Rose pelos conhecimentos transmitidos e amizade.

Aos amigos e companheiros do dia a dia: Mateus, Vinícius, Paulo, Pedro, Ranilson, Anderson, Eduardo, Martin, Aline, Nathália, Eurípedes, Juan, Wagner e Rafael.

Ao Instituto de Química de Araraquara e seus funcionários, em especial aos da Pós-Graduação, professores, pesquisadores, ao pessoal da biblioteca, limpeza e porteiros, meu muito obrigado.

Aos membros e coordenadores dos grupos CCDPN e LIEC.

As agências de fomento FAPESP, CNPq, CAPES e FAPESP.

E a todos que de alguma forma contribuíram em minha trajetória de vida.
Serei eternamente grato.

RESUMO

O refinamento de estruturas cristalinas pelo método de Rietveld (MR) consiste em ajustar um modelo estrutural a uma medida de difração. Essa é uma ferramenta eficiente para identificação e quantificação de estruturas polimórficas presentes em fármacos e excipientes. Uma forma avançada do método é o refinamento sequencial por Rietveld (RSR) que visa, a partir de um conjunto de difratogramas de uma mesma amostra, estudar o comportamento do material em função de uma variável externa (e.g. temperatura, pressão, tempo ou ambiente químico). No presente trabalho, com o objetivo de estudar as transições polimórficas e as expansões/contrações dos parâmetros de cela unitária (PCU) dos insumos farmacêuticos: espironolactona (SPR), lactose monoidratada (LACMH) e lactose anidra (LACA), empregou-se o RSR em medidas obtidas em diferentes temperaturas. O RSR foi eficiente para que os PCU fossem refinados até temperaturas próximas ao ponto de fusão dos materiais. Após o RSR, a partir da análise matemática dos PCU obtidos, foram propostas funções que regem a tendência desses parâmetros quando submetidos à variação de temperatura. Com essas funções modelaram-se os PCU em uma outra modalidade de refinamento, o refinamento paramétrico por Rietveld (RPR), assim, os PCU seguem a modelagem imposta pelas equações obtidas via RSR. O RPR mostrou-se mais eficiente nas análises, o que evitou perda de fases ou problemas de ajustes, resultando assim em informações mais precisas do sistema. Embora o RSR e RPR serem métodos sofisticados para a caracterização dos materiais, a preparação das rotinas de programação dos refinamentos não é trivial, assim, nesse trabalho desenvolveu-se uma planilha (i.e. planilha SP-DLT) que facilita o emprego dos métodos. A planilha mostrou-se eficiente e rápida para programar todas as rotinas de refinamentos apresentadas nesse trabalho. Com os estudos dos insumos farmacêuticos observou-se que na amostra SPR a forma I, com o aumento da temperatura, se converte para forma II. A alfalactose monoidratada sofre desidratação e se converte para alfalactose, na amostra LACMH, e para betalactose, na amostra LACA. E, ainda com aumento de temperatura, a betalactose não sofre mudança de fase polimórfica. Assim, entende-se que o meio pode causar influência na rota de transição polimórfica.

Palavras-chave: Difração de raios X por pó. Espironolactona. Alfalactose monoidratada. Lactose anidra. Método de Rietveld. Refinamento sequencial por Rietveld. Refinamento paramétrico por Rietveld.

ABSTRACT

The crystal structural refinement by the Rietveld method (MR) consists of fitting a structural model to a diffraction measure. This is an efficient tool for identification and quantification of polymorphic structures present in drugs and excipients. An advanced way to use this method is the Sequential Rietveld Refinement (RSR), which aims, from a set of data of the same sample, to study the behavior of the material as a function of an external variable (e.g. temperature, pressure, time or chemical environment). In the present work, with the objective of studying the polymorphic transitions and the expansions / contractions of the unit cell parameters (PCU) of the pharmaceutical ingredients: spironolactone (SPR), lactose monohydrate (LACMH) and anhydrous lactose (LACA), the RSR in measurements obtained at different temperatures. The RSR was efficient so that the PCU were refined to temperatures close to the melting point of the materials. After the RSR, from the mathematical analysis of the obtained PCU, functions were proposed that govern the trend of these parameters when submitted to the temperature variation. With these functions the PCU were modeled in another modality of refinement, the Parametric Rietveld Refinement (RPR), thus, the PCU follow the modeling imposed by the equations obtained via RSR. The RPR was more efficient in the analyzes, which avoided loss of phases or problems of adjustments, resulting in more accurate information of the system. Although RSR and RPR are sophisticated methods for characterization of materials, preparation of refinement programming routines is not trivial, so a spreadsheet (i.e. SP-DLT spreadsheet) has been developed in this paper to facilitate the use of methods. The worksheet proved to be efficient and quick to program all the refinement routines presented in this paper. With the studies of the pharmaceutical inputs it was observed that in the SPR sample, the form I, with the increase in temperature, converts to form II. Alfalactose monohydrate undergoes dehydration and converts to alfalactose in the LACMH sample and to betalactose in the LACA sample. And, even with temperature increase, the betalactose does not undergo polymorphic phase change. Thus, it is understood that the medium may cause influence on the polymorphic transition route.

Keywords: X-ray powder diffraction. Spironolactone. Lactose monohydrate. Lactose anhydrous. Rietveld method. Sequential Rietveld Refinement. Parametric Rietveld Refinement.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Padrões de difração de raios X simulados para os polimorfos de TiO ₂ .	37
Figura 2. Representação computacional do tipo esferas e varetas para os polimorfos do TiO ₂ .	37
Figura 3. Representação computacional do tipo octaedros referentes aos polimorfos de TiO ₂ .	38
Figura 4. Relação das distâncias de ligações de hidrogênio inter-intramoleculares para duas formas polimórficas do mebendazol, formas C e A, respectivamente.	40
Figura 5. Expansão dos parâmetros de cela unitária <i>a</i> e <i>b</i> , com o aumento da temperatura, para o termoplástico elastômero (Sindiotático 1,2-Poli(1,3-Butadieno)).	43
Figura 6. Estrutura molecular da espirolactona (C ₂₄ H ₃₂ O ₄ S).	46
Figura 7. Padrões de difração de raios X simulados da espirolactona.	47
Figura 8. Estrutura molecular da alfalactose monoidratada (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ .H ₂ O).	48
Figura 9. Padrão de difração de raios X simulado da alfalactose monoidratada (LACTOS11).	49
Figura 10. Estruturas moleculares da alfalactose e betalactose, respectivamente (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁).	50
Figura 11. Padrões de difração de raios X simulados da lactose.	51
Figura 12. Espectro de ondas eletromagnéticas.	53
Figura 13. Processo de geração dos raios X a nível atômico.	54
Figura 14. O espectro gerado na emissão de raios X.	55
Figura 15. Representação geométrica da lei de Bragg.	57
Figura 16. Resultados obtidos via refinamento de Rietveld independente para a amostra WO ₃ .	66

Figura 17. Resultados obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld para a amostra WO ₃ .	67
Figura 18. Difratorômetro convencional da marca Rigaku, modelo RINT 2000.	76
Figura 19. Difratorômetro com sistema de aquecimento de amostras da marca Bruker, modelo D8 Advance.	77
Figura 20. Exemplos de difratogramas de raios X obtidos em diferentes temperaturas construídos via Topas v6 (a - b) e JST-XRD – Multi (c).	79
Figura 21. Sequência empregada, a partir de um conjunto de dados com variação de temperatura, para o RSR e o RPR.	81
Figura 22. Simulações de difratogramas a partir da influência do tamanho médio de cristalito.	85
Figura 23. Planilha SP-DLT desenvolvida para facilitar a programação de experimentos de RSR e RPR para ser utilizada no Topas.	88
Figura 24. Exemplo de programação empregada no RSR relacionando a variação dos parâmetros de cela unitária.	94
Figura 25. Exemplo de programação empregada no RRP relacionando os coeficientes angulares para o ajuste de equação de terceiro grau obtidos a partir do RSR.	97
Figura 26. Espectro de massas (A) e de cromatografia líquida (B), ambos para a amostra SPR.	99
Figura 27. MEV-FEG da amostra SPR.	100
Figura 28. EDS da amostra SPR.	101
Figura 29. Análise de DSC da amostra SPR.	102
Figura 30. Análise de TGA para a amostra SPR.	102
Figura 31. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR.	103
Figura 32. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR após tratamento térmico a 165 °C por 4 horas.	104

Figura 33. MEV-FEG da amostra SPR após tratamento térmico a 165 °C por 4 horas.	105
Figura 34. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR após um ano.	106
Figura 35. Figura de transição para a amostra SPR de 8 a 32° (2 θ).	107
Figura 36. Transição de fases polimórficas da amostra SPR em função do aquecimento.	108
Figura 37. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (<i>a</i> , <i>b</i> , e <i>c</i>), a partir do RSR, para a forma I da espirolactona.	110
Figura 38. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (<i>a</i> , <i>b</i> , e <i>c</i>), a partir do RSR, para a forma II da espirolactona.	113
Figura 39. Transição de fases polimórficas da amostra SPR em função do aquecimento.	117
Figura 40. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a forma I da espirolactona.	119
Figura 41. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a forma II da espirolactona.	121
Figura 42. MEV-FEG da amostra LACMH.	125
Figura 43. EDS da amostra LACMH.	126
Figura 44. Análise de DSC da amostra LACMH.	127
Figura 45. Análise de DTA da amostra LACMH.	127
Figura 46. Gráfico de Rietveld para a amostra LACMH.	128
Figura 47. Figura de transição para a amostra LACMH de 10 a 32° (2 θ).	129
Figura 48. Transição de fases polimórficas da amostra LACMH em função do aquecimento.	130
Figura 49. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> e β), a partir do RSR, para a alfalactose monoidratada.	132

Figura 50. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a alfalactose.	134
Figura 51. Transição de fases polimórficas da amostra LACMH em função do aquecimento.	137
Figura 52. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a forma alfalactose monoidratada da amostra LACMH.	139
Figura 53. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a alfalactose.	141
Figura 54. Microscopias da amostra LACA.	144
Figura 55. EDS da amostra LACA.	145
Figura 56. Análise de DTA da amostra LACA.	146
Figura 57. Gráfico de Rietveld para a amostra LACA.	146
Figura 58. Figura de transição para a amostra LACA de 8 a 32° (2 θ).	147
Figura 59. Transição de fases polimórficas da amostra LACA em função do aquecimento.	148
Figura 60. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a betalactose.	150
Figura 61. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a alfalactose monoidratada.	152
Figura 62. Transição de fases polimórficas da amostra LACA em função do aquecimento.	155
Figura 63. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RRP, para a forma betalactose da amostra LACA.	157
Figura 64. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a alfalactose monoidratada.	159
Figura 65. Programação para o RSR de amostra com quatro fases cristalinas em três temperaturas distinta.	171

Figura 66. Primeira parte do refinamento sequencial pelo método de Rietveld.	172
Figura 67. Programação do RSR para a primeira fase.	173
Figura 68. Programação do RSR para a segunda fase.	174
Figura 69. Início da programação para o refinamento da primeira temperatura analisada (25 ° C), para a primeira fase (forma I da SPR).	175
Figura 70. Final da programação do RSR para a primeira fase e início da segunda fase cristalina.	176
Figura 71. Programação das condições experimentais do difratômetro utilizado para o RSR e, também, para o RPR.	177
Figura 72. Programação para o RPR de amostra com quatro fases cristalinas em três temperaturas distinta.	178
Figura 73. Programação do RPR para a primeira fase.	179
Figura 74. Entrando com os dados experimentais na planilha SP-DLT.	182
Figura 75. Preenchendo os parâmetros de cela unitária na planilha SP-DLT.	184
Figura 76. Ajustando as posições atômicas e incluindo o beq , via jEdit.	185
Figura 77. Selecionando todas as colunas e as linhas referentes às posições atômicas e com o emprego do atalho Alt+Del, transforme-as em uma única linha.	185
Figura 78. Entrado com os dados dos sites atômicos na planilha SP-DLT.	186
Figura 79. Em <i>chossing the temperature</i> é necessário apagar os termos zerados.	188
Figura 80. Em <i>PRM temperature</i> é necessário apagar os termos zerados.	188
Figura 81. Ajustando as conexões do <i>defining PRM PHASE</i> .	189
Figura 82. Apagando os termos zerados em <i>defining PRM PHASE</i> .	190
Figura 83. Importando os dados obtidos via RSR, de extensão <i>.txt</i> , diretamente na planilha SP-DLT.	191
Figura 84. Visão do software ImageJ utilizado para contagem de partículas.	196
Figura 85. Trace a linha para a calibração sobre a barra de escala.	197

Figura 86. Calibrando a escala via software.	198
Figura 87. Editando a barra de escala dentro da imagem.	199
Figura 88. Contagem do tamanho de partícula da amostra SPR.	202
Figura 89. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra SPR.	203
Figura 90. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra de SPR.	204
Figura 91. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra LACMH.	205
Figura 92. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra LACMH.	206
Figura 93. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra LACMH.	207
Figura 94. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra LACA.	208
Figura 95. Representação esquemática para os termos: a) partícula, b) cristal e c) cristalito.	210

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estruturas cristalinas dos polimorfos de TiO ₂ encontrados no <i>Inorganic Crystal Structure Database</i> ICSD.	36
Tabela 2. Estruturas cristalinas dos polimorfos de espironolactona encontrados no CCDC.	47
Tabela 3. Estruturas cristalinas dos polimorfos de alfalactose monoidratada encontrados no CCDC.	49
Tabela 4. Estruturas cristalinas dos polimorfos de alfalactose e da betalactose, respectivamente, encontrados no CCDC.	51
Tabela 5. Os metais mais comuns utilizados na confecção de tubos de raios X e os seus comprimentos de ondas caraterísticos.	55
Tabela 6. Insumos farmacêuticos utilizados no trabalho e a suas respectivas siglas.	71
Tabela 7. Reportando os erros.	91
Tabela 8. Exemplo da função que é empregada no RSR.	93
Tabela 9. Exemplo da função que é empregada no RPR.	95
Tabela 10. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra SPR, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 31 °C até a temperatura final 157 °C, com incremento de 3 °C.	109
Tabela 11. Parâmetros de cela unitária da forma I, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra SPR.	112
Tabela 12. Parâmetros de cela unitária da forma II, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra SPR.	114
Tabela 13. Índices de qualidade de refinamento para a amostra SPR, via refinamento sequencial por Rietveld.	116
Tabela 14. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra SPR, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 31 °C até a temperatura final 157 °C, com incremento de 3 °C.	118

Tabela 15. Parâmetros de cela unitária da forma I, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra SPR.	120
Tabela 16. Parâmetros de cela unitária da forma II, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra SPR.	122
Tabela 17. Índices de qualidade de refinamento para a amostra SPR, via refinamento paramétrico por Rietveld.	124
Tabela 18. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACMH, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 30 °C até a temperatura final 160 °C, com incremento de 5 °C.	131
Tabela 19. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACMH.	133
Tabela 20. Parâmetros de cela unitária da alfalactose, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACMH.	135
Tabela 21. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACMH, via refinamento sequencial por Rietveld.	136
Tabela 22. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACMH, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 30 °C até a temperatura final 160 °C, com incremento de 5 °C.	138
Tabela 23. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACMH.	140
Tabela 24. Parâmetros de cela unitária da alfalactose, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACMH.	142
Tabela 25. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACMH, via refinamento paramétrico por Rietveld.	143
Tabela 26. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACA, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 25 °C até a temperatura final 155 °C, com incremento de 5 °C.	149
Tabela 27. Parâmetros de cela unitária da betalactose, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACA.	151

Tabela 28. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACA.	153
Tabela 29. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACA, via refinamento sequencial por Rietveld.	154
Tabela 30. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACA, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 25 °C até a temperatura final 155 °C, com incremento de 5 °C.	156
Tabela 31. Parâmetros de cela unitária da betalactose, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACA.	158
Tabela 32. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACA.	160
Tabela 33. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACA, via refinamento paramétrico por Rietveld.	161
Tabela 34. Tabela de Thompson modificada (τ).	211

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPES – Fundação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
PCU – parâmetros de cela unitária
RSR – refinamento sequencial por Rietveld
RPR – refinamento paramétrico por Rietveld
MR – método de Rietveld
AQF – análise quantitativa de fases
CIF – Crystallographic Information Framework
DSC – calorimetria diferencial de varredura
TGA – análise termogravimetria
LC-MS – cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas
EDS – espectroscopia de energia dispersiva de raios X
LabCACC – Laboratório Computacional de Análises Cristalográficas e Cristalinas
MEV – FEG – microscopia eletrônica de alta resolução de emissão por campo
WebCSD – Web Cambridge Structural Database
CSD – The Cambridge Structural Database
CCDC – The Cambridge Crystallographic Data Center
LACA – amostra de lactose anidra
SPR – amostra de espirolactona
LACMH – amostra de lactose monoidratada
DRXP – difração de raios X por pó
FDA – U.S. Food and Drug Administration
DCB – Denominações Comuns Brasileira
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
OP – orientação preferencial
MS – Microsoft
SP-DLT – planilha sequencial e paramétrica Diego Luiz Tita
PSF – *peak shape function*
DLS – *dynamic light scattering*
FWHM – *full width at half maximum*

LISTA DE SÍMBOLO

λ	comprimento de onda
E	energia
T	temperatura
d	distância interplanares
θ	ângulo de Bragg
t	fator de espalhamento
F	fator de estrutura
I_h	intensidade de Bragg para os planos hkl observado
I_{hc}	intensidade de Bragg para os planos hkl calculados
hkl	índices de Miller
\emptyset	correção da rugosidade superficial no ponto i
S	fator de escala
J_h	multiplicidade da reflexão
$L_p h$	fator de Lorentz e de polarização
F_h	fator de estrutura
G_{hi}	função de perfil
a_{hi}	função da assimetria na posição i -ésima
P_h	função para a correção da orientação preferencial
y_{bi}	intensidade do background na posição i -ésima
S_y	equação do resíduo
w_i	$1/y_i$ (peso)
y_i	intensidade observada no passo i
y_{ci}	intensidade calculada no passo i
N	número de pontos
P	número de parâmetros utilizados no refinamento
R_{exp}	expected R-factor
R_{wp}	weighted profile R-factor
GOF	goodness of fit

$d-DW$	estatística d de Durbin-Watson
M	massa da cela unitária em unidade atômica de massa
V	volume da cela unitária
\bar{x}	média
x	dado da série
σ	desvio padrão amostral
n	tamanho da população
τ	coeficiente de Thompson modificado
t	valor de t -student para $\alpha = 0,05$ e graus de liberdade $n-2$
Ω	função do alargamento instrumental
Λ	função do espalhamento do comprimento de onda
Ψ	função da amostra

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	35
1.1	Os materiais e o polimorfismo.....	35
1.2	Os materiais e a temperatura.....	41
1.3	O polimorfismo e os insumos farmacêuticos ativos e inativos	43
1.4	Os insumos farmacêuticos analisados nesse trabalho	45
1.4.1	espironolactona	45
1.4.2	alfalactose monoidratada.....	48
1.4.3	lactose anidra	50
1.5	O que são raios X e sua funcionalização na caracterização de materiais....	52
1.5.1	A lei de Bragg	56
1.5.2	Os difratogramas	57
1.5.3	Os difratômetros	60
1.6	O método de Rietveld.....	60
1.6.1	Os índices R's de monitoramento dos refinamentos	62
1.6.2	O refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld	64
2	MOTIVAÇÃO	69
3	OBJETIVOS	70
4	MATERIAIS E MÉTODOS	71
4.1	Recebimento e preparação dos materiais.....	71
4.2	Revisão bibliográfica das estruturas.....	72
4.3	Cromatografia líquida e espectroscopia de massas (LC-MS)	72
4.4	Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG)	73
4.5	Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	74
4.6	Análise térmica.....	74
4.7	Difração de raios X por pó (convencional e com variação de temperatura) .	74
4.8	Identificação das formas cristalinas presentes em cada temperatura	78
4.9	A metodologia de refinamento aplicada aos refinamentos sequencial e paramétrico com o método de Rietveld.....	80
4.9.1.1	As dificuldades encontradas no refinamento por Rietveld para materiais farmacêuticos.....	83
4.9.2	A planilha.....	86
4.9.2.1	Estatística para exclusão de um ponto fora da curva (<i>outliers</i>)	89
4.9.3	A apresentação dos erros.....	91

5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	92
5.1	O funcionamento da planilha SP-DLT	92
5.2	A espirolactona	98
5.3	A alfactose monoidratada.....	125
5.4	A lactose anidra	144
6	CONCLUSÕES	162
7	REFERÊNCIAS.....	163
8	APÊNDICES.....	170
9	ANEXOS	211

1 INTRODUÇÃO

Pensando em uma linha de raciocínio lógica para abordar os temas que embasam as discussões dessa tese, segue, primeiramente, uma contextualização do que é polimorfismo e qual a influência dessas diferentes estruturas, em especial por agregar características físicas e químicas distintas para os materiais. Nessa primeira abordagem, como exemplo, serão discutidas as formas polimórficas do dióxido de titânio (TiO_2), que é um clássico da literatura em ciências de materiais e, depois disso, a discussão será direcionada para área farmacêutica, mais especificamente para fármacos e excipientes.

No mais, serão apresentados alguns casos, que foram reportados na literatura, de transições indesejadas em medicamentos que já vinham sendo comercializados à população e a importância de se conhecer e controlar o maior número dessas possíveis transições visando um medicamento mais seguro e de maior eficiência.

Por fim, será discutida a teoria dos refinamentos envolvidos (método de Rietveld, refinamento sequencial por Rietveld e refinamento paramétrico por Rietveld), assim como a técnica de difração de raios X por pó.

1.1 Os materiais e o polimorfismo

Na área das ciências dos materiais é comum o processo de síntese e caracterização de materiais com diferentes propriedades visando, como objetivo final, a busca por potenciais aplicações.

Um material de grande versatilidade, em especial pela grande quantidade de aplicações, é o dióxido de titânio (TiO_2), que existe naturalmente em três diferentes fases: rutilo (tetragonal – $P4_2/mnm$), anatásio (tetragonal – $I4_1/amd$) e bruquita (ortorrômbico - $Pbca$)^{1,2}.

Essas fases são compostas pela mesma estrutura básica (TiO_2), com um átomo de titânio circundado por outros seis átomos de oxigênio. O que difere entre essas fases é basicamente “distorções”, que podem gerar diferentes ângulos e distâncias de ligações que, por consequência, ditam como esse material é arranjado no espaço^{3,4}.

Assim, o polimorfismo (i.e. do grego *poli* = muitas e *morphos* = formas) se define como a habilidade de uma mesma substância, no estado sólido, se apresentar em duas ou mais estruturas cristalinas distintas. Conseqüentemente, cada forma polimórfica é uma fase cristalina diferente, que apresenta características cristalográficas diferentes, que no caso podem acarretar em propriedades físico-químicas diferentes ³⁻⁵.

Na Tabela 1 seguem algumas informações cristalográficas como, parâmetros de cela unitária (*a*, *b*, *c*, α , β e γ) e volume para os polimorfos do TiO₂.

Tabela 1. Estruturas cristalinas dos polimorfos de TiO₂ encontrados no *Inorganic Crystal Structure Database* ICSD. A tabela contém código ICSD, nome da forma polimórfica, grupo espacial, dimensões de cela unitária e volume. Observa-se que cristalograficamente as estruturas são distintas, com parâmetros de cela unitária, grupos espaciais e volumes diferentes.

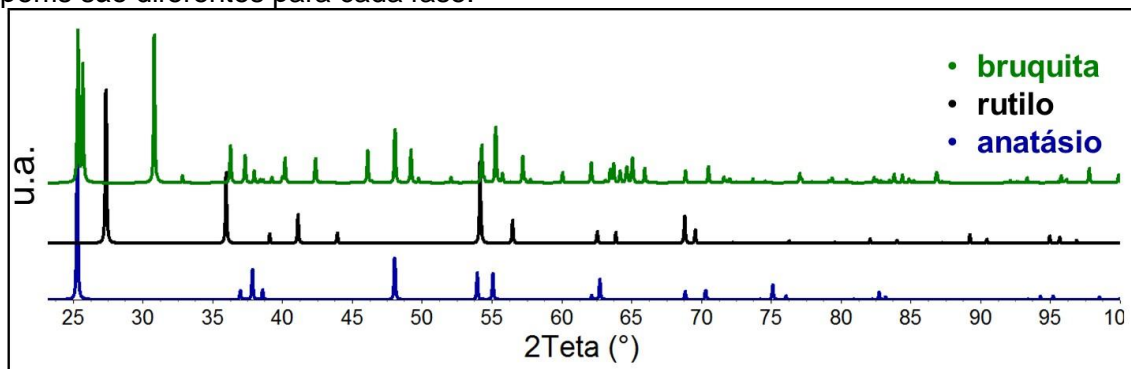
Código	Forma	Grupo Espacial	a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\alpha = \beta = \gamma$ (°)	Volume (Å ³)
93098-ICSD ⁶	anatásio	<i>I4₁/amd</i>	3,7840(7)	3,7840(7)	9,500(2)	90	136,027
39168-ICSD ⁷	rutilo	<i>P4₂/mnm</i>	4,6043(3)	4,6043(3)	2,9677(3)	90	62,914
36408-ICSD ⁸	bruquita	<i>Pbca</i>	9,174(2)	9,174(2)	5,138(2)	90	256,844

Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD) ⁹.

Todas as formas são encontradas naturalmente em minerais específicos, mas podem ser preparadas sinteticamente. Em geral, o rutilo, de natureza mais comum, é a fase de maior estabilidade nas condições ambientes e tem sua formação favorecida por altas temperaturas. O anatásio e a bruquita são polimorfos metaestáveis que transitam para rutilo, de forma irreversível. A fase bruquita, é uma fase de baixa estabilidade e pouco de interesse na área de materiais ^{1,2,10}.

Na Figura 1 são apresentados os padrões de difração de raios X simulados para as três formas polimórficas de TiO₂ (bruquita, rutilo e anatásio). As informações utilizadas para a construção desses gráficos foram obtidas via banco ICSD, sendo os mesmos que foram apresentados na Tabela 1. A região de 25 a 35° (2 θ) é excelente para se observar as diferenças entres as fases devido ao espaçamento dos picos de difração.

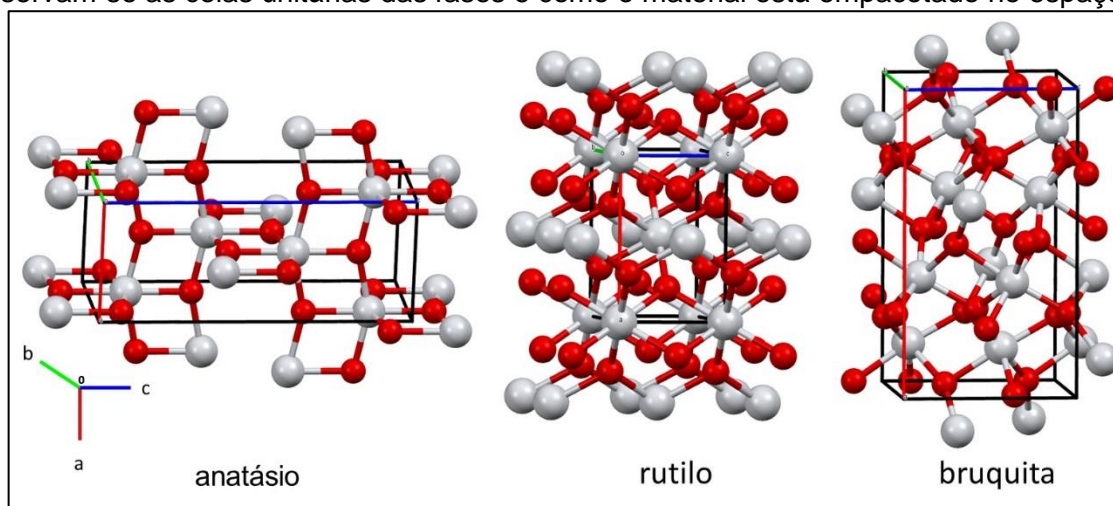
Figura 1. Padrões de difração de raios X simulados para os polimorfos de TiO_2 . Em verde a fase da bruquita, em preto o rutilo e em azul o anatásio. A partir dos padrões observa-se que os perfis são diferentes para cada fase.



Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo ICSD.

Na Figura 2, construída com os dados obtidos via ICSD que compõem a Tabela 1, observam-se as estruturas de empacotamento dos átomos de TiO_2 , sendo que as esferas pratas representam a posição do átomo de titânio e a vermelha de oxigênio, além das celas unitárias*.

Figura 2. Representação computacional do tipo esferas e varetas para os polimorfos do TiO_2 . As esferas pratas representam as posições espaciais do titânio e as vermelhas as do oxigênio. Observam-se as celas unitárias das fases e como o material está empacotado no espaço.

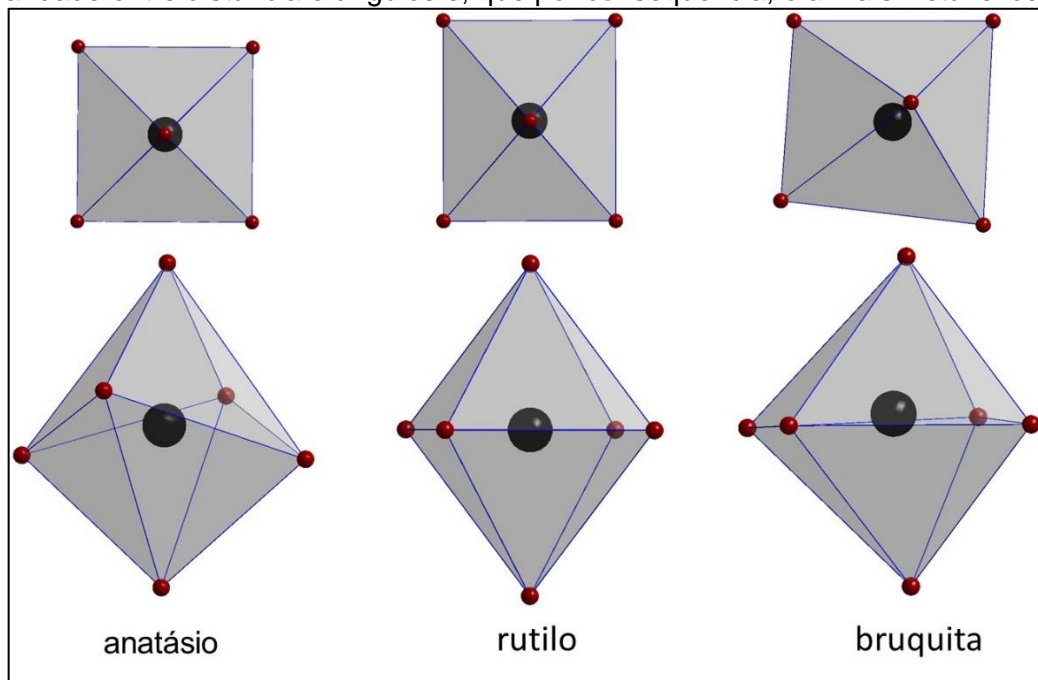


Fonte: TITA, D. L. via software Mercury v 3.5.1¹¹

* A cela unitária é a menor unidade imaginária de um dado grupo organizado de átomos, íons ou moléculas que se replica nas três dimensões e descreve o empacotamento do material. Sendo que as celas unitárias são descritas pelo comprimento das arestas, a , b e c , e os ângulos entre elas α , β e γ ⁴⁷.

Para uma melhor visualização, os octaedros de cada fase foram plotados na Figura 3. Nesse caso observa-se que o anatásio apresenta um arranjo espacial que o torna mais estável, haja vista os átomos de oxigênio que circundam o átomo central serem ordenados um para cima e um para baixo. No rutilo, o quadrado central formado pelo átomo de titânio, circundado por quatro de oxigênio, é distribuído de forma eficiente no espaço. No caso da bruquita o octaedro apresenta torções que podem ser melhor observadas em relação ao átomo central que tem a tendência de ficar mais próximo de alguns oxigênios em comparação a outros, causando assim, um acúmulo de tensões e maior instabilidade da estrutura.

Figura 3. Representação computacional do tipo octaedros referentes aos polimorfos de TiO_2 . Aqui observam-se como os átomos de oxigênio, representados pelas bolas vermelhas, e o de titânio, pelas pretas, são espacialmente distribuídos. As estruturas do anatásio e rutilo apresentam uma boa distribuição das partículas no espaço, já a bruquita apresenta grande irregularidade entre distância e ângulos e, que por consequência, é a mais instável das três.



Fonte: TITA, D. L. via software Diamond v 3.2k ¹².

Com isso, entende-se que as diferentes estruturas formadas pelos polimorfos do TiO_2 cristalizam com empacotamentos diferentes que podem apresentarem estabilidades diferentes. Sendo assim, fatores externos como, por exemplo, um tratamento térmico, podem fazer com que fases de menor instabilidade, nesse caso, como a bruquita e o anatásio, se transformem exotermicamente e de forma irreversível para rutilo, que é o polimorfo mais estável ¹.

Para concluir o tema, o TiO_2 foi utilizado como exemplo por ser um sistema mais simples, o que facilita a observação de suas estruturas espacialmente organizadas. Quando comparado com insumos farmacêuticos, na grande maioria dos casos, no lugar de átomos posicionados no espaço, estaremos observando moléculas de tamanho expressivo, sendo assim, fica mais difícil perceber as “distorções” e diferenças nas suas distâncias de ligação devido à complexidade dos sistemas.

Um exemplo clássico na literatura farmacêutica é o princípio ativo mebendazol. Suas moléculas podem se estabilizarem, devido às ligações do tipo ligações de hidrogênio[†] intra e intermoleculares e, assim, gerarem estruturas de empacotamentos diferentes.

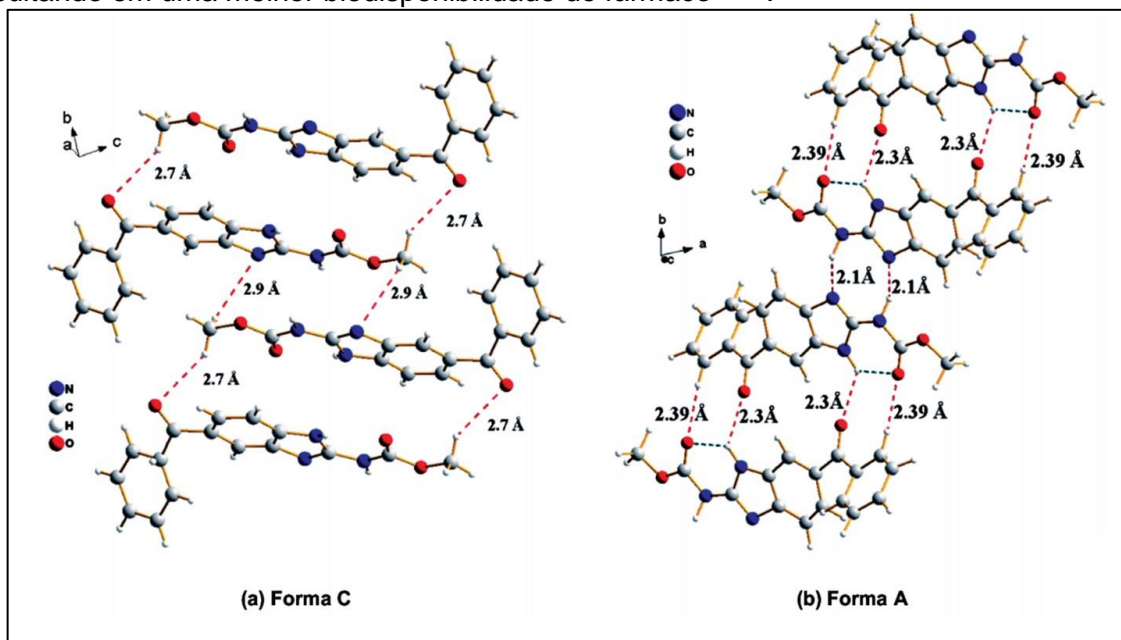
Na Figura 4. observa-se o empacotamento de dois polimorfos do mebendazol, a forma C (**a**) e a forma A (**b**). Começando pela forma A, as distâncias entre as ligações de hidrogênio intermoleculares (linha tracejada vermelha) são de 2,30, 2,39 e 2,10 Å, além disso, nesse caso também é possível observar a presença de ligação de hidrogênio intramolecular (linha tracejada verde). Assim, na totalidade os anéis formados pelas ligações de hidrogênio há uma maior estabilização no empacotamento das moléculas, gerando assim a estrutura de maior estabilidade. No caso da forma C, não existe a formação de anéis e as distâncias das ligações de hidrogênio são de 2,7 e 2,9 Å, maiores em comparação com a forma A, sendo assim essa estrutura apresenta menor estabilidade^{13,14}.

O interessante nesse caso é que a estrutura de menor estabilidade (forma C) é a mais solúvel e, assim, é a que apresenta maior biodisponibilidade[‡] do fármaco no organismo, já a forma A, sua biodisponibilidade é diminuída, sendo assim, ela passa sem ser notada pelo organismo e a posteriori é excretada, funcionando, basicamente, como um placebo, sem a devida função farmacológica. Nesse caso, a forma A é inadequada na composição de medicamentos acima de 30 %^{13,14}.

[†] As ligações de hidrogênio, são as mais intensas das forças de ligação do tipo “fracas” (i.e. forças de Van der Waals, forças de London, íon-dipolo e dipolo-dipolo) e são caracterizadas por um átomo de hidrogênio (H) que se localiza entre dois átomos pequenos, mas altamente eletronegativos (nitrogênio (N), oxigênio (O) ou flúor(F)) com um par de elétrons isolado. Para isso, uma molécula precisa conter um grupo O – H, N – H ou H – F, para proporcionar um átomo de H e outro átomo O, N ou F para gerar o par isolado de elétrons. Um exemplo pode ser a água (H – O – H ... O), sendo que os três pontos referem-se a ligação de hidrogênio entre o H da primeira molécula e o O da segunda⁸⁶.

[‡] Biodisponibilidade é um termo que indica, via curva de concentração/tempo, a velocidade e extensão da absorção de um fármaco pelo organismo²⁶.

Figura 4. Relação das distâncias de ligações de hidrogênio inter-intramoleculares para duas formas polimórficas do mebendazol, formas C e A, respectivamente. A forma C (a) apresenta ligações de hidrogênio mais fracas que a forma A (b), sendo assim, a forma C tem menor estabilidade e, conseqüentemente, maior solubilidade, sendo assim é a mais solúvel, resultando em uma melhor biodisponibilidade do fármaco ^{13,14}.



Fonte: ARAUJO, G. L. B., et. al., 2012 ⁴.

Questões relacionadas à cinética e termodinâmica impedem que todos os fármacos, no estado sólido, apresentem a habilidade de se cristalizarem em diferentes estruturas cristalinas, se não, sem exceção alguma, todos eles seriam capazes de gerarem diferentes fases polimórficas ⁴.

A *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) ¹⁵, que é a agência norte americana de regularização farmacêutica, em um guia direcionado à indústria, apresenta uma normatização para algumas terminologias empregadas na área. Sendo assim, por essa definição, formas polimórficas se referem a formas cristalinas e amorfas, bem como formas solvatadas e anidras ¹⁵. A seguir seguem as definições.

- As **formas cristalinas** apresentam diferentes arranjos e/ou conformações moleculares no retículo cristalino.
- As **formas amorfas** são caracterizadas pela desordem nos arranjos moleculares, sendo que não é possível distinguir o retículo cristalino.
- Os **solvatos ou pseudopolimorfos** são formas cristalinas quem contém incorporação de solventes nas estruturas, sendo que, quando esse solvente for a molécula de água, ela passa a ser chamada de forma hidratada.

Essa definição, mesmo por não ser tão atual (i.e. 2007) é válida e bem aceita tanto na indústria farmacêutica, quanto na comunidade científica, mas um ponto a se destacar é que como polimorfismo está relacionado com sólidos cristalinos, a forma amorfa não deveria ser considerada um polimorfo, haja vista, não apresentar ordem a longo alcance. Sendo assim, o termo polimorfismo, nesse guia, é mais direcionado para “a ocorrência de diferentes formas para um mesmo fármaco”, não se importando se essas diferentes estruturas sejam amorfas ou cristalinas ⁴.

Para esse trabalho, o termo polimorfismo sempre será relacionado com estruturas que sejam cristalinas, podendo ser fases polimórficas distintas, fases anidras ou com a adição de solvatos, mas, sempre cristalinas.

1.2 Os materiais e a temperatura

Por definição temperatura (T) é uma propriedade que determina o fluxo de energia, sob forma de calor. Sendo assim, se duas amostras forem postas em contato, delimitadas por uma parede rígida e termicamente condutora, a energia será transmitida da amostra de maior temperatura para a de menor ¹⁶.

O calor, em termos moleculares, é a transferência de energia utilizando-se do movimento caótico (aleatório) das moléculas. Esse movimento desordenado é conhecido como movimento térmico, assim, uma vizinhança quente, devido a um

maior movimento térmico, estimula um sistema frio, a movimentação mais vigorosa de suas moléculas, o que por consequência aumenta a energia do sistema. O contrário também é verdadeiro, só que como a energia é transferida do sistema para a vizinhança, existe uma diminuição da energia do sistema ¹⁶.

É comum, no estado sólido, que todos os átomos vibrem muito rapidamente em torno de suas próprias posições, dentro de um cristal. Essas vibrações atômicas podem ser consideradas como imperfeições ou defeitos, haja vista, que em determinado momento, pode ser que nem todos os átomos estejam vibrando com a mesma frequência ou amplitude, nem com a mesma energia. Em uma determinada temperatura, existirá uma distribuição média de energia para os átomos que compõem a estrutura. Com o aumento da temperatura, essa energia média tende a aumentar, sendo que a temperatura de um sólido é uma medida da atividade vibracional média de átomos e moléculas ¹⁷.

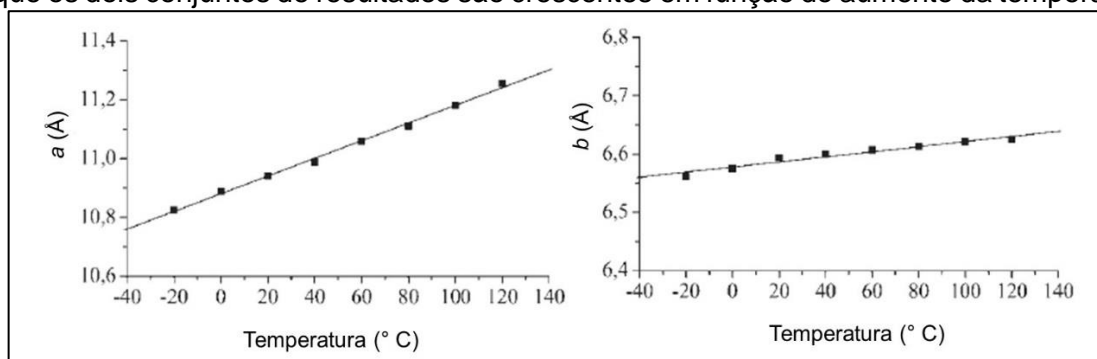
Muitas das propriedades pertinentes dos materiais no estado sólido são manifestações desse movimento de vibrações atômicas (e.g. a fusão de um material ocorre quando as vibrações atômicas são suficientemente vigorosas e conseguem romper uma grande quantidade de ligações atômicas) ¹⁷.

A variação de temperatura em um sistema, além das consequências já citadas acima, como o rompimento de ligações atômicas que podem causar uma transição de estado físico da matéria, por exemplo, podem também causar transições de fases polimórficas, induzir mudanças de cristalinidade, alterar o tamanho médio dos cristalitos e influenciar na expansão da cela unitária (i.e. em seu volume).

Para contextualizar o assunto, um estudo de um termoplástico elastômero (Sindiotático 1,2-Poli(1,3-Butadieno)), realizado por Napolitano e colaboradores ¹⁸ mostrou que tratamentos térmicos e mecânicos induziram mudanças na cristalinidade, no tamanho de cristalito e na cela unitária, mas não causaram, nesse caso, mudanças polimórficas. No artigo, as técnicas empregadas para elucidar essas mudanças foram calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raios X ¹⁸.

Na Figura 5 são apresentados os gráficos dos parâmetros de cela unitária (a e b), em Å, pela temperatura ($^{\circ}\text{C}$) de coleta dos difratogramas. Ali observa-se que com o aumento da temperatura os eixos a e b dilatam, o que conseqüentemente aumenta o volume da cela unitária do material.

Figura 5. Expansão dos parâmetros de cela unitária a e b , com o aumento da temperatura, para o termoplástico elastômero (Sindiotático 1,2-Poli(1,3-Butadieno)). Nesse caso observam-se que os dois conjuntos de resultados são crescentes em função do aumento da temperatura.



Fonte: Adaptado de NAPOLITANO, R. et al. ¹⁸

1.3 O polimorfismo e os insumos farmacêuticos ativos e inativos

A estabilidade de produtos farmacêuticos é um parâmetro que está relacionado com qualidade, segurança e eficácia. É definida como sendo o tempo durante o qual um medicamento ou mesmo um fármaco mantém, dentro dos limites especificados e durante todo o tempo de estocagem e uso, as mesmas características que possuía no período de produção ^{19,20}.

Alguns fatores ambientais como temperatura, umidade, luz e outros fatores relacionados ao próprio produto como suas propriedades químicas e físicas, formas farmacêuticas, composição, processos de fabricação e embalagem, podem influenciar na estabilidade do produto final ²⁰. Um produto de baixa estabilidade pode sofrer mudanças em suas propriedades químicas e físicas tais como, transições indesejáveis de fases polimórficas, desidratação, hidratação, ponto de fusão, reatividade química, solubilidade, taxa de dissolução, densidade, propriedades óticas, mecânicas e termodinâmicas, cinética e na reatividade de superfície. Sendo assim, podem ter efeito direto na capacidade de processamento e/ou fabricação, se essa instabilidade estiver associada às matérias-primas, bem como diminuir a performance do produto final e, assim, comprometer um tratamento médico ^{5,15}.

Na literatura são reportados alguns casos de medicamentos disponibilizados para a população onde foram constatadas diminuição em performance através de análises da própria indústria farmacêutica, ou por observações feitas por médicos e especialistas em saúde pública²¹. O TegretoI® (carbamazepina), um anticonvulsivante, que em 1988 foi observada a conversão de uma fase anidra para uma fase di-hidratada²². O Norvir® (ritonavir), um antirretroviral, que em 1998 apresentou falha na dissolução das cápsulas orais, por decorrência do aparecimento de uma forma mais termodinamicamente estável, o que comprometeu o tratamento de muitos pacientes²³. E em um caso mais recente, de 2010, houve um recall de 60 milhões de comprimidos de Avalide® (hidroclorotizada + irbesartana), utilizados no controle de hipertensão, que devido às variações polimórficas da irbesartana observou-se uma diminuição em sua solubilidade, o que conseqüentemente fez com que os comprimidos tivessem uma dissolução muito mais lenta e uma menor performance²¹.

Vários métodos analíticos são empregados para o estudo de polimorfismo, dentre eles: calorimetria exploratória diferencial (DSC), microcalorimetria, termogravimetria (TG), isotermas de adsorção/dessorção de vapor de água, espectroscopia de infravermelho, Raman, ressonância magnética nuclear no estado sólido, difração de raios X, ensaios de solubilidade e microscopias de imageamento²⁴.

1.4 Os insumos farmacêuticos analisados nesse trabalho

Os materiais analisados nessa tese foram divididos em dois grupos, sendo (i) o fármaco cristalino *espironolactona* e (ii) os excipientes cristalinos *alfalactose monoidratada*[§] e *lactose anidra*. Sendo assim, segue abaixo algumas características importantes para a compreensão dos estudos de difração de raios X que envolvem essas formas.

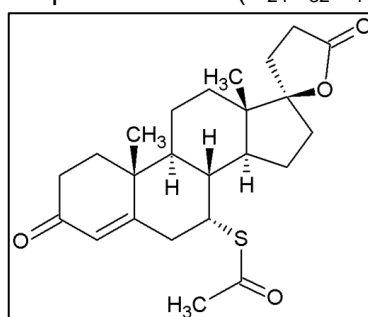
1.4.1 espironolactona

A espironolactona, que é um antagonista específico da aldosterona, atua principalmente através da ligação competitiva em receptores de troca de sódio-potássio localizados no túbulo contorcido distal. Sua função é aumentar a quantidade de sódio e água para ser excretado pelo organismo enquanto o potássio é retido. Sendo assim, age tanto como um diurético, quanto um fármaco anti-hipertensivo, podendo ser administrada sozinha ou com outros agentes diuréticos ²⁵.

[§] Segundo as novas regras ortográficas do português, que entrou em vigor no dia primeiro de janeiro de 2016, dentre as principais modificações, o hífen deve ser empregado se o segundo elemento de uma palavra composta começar com a letra *h*, sendo assim, seguem alguns exemplos: geo-história, giga-hertz e super-herói. A partir disso, o correto pela ortografia brasileira seria mono-hidratada, mas em 2017, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em um documento atualizado referente às Denominações Comuns Brasileira (DCB), mais especificamente na lista de insumos farmacêuticos ⁸⁷, trata o excipiente cristalino como alfalactose monoidratada.

Partindo da indicação terapêutica e da sua ação no organismo, a espironolactona (γ -Lactona do ácido (7 α ,17 α)-7-(acetiltio)-17-hidroxi-3-oxopregn-4-eno-21-carboxílico [CAS 52-01-7]), cuja estrutura molecular pode ser vista na Figura 6, tem massa molecular de 416,57 g mol⁻¹ e é caracterizada, segundo a Farmacopeia Brasileira, como sendo um pó cristalino de cor branca ou bege clara, estável a pressão e temperatura ambiente, praticamente insolúvel em água, de fácil solubilidade em clorofórmio, benzeno, acetato de etila e em etanol absoluto e pouco solúvel em metanol ²⁶.

Figura 6. Estrutura molecular da espironolactona (C₂₄H₃₂O₄S).



Fonte: TITA, D. L.

Dois polimorfos conhecidos e estáveis que têm estrutura cristalina ortorrômbica são descritos na literatura como sendo a forma I ²⁷ e II ²⁸ da espironolactona.

Em relação a termodinâmica das transições dessas duas fases, a forma I, que tem ponto de fusão próximo a faixa de 100 a 120 °C, funde e se recristaliza em forma II, que é a fase usualmente empregada na composição de medicamentos e a mais estável termodinamicamente. Já a forma II apresenta ponto de fusão de 210 °C ^{29,30}.

Existe também, reportada na literatura, uma forma hidratada da espironolactona que apresenta uma menor dissolução em comparação à forma II. Em estudos de análise térmica observa-se que a desidratação desta forma ocorre por volta de 80 °C e que em 149 °C esse material se funde de forma direta sem transitar por nenhuma outra forma cristalina de espironolactona ²⁹.

Foram encontradas quatro estruturas com adição de solventes, sendo a primeira de espironolactona com acetronitrila (2:1) (Código KIKWUW³¹), sacarina mais água (WUWREM²⁹), somente sacarina (WUWRIQ²⁹) e, por fim, a forma hidratada da espironolactona (WUWROW²⁹).

Na Tabela 2 são apresentadas as dimensões de cela unitária e grupo espacial das estruturas cristalinas das principais formas polimórficas de espironolactona encontradas no CCDC.

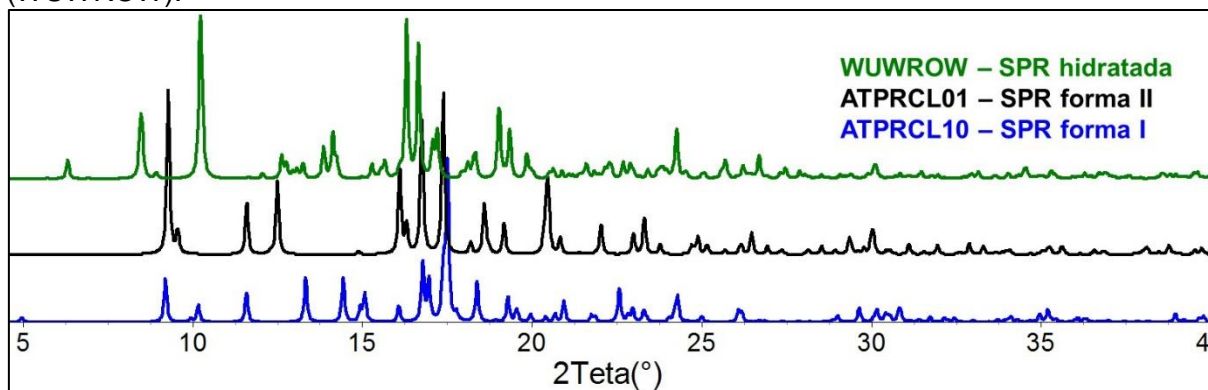
Tabela 2. Estruturas cristalinas dos polimorfos de espironolactona encontrados no CCDC. Código CCDC, nome da forma, grupo espacial e dimensões de cela unitária.

Código	Forma	Grupo Espacial	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
ATPRCL10 ²⁷	I	$P2_12_12_1$	9,976(2)	35,573(7)	6,225(3)	90	90	90
ATPRCL01 ²⁸	II	$P2_12_12_1$	10,584(4)	11,005(2)	18,996(3)	90	90	90
WUWROW ²⁹	Hidrat.	$P2_12_12_1$	14,0133(3)	15,6692(3)	30,9146(6)	90	90	90

Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

Na Figura 7 são apresentados os padrões de difração de raios X simulados a partir das estruturas das três formas apresentadas na tabela anterior.

Figura 7. Padrões de difração de raios X simulados da espironolactona. A linha azul representa a forma I (ATPRCL10), a preta da II (ATPRCL01) e a verde da hidratada (WUWROW).

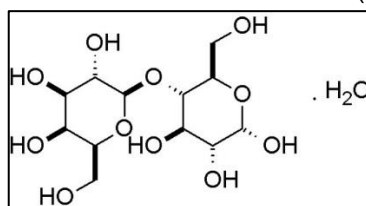


Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

1.4.2 alfalactose monoidratada

A alfalactose monoidratada (β -D-Gal-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glc, 4-O- β -D-Galactopiranosil- α -D-glucose [CAS- 5989-81-1]), cuja estrutura molecular pode ser vista na Figura 8, apresenta massa molecular de 360,31 g mol⁻¹ e é um dissacarídeo natural, obtido do leite, formado por uma molécula de galactose e uma de glicose ³².

Figura 8. Estrutura molecular da alfalactose monoidratada (C₁₂H₂₂O₁₁.H₂O).



Fonte: TITA, D. L.

A alfalactose monoidratada, que apresenta ponto de fusão de 201-202 °C, é um pó de coloração branca ou quase branca, inodoro e ligeiramente doce, praticamente insolúvel em clorofórmio, etanol e éter e solúvel em água. Na indústria farmacêutica o excipiente é amplamente empregado como agente diluente e aglutinante de comprimidos e cápsulas ³².

No estado sólido apresenta várias formas cristalinas estáveis, dependendo das condições de cristalização e secagem, como, alfalactose monoidratada, que é a forma mais comum comercialmente disponível, ou as forma anidras α -lactose e β -lactose ³².

Foram encontradas duas estruturas com adição de solventes, sendo a primeira de um complexo de lactose cálcio e bromo heptaidratado (LABCCCB ³³) e um outro de lactose cálcio e cloro heptaidratado (LACTCC10 ³⁴).

Em relação às estruturas cristalográficas da alfalactose monoidratada, que é a forma geralmente encontrada em medicamentos, na Tabela 3, são apresentados os seus dados cristalográficos.

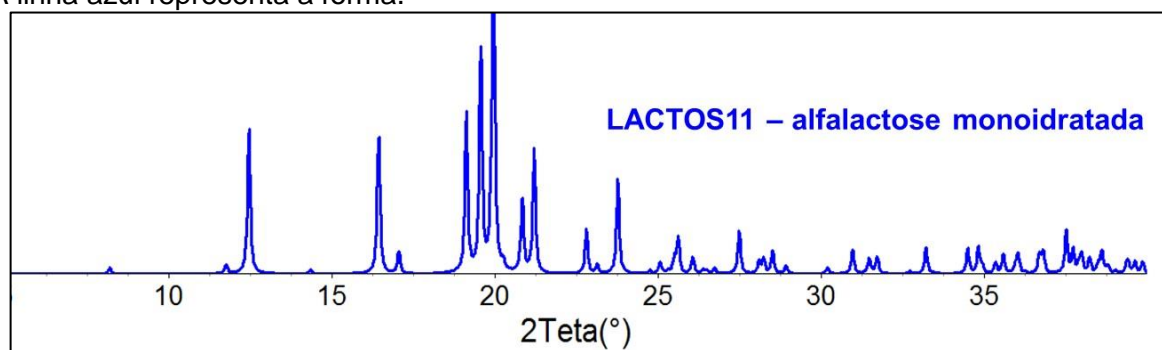
Tabela 3. Estruturas cristalinas dos polimorfos de alfalactose monoidratada encontrados no CCDC. Código CCDC, nome da forma, grupo espacial e dimensões de cela unitária.

Código	Forma	Grupo Espacial	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
LACTOS01 ³⁵	α	$P2_1$	7,815	21,567	4,844	90	106,20	90
LACTOS02 ³⁶	α	$P2_1$	7,980(20)	21,680(60)	4,836(10)	90	21.680(60)	90
LACTOS03 ³⁷	α	$P2_1$	7,937(2)	21,568(7)	4,815(1)	90	109,77(2)	90
LACTOS10 ³⁸	α	$P2_1$	7,982(2)	21,562(3)	4,824(1)	90	109,57(3)	90
LACTOS11 ³⁹	α	$P2_1$	4,7830(5)	21,540(2)	7,7599(8)	90	105,911(2)	90
LACTOS12 ⁴⁰	α	$P2_1$	7,772(0)	21,582(0)	4,817(0)	90	74,06(0)	90

Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

Como a literatura reporta várias estruturas para uma mesma forma polimórfica, como pode ser visto na tabela anterior, para esse trabalho, a estrutura LACTOS11 foi a escolhida para os cálculos haja vista apresentar o padrão mais próximos em comparação ao dados observados, sendo assim, na Figura 9 segue o padrão de difração de raios X gerado a partir dessa forma.

Figura 9. Padrão de difração de raios X simulado da alfalactose monoidratada (LACTOS11). A linha azul representa a forma.

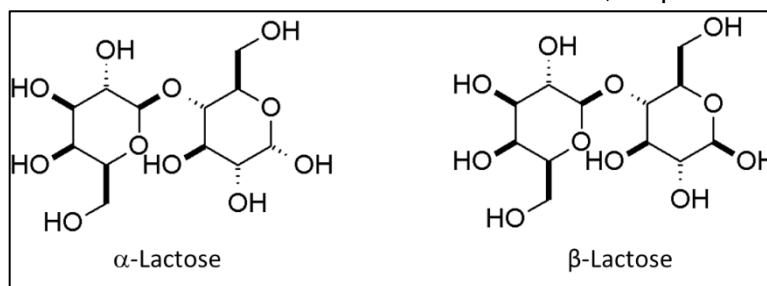


Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

1.4.3 lactose anidra

A lactose anidra (D-Glucose, 4-O-β-D-galactopiranosil [CAS 63-42-3]) é um excipiente empregado na compressão direta de comprimidos por apresentar propriedades favoráveis de fluxo e características de compressão desejáveis para fabricação de cápsulas e comprimidos. Além disso, é um material de preenchimento inerte, diluente e, por apresentar baixo teor de umidade, pode ser utilizado em conjunto com fármacos sensíveis à umidade ³². Pode apresentar-se em duas conformações distintas: alfa ou betalactose e cujas estruturas moleculares podem ser vistas na Figura 10.

Figura 10. Estruturas moleculares da alfalactose e betalactose, respectivamente (C₁₂H₂₂O₁₁).



Fonte: TITA, D.L.

A alfa e a betalactose, que são solúveis em água, pouco solúveis em etanol (95%) e éter, apresentam pontos de fusão diferentes, sendo a primeira em 223,0 °C e a segunda em 252,2 °C. Seu pó é composto por partículas brancas ou esbranquiçadas. No mercado existem várias marcas diferentes de lactose anidra, sendo que, geralmente, apresentam de 70-80% da fase beta e de 20-30% da alfa ³².

Na Tabela 4 são apresentados os dados cristalográficos para ambas as formas de lactose.

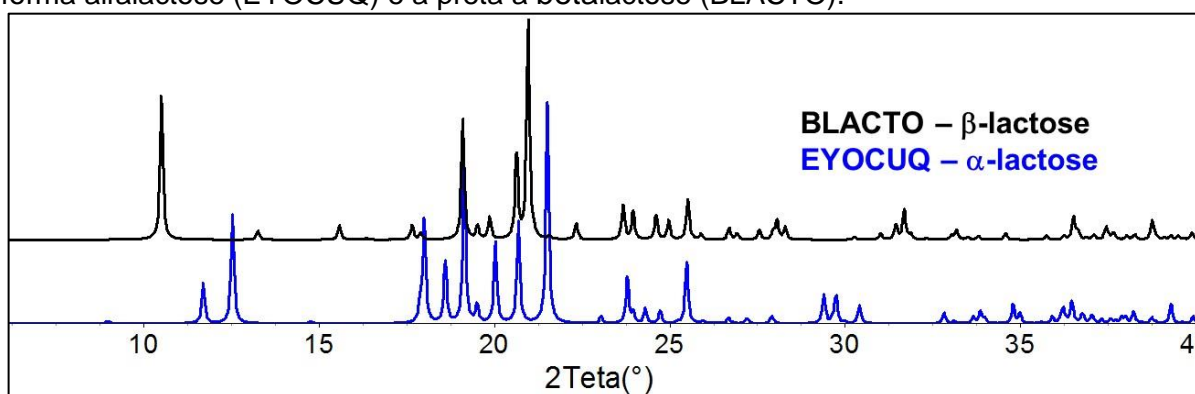
Tabela 4. Estruturas cristalinas dos polimorfos de alfalactose e da betalactose, respectivamente, encontrados no CCDC. Código CCDC, nome da forma, grupo espacial e dimensões de cela unitária. (* Forma)

Nome	*	Grupo Espacial	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (°)	β (°)	γ (°)
EYOCUQ ⁴¹	α	$P2_1$	7,7795(2)	19,6931(6)	4,9064(11)	90	103,690(15)	90
EYOCUQ01 ⁴²	α	P_1	7,652(0)	19,864(0)	4,988(0)	92,03(0)	106,26(0)	97,15(0)
BLACTO ⁴³	β	$P2_1$	10,839(6)	13,349(6)	4,954(5)	90	91,31(9)	90
BLACTO01 ³⁶	β	$P2_1$	10,810(30)	13,340(40)	4,840(20)	90	91,25(13)	90
BLACTO02 ⁴⁴	β	$P2_1$	4,933(0)	13,270(1)	10,779(0)	90	91,55(0)	90
LAKKEO ⁴⁵	$\alpha + \beta$ (1:1)	P_1	7,626(0)	19,656(1)	5,061(0)	95,65(0)	105,43(0)	81,00(0)
LAKKEO01 ⁴⁶	α, β	P_1	5,030(3)	7,593(5)	19,374(12)	81,03(1)	85,04(0)	74,25(0)

Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

Como a literatura reporta várias estruturas para as formas polimórficas alfa e beta da lactose, como pode ser visto na tabela anterior, para esse trabalho, a estrutura EYOCUQ, para a alfalactose e a BLACTO, para a beta, foram as escolhidas para os cálculos, sendo assim, na Figura 11 seguem o padrões de difração de raios X gerado para as duas formas.

Figura 11. Padrões de difração de raios X simulados da lactose. A linha azul representa a forma alfalactose (EYOCUQ) e a preta a betalactose (BLACTO).



Fonte: TITA, D. L. a partir de dados obtidos pelo CCDC.

Com isso, depois desse levantamento dos materiais empregados nas discussões dessa tese, segue um estudo sobre a difração de raios X, que é a técnica que norteia esse trabalho.

1.5 O que são raios X e sua funcionalização na caracterização de materiais

A partir das apresentações dos materiais que serão analisados nesse trabalho, a principal técnica a ser utilizada é a difração de raios X por pó, haja vista ser amplamente empregada para a investigação da estrutura dos materiais.

A descoberta da difração de raios X data de 1912, por von Laue's, que observou que os cristais difratavam o raio X e, assim, revelavam a estrutura do cristal. Em um primeiro momento a difração de raios X foi empregada na determinação de estruturas cristalinas. Mais tarde, utilizando o método de pó, outros usos foram desenvolvidos e hoje é aplicada, não apenas na determinação de estruturas, mas para elucidar problemas diversos como, análise química (identificação e quantificação), stress de superfície, estudos de equilíbrio de fases, medidas de tamanho de partículas, para a determinação da orientação de cristais ou um conjunto de orientações, se pensarmos em um agregado policristalino ⁴⁷.

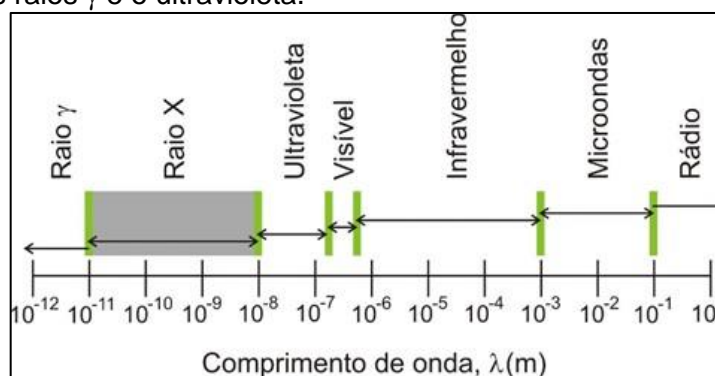
Os cristais podem ser definidos como um sólido formado por átomos, íons ou moléculas ordenadas, a longo alcance, em um padrão periódico em três dimensões. Por apresentarem esses arranjos atômicos ordenados, os cristais se diferem dos líquidos e dos gases. No entanto, nem todos os sólidos são cristalinos, um exemplo é o vidro, que é amorfo e não possui arranjo regular dos átomos que o compõem ^{47,48}.

As estruturas internas de um material cristalino funcionam como uma rede de difração, em especial, devido aos espaçamentos interplanares apresentarem a mesma ordem de grandeza do comprimento de onda (λ) utilizado nos estudos cristalográficos, pelos raios X ⁴⁹.

Mas o que são os raios X?

Os raios X são radiações do tipo eletromagnéticas, sendo assim, não são defletidos por campos elétricos ou magnéticos, pois não tem carga. Além disso, apresentam comprimento de onda pequeno e alta energia ($E > 12 \text{ eV}$). Se localizam entre os raios γ e o ultravioleta, no espectro de ondas eletromagnético, que pode ser observado na Figura 12. Seu λ se localiza entre 0,1 e 100 Å, sendo que os mais utilizados na cristalografia variam entre 0,5 e 2,5 Å, uma vez que são da mesma ordem de grandeza que os menores espaçamentos interplanares observados nos materiais orgânicos e inorgânicos ⁴⁹.

Figura 12. Espectro de ondas eletromagnéticas. Os raios X se localiza na região cinza, em destaque, entre os raios γ e o ultravioleta.

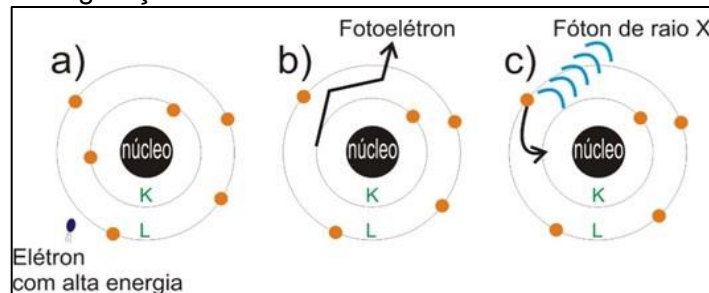


Fonte: TITA, D. L. ⁵⁰

Os raios X em equipamentos convencionais, como os que foram utilizados nesse trabalho, são gerados quando um elétron de alta energia colide contra um alvo metálico (tubo de raios X) que pode ser de cobre (Cu), ferro (Fe), cobalto (Co) e molibdênio (Mo), que funciona como um anodo ⁴⁹.

A nível atômico, onde o processo pode ser observado na Figura 13, um elétron de alta energia, é ejetado de um filamento de tungstênio (W) sob elevada diferença de potencial elétrico, é acelerado contra um alvo metálico (a). Ao colidir com o metal, um elétron da camada K é expulso na forma de fotoelétron (b), deixando nessa camada uma vacância. Depois, para preencher esse espaço, um elétron de maior energia, do próprio metal, transita para a camada K (c), liberando assim, vários tipos de energia (e.g. térmica) e dentre elas um fóton de raio X, sendo que a energia desse fóton é correspondente à diferença de energia entre as duas camadas envolvidas no processo e, além disso é característica de cada elemento químico empregado na confecção do alvo metálico.

Figura 13. Processo de geração dos raios X a nível atômico.



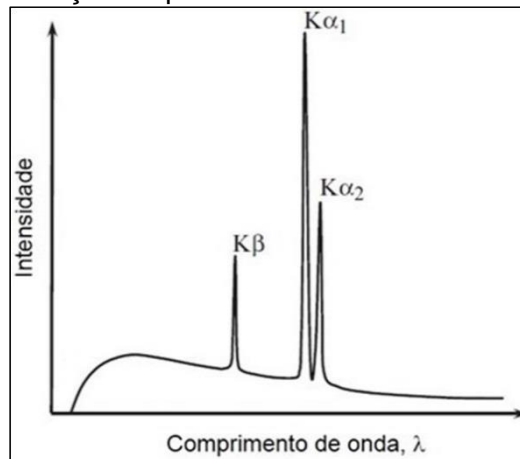
Fonte: TITA, D. L. ⁵⁰

No caso anterior, por ocorrer a ionização de átomos do metal alvo, são gerados os raios X conhecidos como raios X característico. Esse tipo de radiação é sempre dependente do elemento alvo ⁴⁹.

A parte contínua do espectro (i.e. raios X contínuo, radiação branca, radiação de freamento ou efeito Bremsstrahlung), que tem como origem a rápida desaceleração dos elétrons (i.e. de forma aleatória) ao colidir com o alvo metálico, é caracterizada pelos desvios de trajetória sofridos pelo elétron de alta energia ao interagirem com a eletrosfera e os núcleos do material alvo, não ionizando o metal. Nesse caso, eles perdem uma parte da sua energia cinética inicial por decorrência de desvios sofridos, que são convertidos em fótons de raios contínuo ⁴⁹.

Nos metais alvo utilizados na confecção de tubos de raios X, em condições de corrente e tensão ideais de operação, os dois fenômenos (i.e. raios X contínuo e característico) ocorrem concomitantemente. Na Figura 14 é ilustrada uma curva de espectro de emissão de raios X. Os três picos definidos são provenientes dos raios X característicos e, sendo assim, são dependentes do elemento empregado na confecção do alvo metálico. Nesse espectro observa-se também os raios X contínuos que têm como origem a desaceleração que os elétrons sofrem por interagirem com as eletrosferas e os núcleos dos metais, ao penetrarem no alvo ⁴⁹.

Figura 14. O espectro gerado na emissão de raios X. Os três picos definidos são provenientes dos raios X característicos, sendo assim, são específicos para cada metal utilizado como alvo. A elevação da linha de base, conhecida como raios X contínuos ou efeito Bremsstrahlung é originária da rápida desaceleração ao penetrar o alvo.



Fonte: Adaptado de PECHARSKY, V, K.; ZAVALIJ, P. Y., 2005

Como os raios X característicos estão relacionados com o metal alvo, na Tabela 5 são apresentados os metais mais comumente utilizados em tubos de raios X, além dos seus respectivos comprimentos de onda.

Tabela 5. Os metais mais comuns utilizados na confecção de tubos de raios X e os seus comprimentos de ondas caraterísticos. Para esse trabalho, em específico, foram utilizados difratômetros de raios X que tinham com metal alvo o cobre.

Material do Anodo	Comprimento de onda, λ (Å)			
	$K\alpha^a$	$K\alpha_1$	$K\alpha_2$	$K\beta$
Cromo (Cr)	2,29105	2,28975(3)	2,293652(2)	2,08491(3)
ferro (Fe)	1,93739	1,93608(1)	1,94002(1)	1,75664(3)
cobalto (Co)	1,79030	1,78900(1)	1,792889(1)	1,62082(3)
cobre (Cu)	1,54187	1,5405929(5)	1,5441(2)	1,39225(1)
molibdênio (Mo)	0,71075	0,7093171(4)	0,71361(1)	0,63230(1)

Fonte: Adaptado de PECHARSKY, V, K.; ZAVALIJ, P. Y., 2005

Para a obtenção dos difratogramas, os equipamentos de raios X utilizam a radiação $K\alpha$, haja vista sua maior intensidade em comparação às outras radiações formadas. Em alguns casos são utilizados filtros como, por exemplo, de níquel (Ni), que apresenta borda de absorção K de 1,4881140(4) Å ou de nióbio (Nb) com borda de 0,653134(1) Å, em difratômetros de anodo de Cu e Mo, respectivamente, para minimizarem a radiação contínua e a contribuição do $K\beta$ nas medidas ^{49,51}.

1.5.1 A lei de Bragg

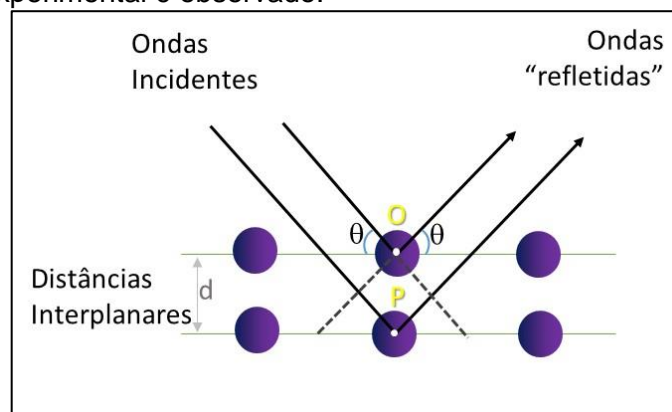
A partir da constatação de que os materiais cristalinos se comportam com uma rede de difração para os raios X, pai e filho, Sir William Henry Bragg e William Lawrence Bragg, em 1913, propuseram uma relação entre o ângulo de difração (ângulo de Bragg, θ), comprimento de onda (λ), e as distâncias interplanares (d), através da equação abaixo que passou a ser conhecida como Lei de Bragg (equação 1) ⁴⁹.

$$n \lambda = 2 d \sin \theta \quad (1)$$

Onde n é um número inteiro.

Sendo que, quando a lei de Bragg é obedecida um pico, conhecido como pico de Bragg, é observado experimentalmente, para isso a difração para um conjunto de planos igualmente espaçados (d) só pode ser observada experimentalmente em um ângulo específico (θ). Na Figura 15 a ilustração da lei de Bragg pode ser melhor compreendida, já que para um pico de Bragg ser observado, a diferença de percurso da onda que passa pelo ponto P em relação a que passa pelo ponto O deve ser igual a um número inteiro de comprimentos de onda.

Figura 15. Representação geométrica da lei de Bragg. A diferença entre os caminhos percorridos pelas ondas que passam pelo ponto P , em relação as que passam pelo ponto O , devem ser iguais a um número inteiro de comprimento de onda. Quando a lei de Bragg é satisfeita um pico experimental é observado.



Fonte: TITA, D. L.

O conceito da lei de Bragg se aplica para a difração de nêutrons e de elétrons.

Em 1915, pai e filho foram laureados, pelos trabalhos de determinação de estruturas cristalinas, com o prêmio Nobel de física ⁴⁹.

1.5.2 Os difratogramas

A partir da lei de Bragg, quando a interferência das ondas que incidem no material é refletida de forma construtiva, respeitando a equação, um pico é observado, mas quais fatores físicos descrevem a forma e a intensidade desse pico?

Basicamente, a forma do pico é uma convolução de três fatores: alargamento instrumental, espalhamento do comprimento de onda e as propriedades físicas da amostra ⁴⁹.

O primeiro ponto a ser considerado é o fator de espalhamento atômico (f), sendo que esse valor está relacionado com o quanto um átomo pode espalhar os raios X, a um certo ângulo e comprimento de onda específico. Assim, existem átomos de maior poder espalhador e de menor ⁴⁹.

O fator de espalhamento é parte de outra função, que é o fator de estrutura. O fator de estrutura (F), que é uma descrição matemática da forma como um material espalha a radiação incidente, considera o quociente entre a onda espalhada por todos os átomos que compõem a cela unitária de um cristal, levando em conta os diferentes fatores de espalhamento f ⁴⁹.

Em suma, a intensidade, por definição é proporcional ao módulo ao quadrada do fator de estrutura ($|F_h|^2$), sendo que o h corresponde aos índices de *Miller* (i.e. h , k e l que estão relacionados com as posições interplanares), e refletem a densidade desse planos, responsáveis pelas difrações, e o número atômico (Z) dos elementos espalhadores ⁴⁹.

Matematicamente, essa função também chamada de função pico-forma (*peak-shape function – PSF*) é uma convolução de três diferentes funções: alargamento instrumental, Ω , espalhamento do comprimento de onda, Λ , e função da amostra, Ψ . A PSF pode ser representada pela equação 2 ⁴⁹:

$$PSF(\theta) = \Omega(\theta) \otimes \Lambda(\theta) \otimes \Psi(\theta) + b(\theta) \quad (2)$$

Onde b é a função background, que será discutida mais adiante.

A função instrumental, Ω , é influenciada por vários parâmetros geométricos como, o local e a geometria da fonte, presença ou não de monocromador(es), configurações de fendas e textura/altura da amostra. A função do espectro de espalhamento de onda, Λ , explica a distribuição dos comprimentos de onda da fonte que varia de acordo com a sua natureza e a técnica empregada em sua monocromatização. Finalmente, a função da amostra, Ψ , tem como origem vários efeitos, sendo o primeiro o espalhamento dinâmico, ou desvio do modelo cinemático, conhecido como largura de Darwin, que causa um pequeno alargamento nos picos de Bragg. O segundo é determinado por uma propriedade intrinsecamente física da amostra: tamanho médio de cristalito e microdeformação. Por exemplo, quando o cristalito é muito pequeno (geralmente menor que $\sim 1 \mu\text{m}$) e/ou apresenta fenômeno

de deformação, as larguras dos picos de Bragg resultantes podem aumentar substancialmente ⁴⁹. Mais adiante, na Figura 22, esse fenômeno pode ser observado pela variação dos valores simulados para o tamanho médio dos cristalitos.

Vale ressaltar que, ao contrário das funções de espalhamento instrumental e do comprimento de onda, o efeito de alargamento induzido pelo estado físico da amostra pode ser de grande interesse para a caracterização de materiais. Assim, o tamanho médio de cristalito (L_{vol}) e a microdeformação (ϵ) no alargamento do pico de Bragg (β , FWHM - *full width at half maximum*, em radianos, já com a correção instrumental = largura integrada) podem ser descritos por aproximação, da seguinte maneira ⁴⁹:

$$\beta(\theta) = \frac{k \lambda}{L_{vol} \cdot \cos\theta} \quad (3)$$

$$\beta(\theta) = \frac{\lambda}{\epsilon \cdot \cos\theta} \quad (4)$$

Onde k é constante de Scherrer.

É importante notar que β , nas equações 3 e 4, não é a largura total do pico de Bragg, mas sim um excesso proveniente da convolução de todos os efeitos instrumentais que causam o alargamento. Sendo que o alargamento instrumental pode ser estabelecido medindo um material padrão sem microdeformação e com tamanho de cristalito grande, nas mesmas condições experimentais ⁴⁹.

1.5.3 Os difratômetros

Os difratômetros, também conhecidos como equipamentos de difração de raios X, são basicamente constituídos por um sistema de geração de raios X, no caso os tubos de raios X, com foi discutido acima, além da ótica, antes do feixe interagir com a amostra, o sistema que acomoda o porta amostra, onde a difração ocorre, a ótica posterior a amostra, o detector e uma central que, na maioria dos equipamentos, além da coleta dos dados, controla os parâmetros utilizados na medida (e.g. passo e velocidade).

Como os tubos de raios X produzem um feixe divergente, é necessário a utilização de fendas Soller para a correção da divergência axial, além de fendas de divergência e recepção para se obter uma maior resolução do instrumento ⁵¹.

A fenda de divergência, que opera antes da amostra, tem como função limitar a divergência angular do feixe, por meio de um sistema de abertura. Em geral, ela estreita o espalhamento vertical do feixe, e “focaliza” a região que os raios X irão interagir com a amostra ^{51,52}.

As fendas Soller limitam a divergência axial do feixe, espalhamento horizontal. São constituídas de um conjunto contendo várias placas paralelas e se localizam uma antes e uma depois da amostra ^{51,52}.

A fenda de recepção é uma barreira que limita a radiação que incide no detector, sendo assim, está relacionada com a resolução e intensidade do pico ^{51,52}.

1.6 O método de Rietveld

O método de Rietveld ^{53,54} (MR) é um método de refinamento de estruturas de materiais cristalinos na forma de pó, fazendo uso de dados de difração de raios X ou de nêutrons, e que tem como objetivo reduzir a diferença entre um padrão de difração observado e um padrão calculado.

O padrão calculado é baseado em um modelo de parâmetros das estruturas cristalinas (cela unitária, posições atômicas, deslocamentos atômicos e ocupação atômica), instrumentais (largura de fendas, fatores de Lorentz e de polarização, radiação de fundo e comprimento de onda) e características físicas da amostra (tamanho de cristalito e microdeformação) ^{54,55-57}.

Os padrões de DRXP de materiais cristalinos podem ser considerados como coleções de perfis de reflexões individuais (picos), cada um com uma posição e uma área integrada que é proporcional à intensidade de Bragg, I_h , onde h são os índices de Miller, h , k e l . Além disso, I_h é proporcional ao quadrado do valor absoluto do fator de estrutura, $|F_h|^2$ ^{54,58}.

Para uma única fase, as intensidades calculadas y_{ci} são determinadas a partir dos valores de $|F_h|^2$ calculados através do modelo estrutural, pela soma das contribuições das reflexões possíveis de Bragg mais a contribuição do background:

54,58

$$y_{ci} = \phi_{rsi} S \sum_h J_h Lp_h |F_h|^2 G_{hi} a_{hi} P_h + y_{bi} \quad (5)$$

Onde:

ϕ_{rsi} = correção da rugosidade superficial no ponto i ,

S = fator de escala,

J_h = multiplicidade da reflexão,

Lp_h = fator de Lorentz e de polarização,

F_h = fator de estrutura,

G_{hi} e a_{hi} = função de perfil e da assimetria na posição i -ésima,

P_h = função para a correção da orientação preferencial,

y_{bi} = é a intensidade do background na posição i -ésima.

Considerando mais fases, tem-se a equação 6 ⁵⁸.

$$y_{ci} = \phi_{rsi} \sum_{\phi} S_{\phi} \sum_{h\phi} J_{h\phi} Lp_{h\phi} |F_{h\phi}|^2 G_{h\phi i} a_{h\phi i} P_{h\phi} + y_{bi} \quad (6)$$

As partículas presentes em uma amostra apresentam uma distribuição aleatória, então a rugosidade superficial deve ser tratada como uma característica total da amostra, e não de uma fase específica. Por isso que ela não é incluída na somatória da equação ⁵⁸.

Várias reflexões de Bragg podem contribuir para a intensidade observada (y_i), em qualquer ponto i do padrão e a segunda somatória ($\sum h\phi$) também leva em consideração essa sobreposição dos picos, podendo ser da mesma fase como de várias fases.

Assim, finalmente, relacionando a intensidade calculada (y_{ci}) com a intensidade observada (y_i) obtém-se, pelo método de mínimos quadrados, a equação resíduo S_y (equação 7):

$$S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{ci})^2 \quad (7)$$

Onde:

$w_i = 1/y_i$ (peso),

y_i = intensidade observada no passo i ,

y_{ci} = intensidade calculada no passo i .

1.6.1 Os índices R's de monitoramento dos refinamentos

Com os índices R's é possível acompanhar a convergência dos refinamentos, haja vista seu numerador ser a própria equação do resíduo S_y (vide equação 7). No mais, ao se empregar o método de Rietveld é importante que o usuário sempre avalie a razoabilidade química do modelo e analise criticamente os gráficos obtidos para o refinamento, já que dessa maneira os problemas podem ser mais facilmente identificados⁵⁸.

Como primeiro índice, segue o R_{Bragg} (equação 8), que analisa a qualidade do modelo refinado da estrutura cristalina. Ele opera a partir das intensidades integradas dos picos observados (I_h) e calculados (I_{hc}), sendo que h , faz referência aos planos de Miller⁵⁸.

$$R_{Bragg} = \frac{\sum_h |I_h - I_{hc}|}{\sum_h I_h} \quad (8)$$

O R_{wp} (*weighted profile R-factor*), apresentado na equação 9, analisa se o refinamento está convergindo ou não. Assim, no final do refinamento é provável que ele não esteja mais variando, o que significa que um mínimo foi atingido ⁵⁸.

$$R_{wp} = 100. \left(\frac{\sum_i w_i (y_i - y_{ci})^2}{\sum_i w_i y_i^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

O R_{exp} (*expected R factor*), apresentado na equação 10, é o valor estatisticamente almejado para o R_{wp} , sendo que N é o número de pontos utilizados no refinamento e P é o número total de parâmetros refinados. Este índice seria como “o melhor valor” para o R_{wp} ⁵⁹.

$$R_{exp} = \left[\frac{N - P}{\sum_i w_i (y_i)^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (10)$$

A relação entre o R_{wp} e R_{exp} resulta no GOF (*goodnes of fit*), apresentado na equação 11, sendo assim, valores menores que 1,0 podem significar que o modelo contém mais parâmetros refinados do que se pode justificar pela qualidade dos dados. Para valores iguais a 1,0 significa que o R_{wp} atingiu o valor estatisticamente esperado. No final de um refinamento, espera-se que o GOF seja próximo de 1,0 ⁵⁸.

$$GOF = S = \chi^2 = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - y_{ci})^2}{N - P}} \quad (11)$$

Por fim, a estatística d de Durbin-Watson (d-DW) ⁶⁰, apresentada na equação 12, tem uma relação com a correlação serial dos parâmetros envolvidos nas medidas. Um resultado próximo a 2 significa que as correlações têm baixa significância estatística. Um resultado abaixo desse valor indica que o desvio padrão foi subestimado e, assim, não representa o desvio padrão obtido pela repetição do experimento.

$$d - DW = \frac{\sum_{i=2}^N (\Delta Y_i - \Delta Y_{i-1})}{\sum_{i=1}^N (\Delta Y_i)^2} \quad (12)$$

Onde:

$$\Delta Y_i = y_i - y_{ci}$$

Análise quantitativa de fases (AQF) ⁶¹, apresentada na equação 13, é uma função que quantifica as fases cristalinas e identificadas (i.e. estão sendo refinadas) de um difratograma, sendo assim, é importante que tudo esteja devidamente identificado e que se tenha um bom ajuste do perfil calculado para se ter uma melhor precisão dos resultados obtidos.

A proporção em massa W , da fase p , cuja quantidade será determinada é dada por:

$$W_p = \frac{S_p(MV)_p}{\sum_i S_i(MV)_i} \quad (13)$$

Onde:

S_i = fator de escala da fase i -ésima,

M = Massa da cela unitária em unidade atômica de massa,

V = Volume da cela unitária.

1.6.2 O refinamento sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld

A prática mais comum no refinamento por método de Rietveld é ajustar um modelo estrutural a uma única medida de difração. Porém essa não é a única opção, podendo-se também combinar outros dados de difração de raios X (convencional e /ou sincrotron) e/ou de nêutrons ^{62,63}.

O método de Rietveld ⁶⁴ é empregado na análise de dados de difração de raios X por pó, em especial, para identificar e quantificar fases cristalinas ⁶¹. A literatura contempla vários casos em que o método foi aplicado diretamente na análise de fármacos e excipientes. Para os refinamentos sequencial e/ou paramétrico a literatura é bem escassa, especialmente, devido às dificuldades de se preparar a programação dos experimentos e de se obter bons dados de difração.

A evolução do método de Rietveld é refinamento sequencial por Rietveld (RSR), onde vários conjuntos de dados passam a ser analisados de forma simultânea em função de uma variável externa (não cristalográfica) (e.g. temperatura, pressão, tempo ou ambiente químico). Neste caso é possível refinar os parâmetros relacionados a estrutura cristalina de forma sequencial, em função do parâmetro não cristalográfico a fim de identificar a relação entre a estrutura cristalina e o parâmetro externo. Com os resultados obtidos pelo RSR é possível descrever funções que regem a evolução dos parâmetros cristalográficos em função das variáveis externas ⁶⁵.

Com as funções obtidas com os resultados do RSR realiza-se o refinamento paramétrico pelo método de Rietveld (RPR), o qual oferece uma série de benefícios em comparação à análise independente sequencial (RSR). Ele pode levar a uma maior precisão dos parâmetros refinados oferecendo a possibilidade de aplicação de modelos fisicamente realistas, que podem ter sido obtidos a partir do RSR ou já determinados na literatura. Além disso, permite a determinação de quantidades “não cristalográficas” como, por exemplo a calibração da temperatura a partir de dados de difração ⁶⁶. Outro fato interessante é que pode ajudar a evitar falsos mínimos ⁶⁵.

Um exemplo de aplicação do refinamento paramétrico por Rietveld foi apresentado por John S. O. Evans no estudo das transições polimórficas e análise quantitativa de fases do trióxido de tungstênio (WO_3) ⁶⁷.

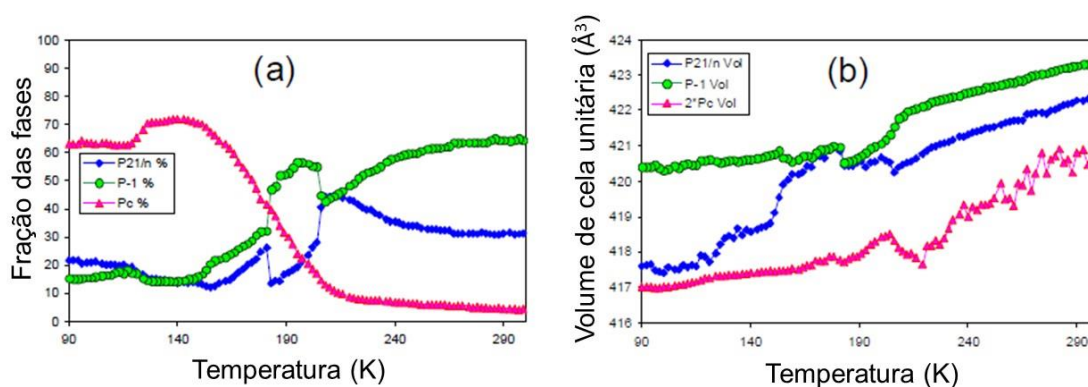
O WO_3 , em processo de resfriamento, sofre uma série de transições de fases. Sendo assim, para o experimento *in situ* de difração de raios X por pó, uma amostra predominantemente monoclinica ($P2_1/n$) foi resfriada de 300 K a 90 K ⁶⁷.

Na Figura 16 é possível observar os resultados obtidos, via refinamento de Rietveld independente, para as frações de fases, em (a), que transitam por $P2_1/n$, $P\bar{1}$ e Pc , além dos volumes de cela unitária, em (b).

Nesse caso, para o conjunto total de 100 dados observados, foram utilizados 91 parâmetros para o refinamento de cada medida, exigindo um total de 9100 parâmetros refinados ⁶⁷.

Um fato importante de se observar é que a amostra de partida continha predominantemente o polimorfo de grupo espacial $P2_1/n$ e devido à grande sobreposição dos picos referentes às fases, nessa metodologia de refinamento independente, é possível que uma estrutura “não ideal” se distorça para ajustar os refinamentos, gerando assim um resultado que não condiz com a realidade do sistema. Embora a predominância do $P2_1/n$, o modelo estrutural $P\bar{1}$ que possui mais graus de liberdade, pode se distorcer para se adequar aos dados experimentais, assim a análise quantitativa de fases de uma mistura desse tipo apresenta elevado grau de dificuldade ⁶⁷.

Figura 16. Resultados obtidos via refinamento de Rietveld independente para a amostra WO_3 . Em (a) a fração das fases identificadas e quantificadas ($P2_1/n$, $P\bar{1}$ e Pc) e em (b) o volume das celas unitárias. Em algumas regiões (e.g. 180 a 200 K) os resultados apresentam descontinuidade e em uma análise mais minuciosa, próximo à temperatura inicial (300 K), devido à complexidade do refinamento, houve uma inversão da fase que era dita como majoritária ($P2_1/n$) pela fase $P\bar{1}$.



Fonte: Adaptado de John S. O. Evans ⁶⁷.

É claro que a partir da figura acima a evolução das frações das fases refinadas em função da temperatura faz pouco sentido químico, pois é extremamente improvável, por exemplo, ocorrerem alterações abruptas do tipo que são vistas por volta de 190 K. Isso, segundo Evans, sugere que os refinamentos encontraram falsos mínimos, significando que essa não é a melhor abordagem ⁶⁷.

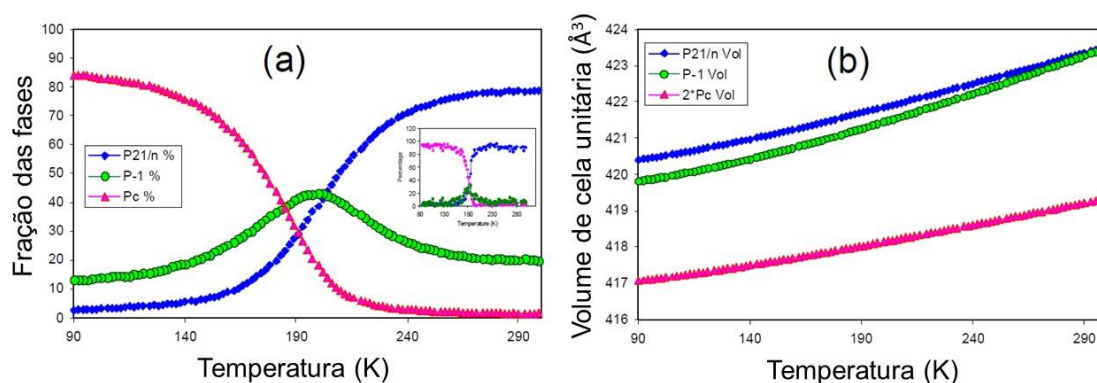
Na Figura 17 os mesmos dados foram refinados via refinamento paramétrico por Rietveld, onde os parâmetros de cela unitária das três fases foram modelados pela seguinte equação:

$$a(T) = a(T = 0) + \frac{c_1}{\exp\left(\frac{\theta}{T}\right) - 1} \quad (14)$$

Onde $a(T)$ é a aresta a da cela unitária na temperatura T , $a(T = 0)$ é o a na temperatura zero, c_1 uma constante e θ o ângulo de Bragg.

Assim, como resultado, observam-se que as fases variam de forma mais suave em relação à variação de temperatura, o que atribui ao experimento um maior sentido químico, sendo que esses valores também corroboram com a análise de difração de nêutrons que está inserida na Figura 17 (a - lado direito).

Figura 17. Resultados obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld para a amostra WO_3 . Em (a) a fração das fases identificadas e quantificadas ($P2_1/n$, $P\bar{1}$ e Pc) e em (b) o volume das celas unitárias.



Fonte: Adaptado de JOHN S. O. EVANS ⁶⁷.

É bem estabelecido que através da realização de estudos de difração de raios X em função de uma variável externa (temperatura, tempo, pressão ou ambiente químico) se pode aprender mais de um sistema do que a partir de um único experimento de difração. Os exemplos são numerosos e incluem estudos de transições de fases, magnetismo, monitoramento de reações químicas e força e torções intermoleculares ⁶⁵. Em alguns casos é possível obter informações “não cristalográficas”, que significam informações além de coordenadas fracionárias, sítio de ocupação e parâmetros de descolamento atômico, como frequências vibracionais, expansão térmica de parâmetros, energia de ativação, mecanismos de reação, dentre outras. Tais aplicações têm crescido em especial no campo da difração de raios X por pó devido a melhora das fontes de alta intensidade e detectores e, assim, em um tempo curto é possível realizar medidas de melhor qualidade ⁶⁵.

Nesse trabalho serão estudadas as transições polimórficas que envolvem o fármaco espironolactona (SPR) e os excipientes cristalinos lactose monoidratada (LACMH) e lactose anidra (LACA), por difração de raios X por pó sob influência de temperatura, empregando, de forma inédita para produtos farmacêuticos e que está começando a ser difundida na área de materiais, no Brasil, o refinamento sequencial e o paramétrico pelo método de Rietveld. Além disso, o estudo é de grande importância para a indústria química-farmacêutica pois o conhecimento dos materiais envolvidos na produção e sua estabilidade, da comercialização até o momento do uso, é necessário para que medicamentos adequados, de melhor eficiência, sejam produzidos.

2 MOTIVAÇÃO

Em estudos passados ^{50,68} observaram-se que algumas formas farmacêuticas sólidas de espironolactona, que foram adquiridas em drogarias ou disponibilizados pela rede pública de saúde, apresentavam variações e/ou misturas de fases polimórficas do princípio ativo, tanto forma hidratada, quanto anidra. Acreditando que essas variações poderiam ter sido causadas durante o armazenamento em condições não adequadas, jugou-se interessante estudar esse fármaco e, de forma especial qual é o seu comportamento cristalográfico e de transição polimórfica quando submetido à ensaios de difração de raios X por pó com variação de temperatura.

Já no caso dos excipientes estudados, tomou-se como base o comprimido de espironolactona de referência de 25 mg (Aldactone, produzido pela Pfizer®), que apresenta como excipiente cristalino alfalactose monoidratada em sua composição ⁵⁰. Sendo assim, a partir de um estudo da alfalactose monoidratada entende-se que dependendo dos processos envolvidos na produção, interações com outros componentes da formulação ou influência do ambiente externo durante o armazenamento, algumas transições indesejadas podem ser observadas.

Com isso, em suma, para compor as discussões desse trabalho partiu-se de um fármaco já estudado anteriormente que apresentou desvio de formulação: o princípio ativo cristalino espironolactona (SPR), e, com base no medicamento de referência de 25 mg, que apresenta como excipiente cristalino a alfalactose monoidratada, suas variações, como, a própria alfalactose monoidratada (LACMH) e lactose anidra (LACA).

No geral, esse trabalho tem grande potencial de interessante tanto para indústria química-farmacêutica, quanto para a comunidade científica, em geral, pois a partir dele desenvolveu-se um sistema do tipo *facilite* (i.e. Planilha SP-DLT) que auxilia na rotina de programação para o refinamento sequencial por Rietveld e o refinamento paramétrico por Rietveld.

3 OBJETIVOS

Objetivo global:

- Análise e interpretação das transformações de fases polimórficas e das variações dos parâmetros de cela unitária, via difração de raios X por pó com o emprego dos refinamentos sequencial e paramétricos pelo método de Rietveld, de excipientes e princípio ativo por decorrência da imposição de temperatura.

Objetivos específicos:

- Estudar as transições de fases dos materiais de partida (i.e. o princípio ativo espirolactona (SPR), e os excipientes lactose monoidratada (LACMH) e lactose anidra (LACA)), via dados de difração de raios X por pó com variação de temperatura (i.e. temperaturas crescentes) e desenvolver metodologia para auxiliar a rotina de programação para o emprego dos refinamentos sequencial e paramétrico pelo método de Rietveld.

- Empregar o refinamento sequencial por Rietveld de forma a gerar interatividade entre as medidas obtidas, em especial, para os parâmetros de cela unitária.

- Com os resultados obtidos via refinamento sequencial, analisar esses resultados e atribuir funções matemáticas que modelem esses parâmetros e, a partir dessas funções, empregá-las no refinamento paramétrico por Rietveld com o objetivo da parametrização das celas unitárias para se obter resultados mais realistas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse item, serão apresentados os materiais que fizeram parte das discussões desse trabalho, os bancos de pesquisa utilizados para extrair informações pertinentes sobre fases polimórficas e características dos parâmetros de cela unitária desses materiais e, depois disso, serão descritas as técnicas, os equipamentos e as metodologias empregadas nas caracterizações (i.e. cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, microscopia eletrônica de varredura de alta resolução, espectroscopia de energia dispersiva, análise térmica, difração de raios X por pó, difração de raios X com variação de temperatura *in situ* e o refinamento de Rietveld, sequencial e paramétrico).

4.1 Recebimento e preparação dos materiais

Todos os insumos farmacêuticos utilizados neste trabalho de doutorado: (i) espirolactona (SPR), (ii) lactose monoidratada (LACMH) e (iii) lactose anidra (LACA), foram obtidos diretamente de indústrias farmacêuticas, via doação, sendo assim, ao serem recebidos no laboratório foram observadas as datas de validade, se não houve violação dos invólucros e, sempre respeitando as recomendações feitas pelo fabricante, foram mantidos em local adequado. Na Tabela 6 estão as siglas utilizadas nesse trabalho para especificar esses materiais.

Tabela 6. Insumos farmacêuticos utilizados no trabalho e a suas respectivas siglas.

Nome	Sigla
Espironolactona	SPR
Alfalactose monoidratada	LACMH
Lactose anidra	LACA

Fonte: TITA, D. L.

Para padronizar os materiais de partida, foram tamisados, um a um, em tamis de 200 mesh (i.e. seleção de grãos menores que 75 µm, que segundo a Farmacopeia Brasileira ²⁶ é classificado como pó finíssimo) da marca *Bertel Indústria Metalúrgica Ltda.* Por se tratarem de sólidos na forma de pós foi necessário, para facilitar a passagem dos materiais pela malha da peneira, o emprego de pinça metálica e pincel de cerdas macias.

Esse procedimento, visando as análises de difração de raios X por pó, é importante para que um controle do tamanho médio dos grãos seja mantido (i.e. amostra homogênea), facilitando assim, na acomodação dos materiais para a leitura por difração e evitando problemas relacionados à contribuição da amostra por apresentar granulometrias diferentes (i.e. não apresentar uma superfície regular e, assim, causar com, por exemplo, deslocamento de picos).

Após a tamisação foram fracionados em recipientes de plástico de 2,5 mL, devidamente rotulados, com a tampa selada por *Parafilm M*®.

4.2 Revisão bibliográfica das estruturas

Realizou-se um levantamento bibliográfico no banco de dados das “Bases de Estruturas Cristalinas”, disponibilizado pela Capes⁶⁹, através do software *ConQuest Version 1.17*⁷⁰ e do *Mercury CSD 3.5.1*¹¹, ambos da *The Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC)*⁷¹, específicos para estruturas cristalinas, a fim de se obter informações estruturais dos materiais no formato CIF (*Crystallographic Information Framework*), além de dimensões de cela unitária, formas polimórficas e o grupo espacial.

A revisão bibliográfica foi uma atividade contínua desde a confecção do projeto de doutorado até a versão final desse texto.

Como base de dados para a busca de artigos e patentes, dentre várias que são disponibilizadas pela Capes, utilizou-se o *Web of Science*TM e para organização das referências o *Mendeley V. 1.16.3*.

4.3 Cromatografia líquida e espectroscopia de massas (LC-MS)

Para a amostra de SPR, partindo de aproximadamente 1 mg do material, realizou-se uma solução com 50 % de água destilada e 50 % de acetonitrila, assim como referenciado pela Farmacopeia Brasileira²⁶. Após a solução foi filtrada com auxílio de uma seringa de plástico e um filtro da marca *Exacta* de 0,22 µm de tamanho de poro.

Com a amostra já solubilizada, utilizou-se o cromatógrafo líquido (LC) da marca *Shimadzu LC-10A/C-47A* equipado com três bombas LC 10AT, injetor automático SIL

10AF e detectores de UV-visível SPD 10A e fluorescência RF 10A, para a realização da análise em 238 nm de comprimento de onda, assim como descrito pela Farmacopeia ²⁶.

Para a espectroscopia de massas utilizou-se um equipamento constituído por um cromatógrafo líquido ultrarrápido prominence (UFLC) da marca *Shimadzu* composto por duas bombas LC 20AD, detector de UV-visível modelo SPD 20A, injetor automático modelo SIL 20AHT e um espectrômetro de massas com ionização por *eletrospray* (ESI) da marca *Bruker* modelo *Amazon SL*.

4.4 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG)

O equipamento utilizado para a obtenção das imagens foi um *Jeol JSM 7500F*, que é um microscópio eletrônico de varredura de emissão por campo (MEV-FEG), instalado no Laboratório de Microscopia Avançada (LMA) do Instituto de Química-UNESP.

Para essas análises, todas as amostras apresentadas nesse trabalho foram acomodadas em *stubs* de latão com o auxílio de fita dupla face de carbono.

Devido às amostras não serem condutoras, o que causa um grande carregamento nas imagens de MEV-FEG decorrente da dificuldade em escoar elétrons da superfície, foi necessário o recobrimento por evaporação de 1 fio de carbono, gerando uma cobertura de aproximadamente 5 nm de espessura em equipamento da marca *Bal-Tec SCD 050 Sputter Coater*.

Foram obtidas, em média, 30 imagens em diferentes magnificações, para cada amostra. O modo de operação foi por elétrons secundários em *Low Magnification* (LM), que é uma condição de operação que a lente objetiva do microscópio fica desligada, o feixe tem uma opção de ajuste sendo que este modo é mais apropriado para magnificações menores que 1.000x, e em *SEM*, que é o modo comumente utilizado para varredura.

4.5 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Para as medidas de EDS utilizou-se uma aceleração de voltagem em 5,0 KeV e um tempo vivo de 5 minutos, através de um detector da *Thermo Fisher Scientific Ultra Dry*, acoplado ao canhão do MEV-FEG, já descrito no item anterior, e o software de operação NSS 2.3, também desenvolvido pela *Thermo*.

4.6 Análise térmica

Para os estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi utilizada aproximadamente 1,5 mg da amostra SPR e da LACMH, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de N₂ (40 ml min⁻¹) e taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em um equipamento da TA Instruments 2910 MDSC.

Para a análise termo gravimétrica (TGA) foi utilizada aproximadamente 2,0 mg da amostra SPR, LACMH e LACA, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de N₂ (100 ml min⁻¹) e taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em um equipamento da TA Instruments SDT Q600.

Além disso, no caso de amostra de SPR foi necessário um tratamento térmico para elucidar a mudança de fase polimórfica, sendo assim, utilizou-se uma estufa da marca Quimis por quatro horas a 165° C. Depois, após tratamento, a amostra foi medida novamente via DRXP e os resultados foram observados.

4.7 Difração de raios X por pó (convencional e com variação de temperatura)

Para a obtenção dos dados de difração de raios X por pó, utilizou-se um difratômetro de raios X convencional localizado no Instituto de Química – UNESP, de Araraquara, e para os ensaios com temperatura realizaram-se medidas na Universidade de São Paulo (USP), na cidade de São Carlos-SP, na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), em Juiz de Fora-MG e no centro de aplicações da *Bruker*, em Atibaia-SP. Todas essas coletas foram necessárias para se encontrar a melhor condição de obtenção dos dados que compõem essa tese.

O difratômetro convencional empregado foi da marca Rigaku modelo RINT2000 com anodo rotatório de cobre, fendas Soller de $2,5^\circ$, máscara horizontal no feixe incidente de 5 mm, faca de limitação do feixe direto em 1 mm de altura em relação a superfície da amostra, fenda de recepção de 8 mm, filtro de níquel para barrar a radiação $K\beta$, amostra girando em 15 rpm e detector linear D/teX Ultra 2 da Rigaku.

A amostra, em pó, foi acomodada com o auxílio de uma espátula e de uma lâmina de vidro, a fim de se obter uma superfície lisa e nivelada à geometria do goniômetro, sobre um porta amostra de vidro. Da forma que a amostra foi depositada no porta amostra é grande a probabilidade de existência de orientação preferencial durante as medidas.

No caso da amostra SPR, após um ano do primeiro difratograma, outra medida foi realizada, nas mesmas condições, para elucidar possíveis transições por decorrência do tempo de estocagem.

Para conhecer melhor o modelo de difratômetro utilizado nesse trabalho, segue abaixo uma breve descrição.

O tipo de geometria Bragg-Brentano intrínseca que o equipamento da Rigaku utiliza para a realização das medidas é a $\theta - 2\theta$. Nesse caso o tubo de raios X se mantém fixo e o porta amostra e o detector se movem, θ e 2θ , respectivamente, para obedecerem a lei de Bragg.

Figura 18. Difratômetro convencional da marca Rigaku, modelo RINT 2000. Esse equipamento foi empregado na coleta de dados para a composição dessa tese, sendo assim, segue a descrição, para o conhecimento, de algumas partes importantes, além das especificações de algumas configurações utilizadas: (1) tubo de raios X com anodo rotatório de cobre, (2) fenda Soller de 2,5 °, (3) máscara de 5 mm, (4) fenda de divergência de 0,25 °, (5) faca em 1,0 mm de altura, em relação a superfície da amostra, (6) fenda de recepção de 8 mm, (7) Soller de 2,5 °, (8) filtro de níquel, (9) detector linear D/teX Ultra 2 da Rigaku e (10) carrossel automático para a troca rápida de amostras.



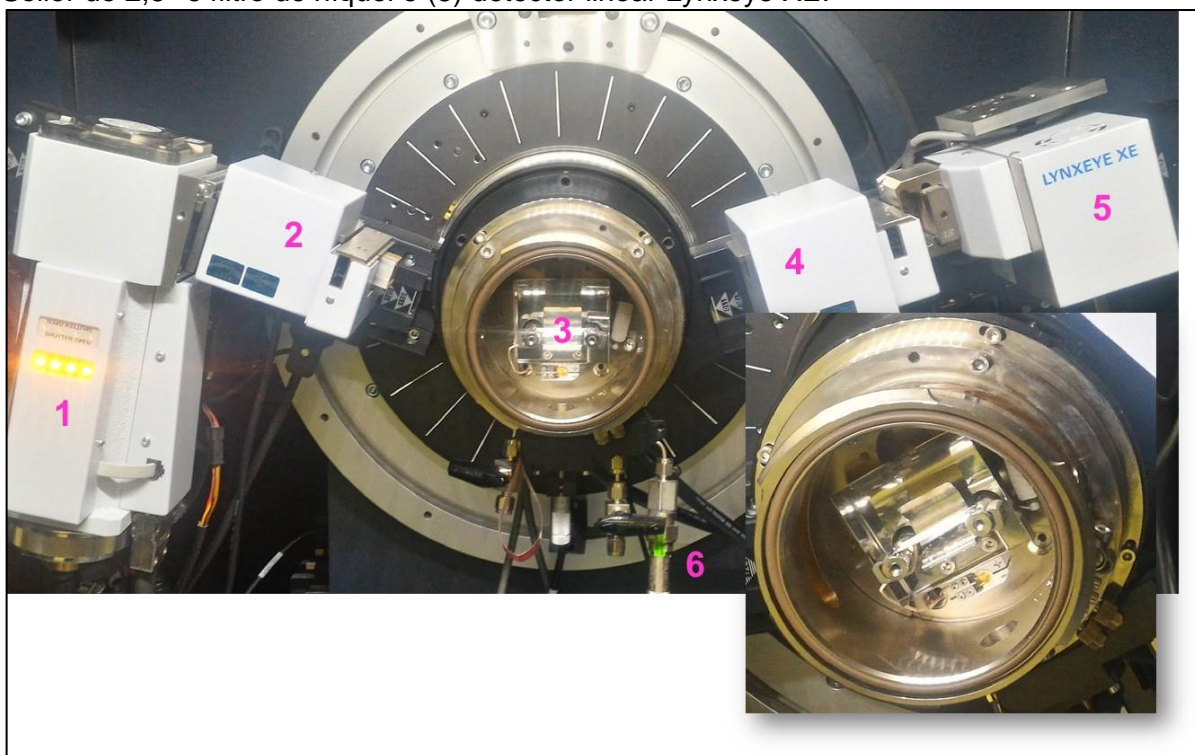
Fonte: TITA, D. L.

O equipamento para as medidas de amostras puras de espironolactona, alfalactose monoidratada, lactose anidra e de misturas desses compostos, foi um difratômetro da marca Bruker modelo D8 Advance com anodo de cobre e sistema de aquecimento *in situ*, fendas Soller de 2,5° de divergência, fenda de divergência de 0,2°, com filtro de níquel para barrar a radiação $K\beta$, detector linear Lynxeye XE, disponibilizado pela própria Bruker Brasil em seu centro de aplicações em Atibaia-SP.

O equipamento da Bruker apresenta um forno de platina para o aquecimento *in situ* de amostras, sendo que esse aquecimento pode ser feito, em fluxo de gás redutor, oxidante, sob vapor de água ou ar ambiente.

O tipo de geometria Bragg-Brentano intrínseca para a realização das medidas de temperatura é a $\theta - \theta$, haja vista para deixar a amostra, que fica sobre o forno de platina o mais sem vibração possível, o equipamento foi projetado para que o forno fique estática durante toda a coleta de dados e, assim, para obedecerem a lei de Bragg, o tubo de raios X e o detector se movem, ambos a um ângulo θ .

Figura 19. Difratômetro com sistema de aquecimento de amostras da marca Bruker, modelo D8 Advance. Esse equipamento foi empregado na coleta de dados para a composição dessa tese, sendo assim, segue a descrição, para o conhecimento, de algumas partes importantes, além das especificações de algumas configurações utilizadas: (1) tubo de raios X com anodo de cobre, (2) sistema colimação do feixe incidente: fendas Soller de 2,5° de divergência e fenda de divergência de 0,2°, (3) forno de platina que funciona como porta amostras e que pode ser melhor observado no ampliação localizada no canto inferior direito da imagem, (4), Soller de 2,5° e filtro de níquel e (5) detector linear Lynxeye XE.



Fonte: TITA, D. L.

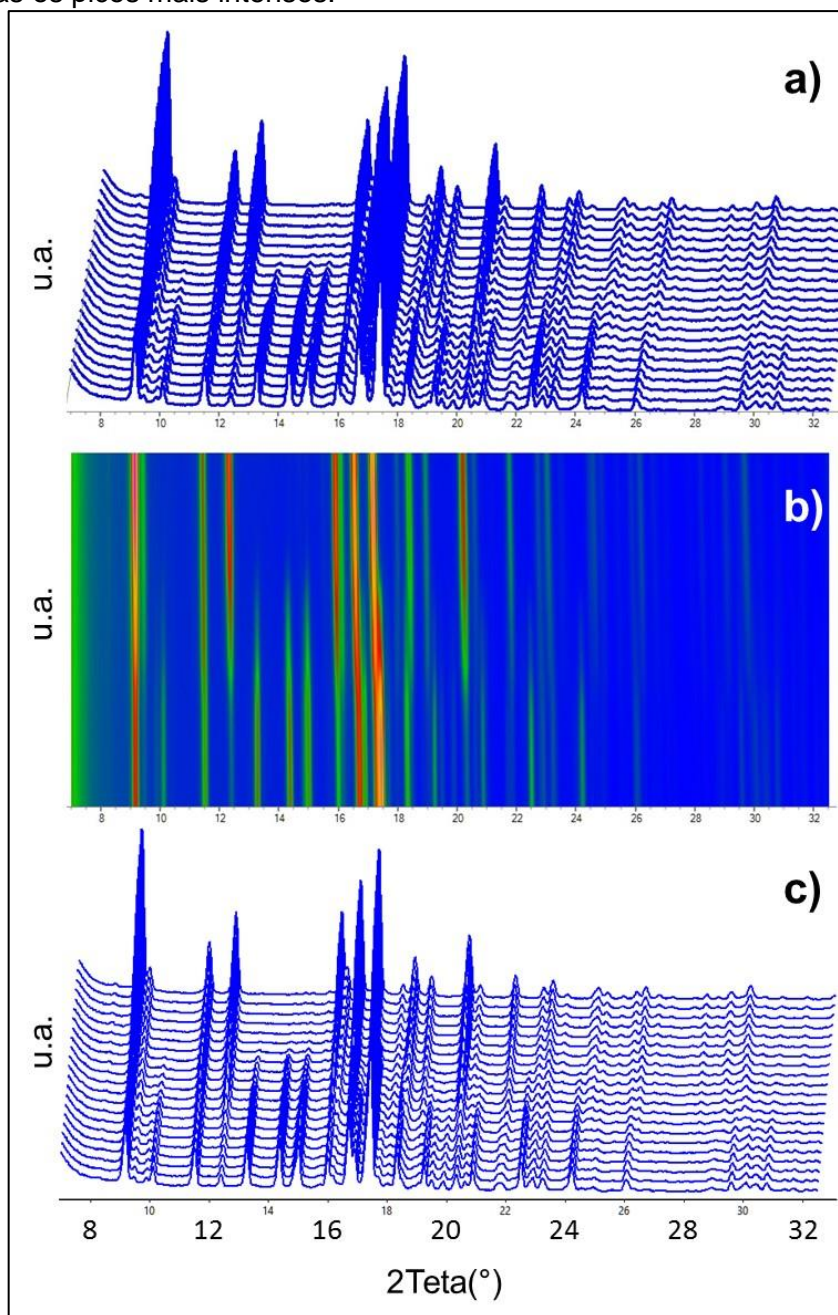
4.8 Identificação das formas cristalinas presentes em cada temperatura

Os difratogramas simulados dos possíveis polimorfos encontrados no banco CCDC foram plotados e seus picos mais intensos foram usados para identificar, nos difratogramas experimentais, as formas cristalinas presentes nas amostras analisadas.

Para essa identificação foi gerado um gráfico de superfície (ou 3D) com todos os dados de cada experimento onde foi possível, além de identificar os polimorfos presentes, também identificar as regiões de transição de fases. Os gráficos de superfície e 3D foram obtidos com o Topas Academic v6 ⁷² e JST-XRD Multi ⁷³. A Figura 20 exemplifica como as análises foram realizadas com esses softwares.

Nos dois tipos de gráficos é possível observar como o material se comporta com a variação de temperatura. No de superfície (**b**) as cores são empregadas para facilitar a compreensão dos difratogramas, pois quanto maior for a intensidade do pico (i.e. maior contagem) mais elas se aproximam do vermelho, já no caso de baixa intensidade os tons são mais voltados para cores frias, como o azul. Nesse caso é como se estivéssemos vendo os difratogramas por cima e, entre os seus espaçamentos, preenchidos, por decorrência da interpolação das curvas.

Figura 20. Exemplos de difratogramas de raios X obtidos em diferentes temperaturas construídos via Topas v6 (a - b) e JST-XRD – Multi (c). Esses tipos de gráficos (superfície = b e 3D = a e c) norteiam na identificação prévia das fases presentes e como essas evoluem com a variação de temperatura, sendo, também, possível identificar essas novas fases e em quais temperaturas elas aparecem. No gráfico de superfície (b) as intensidades dos picos são apresentadas por decorrência de cores, assim o azul representa regiões de baixa contagem e as vermelhas os picos mais intensos.



Fonte: PAIVA-SANTOS, C. de O., via Topas v 6 ⁷² e JST-XRD-Multi ⁷³.

Assim, foram identificadas as temperaturas de início e fim de cada transição observada.

4.9 A metodologia de refinamento aplicada aos refinamentos sequencial e paramétrico com o método de Rietveld.

No fluxograma da Figura 21, pode-se entender melhor como os experimentos (i.e. RSR e RPR) foram realizados.

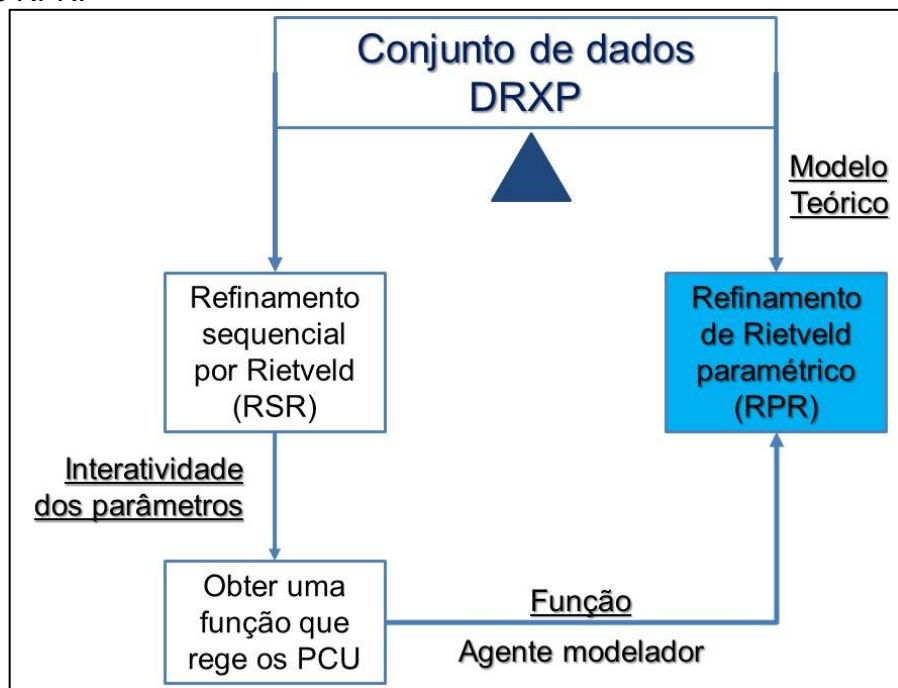
Primeiramente, a partir de um conjunto de dados de difração de raios X por pó, com variação de temperatura, realizou-se o RSR utilizando uma interatividade entre os parâmetros de cela unitária, sendo assim, os parâmetros de uma dada temperatura são provenientes dos resultados obtidos no refinamento da temperatura anterior.

Depois disso, com a análise matemática dos resultados obtidos para os PCU provenientes do RSR, encontram-se as funções que regem a regressão desses parâmetros e, com essas funções, que operam como agente modelador, os PCU são parametrizados no RPR.

Dependendo do material estudado, que não foi o caso desse trabalho, é possível encontrar na literatura modelos teóricos que, assim, já não seria mais necessário o emprego do RSR para a extração dessas equações.

Em suma, o RSR tem como funcionalidade encontrar equações que regem alguma variável refinável passível de parametrização, como no caso em questão os parâmetros de cela unitária e, a partir dessas equações parametrizar essas variáveis no RPR.

Figura 21. Sequência empregada, a partir de um conjunto de dados com variação de temperatura, para o RSR e o RPR. Primeiramente emprega-se o RSR e, com os resultados obtidos, matematicamente são propostas equações que regem esses pontos, sendo que essas equações são empregadas como agente modelador (i.e. tem a função de parametrizar os PCU) no RPR.



Fonte: TITA, D. L.

No atual estudo foram utilizados os softwares Topas Academic v. 5, para os refinamentos por Rietveld convencional, sequencial e paramétrico e v. 6, para a confecção das figuras de transições (e.g. Figura 35), de Alan Coelho ^{74,72}.

Esse programa permite análises de dados de difração de pó através de refinamentos de um modelo de parâmetros pelo método de Rietveld. O *Topas Academic* utiliza arquivos de extensão do tipo *.inp* com as linhas de comando para o refinamento, sendo que esses arquivos podem ser digitados em qualquer editor ASCII. Dessa forma, pode-se customizar esses experimentos (refinamentos) usando até mesmo funções desenvolvidas pelo usuário, como por exemplo, códigos que permitem um melhor ajuste de anisotropia desenvolvidos no LabCACC ⁷⁵ e estão disponibilizados no Topas Wiki ⁷⁶.

John Evans desenvolveu uma forma de permitir a elaboração de arquivos de extensão *.inp*, com maior facilidade, fazendo uso do editor ASCII *jEdit* ⁷⁷, que apresenta a maioria dos comandos que o *Topas* utiliza em refinamentos ⁶⁷.

Para criar os arquivos *.inp* inicialmente foi utilizado o editor de texto *jEdit*⁷⁷. Devido ao extensivo número de linhas (i.e. os arquivos *.inp*, tanto para o RSR quanto para o RRP, podem chegar a mais de 20 mil linhas) e a alta probabilidade de cometer erros em situações assim, foi elaborada uma planilha com o Excel para auxiliar na programação do experimento de refinamentos sequenciais e paramétricos. A descrição detalhada dessa planilha e como usá-la para criar o *.inp* encontram-se na próxima seção (A planilha) e no Apêndice desse trabalho.

Os refinamentos foram realizados usando parâmetros fundamentais⁶⁷ para cálculo de tamanho de cristalito (isotrópico ou anisotrópico) e ajuste de perfil. Para isso foram fornecidos ao Topas todas as informações instrumentais necessárias, como raios primário e secundário do difratômetro, fendas de divergência, fendas Soller primária e secundária, comprimentos de onda, tipo de monocromatização (monocromador ou filtro), faixa angular do detector e comprimento da amostra no porta amostra.

Os deslocamentos atômicos (Uiso) foram mantidos constantes durante os refinamentos. As posições atômicas permaneceram fixas nos valores obtidos nos arquivos CIFs do CCDC.

As celas unitárias foram refinadas sequencialmente para cada temperatura medida. No caso de refinamentos paramétricos foram definidas equações de primeiro, segundo ou terceiro grau em função de temperatura, que foram previamente obtidas com o resultado do RSR, via análises de dados no Excel.

O *background* foi refinado através de polinômio de Chebyshev⁷⁸. O número de termos para esse polinômio variou em cada caso. Só para constar: o TOPAS-Academic define o background, ou radiação de fundo, como *bkg @ # # #*, seguindo um polinômio de Chebyshev⁷⁸ onde número de coeficientes é igual ao número de valores numéricos que aparecem após o @, sendo que o @, na programação significa parâmetro refinando⁵⁶.

Para o primeiro conjunto de dados (à temperatura ambiente) foi feito um refinamento para identificar a presença de orientação preferencial (OP). E quando identificada para alguma fase, a correção foi através do modelo de *March-Dollase*⁷⁹ quando foi possível identificar o plano em OP. Quando não foi possível, foi usado o modelo de harmônicos esféricos⁸⁰. Essa correção foi mantida para os outros conjuntos de dados (à temperaturas mais altas), até o início da transição dessa fase.

No início e durante a transição foram realizados novos refinamentos individuais para verificar novamente a necessidade de manter a correção.

Os refinamentos iniciaram-se apenas com o fator de escala de cada fase juntamente com 3 termos do *background*. Com análises posteriores do gráfico de Rietveld foi verificado se era necessário a adição de mais termos.

A seguir refinou-se o deslocamento da amostra e as dimensões da cela unitária, para a correção da posição dos picos. No caso do ajuste referente ao alargamento e forma dos picos foi adicionado uma macro anisotrópica para correção ^{75,76}.

4.9.1.1 As dificuldades encontradas no refinamento por Rietveld para materiais farmacêuticos

Materiais orgânicos, como a grande maioria dos fármacos e medicamentos, apresentam comportamentos diferentes em comparação à difratogramas de raios X obtidos para materiais metálicos ou inorgânicos. Geralmente, seus picos apresentam intensidade menor devido aos tipos de átomos presentes que são mais leves e apresentam menor espalhamento na difração. Além disso, geralmente se cristalizam em grupos espaciais de baixa simetria que promovem uma grande sobreposição dos picos. No mais, quando se analisa misturas de materiais, a dificuldade na interpretação dos resultados é maior, em especial, devido à grande sobreposição dos picos.

É interessante nesse momento frisar que o aumento de temperatura, para a grande maioria dos fármacos, causa a expansão dos PCU, por consequência da vibração atômica. Sendo assim, essa expansão pode contribuir para o processo de amorfização dos materiais.

Outro fator é quando o tamanho médio de cristalito é pequeno, assim, seus picos se alargam. Esse alargamento dos picos, devido à grande sobreposição pode comprometer a identificação de fases.

No TOPAS-Academic é empregada a aproximação de Double-Voigt, com as funções *CS_L* e *CS_G*, sendo a primeira um ajuste da componente Lorentziana e a segunda de Gauss, que significam *Crystallite_Size* e são empregadas para avaliar o tamanho médio de cristalito, em nanômetros, segundo a equação 3, sendo que a largura do pico é atribuída através da largura total à meia altura e da intensidade integrada, sendo essa última utilizada nos cálculos de tamanho médio de cristalito ⁷⁴.

Uma observação interessante em se fazer, a partir desse estudo, mostrando ainda mais os cuidados necessários para se trabalhar corretamente com o método de Rietveld na análise de materiais que apresentam intensa sobreposição, é que o alargamento dos picos por decorrência da diminuição do tamanho médio dos cristalitos pode gerar uma falsa interpretação de que seja necessária a inclusão de uma quantidade maior de termos para o ajuste do background, haja vista a função PSF, descrita pela equação 2, também sofrer influência do *background*. Sendo assim, a inclusão de mais termos, na Figura 22, não ajustaria de forma eficiente a linha do background, pois olhando para as simulações de 200 nm, de maior tamanho médio de cristalito, em comparação a de menor, 25 nm, entende-se que a elevação da linha de base é gerada em decorrência do aumento da largura dos picos, que devido à grande sobreposição, começam a se truncarem. No caso da simulação de 25 nm a linha do background deve ser uma linha reta, assim como para a medida de 200 nm.

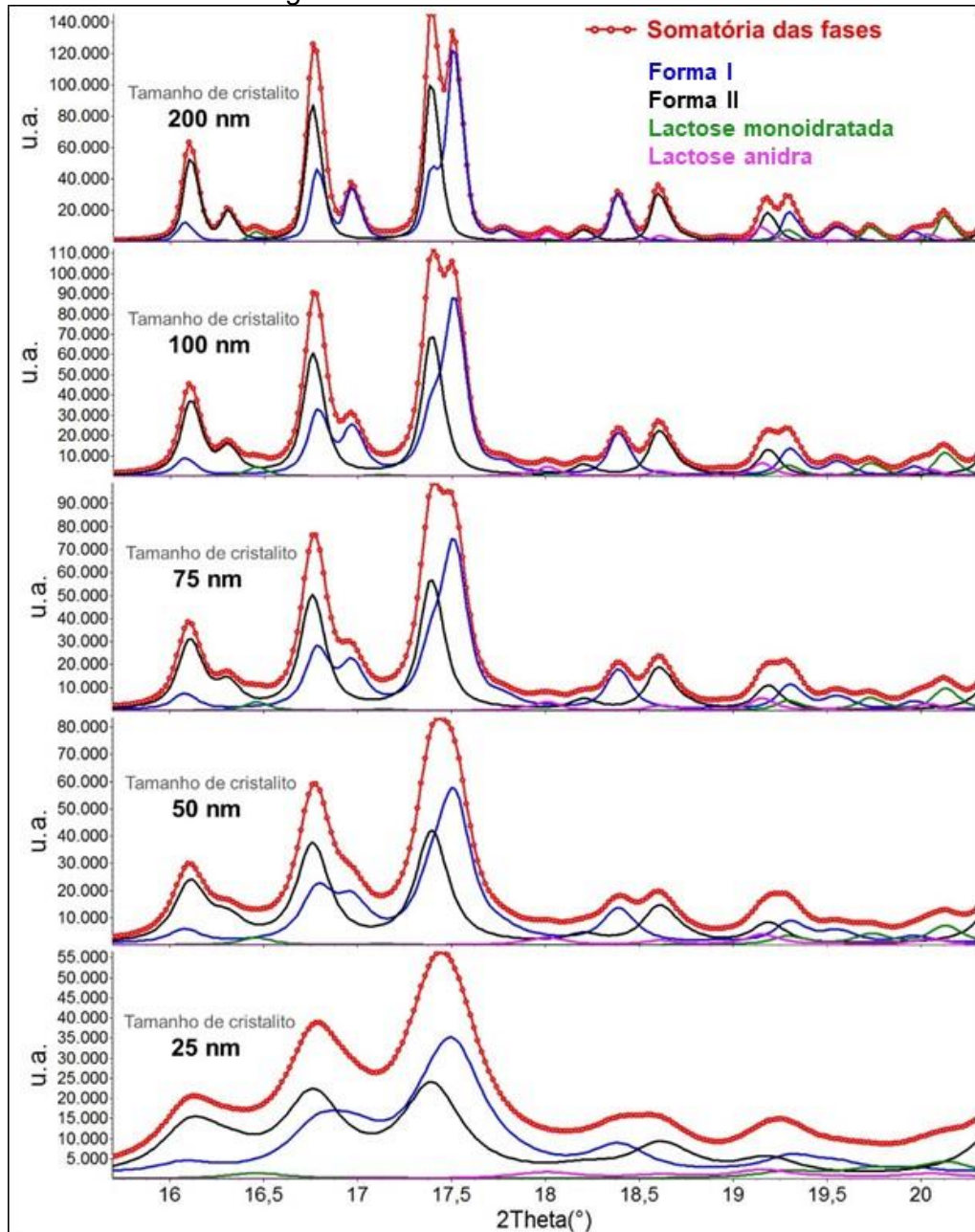
Para compor a Figura 22 geraram-se, através de simulações, difratogramas para as misturas do princípio ativo espirolactona e do excipiente lactose monoidratada, com a finalidade de se discutir a influência do tamanho médio de cristalino em relação ao alargamento dos picos. Os padrões simulados contêm as seguintes fases (i) para a espirolactona: mistura de forma I (linha azul) e forma II (linha preta) e para (ii) lactose monoidratada: mistura de alfalactose monoidratada (linha verde) e alfalactose anidra (linha rosa).

Essas simulações foram realizadas via software *TOPAS-Academic V5*, seguindo os parâmetros instrumentais de um equipamento convencional com anodo de cobre ($K\alpha_{1,2}$), sem monocromador e passo de $0,02^\circ$ (2θ).

Interpretando a figura, a partir do primeiro gráfico, com tamanho médio de cristalito isotrópico de 200 nm imposto para todas as fases, observa-se a intensa sobreposição de picos (e.g. as regiões próximas a 17° e $19,25^\circ$ (2θ)). No segundo gráfico, já com 100 nm, os picos começam a se alargar e, como isso, no seu somatório (linha vermelha com bolinhas), que nesse caso é proveniente da simulação, mas em uma medida real seria a intensidade observada (I_o), uma região que anteriormente apresentava dois picos distintos (i.e. 17° (2θ)) passa, agora, a ter uma menor separação entre eles. Se extrapolarmos essa observação para a de 25 nm, o menor tamanho médio de cristalino simulado, temos basicamente um único pico bem largo,

para essa região. Sendo assim, em síntese, um maior cristalito dá origem a um pico mais estreito e um menor cristalino a um pico mais largo.

Figura 22. Simulações de difratogramas a partir da influência do tamanho médio de cristalito. Esse exemplo apresenta uma intensa sobreposição de fases (i.e. quatro fases distintas) que com simulação da diminuição do tamanho médio dos cristalitos causa ainda mais dúvida na interpretação das fases, devido ao entroncamento dos picos e ao alargamento que começa a influenciar na análise do *background*.



Fonte: TITA, D. L.

Os erros, no método de Rietveld, estão associados a qualidade dos dados obtidos da difração. Embora os valores de índice menores indiquem um melhor ajuste de um modelo aos dados, modelos errados com dados de baixa qualidade podem exibir valores menores do que alguns modelos excelentes com dados de qualidade muito alta ⁵⁹. Segundo Brian Toby ⁵⁹ a maneira mais importante de determinar a qualidade de um ajuste, pelo método de Rietveld, é ir observando a convergência entre os padrões observado e calculado, via gráfico, e garantir que o modelo é quimicamente plausível.

4.9.2 A planilha

Em um levantamento feito por Lachlan M. D. Cranswick, publicado no livro *Powder Diffraction Theory and Practice* ⁸¹, existem 30 softwares de método de Rietveld para o refinamento de estruturas, dentre eles, os mais populares e empregados atualmente são o GSAS (utilizando a interface gráfica *EXPGUI*), o *Fullprof* e o *Topas*. No caso do refinamento sequencial e paramétrico por Rietveld é necessário que se tenha a liberdade de incluir conexões como *constrais* em diversos parâmetros, o que não é possível em todos os programas de refinamento.

Existem alguns programas e metodologias que são apresentados na literatura para o refinamento sequencial e paramétrico como o do G. W. Stinton e do J. S. O. Evans ⁶⁵ e o *Powder 3D Parametric* do Paneerselvam Rajiv e colaboradores ⁸².

A planilha, que passa a ser tratada pela sigla SP-DLT (*Sequencial and Parametric* – Diego Luiz Tita), tem como objetivo puro e simples auxiliar os usuários a programar os refinamentos do tipo RSR e o RPR, para serem lidos pelo editor de texto *jEdit* e calculados via *Topas*.

A grande dificuldade em se programar esses experimentos, além da necessidade de vincular as celas unitárias, como será melhor explicado mais adiante, para o RSR, ou de programar funções de até o terceiro grau para modelar cada um dos 6 parâmetros, para cada fase estudada, como no caso do RPR, que também será melhor explicado mais adiante, é no preenchimento completo das funções necessárias para que o refinamento funcione perfeitamente, assim, como exemplo, se for necessário incluir uma macro para ajuste anisotrópico de perfil, o usuário deve incluir essa macro para cada uma das temperaturas do experimento e, além disso,

deve atribuir variáveis específicas para aquela fase naquela dada temperatura, pois do contrário os cálculos serão comprometidos e não será possível realizar o refinamento.

Em suma, além das programações para o RSR e o RPR, a planilha também comporta várias funções que podem ser atribuídas no refinamento, já com as variáveis específicas para cada fase em uma dada temperatura, para que não haja uma mesma função operando fases e temperaturas diferentes, o que causaria um colapso nos cálculos.

Com ela é possível esquematizar experimentos de aquecimento com até quatro fases cristalinas e, de forma automática, incluir um conjunto de até 100 difratogramas (i.e. 100 medidas experimentais) ou, manualmente, um número infinito de difratogramas.

Na Figura 23 é apresentado a página principal da planilha. O usuário pode utilizá-la em Excel ou LibreOffice Calc, que a partir do preenchimento dos dados das fases (i.e. nome, parâmetros de cela unitária, posições atômicas, temperatura de aquecimento e o nome do arquivo que contém o conjunto dos dados), escreve a programação com todas as devidas conexões, tanto para o RSR quanto para o RPR para serem lidas via jEdit e calculadas via Topas Academic.

4.9.2.1 Estatística para exclusão de um ponto fora da curva (*outliers*)

Os *outliers* são definidos como pontos que estão estatisticamente inconsistentes com a totalidade de um conjunto de dados. Em alguns casos, ao se analisar um conjunto de dados é possível identificar pontos “questionáveis” que se destacam do conjunto total. Esses pontos nunca devem ser descartados sem uma justificativa estatística adequada ⁸³, sendo assim, segue abaixo uma descrição do modelo que foi utilizado para análise dos resultados obtidos via refinamento sequencial por Rietveld para os parâmetros de cela unitária.

Primeiramente se calcula a **média** (\bar{x}) e o **desvio padrão amostral** (σ), seguindo as equações abaixo, respectivamente, para uma amostra de uma única variável, como é o caso dos parâmetros de cela unitária (a, b, c, α, β e γ).

$$\bar{x} = \frac{(x_1 + x_2 \dots + x_n)}{n} \quad (15)$$

$$= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}} \quad (16)$$

Onde, x é o dado da série e n o tamanho da população.

Depois disso, tendo a média e o desvio padrão dos dados, determina-se o valor de τ , através da equação 17, ou utilizando a tabela de Thompson modificada, que é apresentada em Anexo.

$$\tau = \frac{t \cdot (n - 1)}{\sqrt{n} \sqrt{n - 2 + t^2}} \quad (17)$$

Onde, t é o valor crítico da distribuição t -student, baseado em $\alpha = 0,05$ com $n - 2$ graus de liberdade. Assim, segue nas equações 18 e 19 como se calcular essa variável.

$$t = \text{INVT}(\alpha, n - 2) \quad (18)$$

$$t = \text{INVT}(0,05, n - 2) \quad (19)$$

Com o resultado do valor de t e o valor de n é só substituir na equação 17 para encontrar o τ .

Assim, conhecendo a média, o desvio padrão e o valor de τ , que tem uma relação direta com o tamanho da população, obtém-se o produto de τ pelo desvio padrão amostral.

$$\tau * \sigma \quad (20)$$

Esse produto, mais adiante, será utilizado para comparar com outro parâmetro que é descrito na equação 21, conhecido com delta (Δ).

$$\Delta = |x_i - \bar{x}| \quad (21)$$

Por fim, para analisar o dado da série, seguem nas equações 22 e 23 o teste.

$$\Delta > \tau * \sigma \Rightarrow \textit{Outlier} \quad (22)$$

$$\Delta < \tau * \sigma \Rightarrow \textit{Não outlier} \quad (23)$$

Sendo assim, se Δ for maior que o produto ($\tau * \sigma$), então o ponto analisado da série de dados é um *outlier* e pode ser excluído. Se Δ for menor que o produto ($\tau * \sigma$), então o dado experimento não pode ser excluído, haja vista não ser um *outlier*.

Com esse teste, até que simples, é possível ter uma justificativa estatística para avaliar um ponto e, caso seja necessário, excluí-lo do conjunto de dados experimentais, porém, sempre tenha cuidado, pois as vezes mesmo a estatística confirmando a sua exclusão pode ser que fisicamente esse ponto exista como parte do conjunto e sua exclusão comprometerá toda a análise, sendo assim, uma

possibilidade é realizar a coleta de dados novamente para avaliar se o fenômeno observado se repete ou não.

4.9.3 A apresentação dos erros

Para esse trabalho os parâmetros de celda unitária foram reportados conforme o número de algarismos significativos, dado pelo desvio padrão, assim como exemplificado na Tabela 7. Um valor obtido via software Topas Academic de $21,57673 \pm 0,0017$, é apresentado como 21,5767(17).

Tabela 7. Reportando os erros. Os erros tanto dos PCU quanto das análises quantitativas de fases foram reportados seguindo a lógica apresentada na tabela.

	Resultados obtidos	Erro
Via software Topas Academic	21,57673	$\pm 0,0017$
Corrigido para esse trabalho	21,5767	(17)

Fonte: TITA, D. L.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nessa etapa do trabalho os resultados obtidos dos experimentos e as devidas discussões serão apresentados na seguinte ordem: espirolactona, alfalactose monoidratada e lactose anidra.

Primeiramente serão discutidos os ensaios utilizados para a caracterização dos materiais, que podem servir como referência para outros trabalhos, como no caso da contagem do tamanho médio de partícula, via imagens de microscopia eletrônica de varredura. Depois disso, iremos para a parte da difração de raios X por pó com o emprego do método de Rietveld, sequencial e paramétrico que foram aplicados para elucidar as transições que envolvem os materiais.

5.1 O funcionamento da planilha SP-DLT

Basicamente, cada padrão de difração coletado equivale a uma temperatura, assim, a planilha opera com pacotes de 10 medidas. Dados comuns para todo um conjunto de medidas como, nomes das fases ou parâmetros de cela unitária, só são necessários incluí-los uma única vez. Já no caso das temperaturas é preciso incluir um primeiro pacote e pedir para a planilha, através de macros, gerar o primeiro arquivo com as primeiras 10 temperaturas. Depois disso, ajusta-se novamente a temperatura para o segundo pacote e, via macro, ocorre a adição dessas 10 novas temperaturas às 10 primeiras. Através desses passos é possível incluir até 100 medidas, tanto para o RSR quanto para o RRP. Com um pouco mais de habilidade e a compreensão de como funcionam as linhas de programação da planilha SP-DLT é possível incluir infinitas medidas de forma manual. Isso irá depender apenas da paciência e da atenção do usuário.

No final do RSR, para cada amostra estudada, os valores dos parâmetros da cela unitária podem ser plotados, utilizando um setor específico da própria planilha, em função da temperatura. Nesse caso é possível atribuir funções que regem a expansão/contração das celas unitárias, em função da temperatura.

A partir dessas funções, preenche-se a planilha para programar o próximo experimento que é o RRP.

Para melhor compreensão de como o experimento do RSR é programado, segue na Tabela 8 um exemplo. Na análise dos três primeiros dados, hipotéticos, obtidos de um material sob intervalo de aquecimento de 5 °C, para cada difratograma, o primeiro refinamento (M1) utiliza os dados iniciais (i.e. os parâmetros que foram extraídos do CIF) e um delta (Δ = variação), que está relacionado à variação do volume da cela unitária por decorrência da variação de temperatura aplicada ao ensaio, que foi de 35 ° C, para esse exemplo. Assim, a função é descrita como: $PCU_{T35} = PCU_{CIF} + \Delta PCU_{T35}$.

Na segunda medida (M2), em temperatura de 40 ° C a expressão é $PCU_{T40} = PCU_{T35} + \Delta PCU_{T40}$, sendo que, o ΔPCU_{T40} está relacionado com a dilatação da cela unitária por decorrência da variação da temperatura, dessa medida, e, assim por diante todas as outras medidas são programadas.

Nesse caso é possível observar a dependência (i.e. conexões) dos resultados obtidos em temperaturas anteriores, haja vista a presença do termo que acompanha o *delta*.

Tabela 8. Exemplo da função que é empregada no RSR. Nesse caso observa-se que um refinamento depende dos resultados dos PCU obtidos a partir da medida anterior.

Range	Temperatura (°C) ($\Delta T = 5$ °C / medida)	Expressão para o refinamento sequencial
1	35	$PCU_{T35} = PCU_{CIF} + \Delta PCU_{T35}$
2	40	$PCU_{T40} = PCU_{T35} + \Delta PCU_{T40}$
3	45	$PCU_{T45} = PCU_{T40} + \Delta PCU_{T45}$

Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 24 é apresentada uma parte da programação realizada de forma automática pela planilha, referente às conexões dos PCU. A linha que se inicia com a apostrofe (') não é lida no refinamento, sendo assim ela foi escrita para deixar o refinamento mais fácil de ser entendido, o que evita confusões.

O *prm* define um parâmetro, onde o ponto de exclamação (!) irá torná-lo fixo (constante) durante os refinamentos.

Assim, no primeiro pacote de *prm*, *a1_0*, significa que o parâmetro *a* de cela unitária, para a primeira fase a ser incluída no refinamento, que nesse exemplo é a Forma_I, da SPR, tem um valor de 9.976 Å, proveniente do CIF. Isso se repete para *b1_0*, *c1_0*, *alfa1_0*, *beta1_0*, *gama1_0*, que são os parâmetros *b*, *c*, α , β e γ , respectivamente.

O segundo pacote de *prm* é referente aos PCU para a medida de 25° C (*a1_25*), que correspondem ao valor do PCU_{inicial} (*a1_0*) mais um acréscimo relacionado com a dilatação térmica “*dela25_1*”. Isso também se repete para os outros parâmetros.

O terceiro pacote corresponde à variação encontrada para os PCU da medida à 30 °C (*a1_30*), que correspondem a adição da variação encontrada anteriormente na medida de 25 °C (*a1_25*) mais um acréscimo referente à dilatação sofrida entre 25 e 30 °C. Seguindo esta lógica todos vínculos entre PCU e dilatação (ou contração) entre temperaturas sequenciais são geradas.

Figura 24. Exemplo de programação empregada no RSR relacionando a variação dos parâmetros de cela unitária. No exemplo é apresentada a forma I da SPR. O primeiro pacote de *prm* refere-se aos parâmetros de celas unitárias extraídos pelo CIF (parâmetros iniciais). O segundo pacote à variação destes parâmetros para a medida de 25 °C, sendo que esta é igual ao valor dos parâmetros iniciais (PCU vindos do CIF) em adicional a um *delta*, decorrente, simplesmente, do aumento da temperatura durante a realização do experimento. O último pacote de *prm* refere-se à variação dos parâmetros para a medida de 30 °C, sendo que estes, seguindo as conexões, são obtidos a partir dos PCU obtidos anteriormente para a medida de 25 °C mais a adição de um *delta* referente ao aumento de temperatura.

Primeira fase Forma I	Parâmetros de cela unitária obtidos do CIF	'(((defining PRM PHASE_1 -		Forma_I	
		#ifdef Forma_I			
		prm !al_0	9.976		
		prm !bl_0	35.573		
		prm !cl_0	6.225		
		prm !alfal_0	90		
		prm !betal_0	90		
1ª Temperatura 25 °C		prm dela25_1	0	prm al_25 = al_0+dela25_1;	
		prm delb25_1	0	prm bl_25 = bl_0+delb25_1;	
		prm delc25_1	0	prm cl_25 = cl_0+delc25_1;	
		prm !delal25_1	0	prm alfal_25 = alfal_0+!delal25_1;	
		prm !delbe25_1	0	prm betal_25 = betal_0+!delbe25_1;	
		prm !delga25_1	0	prm gamal_25 = gamal_0+!delga25_1;	
2ª Temperatura 30 °C		prm dela30_1	0	prm al_30 = al_25+dela30_1;	
		prm delb30_1	0	prm bl_30 = bl_25+delb30_1;	
		prm delc30_1	0	prm cl_30 = cl_25+delc30_1;	
		prm !delal30_1	0	prm alfal_30 = alfal_25+!delal30_1;	
		prm !delbe30_1	0	prm betal_30 = betal_25+!delbe30_1;	
		prm !delga30_1	0	prm gamal_30 = gamal_25+!delga30_1;	

Fonte: TITA, D. L.

Ainda com o emprego da SP-DLT, após o término do refinamento, na mesma pasta de trabalho é salvo um arquivo de extensão *.txt*, para cada fase incluída no refinamento, com os valores dos parâmetros de cela unitária e a proporção da fase para cada temperatura analisada.

Com esses dados é possível, com o auxílio de um editor de planilhas e gráficos (por exemplo Libreoffice Calc ou MS Excel) plotar os valores dos PCU para definir qual o melhor polinômio para expressar a dilatação ou a contração da cela unitária. Como já foi dito anteriormente, também é possível construir esses gráficos na própria planilha SP-DLT. Para isso é necessário entrar com os arquivos *.txt*, obtidos pelo RSR, na aba *Sequential_Results*, que os gráficos já são gerados na aba subsequente (*Seq_Plot*). Nesse caso é importante lembrar que o usuário deve fazer a interpretação de qual a melhor curva que representa o seu sistema e, além disso, a planilha faz uma avaliação de *outliers*, que basicamente são pontos estatisticamente fora do conjunto de dados e, assim, é responsabilidade do usuário, também, fazer a opção de descartar esses pontos ou mantê-los.

Com essas curvas obtidas via RSR e utilizando a planilha SP-DLT é possível programar o experimento de RPR, fornecendo valores que podem ser descritos por uma função de primeiro grau, ou de segundo ou, até, de terceiro grau.

Para melhor compreensão de como o experimento do RPR é programado, segue na Tabela 9 um exemplo. Basicamente, cada parâmetro de cela unitária (a , b , c , α , β e γ), pode ser descrito por uma função de até o terceiro grau, proveniente do RSR, assim, essas equações modelam o refinamento paramétrico.

Tabela 9. Exemplo da função que é empregada no RPR. Nesse caso observa-se que o refinamento é regido pelas equações obtidas do RSR. Caso o ajuste seja, por exemplo, para uma equação de segunda grau, basicamente, é só zerar o termo de terceiro grau.

Range	Temperatura (°C)	Expressão para o refinamento paramétrico ($y = c + oT + nT^2 + mT^3$)
1	35	$PCU_{T35} = C_{(coef_liner-PCU)} + o_{(PCU)} * 35 + n_{(PCU)} * (35)^2 + m_{(PCU)} * (35)^3$
2	40	$PCU_{T40} = C_{(coef_liner-PCU)} + o_{(PCU)} * 40 + n_{(PCU)} * (40)^2 + m_{(PCU)} * (40)^3$
3	45	$PCU_{T45} = C_{(coef_liner-PCU)} + o_{(PCU)} * 45 + n_{(PCU)} * (45)^2 + m_{(PCU)} * (45)^3$

Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 25 observa-se a programação do RRP para expansão de cela unitária de uma estrutura modelada por uma equação de terceiro grau. No exemplo, apenas ilustrativo, é apresentada a fase da forma I da SPR. O primeiro conjunto de *prm* consiste nos valores obtidos através do RSR para os coeficientes lineares e angulares das equações encontradas via RSR. O segundo conjunto descreve a equação do polinômio onde, $a1_{25}$, que é o parâmetro a , da primeira fase cristalina refinada à temperatura de 25 °C, é regido pela equação seguinte equação: $a1_0 +$

$coef_ang_a1aaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_a1aa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_a1_0 * (temp25)$, sendo o $a1_0$ o coeficiente linear da equação e o restante os coeficientes angulares multiplicados pela temperatura de 25 °C elevados ao cubo, ao quadrado e a primeira ordem, respectivamente. A mesma lógica é empregada para os próximos parâmetros e fases.

Figura 25. Exemplo de programação empregada no RRP relacionando os coeficientes angulares para o ajuste de equação de terceiro grau obtidos a partir do RSR. No exemplo é apresentada a fase da forma I, da SPR. O primeiro conjunto de *prm* consiste nos valores obtidos através do CIF referente a essa fase e aos coeficientes angulares para cada PCU obtidos via RSR. O segundo conjunto de *prms* retratam as equações da reta para a temperatura de 25° C e, por último, conjunto de *prm* para a temperatura de 30° C.

```

Forma_I
'''(defining PRM PHASE_I -
#ifdef Forma_I
prm al_0 9.976
prm bl_0 35.573
prm cl_0 6.225
prm alfa1_0 90
prm beta1_0 90
prm gama1_0 90
prm coef_ang_al_0 0.0024
prm coef_ang_bl_0 -0.0046
prm coef_ang_cl_0 -0.0003
prm !coef_ang_alfa1_0 0
prm !coef_ang_beta1_0 0
prm !coef_ang_gama1_0 0

prm coef_ang_alaaa_0 -0.00003
prm coef_ang_blaaa_0 0.00008
prm coef_ang_claaa_0 0.00009
prm !coef_ang_alfalaaa_0 0
prm !coef_ang_betalaaa_0 0
prm !coef_ang_gama1aaa_0 0

al_0 + coef_ang_alaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_alaaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_al_0 * (temp25);
bl_0 + coef_ang_blaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_blaaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_bl_0 * (temp25);
cl_0 + coef_ang_claaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_claaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_cl_0 * (temp25);
= alfa1_0 + coef_ang_alfalaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_alfalaaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_alfa1_0 * (temp25);
= beta1_0 + coef_ang_betalaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_betalaaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_beta1_0 * (temp25);
= gama1_0 + coef_ang_gama1aaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_gama1aaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_gama1_0 * (temp25);

al_30 =
bl_30 =
cl_30 =
alfa1_30
beta1_30
gama1_30
'''

```

Fonte: TITA, D. L.

No apêndice desse trabalho, é apresentado um tutorial detalhado de seu completo funcionamento e como realizar o seu preenchimento, desde a entrada dos dados até aos ajustes necessários para o refinamento.

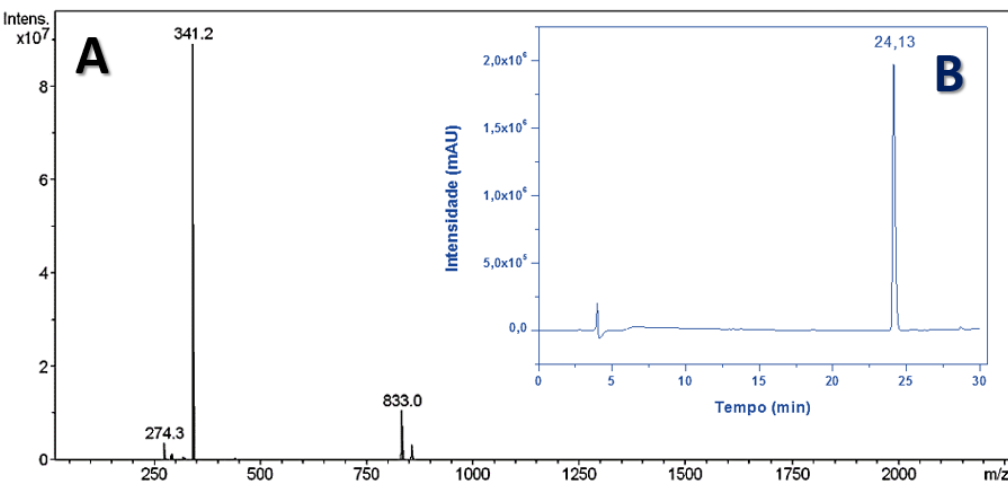
5.2 A espirolactona

Na tamisação da SPR observou-se que esse material tem grande dificuldade para ser peneirado, pois o pó vai se aglomerando e formando pequenas esferas, supostamente devido às interações fracas entre as partículas e, com isso dificulta a sua passagem pela malha da peneira. Para solucionar esse problema, as esferas que se formaram foram quebradas com o auxílio de uma pinça e utilizou-se um pincel de cerdas suaves para facilitar a tamisação em 200 mesh.

Primeiramente, uma pequena quantidade do pó tamisado foi suspenso em água/acetoneitrila (1:1) para a realização da análise de cromatografia líquida. A finalidade desse teste foi identificar se a amostra de SPR apresentava alguma contaminação. Essa análise é apresentada na Figura 26 (B), onde observa-se um único pico majoritário em 24,13 minutos de retenção pela coluna, em um comprimento de onda específico (238 nm), elucidando que a amostra apresenta uma alta pureza de 99,8 %.

Após a análise cromatográfica, realizou-se a espectroscopia de massas para obter a confirmação do material. Essa análise é apresentada na Figura 26 (A) e mostra que o maior íon observado foi o $[M-SCOCH_3]^+$, $m/z = 341,2$, referente ao fracionamento da espirolactona, assim como também foi observado pelo autor Dong, H. et al. ³⁵ em um estudo de caracterização desse fármaco em plasma humano.

Figura 26. Espectro de massas (**A**) e de cromatografia líquida (**B**), ambos para a amostra SPR. Em **A** observa-se o pico majoritário da espironolactona pela fração molecular $[M-SCOCH_3]^+$ em $m/z = 341,2$ e em **B** um intenso sinal em 24,13 minutos de retenção em comprimento de onda de 238 nm referente a presença da espironolactona e sua elevada pureza.

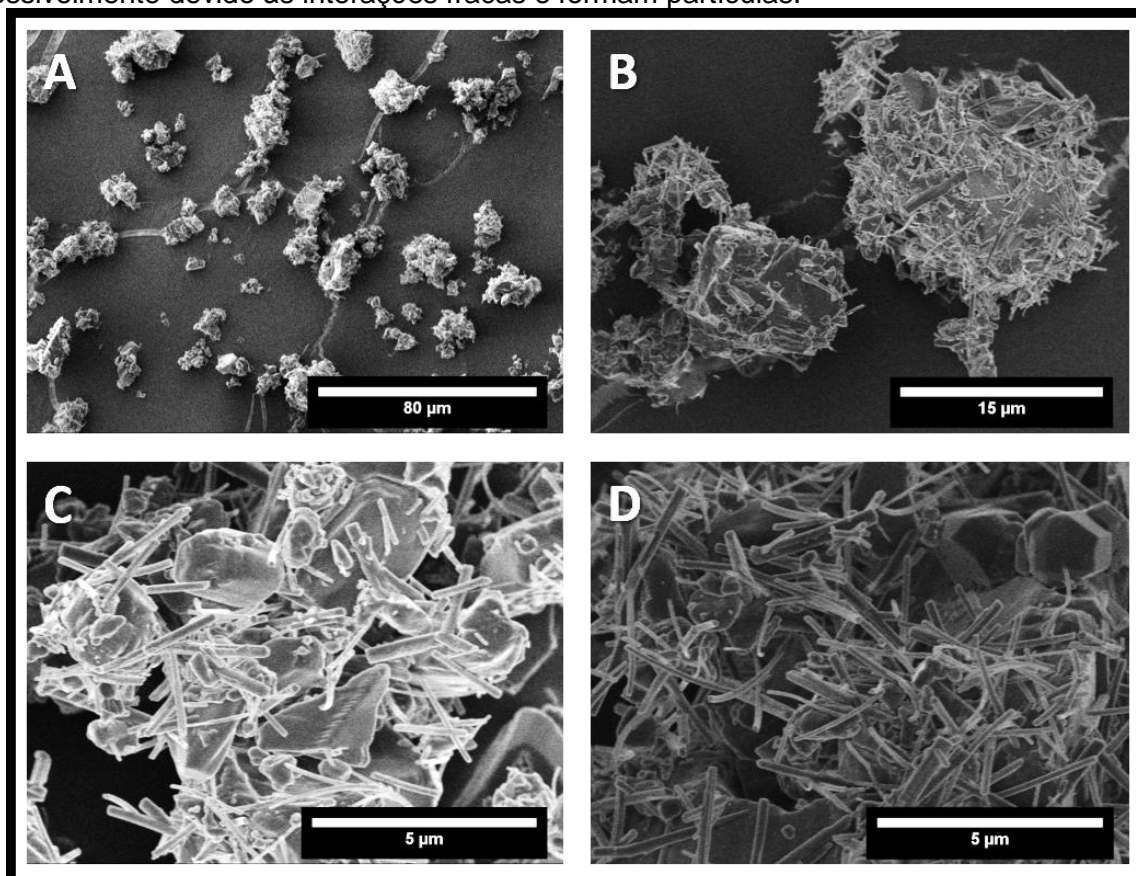


Fonte: TITA, D. L.

Com a finalidade de se obter informações sobre a morfologia do material, pois em alguns casos, polimorfos diferentes apresentam morfologias diferentes, realizaram-se as análises de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG).

Na Figura 27 é apresentada a sequência das ampliações: 600 X, 3.000 X e 10.000 X, da topografia do material, realizadas com voltagem de aceleração de 2,00 KV e *Work Distance* (WD) de aproximadamente 8 mm. Assim, com essas imagens, observa-se que as partículas são formadas pela aglomeração de subpartículas de tamanhos ainda menores (Figura 27 – **A** e **B**), algumas apresentando características de varetas e outras como cubos, ou sólidos geométricos, com arestas bem definidas (Figura 27 – **C** e **D**). Essas variações de morfologias (varetas e sólidos geométricos) observadas nas imagens podem ser um indício de que o fármaco apresente misturas de fases polimórficas em sua composição.

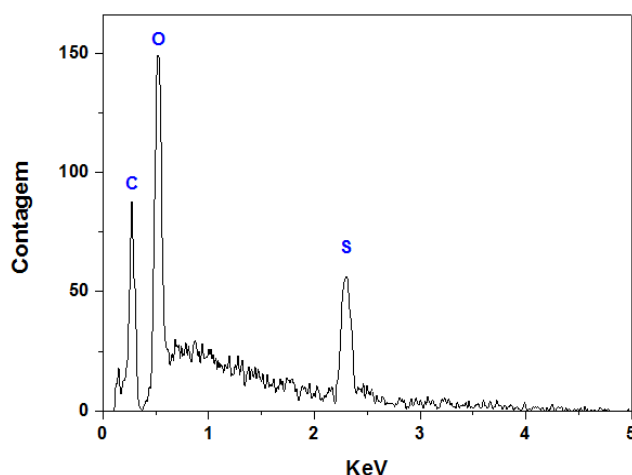
Figura 27. MEV-FEG da amostra SPR. É possível observar a formação de aglomerados de partículas gerados basicamente por estruturas parecidas com varetas e sólidos geométricos com arestas definidas, isso pode ser melhor visualizado nas imagens **C** e **D**, e se aglomeram possivelmente devido às interações fracas e formam partículas.



Fonte: TITA, D. L.

Na análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS), apresentada na Figura 28, observam-se os três picos mais intensos que correspondem as transições eletrônicas do i) carbono $K\alpha$ em 0,282 keV, ii) oxigênio $K\alpha$ em 0,523 KeV e iii) enxofre $K\alpha$ em 2,307 KeV, fazendo referência à molécula de espironolactona ($C_{24}H_{32}O_4S$). Essa análise corrobora com a cromatografia líquida (Figura 26) mostrando a elevada pureza do material, em especial por não apresentar contaminações, aos níveis de detecção das técnicas, de, por exemplo, sais indesejáveis.

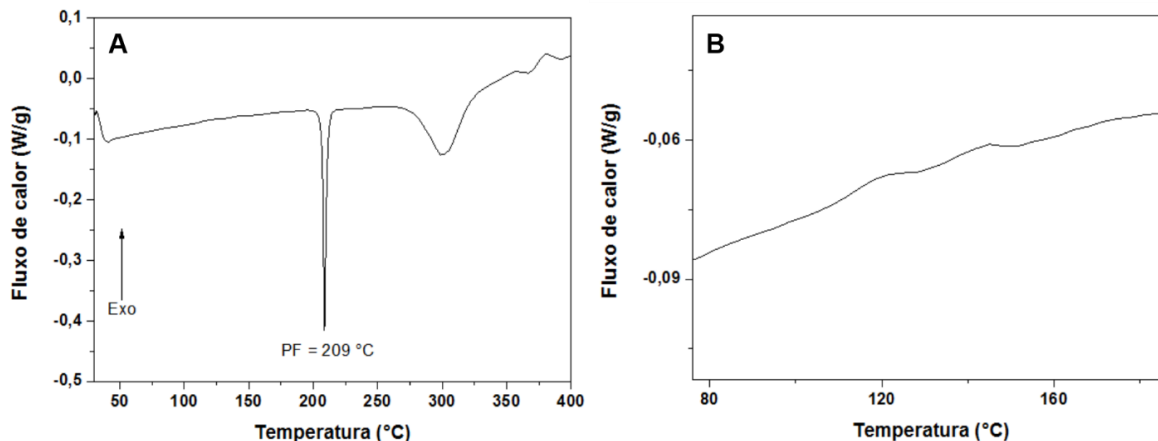
Figura 28. EDS da amostra SPR. Os picos mais intensos correspondem ao carbono, oxigênio e ao enxofre fazendo referência aos átomos que estão contidos na espirolactona ($C_{24}H_{32}O_4S$).



Fonte: TITA, D. L.

Em relação à análise térmica da amostra SPR, na Figura 29 é apresentada a curva de DSC onde é possível observar a inflexão endotérmica referente ao ponto de fusão do fármaco em 209 °C (**A**), fazendo referência aos dados reportados na literatura ²⁶. O interessante nessa medida, e que pode ser melhor observado na ampliação em **B**, é uma pequena inflexão próximo a 140 °C referente a uma fusão preliminar do material seguida de uma resolidificação, fazendo referência às informações que são apresentadas na Farmacopeia Brasileira ²⁶. Segundo Espeau, et al ³⁰, que estudou esse fenômeno por *hot stage* (equipamento que consiste basicamente em um tipo de microscópio acoplado a um forno e, assim, é possível ir acompanhando a evolução dos cristais de uma amostra, por exemplo, em função da imposição de temperatura no sistema) o fenômeno é possivelmente atribuído a uma sequência endo-exotérmica que indica a fusão da forma I e a recristalização em forma II da espirolactona ³⁰. Sendo assim, é possível que nesse fármaco coexista a forma I e a forma II em uma mistura de fases.

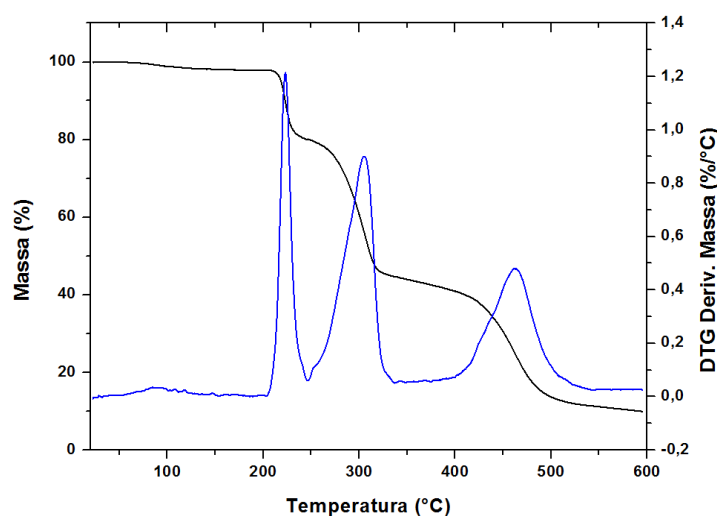
Figura 29. Análise de DSC da amostra SPR. No gráfico em **A** observa-se um grande pico endotérmico estreito fazendo referência ao ponto de fusão da espironolactona em 209 °C. Em **B** a ampliação de uma região próxima à temperatura de 140 °C referente a uma fusão preliminar seguida de uma resolidificação, possivelmente atribuídas pela fusão da forma I e a recristalização em forma II da espironolactona.



Fonte: TITA, D. L.

Para a análise de TGA, apresentada na Figura 30, observa-se que a transição da forma I para a forma II, que foi observada na Figura 30 (B), por volta de 140 °C, não causa nenhum tipo de variação de massa, significando que o fenômeno observado se refere a uma transição polimórfica do fármaco.

Figura 30. Análise de TGA para a amostra SPR. Em 140° C, que foi a temperatura observada no DSC em que um fenômeno de fusão e resolidificação ocorria, não se encontra nenhuma variação de massa, sendo assim, entende-se que o fármaco, nessa temperatura, apresenta uma transição polimórfica.

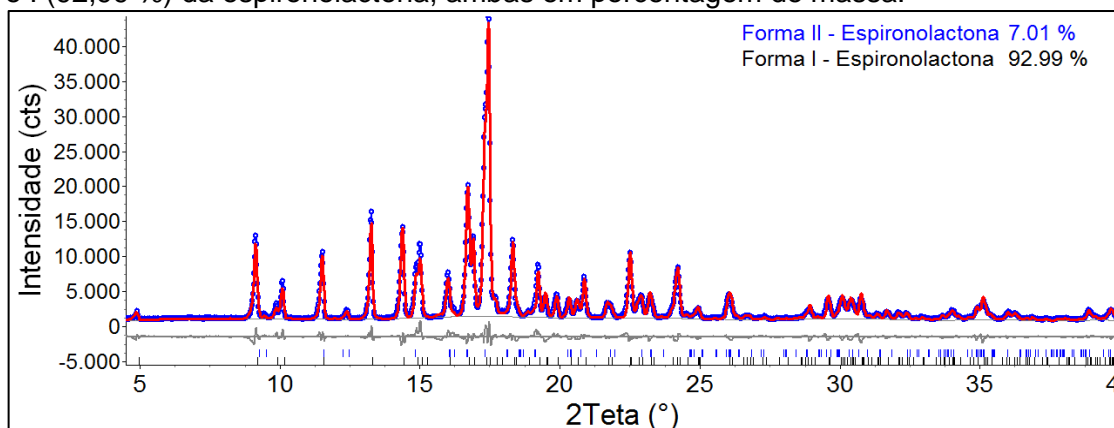


Fonte: TITA, D. L.

Organizando as informações, nas análises de MEV-FEG observou-se a presença de duas formas com morfologias distintas. No DSC encontrou-se uma fusão preliminar do material, seguida de uma resolidificação. Nessa mesma temperatura, por TGA, não foi observada nenhuma variação de massa, o que caracteriza o fenômeno como sendo uma transição polimórfica de fases. Em síntese, a partir de todos esses fatos, elucida-se que o princípio ativo apresenta uma mistura de fases polimórficas. Para uma melhor compreensão do fenômeno observado até então, julgou-se necessário estudar o material por DRXP e o emprego do método de Rietveld⁵³, com a finalidade de identificar e quantificar essas fases.

Na Figura 31 é apresentado o gráfico de Rietveld de 4,5 a 40 ° (2 θ), com tempo de medida de 0,2 ° min⁻¹, para a amostra SPR. Nela observa-se a identificação das duas fases cristalinas da espirolactona, sendo a forma II presente em 7,01 % e a I em 92,99 %, ambos em porcentagem de massa.

Figura 31. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR. Observa-se uma mistura de forma II (7,01 %) e I (92,99 %) da espirolactona, ambas em porcentagem de massa.



Fonte: TITA, D. L.

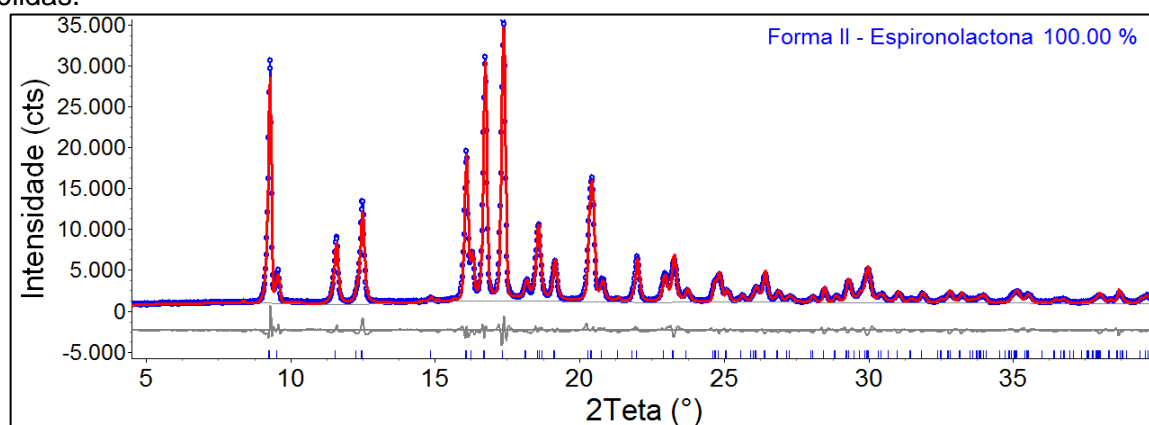
A partir desse quadro de identificação de mistura polimórfica e com base na análise térmica do material realizou-se, em estufa, um tratamento a 165 ° C por 4 horas para avaliar se ocorria a transição completa ou parcial da forma I para a forma II.

O valor de 165 ° C foi escolhido por se tratar de um valor intermediário entre os 140 ° C da fusão da forma I para a recristalização em forma II e, posteriormente, a fusão da forma II a 209° C.

Na Figura 32 é apresentado o gráfico de Rietveld para a amostra SPR, após o tratamento térmico. Nele observa-se que toda a forma I, que era uma forma de menor

estabilidade, se converteu em forma II, que é a forma mais estável do fármaco e a comercialmente empregada na confecção de formas farmacêuticas sólidas.

Figura 32. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR após tratamento térmico a 165 °C por 4 horas. Observa-se que devido ao tratamento térmico a forma I se converteu por completo para a forma II, que é a forma mais estável e empregada na confecção formas farmacêuticas sólidas.

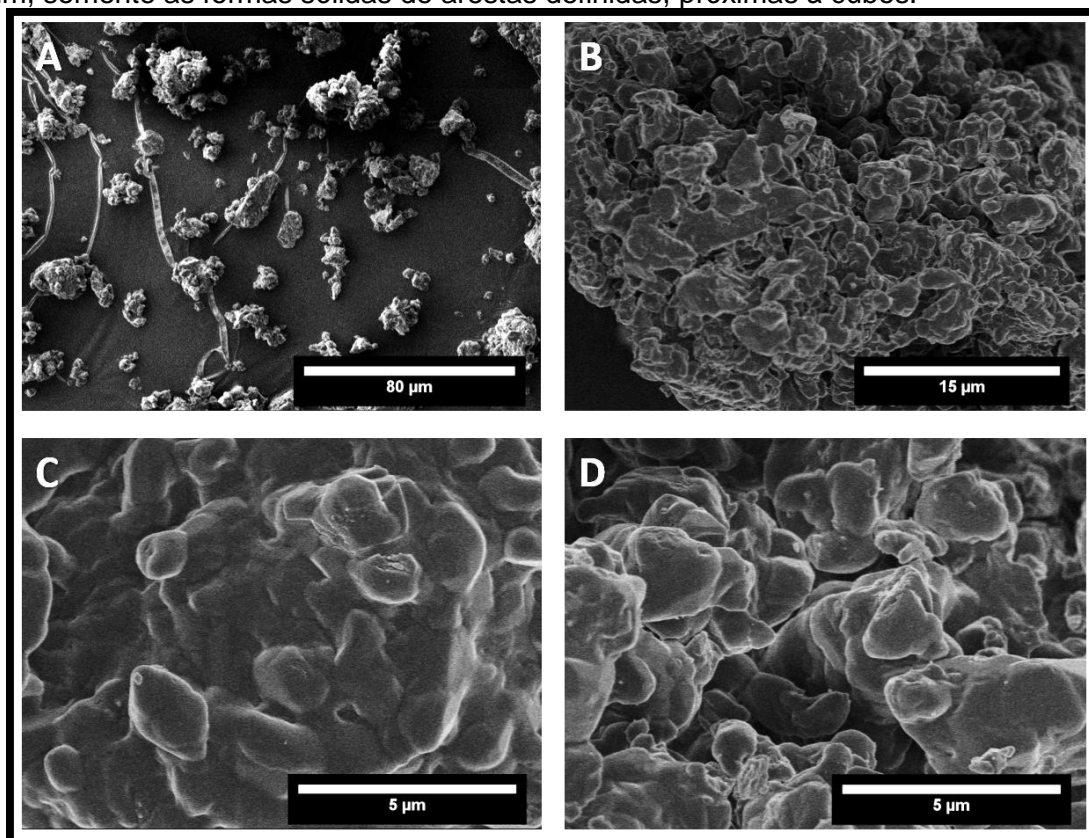


Fonte: TITA, D. L.

Com a transição completa da forma I para a II realizou-se a análise da morfologia desse “novo” material termicamente tratado e, assim, como segue na Figura 33, observou-se que as subpartículas que estavam presentes anteriormente em formato de bastões já não mais existem.

Entende-se que o material inicial apresentava uma mistura de fases polimórficas, como pôde ser observado no gráfico de Rietveld da Figura 31. Após o tratamento (Figura 33), entende-se que a forma I foi totalmente convertida em forma II, sendo assim, na análise por MEV-FEG observou-se a presença somente das formas de geometria sólidas com arestas mais bem definidas, com isso, conclui-se que essa é a morfologia equivalente da forma II da espironolactona, já as varetas, que passaram a não existirem mais após o tratamento, são características da forma I.

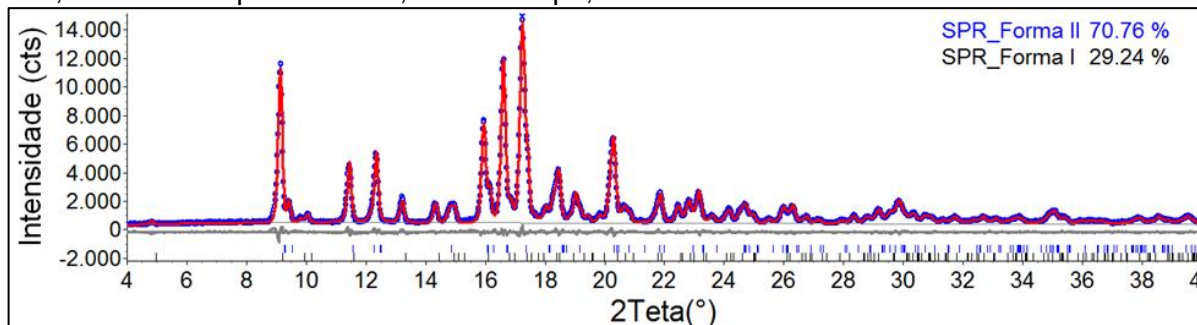
Figura 33. MEV-FEG da amostra SPR após tratamento térmico a 165 °C por 4 horas. Observam-se que as subpartículas na forma de bastões, que podiam ser vistas na Figura 27, não estão mais presentes na amostra, devido a conversão de toda a forma I para II, restando assim, somente as formas sólidas de arestas definidas, próximas à cubos.



Fonte: TITA, D. L.

Outra análise interessante, utilizando dados de DRXP e o emprego do método de Rietveld, foi realizada para a amostra SPR de partida. Passado um ano após a obtenção do difratograma apresentado na Figura 31, realizou-se uma nova medida de difração para avaliar o comportamento do material com o tempo, sendo que nesse novo gráfico pode-se observar que a proporção da forma II (70,76 % em porcentagem de massa) aumentou e a da forma I (29,24 % em porcentagem de massa) diminuiu, comparada com a análise do material de partida, fato que pode ser observado no gráfico de Rietveld apresentado na Figura 34, sendo assim, entende-se que esse material tem uma tendência natural de ir se convertendo para a forma de maior estabilidade e empregada na confecção de medicamento, que é a forma II.

Figura 34. Gráfico de Rietveld para a amostra SPR após um ano. Pode-se observar, em comparação com a primeira medida analisada (Figura 31) o aumento da forma II da espirolactona (forma mais estável e empregada na composição de medicamento). Com isso, entende-se que a forma I, com o tempo, vai se convertendo em forma II.



Fonte: TITA, D. L.

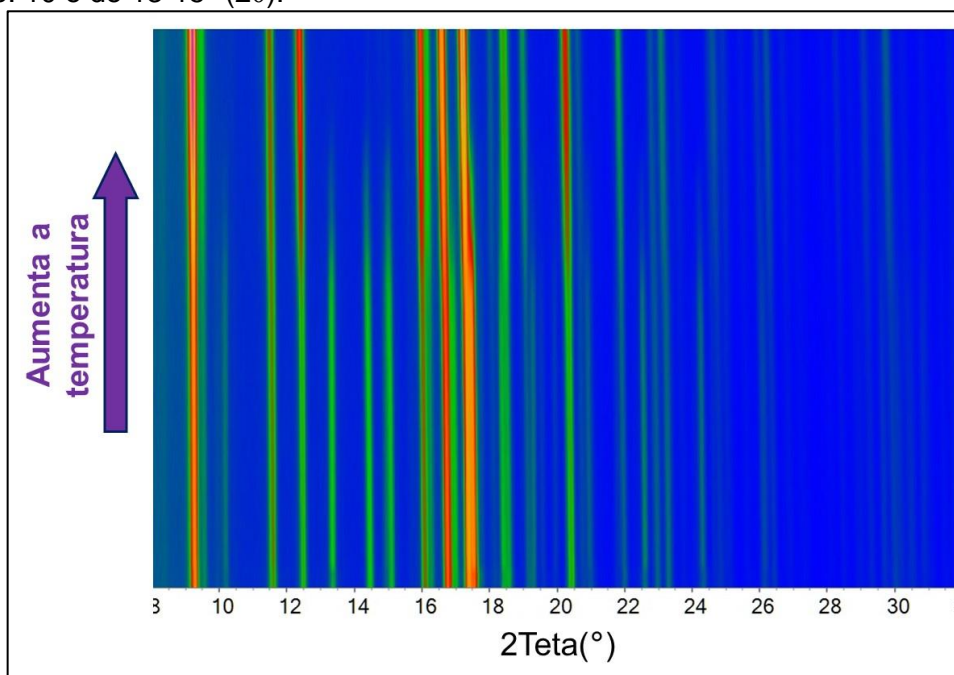
Mesmo o material sendo armazenado em um frasco vedado, devidamente acomodado dentro um *box* de acrílico isolado de umidade e com temperatura por volta de 23 °C é provável que a porção superior da amostra, possa ter reagido com o ar aprisionado dentro do frasco e se converteu para a forma mais estável.

Para os ensaios de DRXP com variação de temperatura, para a amostra SPR, foram obtidos um conjunto de 43 difratogramas, em aquecimento de 3 °C por medida, com temperatura inicial de 31 e final de 157 °C.

Na Figura 35 observa-se o comportamento dessa transição de fases (i.e. com o aumento da temperatura a mistura inicial de forma I mais forma II vai se convertendo em forma II), através da figura de transição de 2θ inicial de 8 a 32°.

Os dados são apresentados em ordem crescente de temperatura, além disso, a coloração empregada na composição da imagem é referente à intensidade relativa de cada pico, assim, as cores quentes destacam as maiores intensidades e as cores frias as menores.

Figura 35. Figura de transição para a amostra SPR de 8 a 32° (2 θ). Os dados foram obtidos de 31 a 157 °C, com aumento de 3 °C por medida, gerando assim, um total de 43 difratogramas. As regiões em que é possível observar, de forma mais clara, as transições de fases são: 10 e de 13-15° (2 θ).

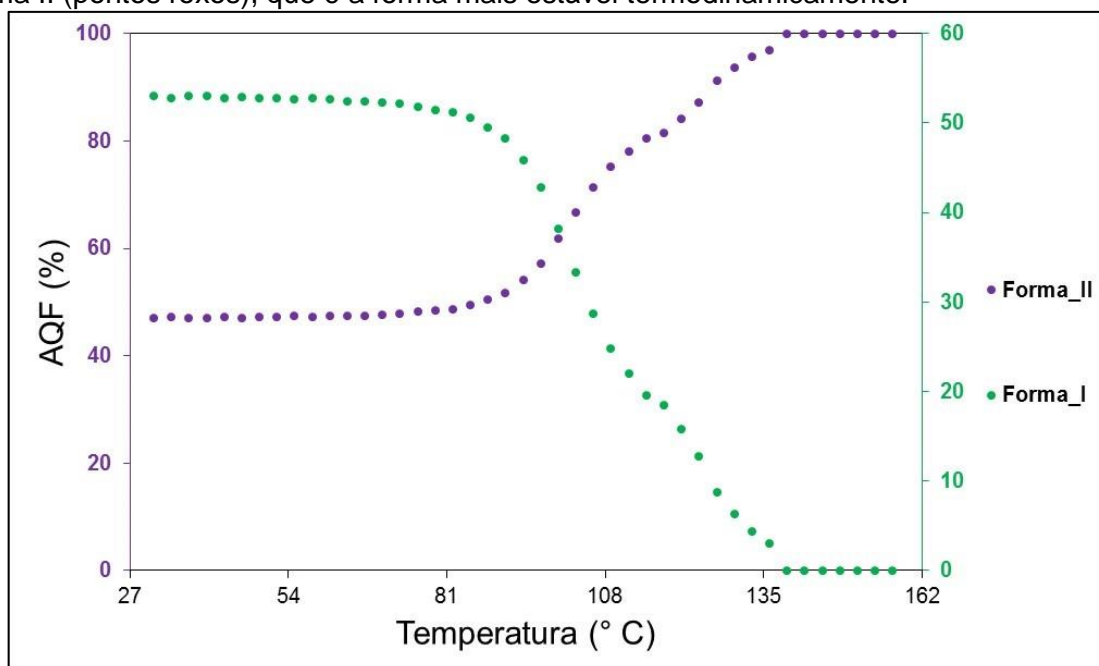


Fonte: PAIVA-SANTOS, C. O.; TITA, D. L.

Dando início às discussões sobre o refinamento sequencial (RSR) e o refinamento paramétrico pelo método de Rietveld (RPR), segue na Figura 36 o gráfico extraído do RSR apresentando como as proporções das fases, via análise quantitativa de fases (AQF), do material de partida que continha uma mistura de forma I e forma II, se comporta durante o aquecimento. Nele se observa, que com o aumento da temperatura, a forma I (i.e. pontos verdes) diminui, se convertendo em forma II (i.e. pontos roxos), que é a forma mais estável termodinamicamente.

Para esse estudo, na temperatura de 136 °C em diante, já não foi possível encontrar um bom ajuste para a forma I da espirolactona, haja vista sua pequena proporção e a elevada sobreposição dos picos majoritários da forma II.

Figura 36. Transição de fases polimórficas da amostra SPR em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RSR, de um conjunto contendo 43 difratogramas, observa-se que com o aumento da temperatura a forma I (pontos verdes) diminui, se transformando em forma II (pontos roxos), que é a forma mais estável termodinamicamente.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 10 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da AQF, além dos erros, para as fases cristalinas, forma I e II, que foram identificadas e quantificadas, via RSR.

Tabela 10. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra SPR, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 31 °C até a temperatura final 157 °C, com incremento de 3 °C. Basicamente, com o aumento da temperatura a forma I se converte para forma II, que é a de maior estabilidade térmica.

SPR	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RSR)	
	Temperatura (°C)	Forma I (% em massa)
31	53,01(63)	46,99(63)
34	52,80(63)	47,20(63)
37	53,00(63)	47,00(63)
40	53,01(63)	46,99(63)
43	52,79(63)	47,21(63)
46	52,90(64)	47,10(64)
49	52,85(64)	47,15(64)
52	52,77(64)	47,23(64)
55	52,64(64)	47,36(64)
58	52,76(64)	47,24(64)
61	52,65(65)	47,35(65)
64	52,48(64)	47,51(64)
67	52,49(64)	47,51(64)
70	52,35(65)	47,65(65)
73	52,22(65)	47,78(65)
76	51,80(66)	48,20(66)
79	51,49(66)	48,51(66)
82	51,25(66)	48,75(66)
85	50,60(66)	49,40(66)
88	49,53(67)	50,47(67)
91	48,26(68)	51,74(68)
94	45,90(69)	54,10(70)
97	42,78(70)	57,22(70)
100	38,22(73)	61,78(73)
103	33,33(74)	66,66(74)
106	28,73(77)	71,27(77)
109	24,84(80)	75,16(80)
112	21,99(81)	78,01(81)
115	19,53(82)	80,47(82)
118	18,44(80)	81,56(80)
121	15,83(87)	84,17(87)
124	12,81(85)	87,19(85)
127	8,75(86)	91,25(86)
130	6,32(87)	93,68(87)
133	4,37(89)	95,63(90)
136	3,09(27)	96,91(27)
139	X	100,00
142	X	100,00
145	X	100,00
148	X	100,00
151	X	100,00
154	X	100,00
157	X	100,00

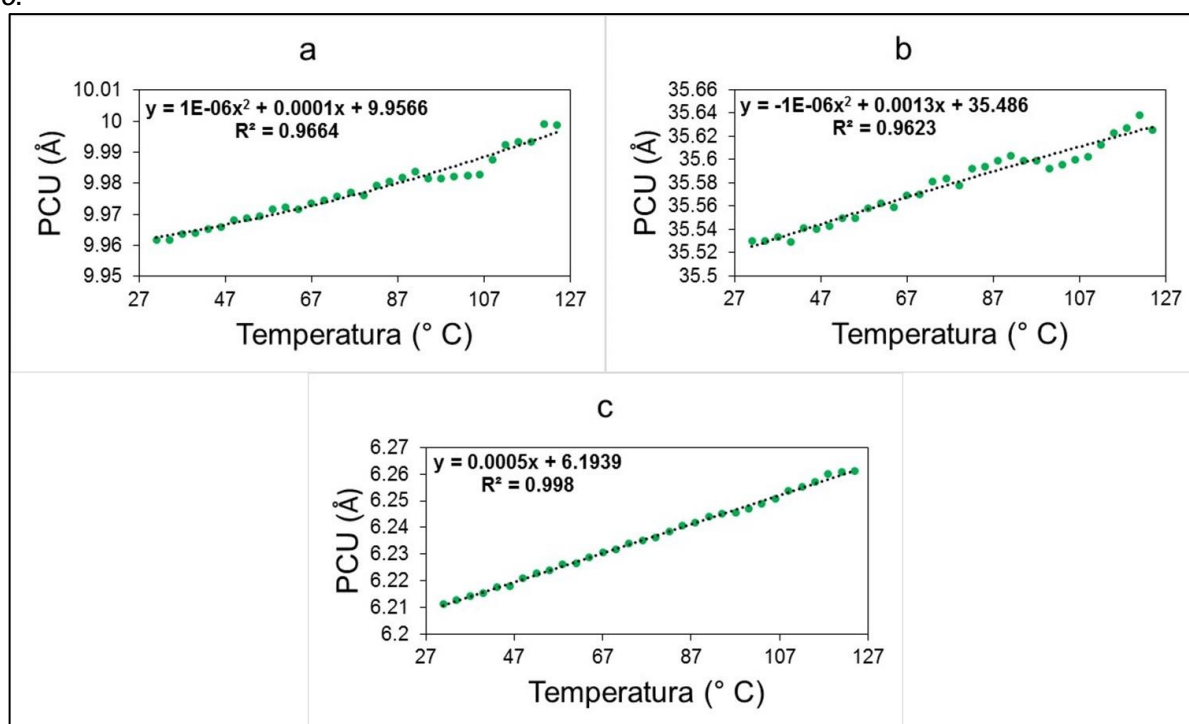
Fonte: TITA, D. L.

Com os resultados dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b e c) da forma I da espirolactona, obtidos pelo RSR, plotou-se na Figura 37 os gráficos referentes ao comportamento desses parâmetros em função do aumento de temperatura (pontos verdes). Pelo refinamento foi possível identificar e quantificar a forma I até a temperatura de 136 °C, mas para a análise das funções que regem a expansão da cela unitária julgou-se necessário excluir as temperaturas de 127 – 136 °C, haja vista a proporção da fase ser pequena, em comparação a forma II, e devido à alta sobreposição de picos, o que dificulta o refinamento. Essa exclusão possibilitou a obtenção de uma R^2 maior.

Para os parâmetros a e b o ajuste a partir de uma equação de segundo grau foi melhor, já para o c , que praticamente segue a tendência linear, a equação que melhor modela esses parâmetros, sob variação de temperatura, foi a de primeiro grau.

Assim, ainda na Figura 37, segue os gráficos dos parâmetros de cela unitária para a forma I, plotados de 31 a 124 °C, e as equações obtidas.

Figura 37. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , e c), a partir do RSR, para a forma I da espirolactona. Com temperatura inicial de 31 e final de 124 °C, segue as equações de segundo grau, para os parâmetros a e b , e a de primeiro grau para o c .



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 11 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b e c), além dos erros, para a fase cristalina forma I, obtidos via RSR.

Tabela 11. Parâmetros de cela unitária da forma I, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra SPR.

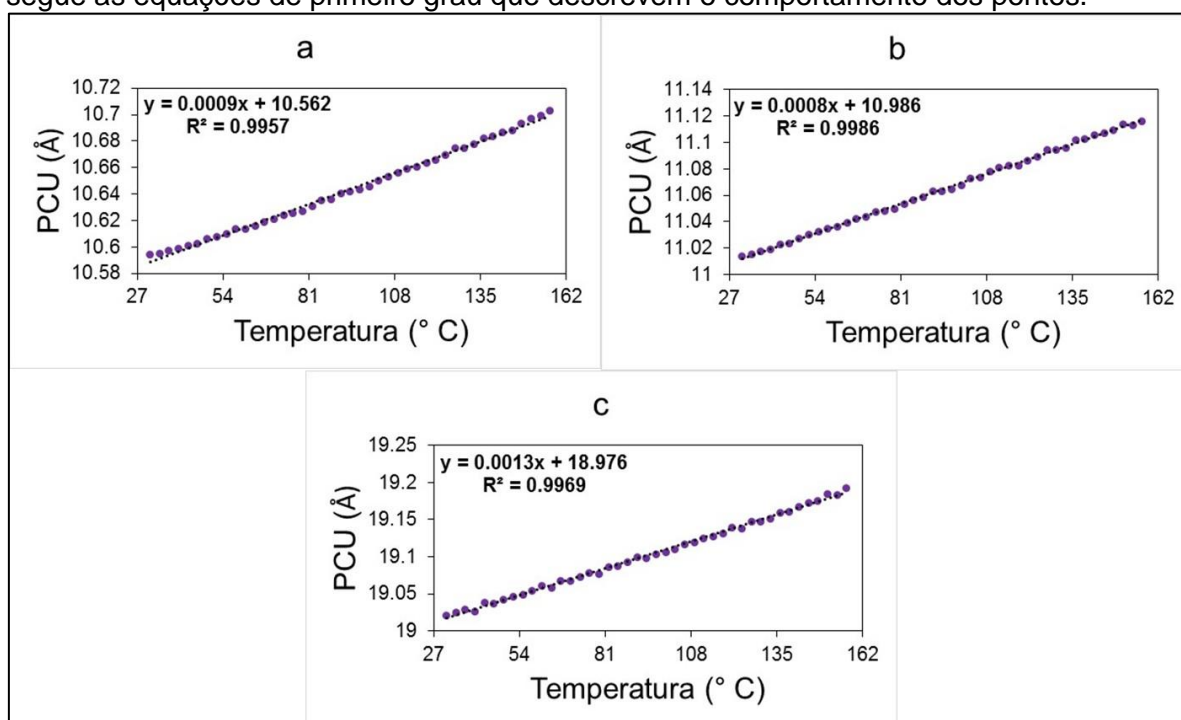
SPR	Forma I - Parâmetros de cela unitária (RSR)		
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)
31	9,9617(15)	35,5304(42)	6,2112(7)
34	9,9619(26)	35,5301(74)	6,2128(11)
37	9,9636(33)	35,5333(95)	6,2144(15)
40	9,9639(39)	35,530(11)	6,2153(17)
43	9,9652(44)	35,541(13)	6,2177(20)
46	9,9659(48)	35,540(14)	6,2181(22)
49	9,9681(53)	35,543(15)	6,2211(24)
52	9,9688(57)	35,549(17)	6,2227(25)
55	9,9696(60)	35,550(18)	6,2239(27)
58	9,9717(64)	35,559(19)	6,2262(29)
61	9,9723(67)	35,562(20)	6,2265(30)
64	9,9715(70)	35,559(21)	6,2290(32)
67	9,9736(73)	35,570(25)	6,2306(33)
70	9,9744(76)	35,570(22)	6,2317(35)
73	9,9759(79)	35,581(23)	6,2340(36)
76	9,9770(82)	35,584(24)	6,2351(37)
79	9,9760(85)	35,5781(25)	6,2364(38)
82	9,9794(88)	35,592(26)	6,2385(40)
85	9,9806(90)	35,594(26)	6,2408(41)
88	9,9819(93)	35,599(27)	6,2417(42)
91	9,9839(96)	35,604(28)	6,2440(42)
94	9,9817(98)	35,599(29)	6,2451(44)
97	9,982(10)	35,599(30)	6,2455(46)
100	9,982(10)	35,593(31)	6,2471(47)
103	9,983(11)	35,596(32)	6,2490(48)
106	9,983(11)	35,600(33)	6,2509(50)
109	9,988(12)	35,603(35)	6,2538(52)
112	9,992(13)	35,613(37)	6,2554(54)
115	9,993(14)	35,623(40)	6,2573(57)
118	9,993(15)	35,627(42)	6,2602(60)
121	9,999(16)	35,638(45)	6,2608(63)
124	9,999(18)	35,626(49)	6,2614(67)
127	10,006(20)	35,639(55)	6,2632(74)
130	10,020(24)	35,618(64)	6,2560(86)
133	10,026(29)	35,637(80)	6,255(11)
136	10,033(36)	35,72(10)	6,254(14)
139	X	X	X
142	X	X	X
145	X	X	X
148	X	X	X
151	X	X	X
154	X	X	X
157	X	X	X

Fonte: TITA, D. L.

O mesmo foi realizado para a forma II da espironolactona. Na Figura 38 segue os gráficos referentes ao comportamento dos parâmetros de cela unitária (i.e. *a*, *b* e *c*) em função do aumento de temperatura (pontos roxos).

Para esse caso, os gráficos foram plotados da temperatura inicial de 31 a 157 °C, além disso, utilizaram-se equações de primeiro grau para descrever o comportamento dos pontos.

Figura 38. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (*a*, *b*, e *c*), a partir do RSR, para a forma II da espironolactona. Com temperatura inicial de 31 e final de 157 °C, segue as equações de primeiro grau que descrevem o comportamento dos pontos.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 12 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. *a*, *b* e *c*), além dos erros, para a fase cristalina forma II, obtidos via RSR.

Tabela 12. Parâmetros de cela unitária da forma II, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra SPR.

SPR	Forma II - Parâmetros de cela unitária (RSR)		
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)
31	10,5939(13)	11,0136(16)	19,0207(25)
34	10,5951(22)	11,0151(27)	19,0244(44)
37	10,5976(30)	11,0173(35)	19,0291(57)
40	10,5989(34)	11,0191(41)	19,0265(68)
43	10,6006(38)	11,0225(47)	19,0377(77)
46	10,6024(42)	11,0232(52)	19,0373(85)
49	10,6060(46)	11,0271(57)	19,0425(93)
52	10,6077(50)	11,0303(61)	19,046(10)
55	10,6102(53)	11,0324(65)	19,048(11)
58	10,6134(56)	11,0350(68)	19,054(11)
61	10,6139(59)	11,0366(72)	19,061(12)
64	10,6161(61)	11,0392(76)	19,058(13)
67	10,6191(64)	11,0420(79)	19,067(13)
70	10,6208(66)	11,0434(82)	19,067(14)
73	10,6238(70)	11,0473(85)	19,073(14)
76	10,6257(72)	11,0480(88)	19,078(15)
79	10,6268(74)	11,0493(91)	19,077(15)
82	10,6310(76)	11,0533(94)	19,086(16)
85	10,6350(78)	11,0564(97)	19,087(16)
88	10,6362(80)	11,0586(99)	19,092(17)
91	10,6404(82)	11,063(10)	19,099(17)
94	10,6417(84)	11,063(10)	19,098(17)
97	10,6435(86)	11,064(11)	19,103(18)
100	10,6458(87)	11,067(11)	19,106(18)
103	10,6501(89)	11,072(11)	19,109(18)
106	10,6530(90)	11,074(11)	19,116(19)
109	10,6564(91)	11,078(11)	19,119(19)
112	10,6593(92)	11,081(12)	19,125(19)
115	10,6602(93)	11,082(12)	19,127(19)
118	10,6632(94)	11,082(12)	19,131(20)
121	10,6658(95)	11,086(12)	19,138(20)
124	10,6695(96)	11,089(12)	19,138(20)
127	10,6746(97)	11,094(12)	19,147(20)
130	10,6744(98)	11,094(12)	19,147(20)
133	10,6779(98)	11,096(12)	19,151(20)
136	10,6820(99)	11,102(12)	19,160(21)
139	10,684(10)	11,102(13)	19,161(21)
142	10,686(10)	11,105(13)	19,168(21)
145	10,688(10)	11,107(13)	19,172(21)
148	10,693(10)	11,109(13)	19,174(21)
151	10,697(10)	11,113(13)	19,185(21)
154	10,699(10)	11,113(13)	19,183(21)
157	10,703(10)	11,116(13)	19,192(22)

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RSR da amostra SPR, segue na Tabela 13 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e, no final da tabela, em *geral*, os índices para o conjunto total dos dados.

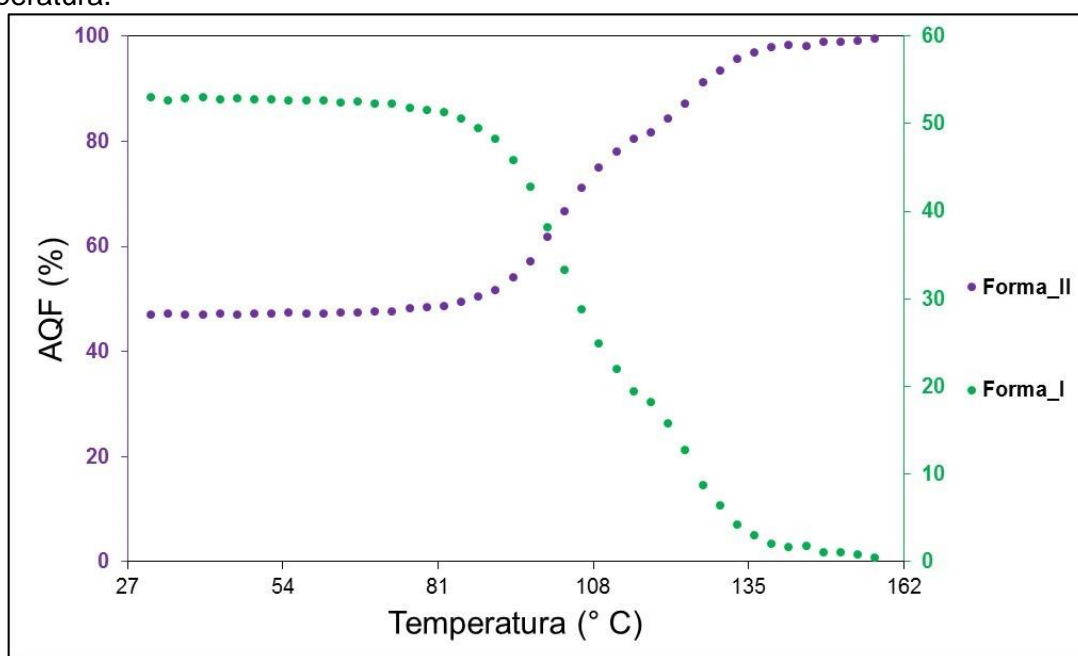
Tabela 13. Índices de qualidade de refinamento para a amostra SPR, via refinamento sequencial por Rietveld.

SPR	Índices de qualidade de refinamento (RSR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp}	d-DW
31	6,2863	0,5501	2,1569
34	6,4530	0,5119	2,2174
37	6,2055	0,5168	2,1370
40	6,4220	0,5164	2,2169
43	6,3986	0,4916	2,2132
46	6,5001	0,4796	2,2538
49	6,4604	0,4848	2,2457
52	6,5637	0,4844	2,2853
55	6,5919	0,4879	2,3028
58	6,4525	0,4613	2,2568
61	6,4961	0,4728	2,2775
64	6,6289	0,4369	2,3309
67	6,6694	0,4618	2,3501
70	6,9477	0,4173	2,4542
73	6,9563	0,4401	2,4624
76	6,7593	0,4571	2,3967
79	7,0973	0,4136	2,5239
82	7,1684	0,4014	2,5530
85	7,0735	0,3994	2,5250
88	7,1432	0,3914	2,5576
91	7,2587	0,3726	2,6042
94	7,6520	0,3412	2,7533
97	7,3268	0,3885	2,6405
100	7,5244	0,3510	2,7222
103	7,8008	0,3401	2,8306
106	8,0020	0,3326	2,9068
109	8,5951	0,2735	3,1340
112	8,5449	0,2644	3,1243
115	8,6466	0,2547	3,1739
118	8,6270	0,2770	3,1716
121	8,4440	0,2716	3,1104
124	8,6943	0,2602	3,2174
127	9,7644	0,2207	3,6110
130	9,1848	0,2426	3,3993
133	9,3470	0,2514	3,4687
136	9,3745	0,2357	3,4877
139	10,1316	0,1967	3,6254
142	11,4194	0,1660	4,0753
145	9,9713	0,2024	3,5793
148	10,2646	0,2023	3,6919
151	10,2709	0,2041	3,6982
154	10,6463	0,1927	3,8422
157	10,5666	0,2001	3,8160
GERAL	8,0899	15,3191	2,7808

Fonte: TITA, D. L.

A partir das equações determinadas para os parâmetros de cela unitária da espironolactona forma I e II, iniciou-se o RRP, sendo assim, na Figura 39 é apresentada a mesma transição de fases da Figura 36, mas agora para a obtenção desses dados utilizou-se a parametrização via RRP. Com isso, é possível observar que os resultados apresentam uma menor oscilação. Além disso, a partir da modelagem dos parâmetros de cela unitária foi possível incluir a forma I da SPR até o final do refinamento.

Figura 39. Transição de fases polimórficas da amostra SPR em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RRP, de um conjunto contendo 43 difratogramas, observam-se que os resultados para a forma I (pontos verdes) e II (pontos roxos) são próximos aos apresentados na Figura 38, mas nesse caso foi possível refinar a forma I até a última temperatura.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 14 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da AQF, além dos erros, para as fases cristalinas, forma I e II, que foram identificadas e quantificadas, via RRP.

Tabela 14. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra SPR, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 31 °C até a temperatura final 157 °C, com incremento de 3 °C.

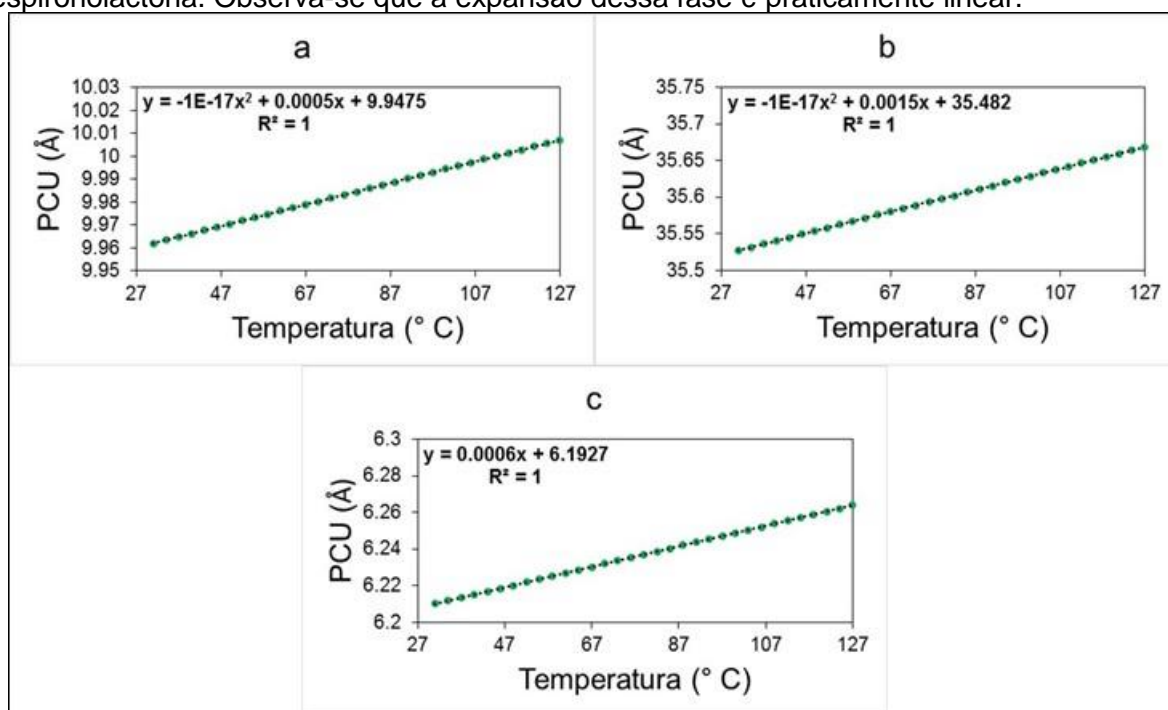
SPR	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RPR)		
	Temperatura (°C)	Forma I (% em massa)	Forma II (% em massa)
	31	53,00(64)	47,00(64)
	34	52,71(64)	47,29(64)
	37	52,92(64)	47,08(64)
	40	52,99(64)	47,01(63)
	43	52,75(63)	47,25(64)
	46	52,94(64)	47,06(64)
	49	52,79(64)	47,21(64)
	52	52,76(64)	47,24(64)
	55	52,62(64)	47,38(64)
	58	52,73(64)	47,27(64)
	61	52,71(65)	47,29(65)
	64	52,46(65)	47,54(65)
	67	52,51(65)	47,49(65)
	70	52,36(66)	47,64(66)
	73	52,26(65)	47,74(65)
	76	51,83(66)	48,17(66)
	79	51,52(66)	48,48(66)
	82	51,30(66)	48,70(66)
	85	50,59(67)	49,41(67)
	88	49,56(68)	50,44(68)
	91	48,29(68)	51,71(68)
	94	45,89(70)	54,10(70)
	97	42,83(71)	57,17(71)
	100	38,26(74)	61,74(74)
	103	33,38(76)	66,62(76)
	106	28,82(79)	71,18(79)
	109	24,88(82)	75,11(82)
	112	22,03(83)	77,97(83)
	115	19,47(84)	80,53(84)
	118	18,26(81)	81,73(81)
	121	15,76(87)	84,24(87)
	124	12,73(87)	87,27(87)
	127	8,72(87)	91,28(87)
	130	6,48(90)	93,52(89)
	133	4,31(92)	95,68(92)
	136	3,04(27)	96,96(27)
	139	2,09(26)	97,91(26)
	142	1,73(24)	98,27(25)
	145	1,80(26)	98,20(26)
	148	1,06(26)	98,93(26)
	151	1,09(26)	98,91(26)
	154	0,83(26)	99,17(26)
	157	0,47(55)	99,52(55)

Fonte: TITA, D. L.

Com a modelagem, os PCU tornam-se mais robustos e, assim, o refinamento também, com isso, é possível refinar todo um conjunto de dados de uma única vez sem que haja perda de fases, o que facilita no tratamento de um grande conjunto de dados. Assim, nesse caso, a forma I da SPR foi incluída no refinamento paramétrico até a última temperatura (i.e. 157 °C).

Na Figura 40 são apresentados os gráficos obtidos para os PCU após o RRP, a partir das funções encontradas pelo RSR. Nesse caso observa-se que a parametrização ajuda a diminuir a flutuação dos PCU e, com isso, ao testar as equações da reta que regem a dilatação da amostra encontram-se excelentes ajustes. Sendo assim, na própria figura são apresentadas as equações das retas já refinadas.

Figura 40. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RRP, para a forma I da espironolactona. Observa-se que a expansão dessa fase é praticamente linear.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 15 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de célula unitária (i.e. a, b e c), além dos erros, para a fase cristalina forma I, obtidos via RPR.

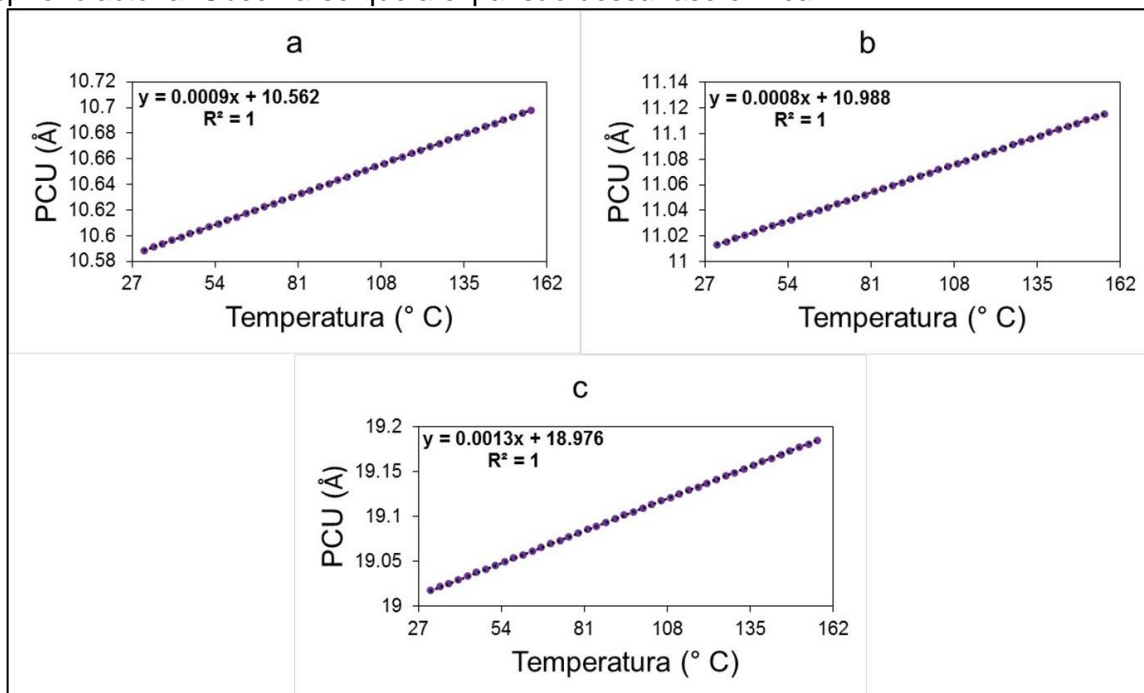
Tabela 15. Parâmetros de cela unitária da forma I, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra SPR.

SPR	Forma I - Parâmetros de cela unitária (RPR)		
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)
31	9,9620(9)	35,5271(34)	6,2101(4)
34	9,9634(9)	35,5316(35)	6,2117(4)
37	9,9649(10)	35,5360(36)	6,2134(4)
40	9,9663(10)	35,5404(37)	6,2151(4)
43	9,9677(10)	35,5448(39)	6,2168(4)
46	9,9691(10)	35,5492(40)	6,2185(4)
49	9,9705(11)	35,5536(42)	6,2201(4)
52	9,9719(11)	35,5580(43)	6,2218(4)
55	9,9733(11)	35,5624(45)	6,2235(4)
58	9,9747(11)	35,5668(47)	6,2252(4)
61	9,9761(12)	35,5712(49)	6,2269(4)
64	9,9775(12)	35,5757(51)	6,2285(4)
67	9,9790(12)	35,5801(53)	6,2302(5)
70	9,9804(13)	35,5845(55)	6,2319(5)
73	9,9818(13)	35,5889(57)	6,2336(5)
76	9,9832(14)	35,5933(59)	6,2353(5)
79	9,9846(14)	35,5977(62)	6,2370(5)
82	9,9860(14)	35,6021(64)	6,2386(5)
85	9,9874(15)	35,6065(66)	6,2403(5)
88	9,9888(15)	35,6109(69)	6,2420(5)
91	9,9902(16)	35,6153(72)	6,2437(5)
94	9,9916(16)	35,6198(74)	6,2453(5)
97	9,9931(17)	35,6242(77)	6,2470(6)
100	9,9945(18)	35,6286(80)	6,2487(6)
103	9,9959(18)	35,6330(83)	6,2504(6)
106	9,9973(19)	35,6374(87)	6,2520(6)
109	9,9987(19)	35,6418(89)	6,2537(6)
112	10,0001(20)	35,6462(93)	6,2554(6)
115	10,0015(21)	35,6506(96)	6,2571(6)
118	10,0029(21)	35,6550(99)	6,2588(6)
121	10,0043(22)	35,659(10)	6,2605(6)
124	10,0057(23)	35,664(11)	6,2621(7)
127	10,0072(23)	35,668(11)	6,2638(7)
130	10,0086(24)	35,673(11)	6,2655(7)
133	10,0100(25)	35,677(12)	6,2672(7)
136	10,0114(26)	35,681(12)	6,2689(7)
139	10,0128(26)	35,686(12)	6,2705(7)
142	10,0142(27)	35,690(13)	6,2722(7)
145	10,0156(28)	35,695(13)	6,2739(7)
148	10,0170(29)	35,699(14)	6,2756(8)
151	10,0184(30)	35,703(14)	6,2773(8)
154	10,0198(31)	35,708(14)	6,2789(8)
157	10,0213(32)	35,712(15)	6,2806(8)

Fonte: TITA, D. L.

No caso da forma II, apresentada na Figura 41, o mesmo comportamento de R^2 é observado. Sendo assim, segue na própria figura as equações das retas já refinadas.

Figura 41. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a forma II da espironolactona. Observa-se que a expansão dessa fase é linear.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 15 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b e c), além dos erros, para a fase cristalina forma II, obtidos via RPR.

Tabela 16. Parâmetros de cela unitária da forma II, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra SPR.

SPR	Forma II - Parâmetros de cela unitária (RPR)		
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)
31	10,5885(5)	11,0133(6)	19,0174(10)
34	10,5911(5)	11,0157(6)	19,0214(11)
37	10,5937(5)	11,0182(6)	19,0254(11)
40	10,5963(5)	11,0206(6)	19,0294(11)
43	10,5989(5)	11,0230(6)	19,0334(11)
46	10,6015(5)	11,0254(7)	19,0374(11)
49	10,6041(5)	11,0279(7)	19,0414(11)
52	10,6068(5)	11,0303(7)	19,0454(11)
55	10,6094(5)	11,0327(7)	19,0494(11)
58	10,6120(5)	11,0352(7)	19,0534(11)
61	10,6146(5)	11,0376(7)	19,0573(12)
64	10,6172(6)	11,0400(7)	19,0613(12)
67	10,6198(6)	11,0425(7)	19,0653(12)
70	10,6224(6)	11,0449(7)	19,0693(12)
73	10,6250(6)	11,0473(7)	19,0733(12)
76	10,6276(6)	11,0497(7)	19,0773(12)
79	10,6302(6)	11,0522(7)	19,0813(12)
82	10,6329(6)	11,0546(8)	19,0853(13)
85	10,6355(6)	11,0570(8)	19,0893(13)
88	10,6381(6)	11,0595(8)	19,0933(13)
91	10,6407(6)	11,0619(8)	19,0972(13)
94	10,6433(6)	11,0643(8)	19,1012(13)
97	10,6459(6)	11,0668(8)	19,1052(13)
100	10,6485(6)	11,0692(8)	19,1092(14)
103	10,6511(7)	11,0716(8)	19,1132(14)
106	10,6537(7)	11,0740(8)	19,1172(14)
109	10,6563(7)	11,0765(8)	19,1212(14)
112	10,6590(7)	11,0789(9)	19,1252(14)
115	10,6616(7)	11,0813(9)	19,1292(14)
118	10,6642(7)	11,0838(9)	19,1332(15)
121	10,6668(7)	11,0862(9)	19,1371(15)
124	10,6694(7)	11,0886(9)	19,1411(15)
127	10,6720(7)	11,0911(9)	19,1451(15)
130	10,6746(7)	11,0935(9)	19,1491(15)
133	10,6772(7)	11,0959(9)	19,1531(16)
136	10,6798(8)	11,0983(10)	19,1571(16)
139	10,6824(8)	11,1008(10)	19,1611(16)
142	10,6851(8)	11,1032(10)	19,1651(16)
145	10,6877(8)	11,1056(10)	19,1691(16)
148	10,6903(8)	11,1081(10)	19,1731(17)
151	10,6929(8)	11,1105(10)	19,1770(17)
154	10,6955(8)	11,1129(10)	19,1810(17)
157	10,6981(8)	11,1154(10)	19,1850(17)

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RPR da amostra SPR, segue na Tabela 17 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e, no final da tabela, em *geral*, os índices para o conjunto total dos dados.

Tabela 17. Índices de qualidade de refinamento para a amostra SPR, via refinamento paramétrico por Rietveld.

SPR	Índices de qualidade de refinamento (RPR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp}	d-DW
31	6,8460	0,4777	2,3553
34	7,0389	0,4420	2,4204
37	6,7343	0,4536	2,3159
40	6,9847	0,4470	2,4029
43	7,0419	0,4166	2,4224
46	6,9968	0,4211	2,4077
49	6,9492	0,4283	2,3924
52	7,0612	0,4284	2,4298
55	7,0723	0,4328	2,4366
58	6,8772	0,4137	2,3672
61	6,9374	0,4230	2,3886
64	7,0881	0,3905	2,4425
67	7,0331	0,4241	2,4234
70	7,1221	0,4034	2,4549
73	7,1900	0,4182	2,4782
76	7,0401	0,4284	2,4253
79	7,3920	0,3870	2,5484
82	7,3471	0,3895	2,5312
85	7,3230	0,3792	2,5232
88	7,4069	0,3710	2,5541
91	7,4682	0,3594	2,5748
94	7,9216	0,3268	2,7330
97	7,6798	0,3643	2,6478
100	7,9438	0,3249	2,7433
103	8,2124	0,3198	2,8380
106	8,4611	0,3067	2,9210
109	8,8349	0,2658	3,0547
112	8,5652	0,2677	2,9628
115	8,6270	0,2594	2,9890
118	8,6158	0,2806	2,9833
121	8,4149	0,2749	2,9127
124	8,7877	0,2577	3,0488
127	9,1841	0,2514	3,1781
130	9,1169	0,2462	3,1508
133	9,2764	0,2552	3,2071
136	9,2627	0,2422	3,2033
139	9,5299	0,2217	3,2981
142	11,0096	0,1786	3,7968
145	9,5199	0,2205	3,2979
148	9,9131	0,2178	3,4373
151	9,9934	0,2189	3,4651
154	10,3315	0,2074	3,5866
157	10,2896	0,2144	3,5730
GERAL	8,1999	14,4579	2,8139

Fonte: TITA, D. L.

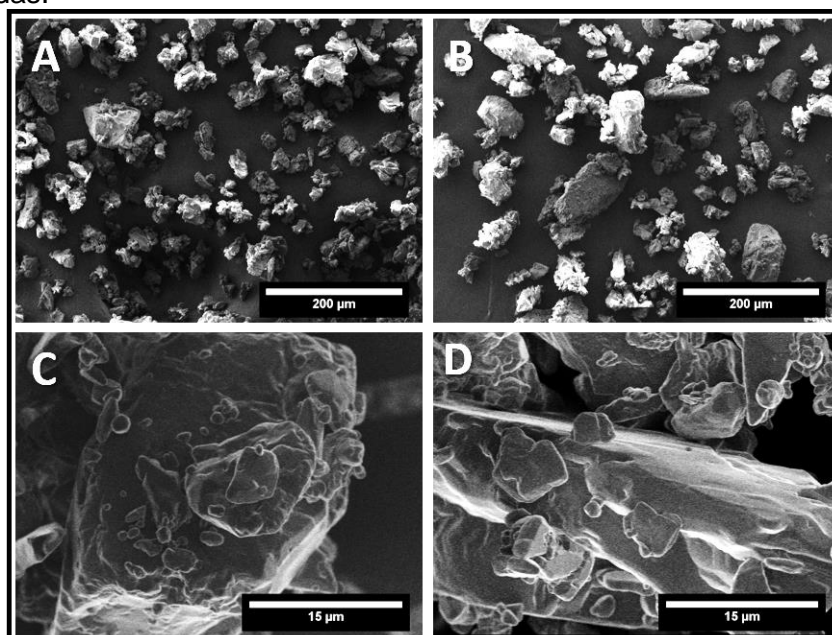
5.3 A alfalactose monoidratada

Na tamisação da LACMH observou-se, assim como ocorreu com a amostra SPR, que o material apresenta uma certa dificuldade para transpor a malha da peneira devido a formação de pequenos aglomerados, geralmente, no formato de esferas. Para solucionar esse problema, utilizou-se um pincel de cerdas suaves e uma pinça metálica para facilitar a tamisação em 200 mesh.

Com a finalidade de se obter informações sobre a morfologia do material realizaram-se as análises de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG).

Na Figura 42 é apresentada a sequência das ampliações: 200 X (**A-B**) e 3.000 X (**C-D**), da topografia do material, realizadas com voltagem de aceleração de 2,00 KV e *Work Distance* (WD) de aproximadamente 8 mm. Assim, com essas imagens, observa-se que as partículas são formadas pela aglomeração de subpartículas de tamanhos ainda menores que apresentam características de sólidos geométricos com arestas definidas. No mais, nesse material não foram observadas variações de morfologia.

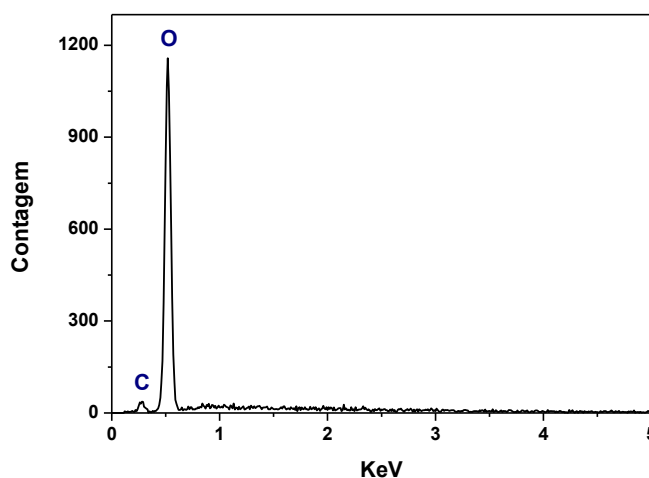
Figura 42. MEV-FEG da amostra LACMH. É possível observar a formação de aglomerados de partículas gerados basicamente por estruturas características de sólidos geométricos com arestas definidas.



Fonte. TITA, D. L.

Na análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS), apresentada na Figura 43, observam-se os dois picos mais intensos que correspondem as transições eletrônicas do i) carbono $K\alpha$ em 0,282 keV e o ii) oxigênio $K\alpha$ em 0,523 KeV, fazendo referência à molécula de alfa lactose monoidratada ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$). Isso mostra, dentro dos limites de detecção da técnica, que o material não apresenta contaminação de sais ou de outros materiais.

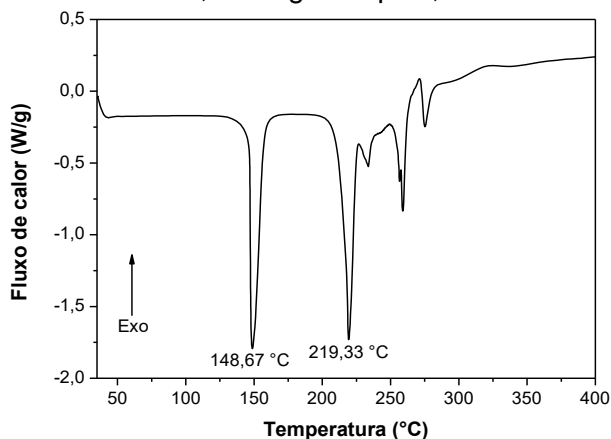
Figura 43. EDS da amostra LACMH. Os picos mais intensos correspondem ao carbono e ao oxigênio fazendo referência aos átomos que estão contidos na alfa lactose monoidratada ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$).



Fonte: TITA, D. L.

Em relação à análise térmica da amostra LACMH, na Figura 44 é apresentada a curva de DSC onde é possível observar na primeira inflexão endotérmica, próxima a 145° C, a desidratação do material e na segunda, próxima a 219° C, a sua decomposição térmica. Os mesmos fenômenos foram observados por Figura, T. ³⁶, em um artigo de identificação termo analítica desse excipiente.

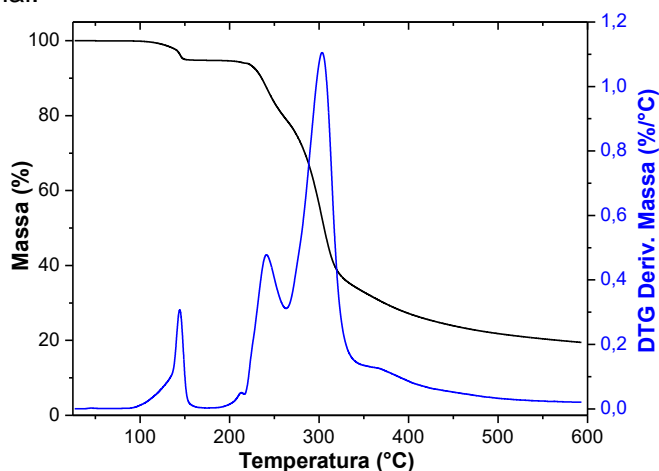
Figura 44. Análise de DSC da amostra LACMH. No gráfico observa-se um primeiro pico endotérmico em 145° C e a sua fusão, no segundo pico, em 219° C.



Fonte. TITA, D. L.

Para a análise de TGA, apresentada na Figura 45, observa-se que a primeira perda de massa, que é de aproximadamente 5 %, faz referência a liberação da molécula de água da estrutura ⁸⁴.

Figura 45. Análise de DTA da amostra LACMH. A primeira perda de massa faz referência a desidratação do material.

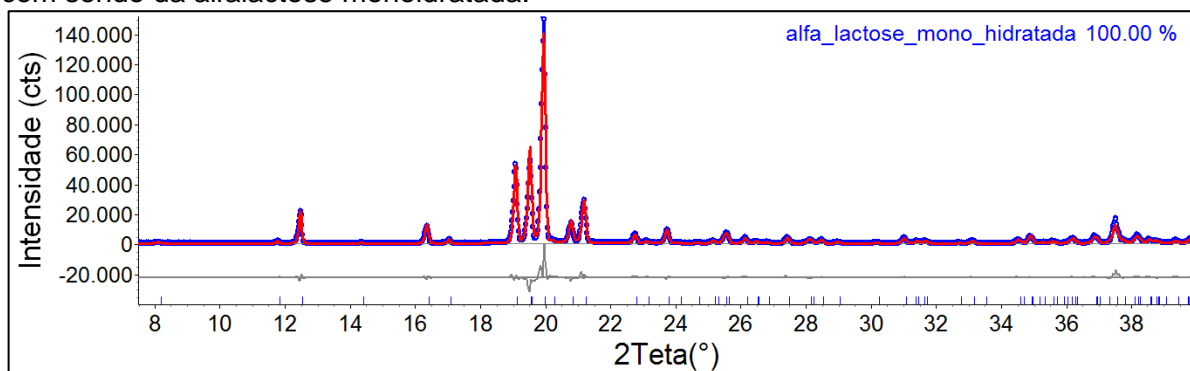


Fonte. TITA, D. L.

No caso da alfa lactose monoidratada, com as análises realizadas até o momento, não é possível identificar se no material de partida existe a presença de fases polimórficas ou não. Sendo assim, para um melhor entendimento, empregou-se, a partir de dados de DRXP, o método de Rietveld para identificação e quantificação de fases.

Na Figura 46 é apresentado o gráfico de Rietveld, onde todos os picos contidos no difratograma foram identificados como da fase alfa lactose monoidratada, sendo assim, entende-se que o material não contém misturas de fases.

Figura 46. Gráfico de Rietveld para a amostra LACMH. Todos os picos foram identificados com sendo da alfa lactose monoidratada.

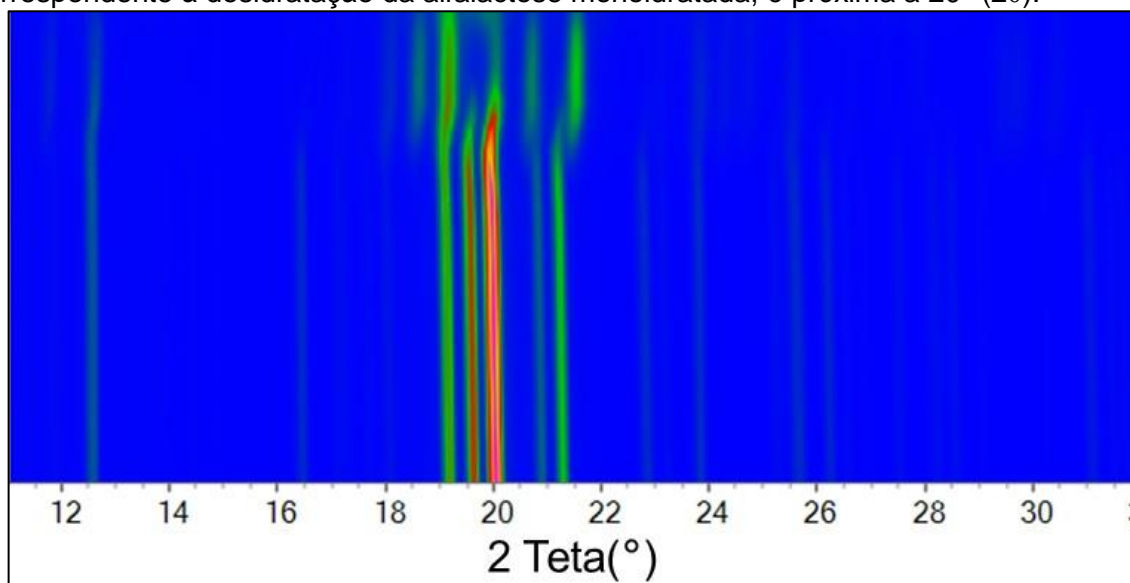


Fonte: TITA, D. L.

Para os ensaios de DRXP com variação de temperatura, para a amostra LACMH, foram obtidos um conjunto de 27 difratogramas, em aquecimento de 5 °C por medida, com temperatura inicial de 30 e final de 160 °C.

Na Figura 47 observa-se o comportamento dessa transição de fases (i.e. com o aumento da temperatura a mistura inicial de alfa lactose monoidratada mais alfa lactose, vai se convertendo em alfa lactose), através da figura de transição de 2θ inicial de 10 a 32°.

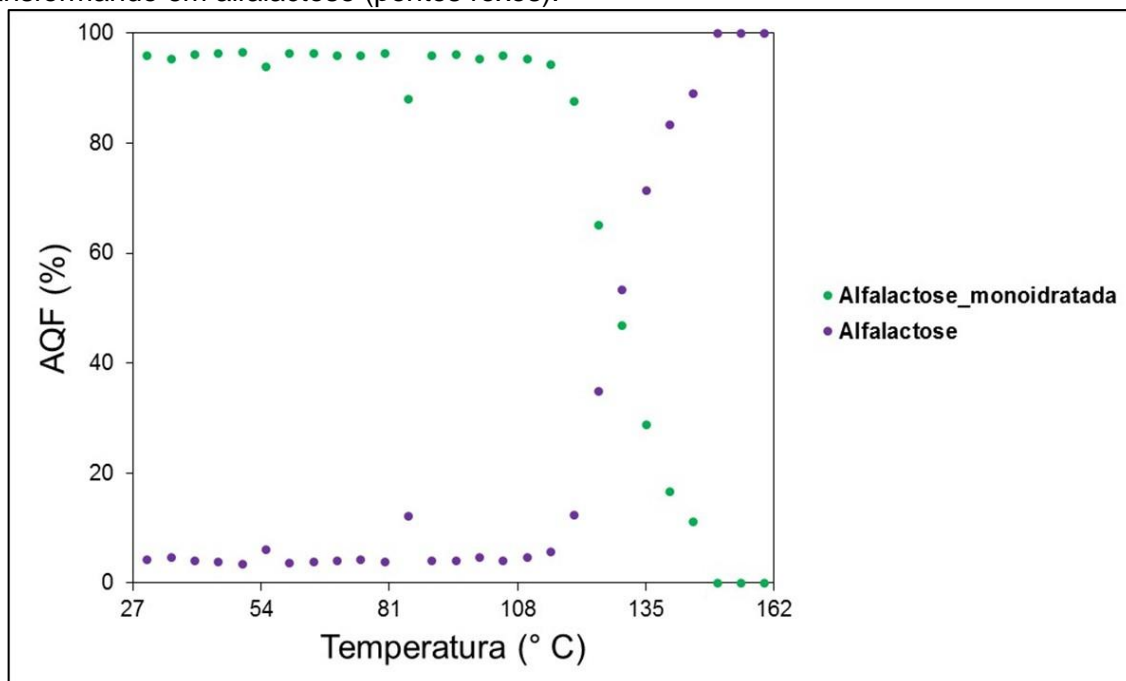
Figura 47. Figura de transição para a amostra LACMH de 10 a 32° (2 θ). Os dados foram obtidos de 30 a 160 °C, com aumento de 5 °C por medida, gerando assim, um total de 27 difratogramas. A região em que é possível observar, de forma mais clara, a transição de fases, correspondente à desidratação da alfalactose monoidratada, é próxima a 20° (2 θ).



Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 48 segue o gráfico extraído do RSR apresentando como as proporções das fases, via AQF, do material de partida que continha uma mistura de alfalactose e alfalactose monoidratada, se comporta durante o aquecimento. Nele se observa, que com o aumento da temperatura, a alfalactose monoidratada (i.e. pontos verdes) diminui, devido à desidratação e conversão para a forma alfalactose (i.e. pontos roxos).

Figura 48. Transição de fases polimórficas da amostra LACMH em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RSR, de um conjunto contendo 27 difratogramas, observa-se que com o aumento da temperatura a alfalactose monoidratada (pontos verdes) desidrata, se transformando em alfalactose (pontos roxos).



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 18 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da AQF, além dos erros, para as fases cristalinas, alfalactose monoidratada e alfalactose, que foram identificadas e quantificadas, via RSR.

Tabela 18. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACMH, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 30 °C até a temperatura final 160 °C, com incremento de 5 °C. Basicamente, com o aumento da temperatura a forma alfactose monoidratada sofre a desidratação e se converte em alfactose.

LACMH	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RSR)		
	Temperatura (°C)	Alfactose monoidratada (% em massa)	Alfactose (% em massa)
	30	95,84(19)	4,16(19)
	35	95,30(21)	4,70(20)
	40	96,00(19)	4,00(19)
	45	96,25(18)	3,75(18)
	50	96,49(17)	3,51(17)
	55	93,83(24)	6,16(24)
	60	96,36(17)	3,63(17)
	65	96,23(18)	3,77(18)
	70	96,00(19)	4,01(19)
	75	95,82(20)	4,18(20)
	80	96,22(18)	3,77(18)
	85	87,92(73)	12,08(73)
	90	95,96(19)	4,04(19)
	95	96,00(19)	4,00(19)
	100	95,36(22)	4,64(22)
	105	95,96(19)	4,04(19)
	110	95,29(23)	4,70(23)
	115	94,27(24)	5,73(24)
	120	87,67(30)	12,32(30)
	125	65,04(48)	34,96(48)
	130	46,74(47)	53,26(47)
	135	28,72(39)	71,28(39)
	140	16,70(30)	83,30(30)
	145	11,05(32)	88,94(32)
	150	X	100,00
	155	X	100,00
	160	X	100,00

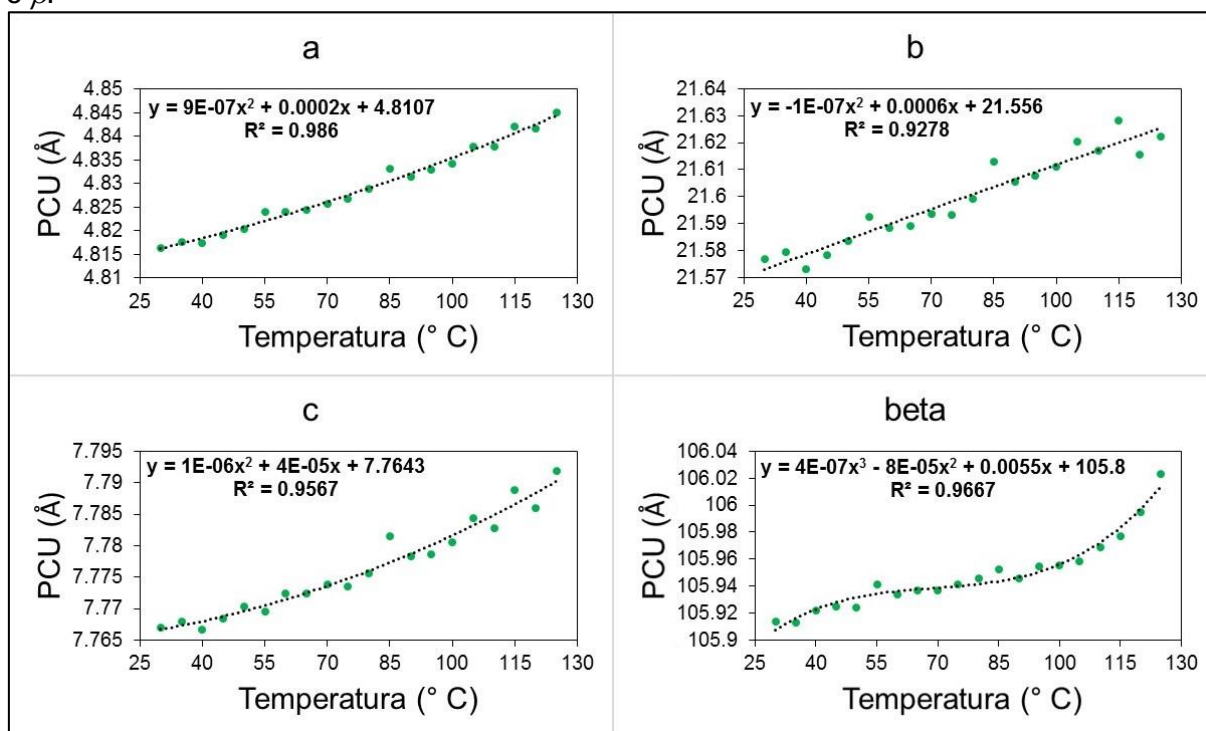
Fonte: TITA, D. L.

Com os resultados dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β) da alfactose monoidratada, obtidos pelo RSR, plotou-se na Figura 49 os gráficos referentes ao comportamento desses parâmetros em função do aumento de temperatura (pontos verdes). Pelo refinamento foi possível identificar e quantificar a alfactose monoidratada, que era a fase majoritária no início do ensaio, até a temperatura de 125 °C.

Para os parâmetros a , b e c o melhor ajuste encontrado foi a partir de equações de segundo grau, já para o parâmetro β a equação foi a de terceiro grau.

Assim, ainda na mesma figura, segue os gráficos dos parâmetros de cela unitária para a forma alfactose monoidratada, plotados de 30 a 125 °C, e as equações obtidas.

Figura 49. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a alfactose monoidratada. Com temperatura inicial de 30 e final de 125 °C, segue as equações de segundo grau, para os parâmetros a , b e c , e a de terceiro grau para o β .



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 19 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfactose monoidratada, obtidos via RSR.

Tabela 19. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACMH.

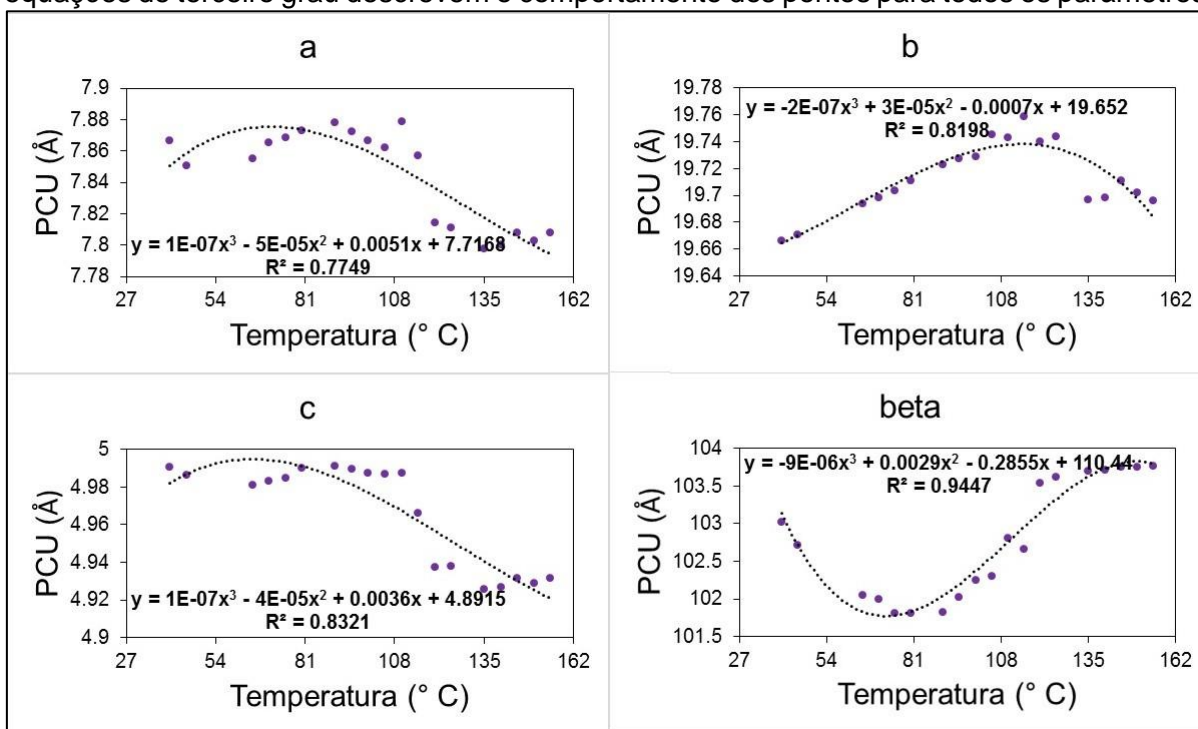
LACMH	Alfalactose monoidratada			
	Parâmetros de cela unitária (RSR)			
Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
30	4,8164(1)	21,5767(17)	7,7669(6)	105,9136(33)
35	4,8175(2)	21,5793(30)	7,7680(11)	105,9130(56)
40	4,8175(2)	21,5731(38)	7,7666(14)	105,9221(73)
45	4,8191(3)	21,5784(45)	7,7683(17)	105,9247(86)
50	4,8205(3)	21,5835(51)	7,7704(19)	105,9239(98)
55	4,8241(4)	21,5925(57)	7,7696(22)	105,941(11)
60	4,8240(4)	21,5885(62)	7,7724(23)	105,933(12)
65	4,8245(4)	21,5893(66)	7,7723(25)	105,937(13)
70	4,8257(4)	21,5936(71)	7,7738(27)	105,936(13)
75	4,8268(5)	21,5932(75)	7,7736(29)	105,941(14)
80	4,8289(5)	21,5993(80)	7,7755(30)	105,946(15)
85	4,8331(5)	21,6129(83)	7,7816(32)	105,952(16)
90	4,8316(5)	21,6055(87)	7,7782(33)	105,946(16)
95	4,8329(6)	21,6077(91)	7,7786(35)	105,954(17)
100	4,8342(6)	21,6110(94)	7,7805(36)	105,956(18)
105	4,8378(6)	21,6203(98)	7,7843(37)	105,958(18)
110	4,8379(6)	21,6171(101)	7,7827(39)	105,968(19)
115	4,8422(6)	21,6284(104)	7,7888(40)	105,977(20)
120	4,8416(7)	21,6155(108)	7,7860(41)	105,995(20)
125	4,8451(7)	21,6222(113)	7,7918(43)	106,023(21)
130	4,8346(8)	21,5809(127)	7,7725(48)	106,020(23)
135	4,8337(9)	21,5717(154)	7,7701(57)	106,047(26)
140	4,8352(12)	21,5937(237)	7,7698(76)	106,031(34)
145	4,8429(21)	21,5987(387)	7,7435(100)	105,976(55)
150	X	X	X	X
155	X	X	X	X

Fonte: TITA, D. L.

O mesmo foi realizado para a forma alfalactose. Na Figura 50 segue os gráficos referentes ao comportamento dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β) em função do aumento de temperatura (pontos roxos).

Para esse caso, os gráficos foram plotados da temperatura inicial de 40 a 155 °C, para se obter o melhor ajuste. Todos os parâmetros analisados foram modelados a partir de equações de terceiro grau.

Figura 50. Equações das retas que regem a expansão da célula unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a alfalactose. Com temperatura inicial de 40 e final de 155 °C, segue as equações de terceiro grau descrevem o comportamento dos pontos para todos os parâmetros.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 20 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de célula unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfalactose, obtidos via RSR.

Tabela 20. Parâmetros de cela unitária da alfa lactose, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACMH.

LACMH		Alfa lactose - Parâmetros de cela unitária (RSR)			
Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (Å)	
30	7,928(14)	19,652(72)	4,973(44)	104,43(12)	
35	7,900(25)	19,660(12)	4,984(76)	103,81(21)	
40	7,867(33)	19,667(16)	4,991(96)	103,03(28)	
45	7,851(40)	19,671(20)	4,986(11)	102,71(33)	
50	7,815(46)	19,680(23)	4,990(12)	102,21(38)	
55	7,781(53)	19,714(24)	5,002(15)	102,45(53)	
60	7,835(58)	19,691(26)	4,984(18)	102,21(65)	
65	7,855(63)	19,694(28)	4,981(19)	102,05(68)	
70	7,866(67)	19,699(31)	4,984(19)	102,00(70)	
75	7,869(70)	19,704(33)	4,985(20)	101,82(72)	
80	7,873(74)	19,711(35)	4,990(21)	101,82(75)	
85	7,939(78)	19,75 (11)	5,083(22)	104,29(78)	
90	7,879(82)	19,72 (15)	4,991(23)	101,83(82)	
95	7,872(85)	19,73 (15)	4,990(24)	102,03(84)	
100	7,867(88)	19,73(15)	4,988(25)	102,26(86)	
105	7,862(90)	19,74(15)	4,987(25)	102,31(88)	
110	7,879(93)	19,74(15)	4,988(26)	102,81(90)	
115	7,857(95)	19,76(15)	4,966(27)	102,67(91)	
120	7,814(96)	19,74(15)	4,938(27)	103,54(92)	
125	7,811(96)	19,74(15)	4,938(27)	103,62(92)	
130	7,795(96)	19,70(15)	4,925(27)	103,69(92)	
135	7,798(96)	19,70(15)	4,926(27)	103,70(92)	
140	7,801(96)	19,70(15)	4,927(27)	103,71(92)	
145	7,808(96)	19,71(15)	4,932(27)	103,75(92)	
150	7,803(96)	19,70(15)	4,929(27)	103,76(92)	
155	7,809(97)	19,70(15)	4,932(27)	103,77(92)	
160	7,814(97)	19,69(15)	4,933(27)	103,79(92)	

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RSR da amostra LACMH, segue na Tabela 21 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e, no final da tabela, em *geral*, os índices para o conjunto total dos dados.

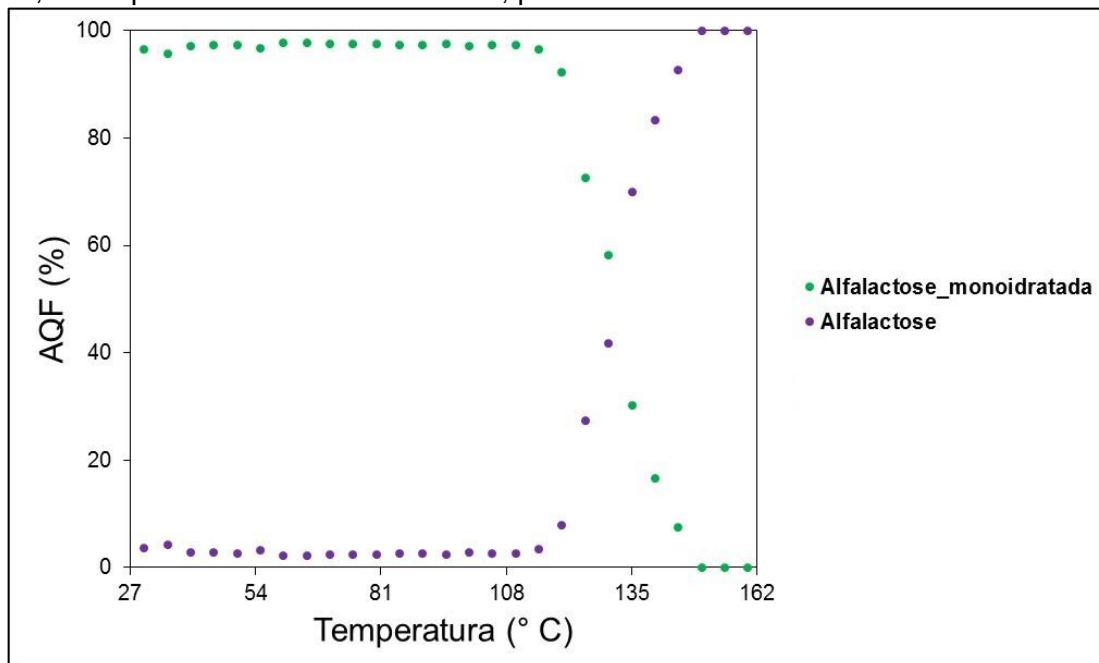
Tabela 21. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACMH, via refinamento sequencial por Rietveld.

LACMH	Índices de qualidade de refinamento (RSR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp}	d-DW
30	8,8849	0,3163	7,9357
35	8,8079	0,3404	7,9057
40	11,4506	0,2056	10,3096
45	11,4286	0,2076	10,3298
50	11,1738	0,2215	10,1385
55	10,8994	0,2378	9,9247
60	11,1247	0,2181	10,1659
65	11,1737	0,2120	10,2457
70	11,0953	0,2177	10,2168
75	11,1786	0,2233	10,3305
80	11,1558	0,2193	10,3511
85	10,5544	0,2441	9,9486
90	11,1353	0,2179	10,4217
95	11,2481	0,2130	10,5652
100	11,2476	0,2163	10,6042
105	11,1001	0,2210	10,5080
110	11,1474	0,2225	10,5787
115	10,3600	0,2411	9,8439
120	9,5879	0,2866	9,1322
125	12,5056	0,1421	11,9860
130	6,2315	0,2792	5,9659
135	4,7474	0,3112	4,6381
140	4,3910	0,2524	4,2073
145	4,9519	0,2065	4,6081
150	7,1377	0,0998	6,2487
155	6,2525	0,1183	5,4347
GERAL	10,0004	5,9446	8,8597

Fonte: TITA, D. L.

A partir das equações determinadas para os parâmetros de cela unitária da lactose monoidratada (alfalactose monoidratada e alfalactose), iniciou-se o RPR, sendo assim, na Figura 51 é apresentada a mesma transição de fases da Figura 48, mas agora para a obtenção desses dados utilizou-se a parametrização via RPR. Com isso, é possível observar que os resultados apresentam uma menor oscilação.

Figura 51. Transição de fases polimórficas da amostra LACMH em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RPR, de um conjunto contendo 27 difratogramas, observam-se que os resultados para alfalactose monoidratada (pontos verdes) e alfalactose (pontos roxos) são próximos aos apresentados na Figura 59, mas com uma menor flutuação dos dados, em especial na inversão das fases, próximo a 135 °C.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 22 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da AQF, além dos erros, para as fases cristalinas, algalactose monoidratada e algalactose que foram identificadas e quantificadas, via RPR.

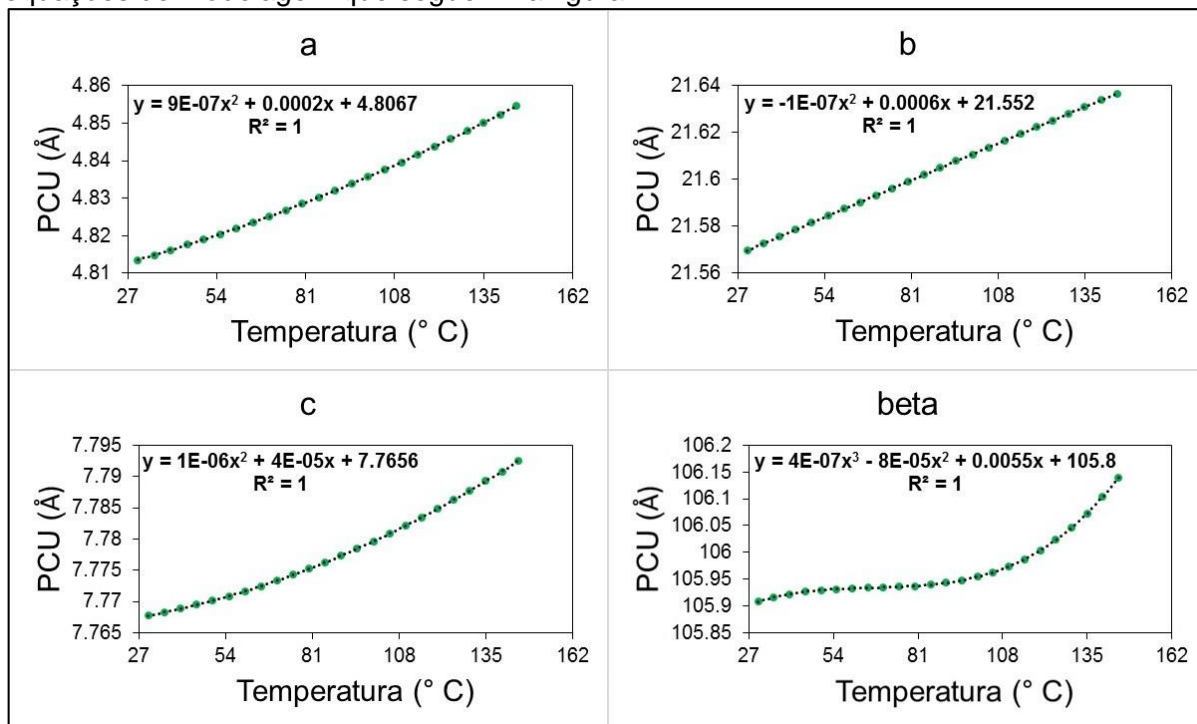
Tabela 22. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACMH, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 30 °C até a temperatura final 160 °C, com incremento de 5 °C.

LACMH	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RPR)		
	Temperatura (°C)	Alfalactose monoidratada (% em massa)	Alfalactose (% em massa)
	30	96,40(19)	3,60(19)
	35	95,76(21)	4,24(21)
	40	97,10(14)	2,89(13)
	45	97,24(13)	2,76(13)
	50	97,40(12)	2,60(12)
	55	96,74(16)	3,26(16)
	60	97,69(11)	2,30(11)
	65	97,79(10)	2,21(10)
	70	97,58(12)	2,42(12)
	75	97,52(12)	2,47(12)
	80	97,59(11)	2,40(11)
	85	97,40(12)	2,60(12)
	90	97,31(12)	2,69(12)
	95	97,60(11)	2,39(11)
	100	97,14(13)	2,86(13)
	105	97,42(12)	2,58(12)
	110	97,29(13)	2,71(13)
	115	96,52(15)	3,48(15)
	120	92,16(18)	7,83(18)
	125	72,63(31)	27,36(31)
	130	58,21(25)	41,79(25)
	135	30,15(23)	69,85(23)
	140	16,60(23)	83,40(23)
	145	7,44(34)	92,56(34)
	150	X	100,00
	155	X	100,00
	160	X	100,00

Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 52 são apresentados os gráficos obtidos para os PCU após o RPR, a partir das funções encontradas pelo RSR. Nesse caso observa-se que a parametrização ajuda a diminuir a flutuação dos PCU e, com isso, ao testar as equações da reta que regem a dilatação da amostra encontram-se excelentes ajustes. Sendo assim, na própria figura são apresentadas as equações das retas já refinadas.

Figura 52. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a forma alfalactose monoidratada da amostra LACMH. Observa-se que a expansão dessa fase é ajustada às equações de modelagem que seguem na figura.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 23 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de célula unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfalactose monoidratada, obtidos via RPR.

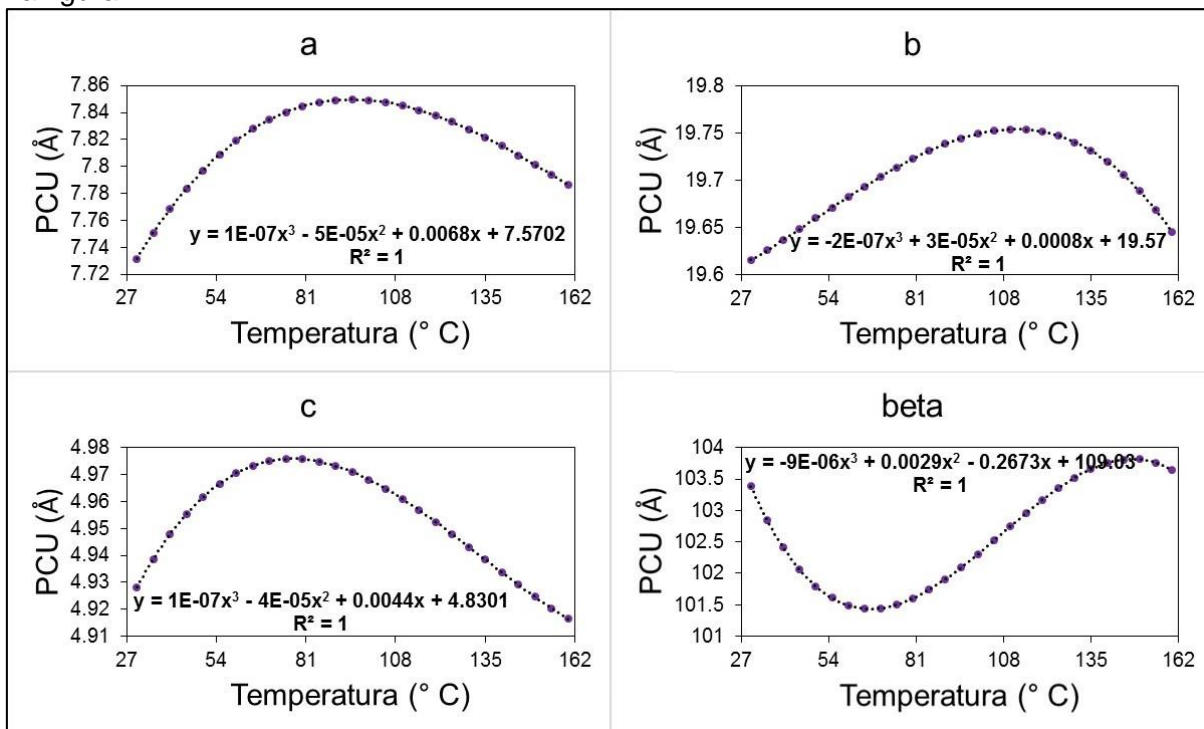
Tabela 23. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACMH.

LACMH	Alfalactose monoidratada			
	Parâmetros de cela unitária (RPR)			
Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
30	4,8135(0)	21,5695(4)	7,7677(2)	105,9082(8)
35	4,8148(0)	21,5724(4)	7,7683(2)	105,9161(8)
40	4,8162(0)	21,5754(4)	7,7688(2)	105,9220(8)
45	4,8176(0)	21,5784(4)	7,7695(2)	105,9264(8)
50	4,8190(0)	21,5813(4)	7,7701(2)	105,9294(8)
55	4,8205(0)	21,5843(4)	7,7709(2)	105,9315(8)
60	4,8220(0)	21,5872(4)	7,7716(2)	105,9328(8)
65	4,8235(0)	21,5901(4)	7,7725(2)	105,9338(8)
70	4,8251(0)	21,5931(4)	7,7733(2)	105,9346(8)
75	4,8268(0)	21,5960(4)	7,7743(2)	105,9357(8)
80	4,8285(0)	21,5989(4)	7,7752(2)	105,9372(8)
85	4,8302(0)	21,6018(4)	7,7763(2)	105,9396(8)
90	4,8320(0)	21,6047(4)	7,7773(2)	105,9430(8)
95	4,8339(0)	21,6077(4)	7,7785(2)	105,9479(8)
100	4,8357(0)	21,6106(4)	7,7796(2)	105,9544(8)
105	4,8377(0)	21,6135(4)	7,7809(2)	105,9630(8)
110	4,8396(0)	21,6163(4)	7,7821(2)	105,9738(8)
115	4,8416(0)	21,6192(4)	7,7835(2)	105,9873(8)
120	4,8437(0)	21,6221(4)	7,7848(2)	106,0036(8)
125	4,8458(0)	21,6250(4)	7,7863(2)	106,0232(8)
130	4,8479(0)	21,6279(4)	7,7877(2)	106,0462(8)
135	4,8501(0)	21,6307(4)	7,7893(2)	106,0731(8)
140	4,8524(0)	21,6336(4)	7,7908(2)	106,1040(8)
145	4,8547(0)	21,6365(4)	7,7925(2)	106,1394(8)
150	X	X	X	X
155	X	X	X	X
160	X	X	X	X

Fonte: TITA, D. L.

No caso da alfalactose, apresentada na Figura 53, o mesmo comportamento de R^2 é observado. Sendo assim, segue na própria figura as equações das retas já refinadas.

Figura 53. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a alfalactose. Observa-se que a expansão dessa fase é ajustada às equações de modelagem que seguem na figura.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 24 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de célula unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfalactose, obtidos via RPR.

Tabela 24. Parâmetros de cela unitária da alfalactose, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACMH.

LACMH	Alfalactose - Parâmetros de cela unitária (RPR)			
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)
30	7,7316(39)	19,6156(38)	4,9282(10)	103,383(35)
35	7,7509(39)	19,6261(39)	4,9387(10)	102,846(35)
40	7,7682(40)	19,6371(39)	4,9477(10)	102,407(35)
45	7,7836(43)	19,6484(39)	4,9553(10)	102,059(36)
50	7,7972(41)	19,6598(40)	4,9616(10)	101,795(36)
55	7,8090(41)	19,6712(41)	4,9666(10)	101,609(36)
60	7,8192(42)	19,6825(41)	4,9705(10)	101,493(37)
65	7,8277(42)	19,6935(42)	4,9732(10)	101,441(37)
70	7,8348(43)	19,7040(42)	4,9750(10)	101,447(38)
75	7,8404(43)	19,7139(43)	4,9758(11)	101,503(38)
80	7,8446(44)	19,7231(44)	4,9757(11)	101,603(39)
85	7,8475(45)	19,7314(45)	4,9748(11)	101,740(40)
90	7,8492(45)	19,7386(46)	4,9732(11)	101,907(40)
95	7,8497(46)	19,7446(46)	4,9709(11)	102,098(41)
100	7,8492(47)	19,7493(47)	4,9681(11)	102,305(41)
105	7,8476(48)	19,7525(48)	4,9647(12)	102,522(42)
110	7,8452(48)	19,7540(49)	4,9610(12)	102,743(43)
115	7,8419(49)	19,7537(50)	4,9569(12)	102,960(43)
120	7,8378(50)	19,7515(51)	4,9525(12)	103,167(44)
125	7,8330(51)	19,7472(52)	4,9479(12)	103,357(45)
130	7,8276(52)	19,7406(53)	4,9432(13)	103,523(46)
135	7,8216(53)	19,7316(54)	4,9384(13)	103,659(47)
140	7,8152(54)	19,7201(55)	4,9337(13)	103,757(47)
145	7,8083(55)	19,7059(56)	4,9290(13)	103,811(48)
150	7,8012(56)	19,6888(58)	4,9246(14)	103,815(49)
155	7,7938(57)	19,6687(59)	4,9204(14)	103,761(50)
160	7,7862(58)	19,6455(60)	4,9165(14)	103,643(51)

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RPR da amostra LACMH, segue na Tabela 25 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e um, no final da tabela, com os índices para o conjunto total dos dados.

Tabela 25. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACMH, via refinamento paramétrico por Rietveld.

LACMH	Índices de qualidade de refinamento (RPR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp} (%)	d-DW
30	9,0894	0,2889	8,1148
35	9,1649	0,3101	8,1941
40	11,2979	0,2063	10,0970
45	11,2274	0,2089	10,0376
50	10,9949	0,2222	9,8326
55	8,8492	0,3293	7,9135
60	10,9543	0,2217	9,7955
65	10,8394	0,2213	9,6909
70	10,7524	0,2297	9,6184
75	10,8322	0,2364	9,6889
80	10,8965	0,2299	9,7496
85	10,9532	0,2309	9,8064
90	10,8895	0,2281	9,7543
95	11,0212	0,2232	9,8703
100	11,0476	0,2261	9,8930
105	11,1539	0,2269	9,9905
110	11,1068	0,2295	9,9342
115	10,5141	0,2432	9,3790
120	10,1916	0,2664	9,0775
125	14,4439	0,1248	12,8973
130	9,7007	0,1583	8,6155
135	10,9408	0,0841	9,8759
140	9,5877	0,0875	8,4621
145	8,9400	0,0972	7,6280
150	8,2503	0,0911	6,9098
155	7,4257	0,1036	6,1602
160	12,3329	0,0512	10,2005
GERAL	10,5999	5,3769	9,3382

Fonte: TITA, D. L.

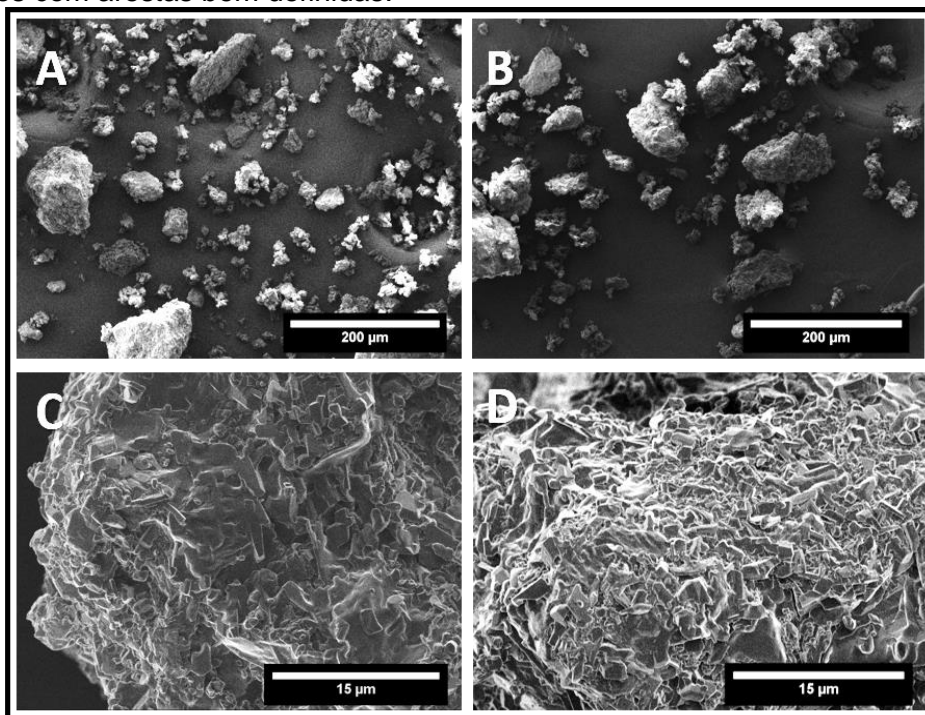
5.4 A lactose anidra

Na tamisação da LACA observou-se, assim como ocorreu com as amostras SPR e LACMH, a aglomeração do material, sendo assim, foi necessário para facilitar a tamisação em 200 mesh utilizando pinça metálica e pincel de cerdas suaves.

Com a finalidade de se obter informações sobre a morfologia do material realizaram-se as análises de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG).

Na Figura 54 é apresentada a sequência das ampliações: 200 X (**A-B**) e 3.000 X (**C-D**), da topografia do material, realizadas com voltagem de aceleração de 2,00 KV e Work Distance (WD) de aproximadamente 8 mm. Assim, com essas imagens, observa-se que as partículas são formadas pela aglomeração de subpartículas de tamanhos ainda menores que apresentam características de sólidos geométricos, de várias formas, com arestas bem definidas. No mais, até esse momento, não é possível inferir sobre uma possível misturas de fases, mas em comparação com a amostra LACMH, a LACA apresenta estruturas de formas mais bem definidas, como pode ser melhor observado em **D**.

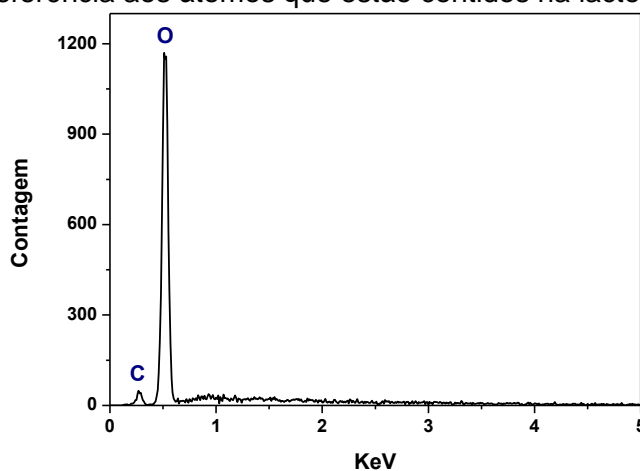
Figura 54. Microscopias da amostra LACA. É possível observar a formação de aglomerados de partículas gerados basicamente por várias estruturas características de sólidos geométricos com arestas bem definidas.



Fonte. TITA, D. L.

Na análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS), apresentada na Figura 55, observam-se os dois picos mais intensos que correspondem as transições eletrônicas do i) carbono $K\alpha$ em 0,282 keV e o ii) oxigênio $K\alpha$ em 0,523 KeV, fazendo referência à molécula da lactose anidra ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Isso mostra, dentro dos limites de detecção da técnica, que o material não apresenta contaminação de sais ou de outros materiais.

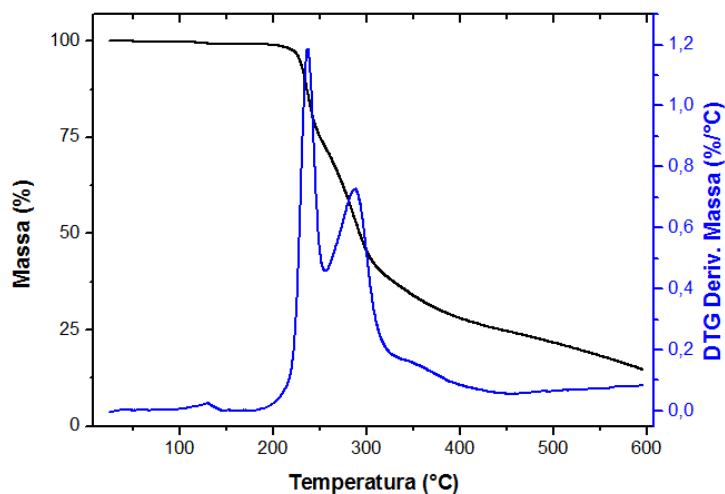
Figura 55. EDS da amostra LACA. Os picos mais intensos correspondem ao carbono e ao oxigênio fazendo referência aos átomos que estão contidos na lactose anidra ($C_{12}H_{22}O_{11}$).



Fonte: TITA, D. L.

Em relação à análise térmica da amostra LACA, na Figura 56 é apresentada a curva de TGA onde é possível observar na primeira inflexão endotérmica, próxima a 145° C, a desidratação do material, que pode ser proveniente de mistura entre alfalactose monoidratada e a lactose anidra. Depois disso, segue o início da decomposição térmica do material.

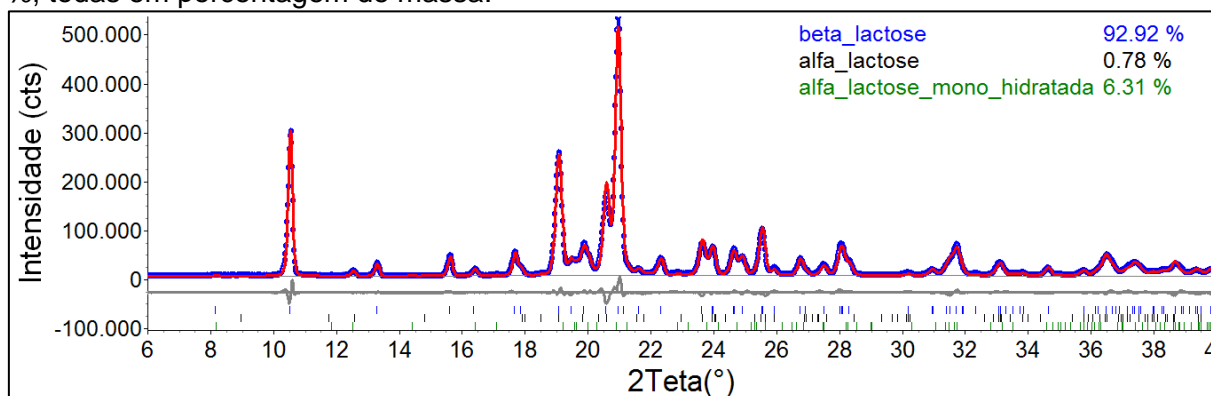
Figura 56. Análise de DTA da amostra LACA. A primeira perda de massa, próxima a 100 °C, faz referência a desidratação de uma fase secundária que pode ser a alfalactose monoidratada.



Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 57 é apresentado o gráfico de Rietveld, onde foram identificadas as seguintes formas: (i) betalactose em 92,92 %, (ii) alfalactose monoidratada em 6,31 % e a (iii) alfalactose em 0,78 %, todas em porcentagem de massa. Sendo assim, entende-se que o material contém misturas de fases.

Figura 57. Gráfico de Rietveld para a amostra LACA. Observa-se uma mistura de formas: (i) betalactose em 92,92 %, (ii) alfalactose monoidratada em 6,31 % e a (iii) alfalactose em 0,78 %, todas em porcentagem de massa.



Fonte: TITA, D. L.

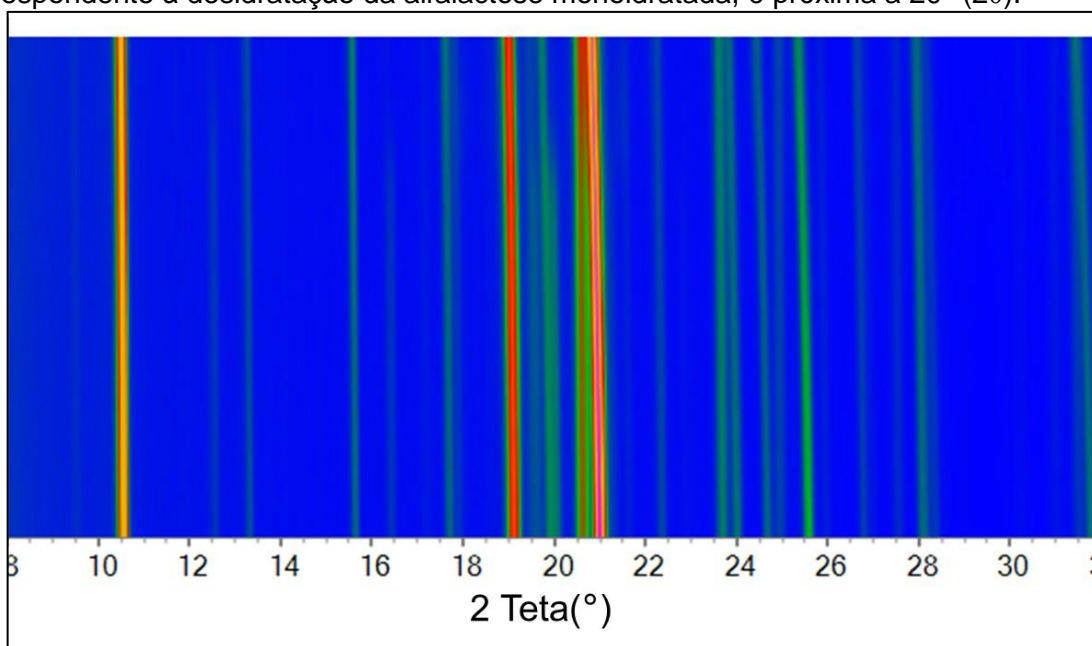
Para os ensaios de DRXP com variação de temperatura, para a amostra LACA, foram obtidos um conjunto de 27 difratogramas, em aquecimento de 5 °C por medida, com temperatura inicial de 25 e final de 155 °C.

Na Figura 25 observa-se o comportamento dessa transição de fases (i.e. com o aumento da temperatura a mistura inicial de alfalactose monoidratada mais

betalactose, vai se convertendo em betalactose), através da figura de transição de 2θ inicial de 8 a 32° .

No caso dos refinamentos sequencial e paramétrico não foi possível identificar a forma alfa lactose, assim como apresentada na Figura 57. Esse fato se deu haja vista a obtenção de dados, para esse tipo de refinamento, serem realizados de forma rápida, para que não ocorra mudança de fase durante a leitura de um difratograma, assim perde-se em resolução e como a fase apresentava uma quantidade ínfima na mistura, sua identificação tornou-se inviável.

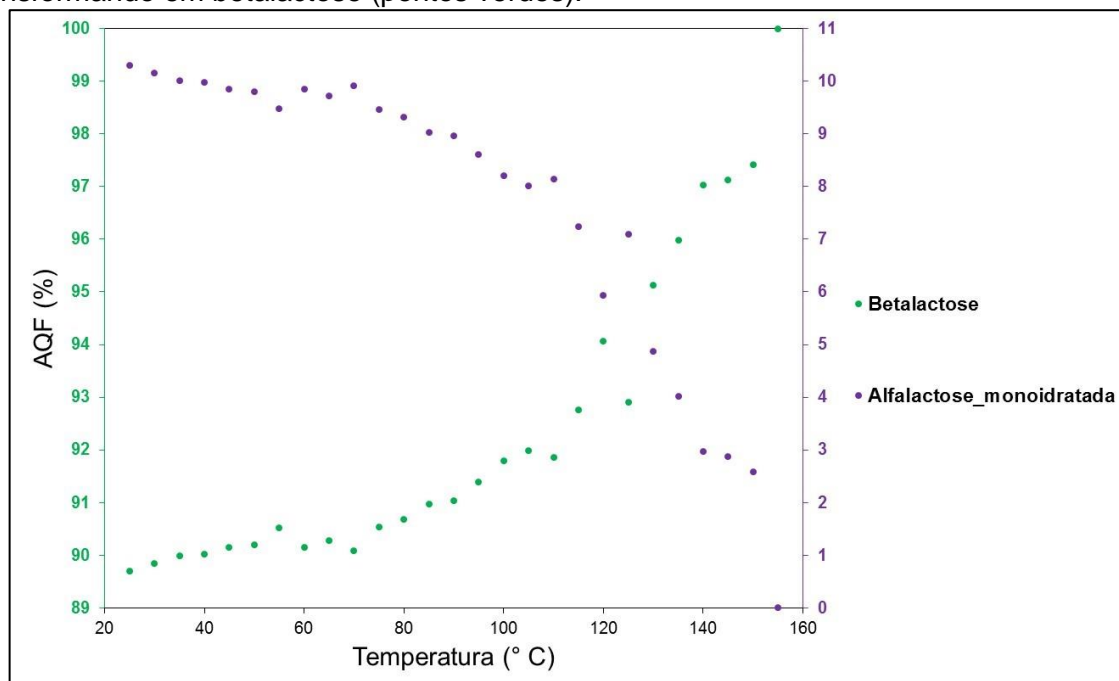
Figura 58. Figura de transição para a amostra LACA de 8 a 32° (2θ). Os dados foram obtidos de 25 a 155 $^\circ\text{C}$, com aumento de 5 $^\circ\text{C}$ por medida, gerando assim, um total de 27 difratogramas. A região em que é possível observar, de forma mais clara, a transição de fases, correspondente à desidratação da alfa lactose monoidratada, é próxima a 20° (2θ).



Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 59 segue o gráfico extraído do RSR apresentando como as proporções das fases, via AQF, do material de partida que continha uma mistura de betalactose e alfa lactose monoidratada, se comportam durante o aquecimento. Nele se observa, que com o aumento da temperatura, a alfa lactose monoidratada (i.e. pontos roxos) diminui, devido a desidratação e conversão para a forma betalactose (i.e. pontos verdes).

Figura 59. Transição de fases polimórficas da amostra LACA em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RSR, de um conjunto contendo 27 difratogramas, observa-se que com o aumento da temperatura a alfalactose monoidratada (pontos roxos) desidrata, se transformando em betalactose (pontos verdes).



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 26 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da AQF, além dos erros, para as fases cristalinas, betalactose e alfalactose monoidratada, que foram identificadas e quantificadas, via RSR.

Tabela 26. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACA, obtidas via refinamento sequencial por Rietveld, da temperatura inicial de 25 °C até a temperatura final 155 °C, com incremento de 5 °C. Basicamente, com o aumento da temperatura a forma alfactose monoidratada sofre a desidratação e se converte em betalactose.

LACA	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RSR)	
	Temperatura (°C)	Betalactose (% em massa)
25	89,70(16)	10,30(16)
30	89,84(16)	10,16(16)
35	89,99(16)	10,01(16)
40	90,02(17)	9,98(17)
45	90,15(16)	9,85(16)
50	90,20(16)	9,79(16)
55	90,52(16)	9,48(16)
60	90,16(16)	9,84(16)
65	90,27(16)	9,73(16)
70	90,09(16)	9,91(16)
75	90,53(16)	9,46(16)
80	90,68(16)	9,32(16)
85	90,97(16)	9,03(16)
90	91,04(15)	8,96(15)
95	91,38(15)	8,61(15)
100	91,80(14)	8,20(14)
105	91,98(14)	8,02(14)
110	91,86(14)	8,14(14)
115	92,76(13)	7,24(13)
120	94,07(13)	5,93(13)
125	92,90(17)	7,10(17)
130	95,12(16)	4,88(16)
135	95,98(11)	4,01(11)
140	97,03(9)	2,97(9)
145	97,12(10)	2,88(10)
150	97,41(12)	2,59(12)
155	100,00	X

Fonte: TITA, D. L.

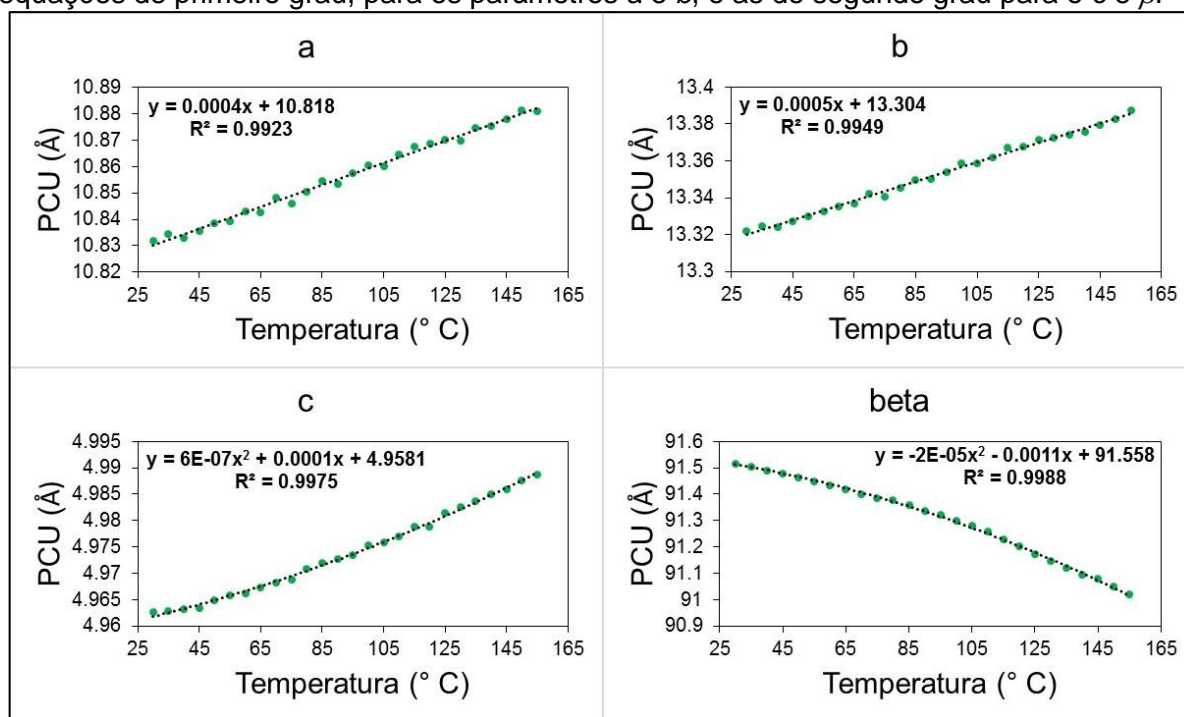
Com os resultados dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β) da betalactose, obtidos pelo RSR, plotou-se na Figura 60 os gráficos referentes ao comportamento desses parâmetros em função do aumento de temperatura (pontos verdes). Pelo refinamento foi possível identificar e quantificar a betalactose, que era a fase majoritária, até a última temperatura de obtenção dos dados.

Para compor os gráficos foram necessários excluir os dados de 25 °C, pois os pontos, segundo a avaliação de *outliers*, não tinham aceitação estatística. Assim, essa exclusão possibilitou a obtenção de uma R^2 maior.

Para os parâmetros a e b , que praticamente seguem uma tendência linear, o melhor ajuste foi a partir de equações de primeiro grau, já para os parâmetros c e β as equações que melhor modelam esses dados foram as de segundo grau.

Assim, ainda na Figura 60, segue os gráficos dos parâmetros de cela unitária para a forma betalactose, plotados de 30 a 155 °C, e as equações obtidas.

Figura 60. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a betalactose. Com temperatura inicial de 30 e final de 155 °C, segue as equações de primeiro grau, para os parâmetros a e b , e as de segundo grau para o c e β .



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 27 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina betalactose, obtidos via RSR.

Tabela 27. Parâmetros de cela unitária da betalactose, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACA.

LACA Temperatura (°C)	Betalactose - Parâmetros de cela unitária (RSR)			
	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
25	10,8416(6)	13,3114(9)	4,9510(1)	91,5192(32)
30	10,8318(10)	13,3221(16)	4,9627(3)	91,5168(56)
35	10,8346(14)	13,3244(20)	4,9628(3)	91,5054(73)
40	10,8329(16)	13,3239(24)	4,9631(4)	91,4891(87)
45	10,8357(19)	13,3273(27)	4,9634(4)	91,4783(99)
50	10,8385(21)	13,3298(30)	4,9649(5)	91,465(11)
55	10,8393(22)	13,3328(32)	4,9658(5)	91,448(12)
60	10,8429(24)	13,3351(35)	4,9662(6)	91,435(13)
65	10,8424(26)	13,3366(37)	4,9674(6)	91,417(14)
70	10,8483(28)	13,3421(39)	4,9682(7)	91,401(15)
75	10,8460(29)	13,3405(41)	4,9688(7)	91,385(15)
80	10,8503(30)	13,3452(43)	4,9708(7)	91,377(16)
85	10,8544(32)	13,3497(45)	4,9720(8)	91,361(17)
90	10,8533(33)	13,3499(47)	4,9727(8)	91,336(18)
95	10,8573(34)	13,3537(49)	4,9734(8)	91,323(18)
100	10,8607(35)	13,3586(51)	4,9754(9)	91,298(19)
105	10,8602(37)	13,3586(52)	4,9759(9)	91,279(20)
110	10,8645(38)	13,3620(54)	4,9770(9)	91,259(20)
115	10,8674(39)	13,3670(55)	4,9788(9)	91,228(21)
120	10,8686(40)	13,3678(57)	4,9789(10)	91,203(22)
125	10,8701(41)	13,3714(59)	4,9815(10)	91,174(22)
130	10,8699(43)	13,3727(60)	4,9825(10)	91,145(23)
135	10,8748(44)	13,3741(62)	4,9836(11)	91,119(23)
140	10,8755(45)	13,3756(63)	4,9850(11)	91,093(24)
145	10,8779(46)	13,3795(65)	4,9860(11)	91,079(24)
150	10,8812(47)	13,3824(66)	4,9876(11)	91,048(25)
155	10,8812(48)	13,3874(68)	4,9887(12)	91,019(25)

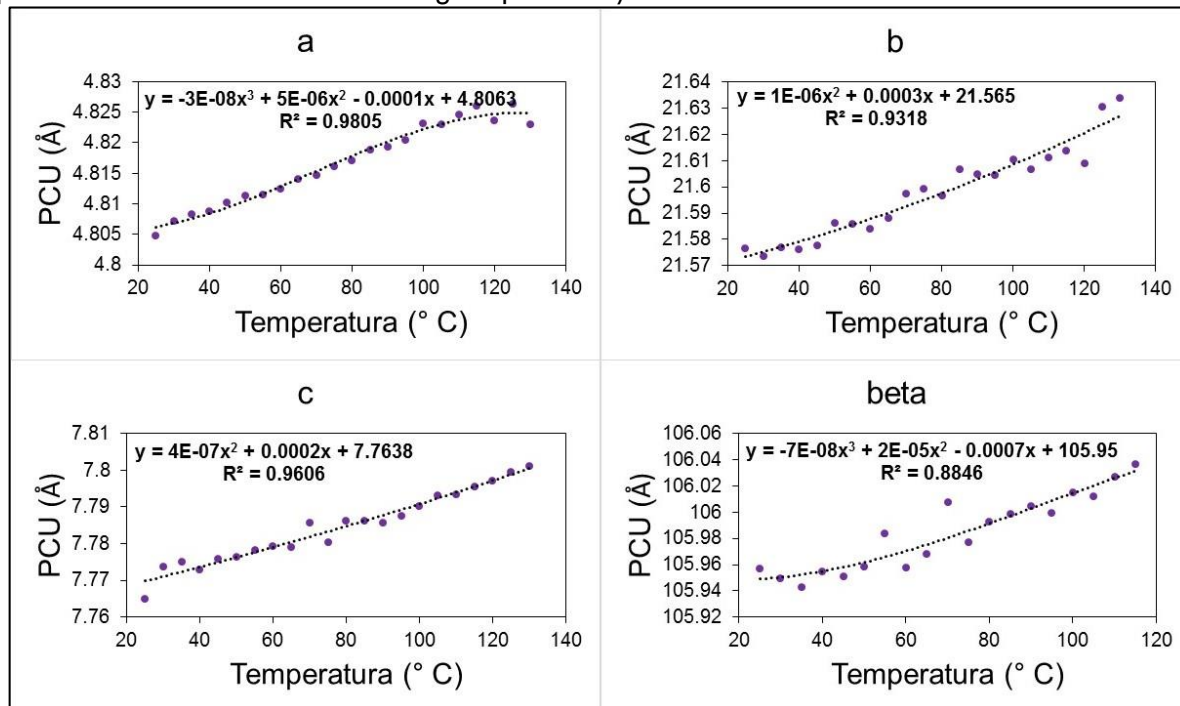
Fonte: TITA, D. L.

O mesmo foi realizado para a forma alfalactose monoidratada. Na Figura 61 segue os gráficos referentes ao comportamento dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β) em função do aumento de temperatura (pontos roxos).

Para esse caso, os gráficos foram plotados da temperatura inicial de 25 a 130 °C, pois devido à baixa quantidade de forma alfalactose monoidratada, no final do experimento, já não foi possível encontrar um bom ajuste.

Utilizaram-se equações de terceiro grau para descrever o comportamento dos parâmetros a e β e de segundo grau para b e c .

Figura 61. Equações das retas que regem a expansão da cela unitária (a , b , c e β), a partir do RSR, para a alfalactose monoidratada. Com temperatura inicial de 25 e final de 130 °C, segue as equações de segundo grau que descrevem o comportamento dos pontos para os parâmetros b e c e as de terceiro grau para a e β .



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 28 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfalactose monoidratada, obtidos via RSR.

Tabela 28. Parâmetros de cela unitária da alfactose monoidratada, obtidos via refinamento sequencial por Rietveld, para a amostra LACA.

LACA	Alfactose monoidratada - Parâmetros de cela unitária (RSR)			
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)
25	4,8048(6)	21,5766(46)	7,7649(27)	105,957(20)
30	4,8073(10)	21,5735(80)	7,7736(45)	105,950(35)
35	4,8083(14)	21,577(10)	7,7751(57)	105,942(45)
40	4,8088(16)	21,576(13)	7,7728(68)	105,955(52)
45	4,8102(19)	21,578(14)	7,7758(77)	105,951(60)
50	4,8113(21)	21,586(16)	7,7765(85)	105,959(67)
55	4,8115(23)	21,586(17)	7,7784(92)	105,984(73)
60	4,8125(24)	21,584(19)	7,7794(99)	105,958(79)
65	4,8141(26)	21,588(20)	7,779(11)	105,968(84)
70	4,8148(28)	21,597(21)	7,786(11)	106,008(90)
75	4,8162(29)	21,599(22)	7,780(12)	105,977(95)
80	4,8171(31)	21,596(23)	7,786(12)	105,993(99)
85	4,8189(32)	21,607(24)	7,786(13)	106,00(10)
90	4,8193(33)	21,605(25)	7,786(13)	106,00(11)
95	4,8204(35)	21,605(26)	7,788(14)	106,00(11)
100	4,8232(36)	21,611(27)	7,790(14)	106,01(12)
105	4,8230(37)	21,607(28)	7,793(15)	106,01(12)
110	4,8247(38)	21,611(29)	7,793(15)	106,03(12)
115	4,8260(40)	21,614(30)	7,796(16)	106,04(13)
120	4,8236(42)	21,609(31)	7,797(16)	106,11(13)
125	4,8264(46)	21,630(33)	7,800(18)	106,17(14)
130	4,8231(54)	21,634(37)	7,801(20)	106,26(16)
135	4,8673(62)	18,630(45)	7,996(24)	106,84(19)
140	4,8708(68)	18,633(54)	7,998(26)	106,91(21)
145	4,8725(75)	18,642(62)	8,001(29)	106,93(23)
150	4,8724(83)	18,658(72)	8,002(32)	106,93(25)
155	X	X	X	X

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RSR da amostra LACA, segue na Tabela 29 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e, no final da tabela, em *geral*, os índices para o conjunto total dos dados.

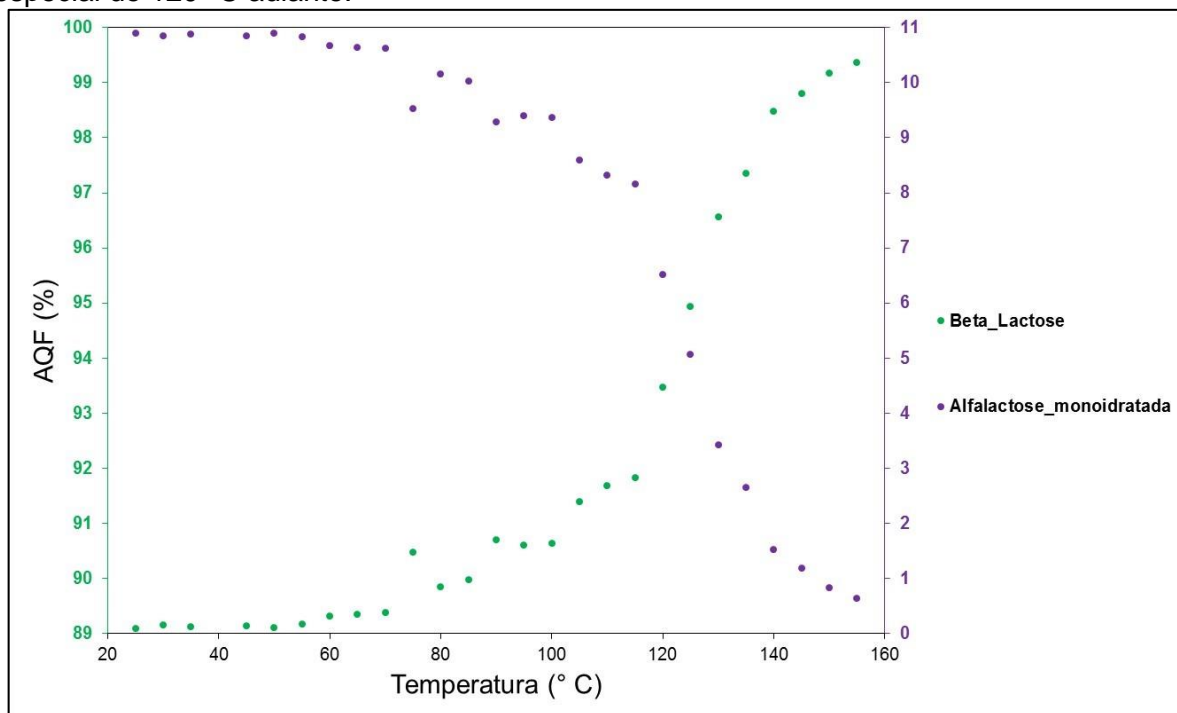
Tabela 29. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACA, via refinamento sequencial por Rietveld.

LACA	Índices de qualidade de refinamento (RSR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp}	d-DW
25	8,8442	0,2500	3,6316
30	8,0013	0,2813	3,2986
35	7,7204	0,2805	3,1958
40	7,7249	0,2845	3,2079
45	7,6376	0,2886	3,1837
50	7,6138	0,2742	3,1850
55	7,6340	0,2778	3,2062
60	7,5224	0,2864	3,1707
65	7,6860	0,2853	3,2535
70	7,7015	0,2801	3,2719
75	7,6239	0,2985	3,2513
80	7,5373	0,2950	3,2295
85	7,5650	0,2847	3,2523
90	7,5955	0,2621	3,2782
95	7,4798	0,2934	3,2442
100	7,4839	0,3046	3,2591
105	7,3632	0,2800	3,2201
110	7,3120	0,3021	3,2100
115	7,3851	0,3085	3,2582
120	7,4827	0,2803	3,3161
125	7,1600	0,2810	3,1875
130	7,5432	0,2823	3,3735
135	6,4226	0,3633	2,8858
140	6,2416	0,3995	2,8177
145	6,1760	0,3929	2,8016
150	6,2396	0,3603	2,8424
155	6,8669	0,3167	2,9657
GERAL	7,4122	8,0939	3,0440

Fonte: TITA, D. L.

A partir das equações determinadas para os parâmetros de cela unitária da lactose anidra (betalactose e alfalactose monoidratada), iniciou-se o RRP, sendo assim, na Figura 62 é apresentada a mesma transição de fases da Figura 59, mas agora para a obtenção desses dados utilizou-se a parametrização via RRP. Com isso, é possível observar que os resultados apresentam uma menor oscilação.

Figura 62. Transição de fases polimórficas da amostra LACA em função do aquecimento. A partir dos dados obtidos pelo RRP, de um conjunto contendo 27 difratogramas, observam-se que os resultados para betalactose (pontos verdes) e alfa lactose monoidratada (pontos roxos) são próximos aos apresentados na Figura 59, mas com uma menor flutuação dos dados, em especial de 120 °C adiante.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 30 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores da ACF, além dos erros, para as fases cristalinas, betalactose e alfa lactose monoidratada que foram identificadas e quantificadas, via RPR.

Tabela 30. Porcentagem em massa cristalina das fases identificadas para a amostra LACA, obtidas via refinamento paramétrico por Rietveld, da temperatura inicial de 25 °C até a temperatura final 155 °C, com incremento de 5 °C.

LACA	Fases cristalinas identificadas e quantificadas (RPR)	
	Temperatura (°C)	Betalactose (% em massa)
25	89,10(19)	10,90(19)
30	89,16(18)	10,84(18)
35	89,12(19)	10,88(19)
40	88,94(19)	11,06(19)
45	89,14(18)	10,86(18)
50	89,11(19)	10,89(19)
55	89,16(19)	10,83(19)
60	89,32(18)	10,68(18)
65	89,35(18)	10,65(18)
70	89,38(18)	10,62(18)
75	90,47(17)	9,53(17)
80	89,85(17)	10,15(17)
85	89,98(18)	10,02(18)
90	90,70(16)	9,29(16)
95	90,60(17)	9,40(17)
100	90,63(17)	9,36(17)
105	91,40(16)	8,60(16)
110	91,68(15)	8,32(15)
115	91,83(16)	8,17(16)
120	93,48(15)	6,52(15)
125	94,93(16)	5,06(16)
130	96,57(15)	3,43(15)
135	97,35(16)	2,65(16)
140	98,48(13)	1,52(13)
145	98,81(12)	1,19(12)
150	99,17(10)	0,83(10)
155	99,36(11)	0,64(11)

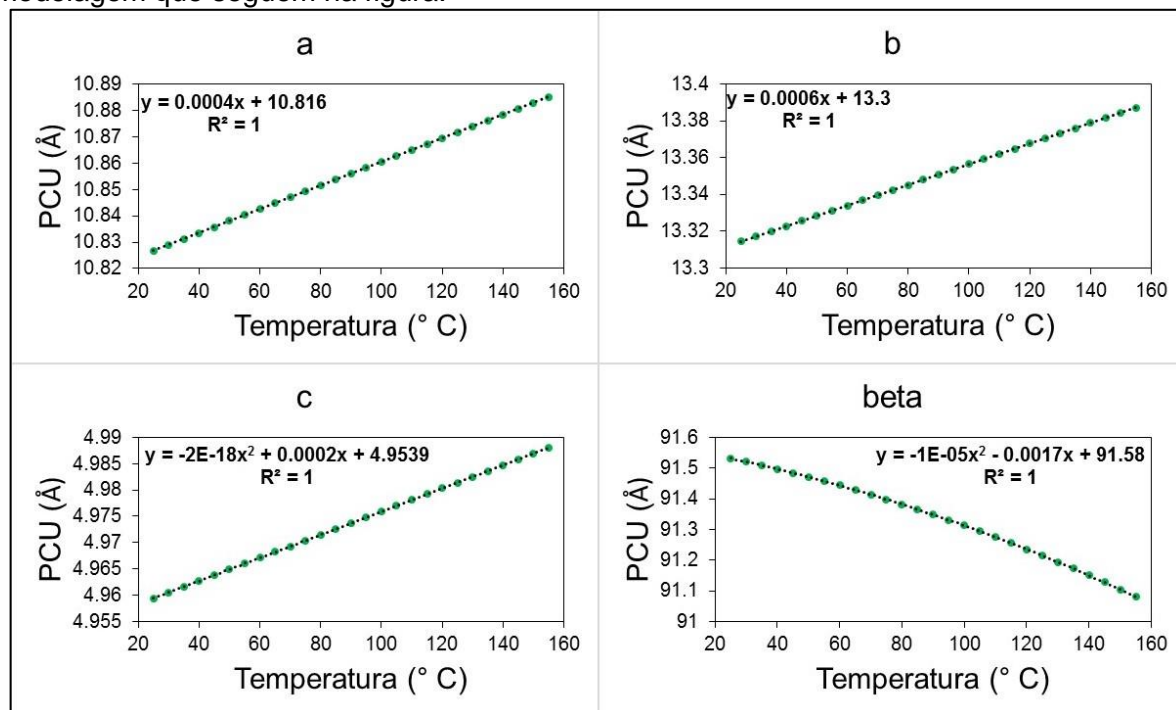
Fonte: TITA, D. L.

Com a modelagem, os PCU tornam-se mais robustos e, assim, o refinamento também, com isso, é possível refinar todo um conjunto de dados de uma única vez sem que haja perda de fases, o que facilita no tratamento de um grande conjunto de dados. Assim, nesse caso, a alfalactose monoidratada foi incluída no refinamento paramétrico até a última temperatura (i.e. 155 °C).

Na Figura 63 são apresentados os gráficos obtidos para os PCU após o RRP, a partir das funções encontradas pelo RSR. Nesse caso observa-se que a parametrização ajuda a diminuir a flutuação dos PCU e, com isso, ao testar as

equações da reta que regem a dilatação da amostra encontram-se excelentes ajustes. Sendo assim, na própria figura são apresentadas as equações das retas já refinadas.

Figura 63. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RRP, para a forma betalactose da amostra LACA. Observa-se que a expansão dessa fase é ajustada às equações de modelagem que seguem na figura.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 31 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina betalactose, obtidos via RPR.

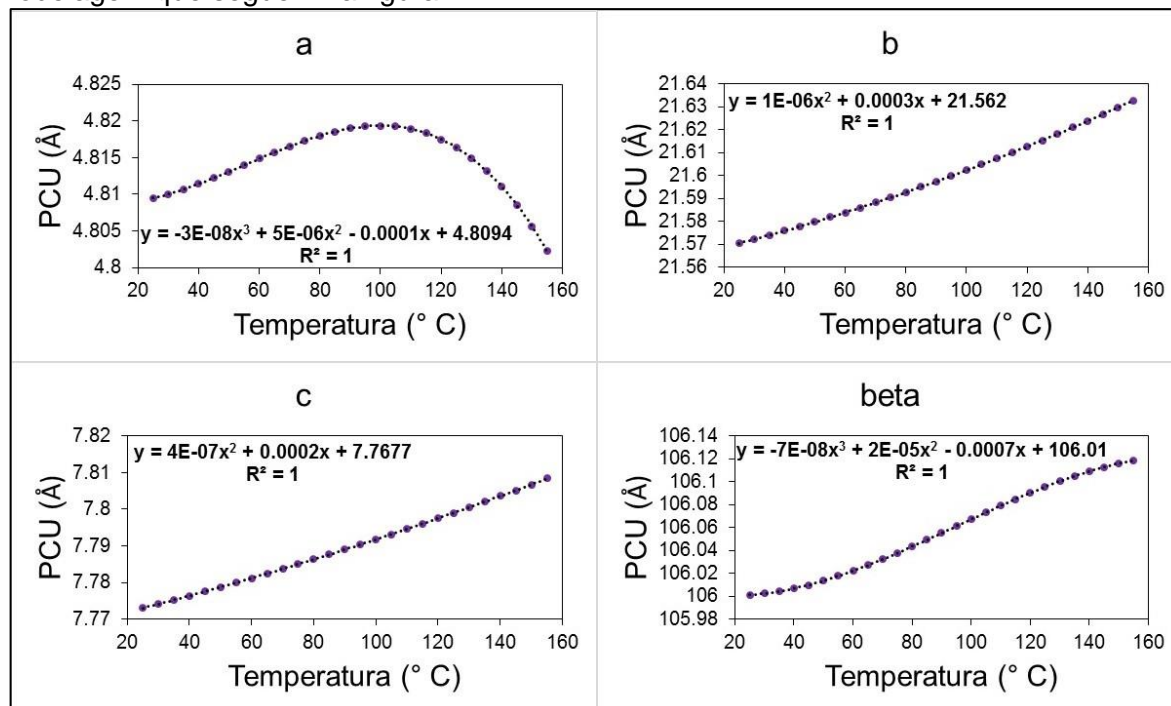
Tabela 31. Parâmetros de cela unitária da betalactose, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACA.

LACA	Betalactose - Parâmetros de cela unitária (RPR)			
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)
25	10,8268(3)	13,3143(5)	4,9594(1)	91,5318(26)
30	10,8290(3)	13,3171(5)	4,9605(1)	91,5207(28)
35	10,8313(3)	13,3199(5)	4,9616(1)	91,5091(29)
40	10,8335(3)	13,3227(5)	4,9627(1)	91,4970(31)
45	10,8358(4)	13,3255(5)	4,9638(1)	91,4844(32)
50	10,8380(4)	13,3283(5)	4,9649(1)	91,4713(34)
55	10,8403(4)	13,3311(5)	4,9660(1)	91,4577(36)
60	10,8425(4)	13,3339(5)	4,9671(1)	91,4436(38)
65	10,8448(4)	13,3367(5)	4,9682(1)	91,4290(41)
70	10,8470(4)	13,3395(5)	4,9693(1)	91,4139(43)
75	10,8493(4)	13,3423(6)	4,9704(1)	91,3983(46)
80	10,8515(4)	13,3451(6)	4,9715(1)	91,3822(48)
85	10,8538(4)	13,3479(6)	4,9726(1)	91,3656(51)
90	10,8560(4)	13,3507(6)	4,9737(1)	91,3485(54)
95	10,8583(5)	13,3535(6)	4,9748(1)	91,3309(57)
100	10,8605(5)	13,3563(6)	4,9759(1)	91,3128(60)
105	10,8628(5)	13,3591(6)	4,9770(1)	91,2942(63)
110	10,8650(5)	13,3619(7)	4,9781(1)	91,2751(66)
115	10,8673(5)	13,3647(7)	4,9792(2)	91,2555(70)
120	10,8695(5)	13,3675(7)	4,9803(2)	91,2354(73)
125	10,8718(5)	13,3703(7)	4,9814(2)	91,2148(77)
130	10,8740(5)	13,3731(7)	4,9825(2)	91,1937(81)
135	10,8763(6)	13,3759(7)	4,9836(2)	91,1721(85)
140	10,8785(6)	13,3787(8)	4,9847(2)	91,1500(89)
145	10,8808(6)	13,3815(8)	4,9858(2)	91,1274(93)
150	10,8830(6)	13,3843(8)	4,9869(2)	91,1043(97)
155	10,8853(6)	13,3871(8)	4,9880(2)	91,081(10)

Fonte: TITA, D. L.

No caso da alfalactose monoidratada, apresentada na Figura 64, o mesmo comportamento de R^2 é observado. Sendo assim, segue na própria figura as equações das retas já refinadas.

Figura 64. Equações das retas obtidas para os PCU a partir do RPR, para a alfalactose monoidratada. Observa-se que a expansão dessa fase é ajustada às equações de modelagem que seguem na figura.



Fonte: TITA, D. L.

Na Tabela 32 são apresentados os dados que foram utilizados para compor a figura anterior. Nela encontram-se os valores dos parâmetros de cela unitária (i.e. a , b , c e β), além dos erros, para a fase cristalina alfalactose monoidratada, obtidos via RPR.

Tabela 32. Parâmetros de cela unitária da alfalactose monoidratada, obtidos via refinamento paramétrico por Rietveld, para a amostra LACA.

LACA	Alfalactose monoidratada - Parâmetros de cela unitária (RPR)			
	Temperatura (°C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)
25	4,8095(2)	21,5704(12)	7,7730(6)	106,0011(53)
30	4,8100(2)	21,5722(12)	7,7741(6)	106,0023(53)
35	4,8107(2)	21,5740(12)	7,7752(6)	106,0042(53)
40	4,8114(2)	21,5759(12)	7,7764(6)	106,0067(53)
45	4,8122(2)	21,5778(12)	7,7775(6)	106,0098(53)
50	4,8131(2)	21,5797(12)	7,7787(6)	106,0135(53)
55	4,8140(2)	21,5818(12)	7,7799(6)	106,0176(53)
60	4,8149(2)	21,5839(12)	7,7812(6)	106,0221(53)
65	4,8157(2)	21,5860(12)	7,7824(6)	106,0270(53)
70	4,8166(2)	21,5882(12)	7,7837(6)	106,0322(53)
75	4,8173(2)	21,5904(12)	7,7850(6)	106,0377(53)
80	4,8180(2)	21,5927(12)	7,7863(6)	106,0434(53)
85	4,8185(2)	21,5950(12)	7,7876(6)	106,0492(53)
90	4,8190(2)	21,5974(12)	7,7890(6)	106,0552(53)
95	4,8192(2)	21,5998(12)	7,7903(6)	106,0612(53)
100	4,8193(2)	21,6023(12)	7,7917(6)	106,0672(53)
105	4,8192(2)	21,6048(12)	7,7931(6)	106,0732(53)
110	4,8189(2)	21,6074(12)	7,7946(6)	106,0790(53)
115	4,8183(2)	21,6100(12)	7,7960(6)	106,0848(53)
120	4,8175(2)	21,6127(12)	7,7975(6)	106,0903(53)
125	4,8164(2)	21,6154(12)	7,7990(6)	106,0955(53)
130	4,8149(2)	21,6182(12)	7,8005(6)	106,1004(53)
135	4,8132(2)	21,6210(12)	7,8020(6)	106,1050(53)
140	4,8110(2)	21,6239(12)	7,8036(6)	106,1091(53)
145	4,8085(2)	21,6268(12)	7,8051(6)	106,1128(53)
150	4,8056(2)	21,6298(12)	7,8067(6)	106,1160(53)
155	4,8023(2)	21,6328(12)	7,8083(6)	106,1185(53)

Fonte: TITA, D. L.

Para finalizar o RPR da amostra LACA, segue na Tabela 33 os índices de qualidade de refinamentos, apresentados para cada temperatura e um, no final da tabela, com os índices para o conjunto total dos dados.

Tabela 33. Índices de qualidade de refinamento para a amostra LACA, via refinamento paramétrico por Rietveld.

LACA	Índices de qualidade de refinamento (RPR)		
	Temperatura (°C)	R_{wp}	d-DW
25	8,5635	0,2692	3,5309
30	8,1345	0,2829	3,3551
35	7,6914	0,2911	3,1734
40	7,6917	0,2872	3,1718
45	7,5700	0,2934	3,1217
50	7,5000	0,2827	3,0920
55	7,5497	0,2831	3,1130
60	7,4631	0,2926	3,0764
65	7,5616	0,2914	3,1181
70	7,6619	0,2873	3,1587
75	7,4503	0,3064	3,0710
80	7,4030	0,3014	3,0537
85	7,4910	0,2914	3,0879
90	7,4528	0,2667	3,0717
95	7,4424	0,2980	3,0701
100	7,5172	0,3070	3,1007
105	7,4532	0,2775	3,0745
110	7,4627	0,2965	3,0773
115	7,6214	0,3026	3,1450
120	7,6380	0,2731	3,1527
125	8,1406	0,2266	3,3610
130	8,6155	0,2233	3,5578
135	8,6823	0,2097	3,5866
140	8,8207	0,2172	3,6448
145	8,3646	0,2300	3,4577
150	8,5333	0,2167	3,5266
155	8,5991	0,2273	3,5556
GERAL	7,8698	7,3325	3,2241

Fonte: TITA, D. L.

6 CONCLUSÕES

O refinamento de Rietveld, aplicado a dados de difração de raios X por pó, foi uma poderosa ferramenta para a identificação e quantificação das fases presentes de todos insumos farmacêuticos analisados.

A planilha desenvolvida foi eficiente para programar todos os experimentos de refinamento de Rietveld sequencial e refinamento de Rietveld paramétrico que foram apresentados nesse trabalho. Como principal característica pode se destacar que a programação se tornou mais rápida e precisa.

O refinamento de Rietveld sequencial contribuiu de forma significativa para se encontrar as equações que regem a variação dos parâmetros de cela unitária.

A partir das equações obtidas com os resultados do refinamento sequencial foi possível parametrizar às celas unitárias, os refinamentos tornaram-se mais robustos, o que evitou perda de fases ou problemas de ajustes, o que, por consequência resulta em informações mais precisas do sistema.

Com o aumento da temperatura a forma I da SPR, que apresenta morfologia semelhante a vareta, vai se convertendo em forma II, que tem como morfologia característica estruturas sólidas mais semelhantes a esferas.

Com o aumento da temperatura a alfalactose monoidratada sofre a desidratação e se converte para alfalactose, no caso da amostra LACMH, e para betalactose, no caso da LACA, assim, entende-se que o meio pode causar influência na rota de transição polimórfica.

Com o aumento de temperatura a betalactose não sofre mudança de fase polimórfica.

7 REFERÊNCIAS

- 1 NAVROTSKY, A.; KLEPPA, O. J. Enthalpy of the anatase-rutile transformation. **J. Am. Ceram. Soc.**, v. 50, n. 11, p. 626-626, 1967.
- 2 MATSUI, M.; AKAOGI, M. Molecular dynamics simulation of the structural and physical properties of the four polymorphs of TiO₂. **Mol. Simul.**, v. 6, n. 4-6, p. 239-244, 1991.
- 3 JOHN, H.; WALTER, M. Pharmaceutical applications of polymorphism. **J. Pharm. Sci.**, v. 58, p. 911-929, 1969.
- 4 LIMA, G. et al. Polimorfismo na produção de medicamentos. **J. Basic Appl. Pharm. Sci.**, v. 33, n. 1, p. 27-36, 2012.
- 5 BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. 2nd ed. New York: Informa Healthcare, 1999, 640 p.
- 6 BALLIRANO, P.; CAMINITI, R. Rietveld refinements on laboratory energy dispersive X-ray diffraction (EDXD) data. **J. Appl. Cryst.**, v. 34, p. 757-762, 2001.
- 7 MEAGHER, E. P.; LAGER, G. A. Polyhedral thermal expansion in the TiO₂ polymorphs; refinement of the crystal structures of rutile and brookite at high temperature. **Can. Mineral.**, v. 17, p. 77-85, 1979.
- 8 SEKI, H. et al. High temperature structures of the rutile-type oxides, TiO₂ and SnO₂. **J. Ceram. Assoc. Japan**, v. 92, n.1064, p. 219-223, 1984.
- 9 BELSKY, A.; HELLENBRANDT, M.; KAREN, V. L.; LUKSCH, P. New developments in the inorganic crystal structure database (ICSD): accessibility in support of materials research and design. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.**, n. 58, n. 3, p. 364-369, 2002.
- 10 COSTA, A. et al. Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO₂. **Cerâmica**, n. 52, n. 324, p. 255-259, 2006.
- 11 CCDC. **Mercury 3.5.1.**, 2012. Disponível em: <<http://www.ccdc.cam.ac.uk/mercury/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.
- 12 BRANDENBURG, K. **Diamond**. Bonn, Germany, 2014. Disponível em: <<http://www.crystalimpact.com/diamond/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.
- 13 FERREIRA, F. F. et. al. Crystal structure determination of mebendazole form A using high-resolution synchrotron X-ray powder diffraction data. **J. Pharm. Sci.**, v. 99, n. 4, p. 1734-1744, 2009.

- 14 SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; DE VILLIERS, M. M. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazole polymorphs. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 55, n. 3, p. 345-349, 2003.
- 15 UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. **Guidance for industry: ANDAs: pharmaceutical solid polymorphism. chemistry, manufacturing, and controls information.** Rockville: FDA, 2007, 13 p. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072866.pdf>>. Acesso em 03 abr. 2018.
- 16 ATKINS, P. W.; DE PAULA, J. **Físico-química**: volume 1. 9.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012, 386 p.
- 17 CALLISTER, W. D. J. **Ciência e engenharia de materiais**: uma introdução. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008, 705 p.
- 18 NAPOLITANO, R.; PIROZZI, B.; ESPOSITO, S. Thermal expansion coefficients of the axes of the unit cell of syndiotactic 1,2-poly(1,3-butadiene). **Macromol. Symp.**, v. 234, n. 1, p. 111-116, 2006.
- 19 SILVA, K. E. R. et al. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **J. Basic Appl. Pharm. Sci.**, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.
- 20 BRASIL. Resolução RDC - nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, jul. 2005. Disponível em: <<https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numlink=213898>> Acesso em: 03 abr. 2018.
- 21 LEE, A. Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A. S. Crystal polymorphism in chemical process development. **Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.**, v. 2, n. 1, p. 259-280, 2011.
- 22 GETSOIAN, A.; LODAYA, R. M.; BLACKBURN, A. C. One-solvent polymorph screen of carbamazepine. **Int. J. Pharm.**, v. 348, n. 1-2 p. 3-9, 2008.
- 23 CHEMBURKAR, S. R. et al. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. **Org. Proc. Res. Dev.**, v. 4, n. 5, p. 413-417, 2000.
- 24 GIRON, D. Monitoring of polymorphism - from detection to quantification. **Eng. Life Sci.**, v. 3, n. 3, p. 103-112, 2003.
- 25 **Drug Bank**: database v. 5.1.0, 2018. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00421>> Acesso em: 03 abr. 2018.

26 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, DF: ANVISA, 2010. v. 2. 808 p.

27 DIDEBERG, O.; DUPONT, L. La structure cristalline et moléculaire de la spironolactone (7 α -Acétylthio-3-oxo-17 α -4-pregnè-21,17 β Carbolactone). **Acta Crystallographica Section B**, v. 28, p. 3014-3022, 1972.

28 AGAFONOV, V.; LEGENDRE, B.; RODIER, N. A new crystalline modification of spironolactone. **Acta Crystallographica Section C**, v. 45, p. 1661-1663, 1989.

29 TAKATA, N. et al. A Spironolactone - saccharin 1:1 cocrystal hemihydrate. **Crystal Growth & Desingn**, v. 10, p. 2116-2122, 2010.

30 ESPEAU, P. et al. Thermal behavior of orthorhombic polymorphs I and II of spironolactone. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 90, n. 2, p. 341-342, 2007.

31 AGAFONOV, V. et. al. Structure cristalline du solvate spironolactone - acétonitrile (2:1). **Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.**, v. 47, n. 2, p. 365-369, 1991.

32 ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6th ed. New York: Pharmaceutical Press, 2009, 888 p.

33 BUGG, C. E. Calcium binding to carbohydrates: crystal structure of a hydrated calcium bromide complex of lactose. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 95, n. 3, p. 908-913, 1973.

34 COOK, W. J., et al. A lactone-calcium chloride heptahydrate complex. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.**, v. 29, n. 4, p. 907-909, 1973.

35 BEEVERS, C. A., et al. The structure of α -lactose monohydrate. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.**, v. 27, n. 4, p. 1323-1325, 1971.

36 BUMA, T. J.; WIEGERS, G. A. X-ray powder patterns of lactose and unit cell dimensions of β -lactose. **Neth. Milk Dairy J.**, v. 21, n. 3-4, p. 208-213, 1967.

37 NOORDIK, J. H.; BEURSKENS, P. T.; BENNEMA, P. Crystal structure, polarity and morphology of 4-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-glucopyranose monohydrate (α -lactose monohydrate): a redetermination. **Zeitschrift für Krist. - Cryst. Mater.**, v. 168, n. 1-4, p. 59-66, 1984.

38 FRIES, D. C., et. al. Structural chemistry of carbohydrates: Crystal and molecular structure of 4-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-glucopyranose monohydrate (α -lactose monohydrate). **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.**, v. 27, n. 5, p. 994-1005, 1971.

39 SMITH, J. H., et. al. Alfa-Lactose monohydrate: a redetermination at 150 K. **Acta Cryst.**, v. 61, p. 2499-2501, 2005.

40 SCHREYER, M., et. al. Simultaneous determination of several crystal structures from powder mixtures: the combination of powder X-ray diffraction, band-target entropy minimization and Rietveld methods. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 47, n. 2, p. 659-667, 2014.

41 PLATTEAU, C. et al. *Ab initio* structure determination of the hygroscopic anhydrous form of α -lactose by powder X-ray diffraction. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.**, v. 60, n. 4, p. 453-460, 2004.

42 PLATTEAU, C. et al. Structure determination of forms I and II of phenobarbital from X-ray powder diffraction. **Acta Crystallographica Section B**, v. 61, n. 1, p. 80-88, 2005.

43 HIROTSU, K.; SHIMADA, A. The crystal and molecular structure of betalactose. **Bull.Chem.Soc.Jpn.**, v. 47, p. 1872, 1974.

44 GARNIER, S.; PETIT, S.; COQUEREL, G. Dehydration mechanism and crystallisation behaviour of lactose. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 68, n. 2, p. 489-502, 2002.

45 LEFEBVRE, J. et al. Structure determination of the 1/1 α/β mixed lactose by X-ray powder diffraction. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.**, v. 61, n. 4, p. 455-463, 2005.

46 GUIRY, K. P. et al. Effect of 1-deoxy-D-lactose upon the crystallization of D-lactose. **Cryst. Grow. & Des.**, v. 8, n.11, p.3927-3934, 2008.

47 CULLITY, B. D. **Elements of x-ray diffraction**. New York: Prentice Hall, 2001 531 p.

48 GIACOVAZZO, C. et al. **Fundamentals of crystallography**. New York: Oxford University Press, 1992, 654 p.

49 PECHARSKY, V. K.; ZAVALIJ, P. Y. **Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials**. 2nd ed. New York: Springer, 2005, 741 p.

50 TITA, D. L. **Caracterização de polimorfos em comprimidos distribuídos pela Secretaria de Saúde de Araraquara por difração de raios X**. 2014. 117f. Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2014.

51 DINNEBIER, R. E.; BILLINGE, S. J. L. **Powder diffraction: theory and practice**. Cambridge: RSCPublishing, 2008, 582 p.

52 BEZZON, V. D. N. **Definição de limites para a identificação e quantificação de polimorfos do fármaco finasterida por difração de raios X por policristais**. 2013. 201f. Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências, Bauru, 2013.

- 53 RIETVELD, H. M. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. **Acta Crystallogr.**, v. 22, p. 151, 1967.
- 54 YOUNG, R. A. **The Rietveld method**. New York: Oxford University Press, 1995. 312 p.
- 55 CLINE, J. P., et al. The application of the fundamental parameters approach as implemented in Topas to divergent beam powder diffraction data. **Mater. Sci. Forum**, v. 651, p. 201-219, 2010.
- 56 COELHO, A. **Technical Reference**: Topas Academic, v. 5, 2012.
- 57 COELHO, A. A. et al. The Topas symbolic computation system. **Powder Diffr.**, v. 26, p. 22-25, 2011.
- 58 PAIVA-SANTOS, C. O. **Aplicações do Método de Rietveld**. 2005. Disponível em: <<http://labcacc.net.br/aplicacoes-do-metodo-de-rietveld/39>>, Acesso em: 03 abr. 2018.
- 59 TOBY, B. H. R factors in Rietveld analysis: how good is good enough? **Powder Diffr.**, v. 21, n. 1, p. 67-70, 2006.
- 60 DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression. **Biometrika**, v. 37, p. 409-428, 1950
- 61 HILL, R. J.; HOWARD, C. J. Quantitative phase-analysis from neutron powder diffraction data using the rietveld method. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 20, p. 467-474, 1987.
- 62 ALBINATI, A.; Willis, B. T. M. The Rietveld method in neutron and X-ray powder diffraction. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 15, n. 4, p. 361-374, 1982.
- 63 GAGIN, A.; LEVIN, I. Accounting for unknown systematic errors in Rietveld refinements: a bayesian statistics approach. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 48, n. 4, p. 1201-1211, 2015.
- 64 RIETVELD, H. M. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. **Acta Crystallogr.**, v. 22, p. 151, 1967.
- 65 STINTON, G. W. et al. Parametric Rietveld refinement. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 40, n. 1, p. 87-95, 2007.
- 66 GREVEL, K. D. et. al. Pressure-volume-temperature behavior of diasporé and corundum: an in situ X-ray diffraction study comparing different pressure media. **J. Geophys. Res. Solid Earth**, v. 105, n. B12, p. 27877-27887, 2000.
- 67 EVANS, J. S. O. Advanced input files & parametric quantitative analysis using Topas. **Mater. Sci. Forum**, v. 651, p. 1-9, 2010.

68 SALVI, S. T. B. **Método para controle da qualidade de medicamentos sólidos por difração de raios X**. 2015. 165f. Doutorado - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2014

69 CAPES. **Bases de estruturas cristalinas**. 2015. Disponível em: <<http://bdec.dotlib.com.br/inicio>> Acesso em: 03 abr. 2018.

70 CCDC. **ConQuest**. 2014. Disponível em: <<https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-system/components/conquest/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

71 CCDC. **The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)**. 2015. Disponível em: <<http://www.ccdc.cam.ac.uk/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

72 COELHO, A. A. Topas and Topas-Academic: an optimization program integrating computer algebra and crystallographic objects written in C++. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 51, n. 1, p. 210-218, 2018.

73 TANAKA, J. S.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTONIO, S. G. JST-DRX: a software to generate X-ray powder patterns from patents data. **Int. Symp. Crystallogr. Ann.**, 2014.

74 COELHO, A. **Users manual**: Topas Academic, v. 5, 2012.

75 ANTONIO, S. G., et al. Synchrotron X-ray powder diffraction data of atorvastatin. **Powder Diffr.**, v. 23, p. 350-355, 2008.

76 **Topas Wiki**. Macros. Disponível em: <<http://topas.dur.ac.uk/topaswiki/doku.php?id=macros>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

77 **jEdit** - Programmer's Text Editor. Disponível em: <<http://jedit.org/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

78 CHEBYSHEV, P. L. Théorie des mécanismes connus sous le nom de parallélogrammes. **Mémoires des Savants étrangers présentés à l'Académie de Saint-Pétersbourg**, v. 7, p. 539-586, 1854.

79 DOLLASE, W. A. Correction of intensities for preferred orientation in powder diffractometry: application of the March model. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 19, p. 267-272, 1986.

80 POPA, N. C. Texture in Rietveld refinement. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 25, p. 611-616, 1992.

81 DINNEBIER, R. E.; BILLINGE, S. J. L. **Powder diffraction**: theory and practice. Cambridge: RSCPublishing, 2008, 582 p.

82 PANEERSELVAM, R. **Automated parametric Rietveld refinement and its application to two-dimensional X-ray powder diffraction experiments**. 2011. 186f. Doutorado - Universität Stuttgart - Stuttgart, 2011.

83 CIMBALA, J. M. **Outliers**. 2011. Disponível em: <<http://www.mne.psu.edu/cimbala/me345/Lectures/Outliers.pdf> >, Acesso em: 03 abr. 2018.

84 FIGURA, L. O. The physical modification of lactose and its thermoanalytical identification. **Thermochim. Acta**, v. 222, p. 187-194, 1993.

85 **ImageJ** - Image processing and analysis in Java. Disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

86 ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2006, 965 p.

87 AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Denominação comum brasileira: **lista de insumos farmacêuticos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/2733907/Lista+DCB+Insumos+Farmacêuticos+em+dezembro+2017.pdf/6c36acc7-f45d-405d-8cfb-eb432d028c0e>>, Acesso em: 03 abr. 2018.

8 APÊNDICES

A - DESCRIÇÃO DA PROGRAMAÇÃO COMPLETA PARA O RSR E O RPR

O difícil no RSR e no RPR, além das conexões dos PCU e da implementação das equações de reta para modelagem, é necessário, na grande maioria dos casos incluir funções de ajuste de perfil, de orientação preferencial, dentre outras, que operam especificamente uma para cada fase em uma dada temperatura, sendo assim, para replicar funções para todos os experimentos é necessário a adequação das variáveis para que não haja conflito nos cálculos. Assim, a planilha SP-DLT auxilia o usuário na programação da rotina dos refinamentos.

Para um melhor entendimento, segue abaixo a programação realizada pela planilha, de forma explicativa, da organização dos experimentos. Para não estender por demais o texto, a programação será realizada para somente três temperaturas distintas (i.e. três difratogramas) que contém quatro fases cristalinas.

Programação para o RSR

No exemplo a seguir será utilizado uma medida que contém a mistura de quatro fases cristalinas, dentre elas, forma I e II, da SPR, alfalactose monoidratada e α -lactose anidra, em um total de três difratogramas, sendo eles, o primeiro obtido em 25 °C, 30 °C e o último em 35 °C.

Segue na Figura 65 os tópicos principais do RSR com suas programações ocultas. Nesse caso observa-se que, basicamente, o refinamento tem início com a definição das fases cristalinas presentes na amostra, depois com a escolha de quais temperaturas serão refinadas, do *prm* que faz parte da programação para descrição das temperaturas empregadas na obtenção dos dados e, por último no *beq* para cada uma das fases cristalinas.

Na sequência, em *defining PRM-PHASE 1 – Forma_I* temos a programação para o RSR, propriamente dito, assim como no esquema apresentado na Tabela 8, um para cada fase (*forma_I*, *forma_II*, *lactose_mono_hidratada* e *lactose_anidra*), de forma separada.

Na primeira temperatura (i.e. 25 °C) temos funções necessárias para o refinamento das quatro fases cristalinas, para essa dada temperatura, na sequencia temos o mesmo para a temperatura de 30 e, por fim a de 35 °C.

Para encerrar a programação temos os parâmetros instrumentais do difratômetro.

Figura 65. Programação para o RSR de amostra com quatro fases cristalinas em três temperaturas distinta. Esse modo de exibição (i.e. Ctrl + e, depois pressione o c) facilita na análise completa da medida. Para esse exemplo temos um total de 1533 linhas de programação. As setas cinzas, localizadas no canto esquerdo da imagem, fazem com os termos ocultos se expandam.

1	
2	<code>iters 1000000</code>
3	<code>chi2_convergence_criteria 0.001</code>
4	<code>' do_errors</code>
5	<code>r_wp 0 r_exp 0 r_p 0 r_wp_dash 0 r_p_dash 0 r_exp_dash 0 weighted_Durbin_Watson 0 gof 0</code>
6	
7	<code>'{{{ defining phases [5 lines]</code>
13	
14	<code>'{{{ choosing the temperature [4 lines]</code>
19	
20	<code>'{{{ PRM temperature [2 lines]</code>
23	
24	<code>'{{{ beq [5 lines]</code>
30	
31	<code>'{{{defining PRM PHASE_1 - Forma_I [31 lines]</code>
63	
64	<code>'{{{defining PRM PHASE_2 - Forma_II [31 lines]</code>
96	
97	<code>'{{{defining PRM PHASE_3 - Lactose_mono_hidratada [31 lines]</code>
129	
130	<code>'{{{defining PRM PHASE_4 - Lactose_anidra [31 lines]</code>
162	
163	<code>'{{{ Temperature temp25 [447 lines]</code>
611	
612	<code>'{{{ Temperature temp30 [447 lines]</code>
1060	
1061	<code>'{{{ Temperature temp35 [447 lines]</code>
1509	
1510	<code>'{{{ for all xdds [22 lines]</code>
1533	

Fonte: TITA, D. L.

Um ponto interessante é que o emprego do apóstrofe (') faz com que os comandos localizados após seu uso, não sejam lidos, assim, não são utilizados nos cálculos. Com essa ferramenta é possível gerar comentários na programação, como no nosso caso, na figura abaixo, que o refinamento será descrito via comentários. Além disso, agora pensando nos cálculos, como em *defining phases* e *choosing the temperature* é possível incluir e combinar termos para serem ou não refinados, como exemplo, em *choosing the temperature*, para refinar somente os difratogramas obtidos

para a primeira e a segunda temperatura (i.e. 25 e 30 °C) e bloquear para cálculos a temperatura de 35 °C é só utilizar o apóstrofe da seguinte forma: '#define temp35.

Assim, segue abaixo a programação detalhada (i.e. texto na cor roxa) para o RSR, que foi programado, de forma automática, via planilha SP-DLT. Na Figura 66 segue a primeira parte desse refinamento.

Figura 66. Primeira parte do refinamento sequencial pelo método de Rietveld. Segue detalhes da programação gerada de forma automática via planilha SP-DLT. Os índices que qualidade de refinamento para todo o conjunto de dados, as formas cristalinas empregadas na medida, as temperaturas e o *beq*.

```

1
2  iters 1000000 'ciclos de cálculos.
3  chi2_convergence_criteria 0.001
4  ' do_errors 'quando liberada (i.e. apagando o '), a função apresenta os erros dos termos refinados.
5  r_wp 0 r_exp 0 r_p 0 r_wp_dash 0 r_p_dash 0 r_exp_dash 0 weighted_Durbin_Watson 0 gof 0
6  'índices de qualidade de refinamento para o conjunto total de dados.
7
8  '{{{ defining phases
9  #define Forma_I 'definindo a(as) fase(s) cristalina(s) que será(ão) empregada(s) no refinamento.
10 #define Forma_II
11 #define Lactose_mono_hidratada
12 #define Lactose_anidra
13 '}}}'
14
15 '{{{ choosing the temperature
16 #define temp25 'definindo qual(is) temperatura(s) será(ão) analisada(as).
17 #define temp30
18 #define temp35
19 '}}}'
20
21 '{{{ PRM temperature
22 prm !temp25 25 prm !temp30 30 prm !temp35 35 'o uso da "!" significa "parâmetro não refinável" (fixo).
23 '}}}'
24
25 '{{{ beq
26 prm !Forma_I 5 'definindo o beq para cada uma das fases analisadas.
27 prm !Forma_II 5
28 prm !Lactose_mono_hidratada 5
29 prm !Lactose_anidra 5
30 '}}}'

```

Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 67 é apresentado o RSR para a primeira fase cristalina. Entendendo a lógica empregada na programação, é possível evoluir o mesmo pensamento para outras fases. Nesse passo as conexões do RSR são geradas para os PCU.

Figura 67. Programação do RSR para a primeira fase. O termo $a1_0$, é o valor de a , para a fase um, proveniente do CIF. A mesma lógica é respeitada para os outros parâmetros. Depois disso, as conexões entre as medidas são geradas, assim como apresentada na figura que segue.

```

32 '(((defining PRM PHASE_1 - Forma_I
33 #ifdef Forma_I
34 prn la1_0 9.976 'a1_0 significa parâmetro "a" de cela unitária / 1 significa primeira fase do refinamento / 0 significa proveniente do CIF.
35 prn lb1_0 35.573 'b1_0 segue a mesma logica anterior, mas agora para o parâmetro "b".
36 prn lc1_0 6.225
37 prn lfal_0 90
38 prn lbetal_0 90
39 prn lgamma1_0 90
40 'programação para o sequencial / prn al_25 = al_0+de1a25_1; 0 é a equação do parâmetro "a" da cela unitária para a primeira fase do RSR.
41 prn de1a25_1 0 prn al_25 = al_0+de1a25_1; 0 'de1a25_1 é o variação encontrada pelo refinamento, para 25°C.
42 prn de1b25_1 0 prn b1_25 = b1_0+de1b25_1; 0 'os símbolos ; 0 realizam o cálculo da equação que os precedem e substituem o 0 pelo resultado.
43 prn de1c25_1 0 prn c1_25 = c1_0+de1c25_1; 0
44 prn de1a125_1 0 prn alfa1_25 = alfa1_0+de1a125_1; 0
45 prn de1b25_1 0 prn beta1_25 = beta1_0+de1b25_1; 0
46 prn de1ga25_1 0 prn gamma1_25 = gamma1_0+de1ga25_1; 0
47
48 prn de1a30_1 0 prn al_30 = al_25+de1a30_1; 0 'al_25 é o parâmetro "a" proveniente do refinamento anterior.
49 prn de1b30_1 0 prn b1_30 = b1_25+de1b30_1; 0 'b1_25 é o parâmetro "b" proveniente do refinamento anterior e, assim, segue a mesma lógica
50 prn de1c30_1 0 prn c1_30 = c1_25+de1c30_1; 0
51 prn de1a130_1 0 prn alfa1_30 = alfa1_25+de1a130_1; 0
52 prn de1b30_1 0 prn beta1_30 = beta1_25+de1b30_1; 0
53 prn de1ga30_1 0 prn gamma1_30 = gamma1_25+de1ga30_1; 0
54
55 prn de1a35_1 0 prn al_35 = al_30+de1a35_1; 0
56 prn de1b35_1 0 prn b1_35 = b1_30+de1b35_1; 0
57 prn de1c35_1 0 prn c1_35 = c1_30+de1c35_1; 0
58 prn de1a135_1 0 prn alfa1_35 = alfa1_30+de1a135_1; 0
59 prn de1b35_1 0 prn beta1_35 = beta1_30+de1b35_1; 0
60 prn de1ga35_1 0 prn gamma1_35 = gamma1_30+de1ga35_1; 0
61
62 #endif
63 .)))

```

Fonte: TITA, D. L.

Na sequência, a mesma lógica é empregada para a confecção da programação do RSR para a segunda fase, que nesse exemplo é a forma II da SPR.

Figura 68. Programação do RSR para a segunda fase. A lógica é a mesma da fase anterior e, também, será a mesma para as próximas fases (i.e. lactose monoidratada e lactose anidra).

```

65  {{{defining PRM PHASE_2 - Forma_II
66  #ifdef  Forma_II
67  prm !a2_0  10.584  'entrando com os parâmetros de cela unitária para a segunda fase.
68  prm !b2_0  11.005  'a lógica é a mesma apresentada para primeira fase,
69  prm !c2_0  18.996  'a única diferença é que no lugar do 1, agora temos o número 2 (segunda fase).
70  prm !alfa2_0  90
71  prm !beta2_0  90
72  prm !gama2_0  90
73
74  prm  dela25_2  0  prm  a2_25  =  a2_0+dela25_2;;  0
75  prm  delb25_2  0  prm  b2_25  =  b2_0+delb25_2;;  0
76  prm  delc25_2  0  prm  c2_25  =  c2_0+delc25_2;;  0
77  prm  !delal25_2  0  prm  alfa2_25  =  alfa2_0+!delal25_2;;  0
78  prm  !delbe25_2  0  prm  beta2_25  =  beta2_0+!delbe25_2;;  0
79  prm  !delga25_2  0  prm  gama2_25  =  gama2_0+!delga25_2;;  0
80
81  prm  dela30_2  0  prm  a2_30  =  a2_25+dela30_2;;  0
82  prm  delb30_2  0  prm  b2_30  =  b2_25+delb30_2;;  0
83  prm  delc30_2  0  prm  c2_30  =  c2_25+delc30_2;;  0
84  prm  !delal30_2  0  prm  alfa2_30  =  alfa2_25+!delal30_2;;  0
85  prm  !delbe30_2  0  prm  beta2_30  =  beta2_25+!delbe30_2;;  0
86  prm  !delga30_2  0  prm  gama2_30  =  gama2_25+!delga30_2;;  0
87
88  prm  dela35_2  0  prm  a2_35  =  a2_30+dela35_2;;  0
89  prm  delb35_2  0  prm  b2_35  =  b2_30+delb35_2;;  0
90  prm  delc35_2  0  prm  c2_35  =  c2_30+delc35_2;;  0
91  prm  !delal35_2  0  prm  alfa2_35  =  alfa2_30+!delal35_2;;  0
92  prm  !delbe35_2  0  prm  beta2_35  =  beta2_30+!delbe35_2;;  0
93  prm  !delga35_2  0  prm  gama2_35  =  gama2_30+!delga35_2;;  0
94
95  #endif
96  }}}

```

A mesma lógica é empregada para as outras duas fases: lactose monoidratada e lactose anidra

Fonte: TITA, D. L.

Depois do emprego da programação apresentada anteriormente para as últimas duas fases subsequentes (i.e. lactose monoidratada e lactose anidra), segue agora a descrição da programação empregada para o refinamento da primeira temperatura (i.e. 25 °C). Nesse caso temos algumas funções que são de comum operação para todas as fases cristalinas dessa temperatura, que são o nome do arquivo que contém os dados, os índices de qualidade de refinamento específicos para essa fase os termos para o refinamento do background e a função do deslocamento de amostra. Na sequência já de forma específica para cada fase que opera na temperatura de 25 °C, temos a escala, R_{Bragg} , MVW (massa, volume, %) grupo espacial, os valores parâmetros de cela unitária, que são provenientes das equações apresentadas em *defining PRM – PHASE I*, as posições atômicas (organizadas em uma única linha com os valores obtidos para as função do beq), função de orientação preferencial e correções FWHM (isotrópica e anisotrópica).

Figura 69. Início da programação para o refinamento da primeira temperatura analisada (25 °C), para a primeira fase (forma I da SPR). Nesse passo temos o nome do arquivo que contém os dados, os índices de qualidade de refinamento específicos para essa fase os termos para o refinamento do background e a função do deslocamento de amostra, isso comum para as quatro fases cristalinas para a temperatura de 25 °C. Depois disso, já de forma específica para cada fase que opera na temperatura de 25 °C, temos escala, rBragg, MVW, grupo espacial, os valores parâmetros de cela unitária, que são provenientes das equações apresentadas em *defining PRM – PHASE I*, as posições atômicas (organizadas em uma única linha com os valores obtidos para as função do *beg*), função de orientação preferencial e correções FWHM (isotrópica e anisotrópica).

```

164 ' {{{ Temperature temp25
165 #ifdef temp25
166 ' xdd mistura_t25.xy 'entrando com os dados observados: tipo .raw ou .xy.
167 xdd mistura.raw
168 range 1
169 x_wp 0 x_exp 0 x_p 0 x_wp_dash 0 x_p_dash 0 x_exp_dash 0 weighted_Durbin_Watson 0 gof 0
170 'índices de qualidade de refinamento específicos para essa temperatura.
171 hky 0 0 0 0 0 'background sendo refinado com 5 parâmetros.
172 Specimen_Displacement(0,0) ' deslocamento da amostra específico para essa temperatura.
173 ' {{{ PHASE I Forma I
174 #ifdef Forma_I 'entrando com o refinamento da forma I específico para a temperatura 25 °C.
175 str
176 phase_name Forma_I
177 scale 0 0.001
178 x_bragg 0
179 MVW (0,0,0) 'Massa da cela unitaria, Volume da cela unitaria, wt%
180 space_group "P212121"
181 a = a1_25; ; 0 'esse termo será resultado da equação proposta em "defining PRM PHASE_I - Forma_I"
182 b = b1_25; ; 0
183 c = c1_25; ; 0
184 al = alfa1_25; ; 0
185 be = beta1_25; ; 0
186 ga = gama1_25; ; 0
187 'abaixo a inclusão das posições atômicas e o beg, que foram atribuídos anteriormente em "beg", para a forma I.
188 site C1 x -0.26930 Y 0.25920 z -0.30440 occ C 1 beg =Forma_I; site C2 x -0.35670 Y 0.28860 z -0.41940
189 ' P0_Spherical_Harmonics(sh_Forma_I_temp25, 8) 'função para ajuste de orientação preferencial específica para essa fase nessa dada temperatura.
190 ' LVol_FWHM_CS 0 1, 0, 0.89, 0,0, 200,0, 200) 'função para ajuste da forma do pico (isotrópica).
191 pzm lor1_temp25_h00 200 min 50 max 5000 'macro para ajuste de forma do pico (anisotrópica), específica para essa fase nessa dada temperatura.
192 pzm lor1_temp25_0k0 200 min 50 max 5000
193 ... 'a macro de anisotropia continua, sendo que o seu total é de 74 linhas de programação.

```

Fonte: TITA, D. L.

Na sequência apresentada na figura anterior, depois da macro de anisotropia, segue a programação para extrair automaticamente os parâmetros de cela unitária, após o refinamento. Na pasta onde o arquivo *.inp* é salvo, um arquivo do tipo *.txt* é gerado com os resultados dos PCU do refinamento.

Depois disso, dando continuidade ao refinamento da temperatura de 25 °C, tem início a programação para a segunda fase cristalina, que no caso é a forma II da SPR.

Figura 70. Final da programação do RSR para a primeira fase e início da segunda fase cristalina. Nesse passo é apresentado o sistema que auxilia na extração dos resultados obtidos para os PCU (a , b , c , α , β e γ) e para a porcentagem em massa, específica para a temperatura do exemplo (i.e. 25 °C, da fase forma I da SPR). Depois disso, segue o início da próxima fase (i.e. forma II da SPR), sendo que a lógica da programação é mantida. A lógica da programação é mantida para a forma II, para a lactose monoidratada e lactose anidra. Na próxima temperatura (30 °C), tudo, também, é mantido, mas a variável temperatura passa a ser de 30 °C e assim por diante.

```

268 out "Forma_I.txt" 'sistema para extrair automaticamente os parâmetros de cela unitária, após o refinamento.
269 Out (temp25 , " %4.1f" )
270 Out (Get (a) , " %11.5f" )
271 Out (Get (b) , " %11.5f" )
272 Out (Get (c) , " % 11.5f" )
273 Out (Get (al) , " %11.5f" )
274 Out (Get (be) , " %11.5f" )
275 Out (Get (ga) , " %11.5f" )
276 Out (Get (weight_percent) , " %11.5f\n" )
277
278 #endif
279 '}} fim PHASE 1 'fim da fase 1 - Forma_I da SPR.
280
281 '{{{ PHASE 2 Forma_II 'início da Forma_II da SPR.
282 #ifndef Forma_II
283
284 str
285 phase_name Forma_II
286 scale @ 0.001
287 r_bragg 0
288 MVW (0,0,0)
289 space_group "P212121"
290 a = a2_25; : 0
291 b = b2_25; : 0
292 c = c2_25; : 0
293 al = alfa2_25; : 0
294 be = beta2_25; : 0
295 ga = gama2_25; : 0 'segue a mesma lógica apresentada para a forma_I.

```

Fonte: TITA, D. L.

A mesma lógica da programação é empregada para a terceira e quarta fase cristalina e, em sequência, para as outras três temperaturas, completando assim a programação do RSR.

Na Figura 71, segue a contribuição instrumental necessário para a programação do refinamento. Essa parte é igual tanto para o RSR quanto para o RPR.

Figura 71. Programação das condições experimentais do difratômetro utilizado para o RSR e, também, para o RPR. Nessa parte segue algumas condições necessárias, como, por exemplo, o comprimento de onda utilizado pelo difratômetro (i.e. contribuição instrumental), para os refinamentos, tanto o sequencial como o paramétrico.

```

1509  '{{{ for all xdds 'nesse aba entraremos com as condições experimentais do difratômetro.
1510  for xdds {
1511  Absorption(@,100)
1512  start_X 7.5 'range de varredura 2Theta.
1513  finish_X 39.5
1514  lam
1515  | ymin_on_ymax 0.0001
1516  | la 0.0159 lo 1.534753 lh 3.6854 'comprimento de onda do difratômetro utilizado.
1517  | la 0.5791 lo 1.540596 lh 0.437
1518  | la 0.0762 lo 1.541058 lh 0.6
1519  | la 0.2417 lo 1.54441 lh 0.52
1520  | la 0.0871 lo 1.544721 lh 0.62
1521  'continue_after_convergence
1522  Radius(280) 'raio do goniômetro.
1523  | lpsd_th2_angular_range_degrees 2.941953
1524  | lpsd_equitorial_divergence_degrees 0.2
1525  | lpsd_equitorial_sample_length_mm 10 'diâmetro da amostra no porta amostra.
1526  Full_Axial_Model(12, 15, 12, 2.5, 2.5) '2.5, 2.5 se referem a fenda Soller primaria e secundaria.
1527  Specimen_Displacement(@, 0) ' deslocamento geral da amostra para todo o conjunto de dados.
1528  LP_Factor(0) 'emprego de monocromadores.
1529  ' x_calculation_step 'passo da medida, quando utilizado arquivos de dados do tipo .xy.
1530  | }
1531  '}}}'

```

Fonte: TITA, D. L.

Depois da descrição de todos esses passos temos o refinamento sequencial pelo método de Rietveld, completo, para um exemplo contendo quatro fases cristalinas em três temperaturas de capturas diferentes.

Programação para o RPR

No exemplo a seguir serão utilizados os mesmos dados do RSR, nas mesmas condições. As equações provenientes nesse exemplo de RPR foram extraídas do RSR.

Segue na Figura 72 os tópicos principais do RPR com suas programações ocultas. Nesse caso observa-se que, basicamente, o refinamento tem as mesmas características do RSR, sendo que a única mudança, onde entraremos com as equações para modelarem os PCU, será em *defining PRM-PHASE 1, 2, 3 e 4*.

Figura 72. Programação para o RPR de amostra com quatro fases cristalinas em três temperaturas distinta. Esse modo de exibição (i.e. Ctrl + e, depois pressione o c) facilita na análise completa da medida. Para esse exemplo temos um total de 1553 linhas de programação. As setas cinzas, localizadas no canto esquerdo da imagem, fazem com os termos ocultos se expandam. Nessa condição de apresentação, a estrutura do RPR é semelhante ao RSR, mas, em especial, o que difere são os tópicos *defining PRM PHASE 1*, 2, 3 e 4, que serão abordados na sequência.

1		
2	<code>iters 1000</code>	
3	<code>chi2_convergence_criteria 0.001</code>	
4	<code>' do_errors</code>	
5	<code>r_wp 0 r_exp 0 r_p 0 r_wp_dash 0 r_p_dash 0 r_exp_dash 0 weighted_Durbin_Watson 0 gof 0</code>	
6		
▶ 7	<code>'{{{ defining phases</code>	[5 lines]
13		
▶ 14	<code>'{{{ choosing the temperature</code>	[4 lines]
19		
▶ 20	<code>'{{{ PRM temperature</code>	[2 lines]
23		
▶ 24	<code>'{{{ beq</code>	[5 lines]
30		
▶ 31	<code>'{{{defining PRM PHASE_1 - Forma_I</code>	[36 lines]
68		
▶ 69	<code>'{{{defining PRM PHASE_2 - Forma_II</code>	[36 lines]
106		
▶ 107	<code>'{{{defining PRM PHASE_3 - Lactose_mono_hidratada</code>	[36 lines]
144		
▶ 145	<code>'{{{defining PRM PHASE_4 - Lactose_anidra</code>	[36 lines]
182		
▶ 183	<code>'{{{ Temperature temp25</code>	[447 lines]
631		
▶ 632	<code>'{{{ Temperature temp30</code>	[447 lines]
1080		
▶ 1081	<code>'{{{ Temperature temp35</code>	[447 lines]
1529		
▶ 1530	<code>'{{{ for all xdds</code>	[22 lines]
1553		

Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 73 é apresentada a programação para o RPR para a primeira fase. Basicamente nesse passo são descritos os coeficientes angulares e lineares encontrados via RSR, para serem empregados nas equações de terceiro grau que modelam os PCU. A mesma lógica é empregada para as outras três fases. Nos tópicos *temp25*, *temp30* e *temp 35* a mesma lógica empregada no RSR pode ser aproveitada para o RPR.

Figura 73. Programação do RPR para a primeira fase. O termo 0 significa proveniente das equações encontradas no RSR, o 1, primeira fase, os coeficientes lineares são os termos *a*, *b*, *c*, *alfa*, *beta* e *gama* e, por fim, *ang_a1*, *ang_a1aa*, *ang_a1aaa*, são os coeficientes angulares que acompanha os termos primeira ordem, segunda ordem e terceira ordem, respectivamente, para a primeira fase. A lógica é semelhante para os outros parâmetros e, também, para as outras fases. Para a programação do RPR, segue na figura a equação de terceiro grau, para cada um dos parâmetros para as três temperaturas diferentes, da primeira fase.

```

31  '{{{defining PRM PHASE_1 -          Forma_I
32  #ifdef  Forma_I
33  'segue abaixo os coeficientes angulares e lineares encontrados a partir do RSR, para a primeira fase.
34  PRM a1_0 9.976 ' PRM a1_0          9.976 'Coeficientes lineares para os parâmetros de cela unitaria da primeira fase.
35  PRM b1_0 35.573' PRM b1_0          35.573
36  PRM c1_0 6.225 ' PRM c1_0          6.225
37  PRM alfa1_0 90 ' PRM alfa1_0          90
38  PRM beta1_0 90 ' PRM beta1_0          90
39  PRM gama1_0 90 ' PRM gama1_0          90
40  PRM !coef_ang_a1_0 0.0024 PRM !coef_ang_a1aa_0 -0.00003 PRM !coef_ang_a1aaa_0 0.0000002 ' coeficientes angulares.
41  PRM !coef_ang_b1_0 -0.0046 PRM !coef_ang_b1aa_0 0.000008 PRM !coef_ang_b1aaa_0 -0.0000004
42  PRM !coef_ang_c1_0 -0.003 PRM !coef_ang_c1aa_0 0.000009 PRM !coef_ang_c1aaa_0 -0.000000004
43  PRM !coef_ang_alfa1_0 0 PRM !coef_ang_alfalaa_0 0 PRM !coef_ang_alfalaaa_0 0
44  PRM !coef_ang_beta1_0 0 PRM !coef_ang_betala_0 0 PRM !coef_ang_betalaaa_0 0
45  PRM !coef_ang_gama1_0 0 PRM !coef_ang_gamala_0 0 PRM !coef_ang_gamalaaa_0 0
46  'programação para o refinamento paramétrico / equação de terceiro grau para a parametrização das celas unitárias.
47  PRM a1_25 = a1_0 + coef_ang_a1aaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_a1aa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_a1_0 * (temp25);: 0
48  PRM b1_25 = b1_0 + coef_ang_b1aaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_b1aa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_b1_0 * (temp25);: 0
49  PRM c1_25 = c1_0 + coef_ang_c1aaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_c1aa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_c1_0 * (temp25);: 0
50  PRM alfa1_25 = alfa1_0 + coef_ang_alfalaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_alfalaa_0 * (temp25)^2 + coef_ang_alfa1_0 * (temp25);: 0
51  PRM beta1_25 = beta1_0 + coef_ang_betalaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_betala_0 * (temp25)^2 + coef_ang_beta1_0 * (temp25);: 0
52  PRM gama1_25 = gama1_0 + coef_ang_gamalaaa_0 * (temp25)^3 + coef_ang_gamala_0 * (temp25)^2 + coef_ang_gama1_0 * (temp25);: 0
53
54  PRM a1_30 = a1_0 + coef_ang_a1aaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_a1aa_0 * (temp30)^2 + coef_ang_a1_0 * (temp30);: 0
55  PRM b1_30 = b1_0 + coef_ang_b1aaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_b1aa_0 * (temp30)^2 + coef_ang_b1_0 * (temp30);: 0
56  PRM c1_30 = c1_0 + coef_ang_c1aaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_c1aa_0 * (temp30)^2 + coef_ang_c1_0 * (temp30);: 0
57  PRM alfa1_30 = alfa1_0 + coef_ang_alfalaaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_alfalaa_0 * (temp30)^2 + coef_ang_alfa1_0 * (temp30);: 0
58  PRM beta1_30 = beta1_0 + coef_ang_betalaaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_betala_0 * (temp30)^2 + coef_ang_beta1_0 * (temp30);: 0
59  PRM gama1_30 = gama1_0 + coef_ang_gamalaaa_0 * (temp30)^3 + coef_ang_gamala_0 * (temp30)^2 + coef_ang_gama1_0 * (temp30);: 0
60
61  PRM a1_35 = a1_0 + coef_ang_a1aaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_a1aa_0 * (temp35)^2 + coef_ang_a1_0 * (temp35);: 0
62  PRM b1_35 = b1_0 + coef_ang_b1aaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_b1aa_0 * (temp35)^2 + coef_ang_b1_0 * (temp35);: 0
63  PRM c1_35 = c1_0 + coef_ang_c1aaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_c1aa_0 * (temp35)^2 + coef_ang_c1_0 * (temp35);: 0
64  PRM alfa1_35 = alfa1_0 + coef_ang_alfalaaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_alfalaa_0 * (temp35)^2 + coef_ang_alfa1_0 * (temp35);: 0
65  PRM beta1_35 = beta1_0 + coef_ang_betalaaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_betala_0 * (temp35)^2 + coef_ang_beta1_0 * (temp35);: 0
66  PRM gama1_35 = gama1_0 + coef_ang_gamalaaa_0 * (temp35)^3 + coef_ang_gamala_0 * (temp35)^2 + coef_ang_gama1_0 * (temp35);: 0
67  #endif
68  '}}}'

```

Fonte: TITA, D. L.

B - TUTORIAL DE USO DA PLANILHA SP-DLT

Segue abaixo um tutorial da planilha SP-DLT. Com ele é possível começar a entender a filosofia de uso e a programação dos experimentos sequencias e paramétricos, via método de Rietveld, para dados de difração de raios X por pó com variação de temperatura.

Inicialmente, para o RSR o usuário precisa inserir as seguintes informações: nome das fases, temperatura inicial, temperatura final, incremento de temperatura, parâmetros de cela unitária (a , b , c , α , β , γ , grupo espacial e deslocamento atômico geral (que será mantido comum a todos os elementos em todas as temperaturas), posições atômicas e número de termos para o ajuste do background. Para inserir os difratogramas, a planilha reconhece dois tipos de extensão de arquivos: *.raw* (extensão de saída de arquivos binários contendo todas as informações sobre a medida – o Topas aceita apenas o *.raw* da Bruker) e *.xy* (duas colunas: 2θ X intensidade). Para os dados *.raw* é necessário incluir o *range*** que rege aquela medida, já no caso da extensão em *.xy* é necessário incluir o passo (intervalo entre a obtenção dos dados 2θ (°)).

Os campos início (*start_X*) e fim (*finish_X*) 2θ (°), deslocamento da amostra (*Specimen_Displacement*) - geral ou para cada medida, e correção isotrópica ou anisotrópica do alargamento dos picos (*FWHM correction*) são opcionais no preenchimento da planilha. Se esses campos não forem preenchidos, no arquivo extraído da planilha que será lido pelo jEdit, esses comandos ainda estarão presentes, porém comentados (com uma apóstrofe). Assim, no decorrer do refinamento, se julgar necessário incluir algum desses *scripts* é só deletar a apóstrofe que os cálculos serão realizados.

O “*#ifdef ... #endif*” é um comando de condição (se foi definido isso então faça o que vem a seguir até encontrar o fim da condição).

** o “*range*” é o número sequencial do conjunto de dados para aquele arquivo específico. Por exemplo “*medida.raw range 3*” corresponde aos dados da terceira medida realizada e salva nesse arquivo *medida.raw*”.

Organizando os dados

Para fazer o preenchimento dos dados de entrada na planilha SP-DLT sempre use a aba *data*, localizada no canto inferior direito.

A planilha, assim como o jEdit aceitam o ponto (.) como separador de decimal (i.e. sistema americano de apresentação de números), sendo assim, é importante o usuário configurar o Excel para que não corram problemas na entrada de dados e no refinamento, para isso, caso utilize o sistema Office 365, da Microsoft, é só acessar o menu arquivo > opções > avançado > e desmarcar a caixa “*usar separadores de sistema*” e em *separador decimal*; digitar um ponto (.) e em *separador de milhar*, uma vírgula (,), caso o sistema já opere no modo americano esse passo não é necessário.

A planilha aceita duas extensões de entrada de dados (i) *.raw* ou (ii) *.xy*;

.raw: Extensão proveniente dos equipamentos da Bruker cujo conteúdo são todos os difratogramas, salvos em um único arquivo, obtidos para as respectivas temperaturas propostas pelo usuário. Para a distinção de uma medida a outra, o sistema as organiza através de um número que recebe o nome range (i.e. 1, 2, ... e assim por diante, sendo que o range 1, corresponde ao primeiro difratograma obtido para a primeira temperatura, o range 2, ao segundo difratograma para a segunda temperatura, e assim por diante).

.xy: Arquivos de texto que contém duas colunas (intensidade e ângulo). Nesse caso é necessário o usuário organizar os nomes dos arquivos da seguinte forma: nome_*tg*.xy (e.g. para duas temperaturas distintas, 50 e 60 °C de uma amostra de TiO₂ o código ficaria da seguinte forma: TiO₂_t50.xy - TiO₂_t60.xy). Assim, serão sempre descritos inicialmente pelo nome da medida, *underline* (), a letra t, a temperatura corresponde aquela medida (*g*) e, por fim, a extensão *.xy*.

Inserindo os dados da medida na planilha

Em *File data name* entre somente com o nome do arquivo, sem a extensão. (Obs.: no caso de arquivos em *.xy* **não** é necessário inserir o *_tg.xy*, sendo assim, da mesma forma, entre somente com o nome).

É necessário marcar com um x (ou qualquer outra letra ou número) se o arquivo de entrada é *.raw* ou *.xy* (Obs.: no caso de *.xy* entre com o passo (° 2 θ) da medida).

Na Figura 74 segue um exemplo de entrada de dados do tipo *.raw* e *.xy*, respectivamente.

Figura 74. Entrando com os dados experimentais na planilha SP-DLT. Em **a)** o sistema para entrar com os dados utilizando a extensão *.raw* e, em **b)**, os dados em *.xy*, sendo que nesse último é necessário preencher o passo ($^{\circ} 2\theta$), em *step*.

File data name				a)
WO3				
extension (xy or raw/Bruker)				
.raw	x			
.xy			step	
File data name				b)
TiO2				
extension (xy or raw/Bruker)				
.raw				
.xy	x	0.02	step	

Fonte: TITA, D. L.

Inserindo o nome das fases na planilha

É possível trabalhar com até quatro fases cristalinas simultaneamente, sendo assim, o usuário deve entrar com o nome dessas fases em *insert phase name* (max 4). Uma observação é que o sistema não aceita nomes com *espaço*, assim, se necessário utilizar o *underline* (_).

Atenção: da mesma forma que o usuário escrever os nomes das formas em *insert phase name*, em um passo mais adiante, para preencher o *beq*, será necessário reescreve-los, também, da mesma forma (i.e. mesma grafia) respeitando caracteres maiúsculos e minúsculos.

Inserindo o ângulo inicial e final, correção anisotrópica ou isotrópica e o deslocamento da amostra

Para o ângulo inicial e final, *Start / Finish2Theta*, na planilha SP-DLT, o usuário dever entrar somente com números. Uma observação é que nesse comando é possível entrar somente com um valor (start **ou** finish), com os dois (start **e** finish) ou, se o usuário preferir, nenhum. Depois, no decorrer do refinamento, se necessário, o usuário pode facilmente edita-los pois já constam na programação de forma comentada (*'*).

Em relação a correção anisotrópica ou isotrópica, em *FWHM correction*, o é possível selecionar ou uma **ou** outra opção, preenchendo a lacuna em cinza escuro

com um x. Se no momento do preenchimento da planilha nenhuma das opções for selecionada, depois, no decorrer do refinamento, se necessário, o usuário pode facilmente editá-las pois já constam na programação de forma comentada (').

Para o descolamento da amostra, em *Specimen Displacement*(@, 0), é necessário selecionar a opção desejada (ajuste geral, em *same for all histograms*, ou para cada medida, em *individual hist*) com um x. Se nenhuma das opções for selecionada, depois, no decorrer do refinamento, se necessário, o usuário pode facilmente editá-los pois já constam na programação de forma comentada (').

Correção para o background

Selecionar o número de termos de *background*, em *bkg @*, clicando na seta para baixo e selecionando um número apresentado.

Preenchendo os parâmetros de cela unitária

Seguindo a ordem das fases inseridas na planilha (i.e. phase 1, phase 2, phase 3 e phase 4), preencher os parâmetros de cela unitária para cada uma das fases (*a*, *b*, *c*, *alfa*, *beta*, *gama*, *space_group* e *beq*). No caso de alfa, beta e/ou gama apresentarem ângulos de 90° ou 120°, marque-os com um x para a fixação (*Fix*).

Para facilitar esse passo é necessário **preencher uma fase por vez**, com isso, abra o CIF da fase a ser preenchida, via jEdit, seguindo os comandos apresentados a seguir: TOPAS_Vx_Menu (*x* pois existem várias versões do Topas) > Phase level – Structure > Insert CIFs in INP format. Nesse caso o acesso aos parâmetros torna-se mais fácil.

Na Figura 75 observa-se, para esse passo, um exemplo de como o preencher a planilha SP-DLT.

Figura 75. Preenchendo os parâmetros de cela unitária na planilha SP-DLT. Lembre-se de entrar com uma fase de cada vez, de marcar os ângulos que forem de 90 ° ou 120 °, com o x, e de deixar o CIF aberto no jEdit, pois isso facilitará o próximo passo.

	Fix	Unit Cell PHASE 1	Fix	Unit Cell PHASE 2	Fix	Unit Cell PHASE 3	Fix	Unit Cell PHASE 4
a		4.6043						
b		4.6043						
c		2.9677						
alfa	x	90						
beta	x	90						
gama	x	90						
space_group		P42/mnm						
beq		0.5						

Fonte: TITA, D.L.

Após o preenchimento, ainda com o CIF aberto no jEdit, siga para o próximo passo.

Inserindo as posições atômicas

As posições atômicas devem ser adicionadas em uma única linha, para isso, usando o jEdit, apague o cabeçalho do CIF deixando somente as posições atômicas.

Após a última coluna do CIF será necessário incluir uma nova coluna contendo informações de *beq*, sendo assim, pressione Ctrl, clique logo após a última coluna, na primeira linha do CIF, e arraste até a última linha. Depois digite *beq=nome_das_fases;* (Obs.: não se esqueça do **espaço** entre o *beq* o =, do nome da fase assim como foi descrito no passo anterior “preenchendo os parâmetros de cela unitária” e do **ponto e vírgula** no final da expressão). A Figura 76 ilustra esse passo.

Figura 76. Ajustando as posições atômicas e incluindo o beq, via jEdit. Primeiramente apague o cabeçalho e, depois disso, após a última coluna, complete-a com o beq respeitando o formato: `beq =nome_da_fase;`

```

str
phase_name "Rutile"
a 4.6043
b 4.6043
c 2.9677
al 90.
be 90.
ga 90.
volume 62.91
space_group "P42/mnm"
site Ti1 x 0 y 0 z 0 occ Ti+4 1.
site O1 x 0.3052 y 0.3052 z 0 occ O-2 1.

```

Preencher após a última coluna com `beq =nome_da_fase;`

OBS.: respeitar o nome da fase empregada em "preenchendo os parâmetros de cela unitária."

Fonte: TITA, D. L.

Selecione todas as colunas e as linhas e pressione **Alt + Del** (em alguns casos é necessário utilizar um comando secundário: **Ctrl + j**), para que os dados sejam plotados na forma de linha, e **Ctrl + c**, para copiá-los. Na Figura 77 esse passo é ilustrado.

Figura 77. Selecionando todas as colunas e as linhas referentes às posições atômicas e com o emprego do atalho **Alt+Del**, transforme-as em uma única linha.

```

site Ti1 x 0 y 0 z 0 occ Ti+4 1. beq =TiO2;
site O1 x 0.3052 y 0.3052 z 0 occ O-2 1. beq =TiO2;

```

Selecione o texto inicial por completo e pressionando **Alt + Del**, transforme-o em uma única linha.

```

site Ti1 x 0 y 0 z 0 occ Ti+4 1. beq =TiO2; site O1 x 0.3052 y 0.3052 z 0 occ O-2 1.

```

Fonte: TITA, D. L.

Na planilha, selecione a célula de entrada das posições atômicas (PHASE X + beq), no canto inferior esquerdo, respeitando a ordem das fases, e **na barra de fórmulas**, selecionando a caixa para entrada de funções nessa célula. Depois pressione **Ctrl + v**.

A colagem dos dados diretamente na célula causa problemas, sendo assim, sempre é necessário colar esses dados na entrada de funções na barra de fórmulas.

Figura 78. Entrado com os dados dos sites atômicos na planilha SP-DLT. Primeiro selecione a célula da phase 1 (i), em verde claro, e, depois, clique na entrada de funções (ii) e pressione Crtl+v para colar os dados copiados anteriormente.

The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following data:

	Unit Cell PHASE 1	Unit Cell PHASE 2	Unit Cell PHASE 3	Unit Cell PHASE 4
Fix	Fix	Fix	Fix	Fix
a	4.6043			
b	4.6043			
c	2.9677			
alfa	x 90			
beta	x 90			
gama	x 90			
space_group	P42/mnm			
beq	0.5			

Below the table, there are summary rows:

PHASE 1 + beq				
PHASE 2 + beq				
PHASE 3 + beq				

Annotations in the image:

- (i) Points to the cell containing '4.6043' in the PHASE 1 column.
- (ii) Points to the function input field in the Excel ribbon.

Fonte: TITA, D.L.

Depois desse processo, a primeira fase já está inclusa no refinamento, assim, para incluir mais fases é só voltar ao passo “*Preenchendo os parâmetros de cela unitária*” e ir seguindo o tutorial novamente, até completar todas as fases, lembrando que a planilha opera com um total de até quatro fases.

Preenchendo as temperaturas

A planilha programa experimentos em pacotes de **10 medidas**, por vez, em um total de 100 medidas. Sendo assim, para entrar com o primeiro conjunto de medidas, a partir de dados do tipo *.raw*, entre com o primeiro pacote de medidas em *Temperature range (max 10 XRPD patterns) [initial, final* (respeitando o total de 10 difratogramas), o *delta* de temperatura, e em *Histogram #* o range do primeiro difratograma, em *start*, e o range do décimo difratograma, em *finish*. Para dados do tipo *.xy* só não é necessário incluir o range, sendo assim, deixe-o sem preencher.

Após a entrada do primeiro pacote de medidas, siga as orientações de **apliable hotketys – sequencial**, pressione Crtl + q, para plotar as 10 primeiras medidas. Assim, nesse passo, já temos o experimento programado (para 10 medidas). Para incluir mais um pacote de 10 medias, por exemplo, atualize a entrada das

temperaturas (*initial*, *final*, *delta T* e o *Histogram #*, *start* e *finish*, para medidas *.raw* e *initial*, *final* e *delta T*, somente, para extensão do tipo *.xy*).

Após o acerto para mais 10 temperaturas, pressione Ctrl + w (***apliable hotketys – sequencial***) para programar a adição dessas novas 10 medidas, o que gera nesse momento um experimento com o total de 20 difratogramas já programados para serem trabalhados via RSR.

Para mais 10, totalizando 30 difratogramas no total, atualize as temperaturas e o *Histogram #* novamente e pressione Ctrl + e. (Obs.: para pressionar Ctrl + 'letra' selecione uma célula não preenchida da planilha. Se, por exemplo, tivermos 15 amostras para serem programas, entre com as 10 primeiras, como explicado acima e, depois, atualize as temperaturas respeitando as próximas 5 medidas. Nesse caso serão plotadas 20 medidas, mas as 5 últimas não terão sentido, sendo assim, é só apaga-las no próprio jEdit).

Extraindo a programação para criar o input file (*.inp* – jEdit).

Após todo o processo de entrada das temperaturas, na aba SEQ_UNIT_CELL_RIETVELD, selecione todo o texto gerado. (Obs.: perto da coluna A linha 1, no Excel, encontra-se uma seta que ao clicar sobre ela a seleção completa é feita de forma rápida). Pressione Ctrl + c e, no jEdit, Ctrl + v, para colar o trabalho.


Ajustando a programação no jEdit

Em File > Save As... salve o experimento com o nome desejado com a seguinte extensão: *.inp*.

Pressione Ctrl + e, juntos, e depois a letra c, assim a programação ficará melhor organizada para facilitar o acesso aos tópicos.

Em *choosing the temperature* libera para cálculo a temperatura desejada, apagando a apóstrofe (') e, se existir algum termo zerado é necessário apaga-lo (Figura 79).


Figura 79. Em *choosing the temperature* é necessário apagar os termos zerados. Seguindo a medida proposta pela figura como um exemplo, primeiramente entrou-se com 10 medidas, depois com mais 10, gerando um total de 20 difratogramas. E para incluir os últimos 5, gerando no total 25 medidas, foi necessário incluir o último pacote de 10 medidas e excluir os 5 últimos termos.

<pre>'{{{ choosing the temperature ' #define temp31 ' #define temp34 ' #define temp37 ' #define temp40 ' #define temp43 ' #define temp46 ' #define temp49 ' #define temp52 ' #define temp55 ' #define temp58 ' #define temp61 ' #define temp64 ' #define temp67 ' #define temp70 ' #define temp73 ' #define temp76 ' #define temp79 ' #define temp82 ' #define temp85 ' #define temp88 ' #define temp91 ' #define temp94 ' #define temp97 ' #define temp100 ' #define temp103 ' #define temp0 ' #define temp0 ' #define temp0 ' #define temp0 ' }}}}</pre>	 <p>Apagar termos zerados</p>	<pre>'{{{ choosing the temperature ' #define temp31 ' #define temp34 ' #define temp37 ' #define temp40 ' #define temp43 ' #define temp46 ' #define temp49 ' #define temp52 ' #define temp55 ' #define temp58 ' #define temp61 ' #define temp64 ' #define temp67 ' #define temp70 ' #define temp73 ' #define temp76 ' #define temp79 ' #define temp82 ' #define temp85 ' #define temp88 ' #define temp91 ' #define temp94 ' #define temp97 ' #define temp100 ' #define temp103 ' }}}}</pre>
--	---	--

Fonte: TITA, D. L.

Em PRM *temperature*, se existir algum termo zerado em *prm !temp0 0*, apague-o.

Figura 80. Em PRM *temperature* é necessário apagar os termos zerados. Selecione os termos zerados (*prm !temp0 0*) e apague para o correto funcionamento da planilha.

<pre>'{{{ PRM temperature prm !temp31 31 prm !temp34 34 prm !temp37 37 prm !temp40 40 prm !temp43 43 prm !temp46 46 prm !temp49 49 prm !temp52 52 prm !temp55 55 prm !temp58 58 prm !temp61 61 prm !temp64 64 prm !temp67 67 prm !temp70 70 prm !temp73 73 prm !temp76 76 prm !temp79 79 prm !temp82 82 prm !temp85 85 prm !temp88 88 prm !temp91 91 prm !temp94 94 prm !temp97 97 prm !temp100 100 prm !temp103 103 prm !temp0 0 prm !temp0 0 prm !temp0 0 prm !temp0 0 prm !temp0 0 ' }}}}</pre>	 <p>Apagar termos zerados</p>
<pre>'{{{ PRM temperature prm !temp31 31 prm !temp34 34 prm !temp37 37 prm !temp40 40 prm !temp43 43 prm !temp46 46 prm !temp49 49 prm !temp52 52 prm !temp55 55 prm !temp58 58 prm !temp61 61 prm !temp64 64 prm !temp67 67 prm !temp70 70 prm !temp73 73 prm !temp76 76 prm !temp79 79 prm !temp82 82 prm !temp85 85 prm !temp88 88 prm !temp91 91 prm !temp94 94 prm !temp97 97 prm !temp100 100 prm !temp103 103 ' }}}}</pre>	

Fonte: TITA, D. L.

Em *defining PRM PHASE_X nome_da_fase* a cada 10 conjuntos dos parâmetros de cela unitária que foram inclusos no refinamento é necessário editar manualmente as suas conexões respeitando as relações de temperatura. Para realizar esse passo é só entender e seguir a lógica que opera essas funções (Obs.: esse passo é necessário realizar **sempre** na próxima medida depois de um conjunto de 10 difratogramas que foi incluso, sendo assim, é necessário para a 11ª medida, 21º medida, e assim por diante, para todas as fases presentes).

Figura 81. Ajustando as conexões do *defining PRM PHASE*. A cada pacote de 10 medidas inclusas no RSR, a 11ª medidas dever ajustada, manualmente, assim como o exemplo baixo para o correto funcionamento da planilha.

prm	dela58_1	0	prm	al_58	=	al_55+dela58_1::	0
prm	delb58_1	0	prm	bl_58	=	bl_55+delb58_1::	0
prm	delc58_1	0	prm	cl_58	=	cl_55+delc58_1::	0
prm	!delal58_1	0	prm	alfal_58	=	alfal_55+!delal58_1::	0
prm	!delbe58_1	0	prm	betal_58	=	betal_55+!delbe58_1::	0
prm	!delga58_1	0	prm	gamal_58	=	gamal_55+!delga58_1::	0
prm	dela61_1	0	prm	al_61	=	al_0+dela61_1::	0
prm	delb61_1	0	prm	bl_61	=	bl_0+delb61_1::	0
prm	delc61_1	0	prm	cl_61	=	cl_0+delc61_1::	0
prm	!delal61_1	0	prm	alfal_61	=	alfal_0+!delal61_1::	0
prm	!delbe61_1	0	prm	betal_61	=	betal_0+!delbe61_1::	0
prm	!delga61_1	0	prm	gamal_61	=	gamal_0+!delga61_1::	0
prm	dela64_1	0	prm	al_64	=	al_61+dela64_1::	0
prm	delb64_1	0	prm	bl_64	=	bl_61+delb64_1::	0
prm	delc64_1	0	prm	cl_64	=	cl_61+delc64_1::	0
prm	!delal64_1	0	prm	alfal_64	=	alfal_61+!delal64_1::	0
prm	!delbe64_1	0	prm	betal_64	=	betal_61+!delbe64_1::	0
prm	!delga64_1	0	prm	gamal_64	=	gamal_61+!delga64_1::	0

É necessário adequar as conexões, manualmente

Depois da correção

prm	dela58_1	0	prm	al_58	=	al_55+dela58_1::	0
prm	delb58_1	0	prm	bl_58	=	bl_55+delb58_1::	0
prm	delc58_1	0	prm	cl_58	=	cl_55+delc58_1::	0
prm	!delal58_1	0	prm	alfal_58	=	alfal_55+!delal58_1::	0
prm	!delbe58_1	0	prm	betal_58	=	betal_55+!delbe58_1::	0
prm	!delga58_1	0	prm	gamal_58	=	gamal_55+!delga58_1::	0
prm	dela61_1	0	prm	al_61	=	al_58+dela61_1::	0
prm	delb61_1	0	prm	bl_61	=	bl_58+delb61_1::	0
prm	delc61_1	0	prm	cl_61	=	cl_58+delc61_1::	0
prm	!delal61_1	0	prm	alfal_61	=	alfal_58+!delal61_1::	0
prm	!delbe61_1	0	prm	betal_61	=	betal_58+!delbe61_1::	0
prm	!delga61_1	0	prm	gamal_61	=	gamal_58+!delga61_1::	0
prm	dela64_1	0	prm	al_64	=	al_61+dela64_1::	0
prm	delb64_1	0	prm	bl_64	=	bl_61+delb64_1::	0
prm	delc64_1	0	prm	cl_64	=	cl_61+delc64_1::	0
prm	!delal64_1	0	prm	alfal_64	=	alfal_61+!delal64_1::	0
prm	!delbe64_1	0	prm	betal_64	=	betal_61+!delbe64_1::	0
prm	!delga64_1	0	prm	gamal_64	=	gamal_61+!delga64_1::	0

Conexões corrigidas

Fonte: TITA, D. L.

Ainda no tópic *PRM PHASE_X nome_da_fase* quando se inclui, por exemplo 15 medidas, é necessário apagar os 5 últimos conjuntos que contém as conexões dos parâmetros de cela unitária, para todas as fases presentes. Um exemplo desse caso pode ser observado na Figura 82.

Figura 82. Apagando os termos zerados em *defining PRM PHASE*. Os termos que aparecem zerados, para todas as fases que foram inclusas no refinamento devem ser apagadas para o correto funcionamento da planilha.

prn	delal03_l	0	prn	al_103 =	al_100+delal03_l:: 0	} Última medida inclusa no RSR
prn	delb103_l	0	prn	bl_103 =	bl_100+delb103_l:: 0	
prn	delc103_l	0	prn	cl_103 =	cl_100+delc103_l:: 0	
prn	!delal103_l	0	prn	alfal_103 =	alfal_100+!delal103_l:: 0	
prn	!delbe103_l	0	prn	betal_103 =	betal_100+!delbe103_l:: 0	
prn	!delga103_l	0	prn	gamal_103 =	gamal_100+!delga103_l:: 0	
prn	delal0_l	0	prn	al_0 =	al_103+delal0_l:: 0	} É preciso, manualmente, deletar as medidas com os termos zerados
prn	delb0_l	0	prn	bl_0 =	bl_103+delb0_l:: 0	
prn	delc0_l	0	prn	cl_0 =	cl_103+delc0_l:: 0	
prn	!delal0_l	0	prn	alfal_0 =	alfal_103+!delal0_l:: 0	
prn	!delbe0_l	0	prn	betal_0 =	betal_103+!delbe0_l:: 0	
prn	!delga0_l	0	prn	gamal_0 =	gamal_103+!delga0_l:: 0	
prn	delal0_l	0	prn	al_0 =	al_0+delal0_l:: 0	} É preciso, manualmente, deletar as medidas com os termos zerados
prn	delb0_l	0	prn	bl_0 =	bl_0+delb0_l:: 0	
prn	delc0_l	0	prn	cl_0 =	cl_0+delc0_l:: 0	
prn	!delal0_l	0	prn	alfal_0 =	alfal_0+!delal0_l:: 0	
prn	!delbe0_l	0	prn	betal_0 =	betal_0+!delbe0_l:: 0	
prn	!delga0_l	0	prn	gamal_0 =	gamal_0+!delga0_l:: 0	
prn	delal0_l	0	prn	al_0 =	al_0+delal0_l:: 0	} É preciso, manualmente, deletar as medidas com os termos zerados
prn	delb0_l	0	prn	bl_0 =	bl_0+delb0_l:: 0	
prn	delc0_l	0	prn	cl_0 =	cl_0+delc0_l:: 0	
prn	!delal0_l	0	prn	alfal_0 =	alfal_0+!delal0_l:: 0	
prn	!delbe0_l	0	prn	betal_0 =	betal_0+!delbe0_l:: 0	
prn	!delga0_l	0	prn	gamal_0 =	gamal_0+!delga0_l:: 0	

Fonte: TITA, D. L.

Abra a primeira temperatura (*Temperature tempX*) e o *PHASE1 nome_da_fase*, em *out"nome_da_fase.txt"* apague a palavra *append*. (Obs.: repita esse procedimento para todas as fases **somente** na primeira temperatura que a fase apareça).

Enfim, o usuário já terá todo o experimento plotado no jEdit, sendo assim, é só o refinar.

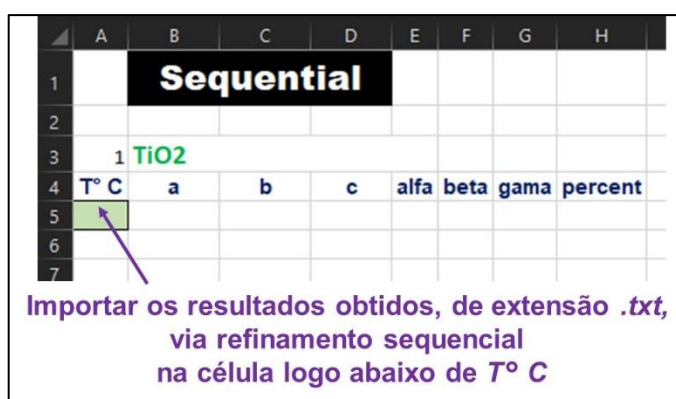
Interpretando os dados do RSR

Após o refinamento, dentro da pasta aonde o arquivo *.inp* foi salvo, é gerado um arquivo para cada fase estuda com o valor, seguindo a *coluna*, apresentando os valores obtidos de a, b, c, alfa, beta, gama e da análise quantitativa de fases, e para cada *linha*, a temperatura em que o difratograma foi coletado. Com esse arquivo é possível construir os gráficos e extrair a função que rege a dilatação ou contração dos parâmetros de cela unitária em programas que trabalham com planilha e gráficos.

Se o usuário preferir, na própria planilha SP-DLT, na aba *Sequential_Results*, é possível entrar com esses resultados que apresentam extensão do tipo *.txt*.

Nos pacotes Office antigos a função de entrada de arquivos, diretamente no Excel, de extensão *.txt* aparece da seguinte forma: Dados > de Texto. Ao abrir a caixa de diálogo é só o usuário importar os dados que foram extraídos automaticamente dos refinamentos, para a célula logo abaixo de $T^{\circ}C$, respeitando sempre a sequência das fases. Esse passo pode ser observado na Figura 83.

Figura 83. Importando os dados obtidos via RSR, de extensão *.txt*, diretamente na planilha SP-DLT.



Fonte: TITA, D. L.

Para usuários que assinam o Office 365, para habilitar a função de importação de texto, entre em Arquivo > Opções > Dados > e em “Mostrar os assistentes de importação de dados herdados”, marque a caixa *Do Texto (Herdado)*. Depois disso, para importar os dados de texto, no menu *Dados > Obter Dados > Assistentes Herdados > Do Texto (Herdado)*. Abra o arquivo desejado e importe na célula correspondente à fase, assim como apresentado na Figura 83.

Depois de inserir os dados, logo no canto direito, todo o tratamento estatístico para a avaliação dos *outliers* é apresentado de forma automática, sendo assim, caso o usuário queira excluir algum ponto, com base na análise matemática é possível apagar o valor de entrada.

Na próxima aba, “*Seq_Plot*” todos os gráficos já estarão plotados de forma automática, sendo que o usuário só precisará ajustar as escalas.

Para adicionar as linhas de tendência e extrair as equações das retas, o usuário deverá clicar com o botão direito sobre o gráfico e em Adicionar Linha de Tendência. Com isso, será possível escolher as opções de linhas de tendência, que

poderão ser: linear, polinomial de segunda ordem ou polinomial de terceira ordem, sendo que nesses três casos a planilha opera de forma automática. Para exibir a equação escolhida é só marcar as caixas: *exibir equação no gráfico* e, para avaliar o resultado da aproximação da reta escolhida com os pontos experimentais, *exibir valor de R-quadrado no gráfico*.

Refinamento paramétrico: função linear, polinomial de segunda ordem ou polinomial de terceira ordem

Com a planilha é possível programar o experimento paramétrico de Rietveld que modela os parâmetros de cela unitária, de forma automática, para o seguinte tipo de equação; $y = mT^3 + nT^2 + oT + c$. A equação de terceiro grau foi escolhida pela sua versatilidade, haja vista zerando o termo ao cubo ela torna-se uma equação de segundo grau e zerando o termo ao quadrado, uma de primeiro grau. Sendo assim, na aba *data*, em *Parametric*, insira os coeficientes angulares encontrados, sempre respeitando as fases. Atualize as temperaturas, assim como já explorado anteriormente e, utilize a sequência de comandos Crtl + “letra” agora para o *aplicable hotkeys – parametric*, para gerar a programação, sempre seguindo a lógica apresentada anteriormente.

Depois disso, na aba *PARAMETRIC_LINEAR_RIETVELD*, copie o texto e cole no jEdit.

No jEdit, em *choosing the temperature*, libere para cálculo a temperatura desejada, apagando a apóstrofe ('). Em *PRM temperature*, se existir algum termo zerado (i.e. *prm !temp0 0*), apague-o.

No tópico *PRM PHASE_X nome_da_fase* quando se inclui, por exemplo, um conjunto de 15 medidas, é necessário apagar as 5 últimas, para todas as fases presentes no refinamento.

Abra a primeira temperatura (*Temperature tempX*) e o *PHASE1 nome_da_fase*, em *out"nome_da_fase.txt"* apague a palavra *append*. (Obs.: repita esse procedimento para todas as fases **somente** da primeira temperatura).

Finalmente, refine os dados.

Interpretando os dados do RRP

Assim como ocorreu no RSR, após o RRP, na pasta em que o arquivo *.inp* está sendo salvo, são gerados arquivos do tipo *.txt* com os resultados obtidos para os PCU, assim, da mesma forma, mas agora na aba "*Parametric Results*" o usuário pode plotar esses valores e interpretar.

Consideração final

Nunca se esqueça que a planilha simplesmente é um sistema para facilitar na programação dos experimentos de RSR e RRP, sendo assim, depois de programado no jEdit, fique à vontade para refinar os materiais da forma que achar melhor. Sinta-se livre.

C - TUTORIAL DE USO DO IMAGEJ PARA A CONTAGEM DE PARTÍCULA VIA DADOS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA

A contagem do tamanho de partícula, na área de materiais, sempre teve uma significativa importância, pois na grande maioria dos casos o tamanho de um material pode ter consequências diretas em suas propriedades físicas e química (e.g. um material nanoparticulado pode apresentar propriedades distintas em comparação ao mesmo material não nanoparticulado).

Pensando na área farmacêutica conhecer o tamanho dos materiais que são empregados para a confecção de medicamentos é um dos princípios para se garantir o controle de qualidade, pois uma vez determinado o tamanho médio de um componente, se algum tipo de variação ocorrer, que pode ser, por exemplo, devida a compra em um fornecedor diferente, cujo tamanho das partículas se distinguem daquelas já utilizada previamente na linha de produção, além de possibilitar o surgimento de problemas como, por exemplo, o entupimento de uma máquina, pode ser que o medicamento gerado não apresente mais as características farmacêuticas que eram esperadas.

Existem algumas formas de se medir o tamanho médio de uma partícula (e.g. *DLS*). Para essa tese foram utilizados dados de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG) e o software livre ImageJ, que é distribuído pelo site <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>. Assim, segue abaixo um tutorial que apresenta uma forma simples de contar o diâmetro médio das partículas de material qualquer.

Só para constar, existem métodos mais elaborados de contagem para nanopartículas como, por exemplo, de ouro, que ficam bem distribuídas na superfície de um substrato de silício e que apresentam uma grande diferença de contraste entre a superfície do substrato e a própria partícula. Assim, nesse caso, utilizando o próprio software livre, mas com o emprego de máscaras/filtros que conseguem destacar a partícula do substrato, é possível obter, de forma automática, a área dessas partículas esféricas e da área, o diâmetro (tamanho).

Preparo de amostras

O preparo de amostra é de grande importância para a obtenção de bons dados em microscopia eletrônica de varredura, sendo assim, dependendo do material pode ser que ele fique melhor preparado em suspensão com solventes (e.g. água, isopropanol, acetona, dentre outros, que obrigatoriamente não reajam com o material a ser estudado), depositados (i.e. aproximadamente 10 μ L) sobre substrato de silício e deixados até a sua completa secagem. Ou, quando não for possível realizar a suspensão, colocar um pouco do pó sobre uma fita dupla face de carbono e retirar o excesso.

Tanto no caso da suspensão, quanto no preparo com o pó direto no porta amostras, caso seja necessário (i.e. amostras isolantes ou semicondutoras) é importante a realização do recobrimento com material condutor (e.g. ouro, cobre, carbono, dentre outros).

Outro ponto importante de se lembrar é que não importa a forma de preparo (i.e. suspensão ou pó direto) as amostras deve estar bem fixas ao porta amostra, para evitar o seu desprendimento e queda quando estiver dentro do equipamento, e completamente secas.

Basicamente, para se obter um bom preparo de amostra é necessário que as partículas tenham uma boa dispersão, evitando a aglomeração.

Captura das imagens

Não existe segredo na obtenção de imagens por microscopia eletrônica de varredura, o importante é o equipamento estar bem alinhado (i.e. basicamente com lentes e feixe bem ajustados para se obter o melhor foco, com estruturas de bordas bem resolvidas e finas). Vale lembrar que as vezes o problema não é do técnico e nem do equipamento, em alguns casos o usuário da técnica não dispensa a devida atenção no preparo das amostras, que na minha opinião é o principal alicerce para se obter uma boa análise, sendo assim, nunca coloque a mão na amostra ou nos materiais que entram no equipamento de microscopia (e.g. porta amostras e substratos), lembre-se, sempre utilize luvas isentas de pó (i.e. talco), não assope com a boca nada e deixe as amostras secas e, se possível, acomodadas dentro de dessecador sob vácuo e com agente secante (i.e. sílica).

As imagens devem ser obtidas de partículas não aglomeradas, sendo que o ideal é que elas, para serem contadas, estejam espaçadas de pelo menos 1 diâmetro médio, uma das outras (i.e. para se contar uma partícula ela deve estar espaçada das suas vizinhas a uma distância maior ou igual ao diâmetro médio encontrado na análise).

A magnificação empregada deve ser escolhida para que em uma foto possa-se contar o maior número de partículas não aglomeradas, sendo que tenham contornos bem definidos, assim, amostras de baixa magnificação é provável que o erro em decorrência de não se distinguir ao certo o final da borda e do substrato seja maior, o contrário também não é interessante, pois uma partícula por foto, por exemplo, é interessante pois esse problema de borda é resolvido, mas para se obter uma boa estatística é necessário por volta de 300 partículas, sendo assim, a análise é praticamente inviável devido ao grande tempo que será gasto para realizá-la.

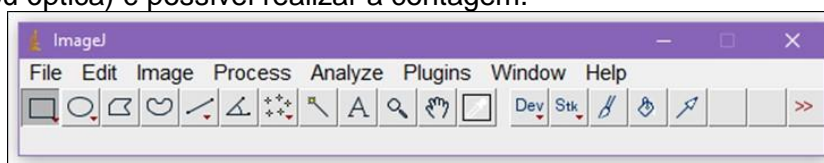
Assim, uma dica importante é, tenha sempre bom senso.

Não existe uma regra em se manter a mesma magnificação para a captura de todas as fotos, mas, é interessante manter sempre um padrão, assim, tente variar as magnificações o mínimo possível e, em relação ao equipamento, sempre mantenha as mesmas condições de operação quando se é necessário comparar amostras ou até mesmo para observar a mesma amostra mas em áreas diferentes, assim, sempre mantenha a distância de trabalho (WD), energia e corrente do feixe, iguais.

Calibrando a escala via software

O software é uma simples caixa, assim como apresentado na Figura 84, com algumas ferramentas que podem ser empregadas para o tratamento de imagens e contagem de partículas.

Figura 84. Visão do software ImageJ utilizado para contagem de partículas. Praticamente, qualquer foto que se tenha escala (i.e. dados microscopia eletrônica de varredura, transmissão ou óptica) é possível realizar a contagem.



Fonte: TITA, D. L.

Primeiramente, para abrir a imagem que contém as partículas de interesse arraste a foto para dentro do programa ou utilize o *File > Open*. Uma nova caixa de diálogo é aberta já com a imagem.

Selecione a ferramenta *magnifying glass* (i.e. lupa) e clique sobre a barra de escala. Ao clicar, essa região é direcionada para o centro da caixa de diálogo com um aumento do zoom digital, assim, quanto maior o usuário deixar a barra de escala, que dê para ter uma boa definição das suas bordas, é melhor. Ao segurar o *Ctrl* e girar o *scroll* do *mouse* é possível, também, aumentar o zoom digital e direcionar uma região de interesse para o centro da tela.

Depois disso, selecione a ferramenta *straight* (i.e. linha reta) e trace um reta do início da barra até o final, assim como apresentada na figura abaixo, pela linha amarela. Nesse passo o cursor se transforma em uma cruz, assim, é interessante ao traçar essa linha colocar bem na borda inicial da barra de escala, com isso, para acertar exatamente essa região o cursor fica metade na cor preta e metade na cor branca, depois disso, fazer o mesmo processo para a outra borda.

Figura 85. Trace a linha para a calibração sobre a barra de escala. Certifique-se que a seleção foi realizada do início até o final exato da barra de escala. Nesse passo, o software calcula quantos pixels tem nessa linha amarela, para mais adiante, na Figura 86, ele já preencher de forma automática a *Distance in pixels* da caixa de diálogo *Set scale*.



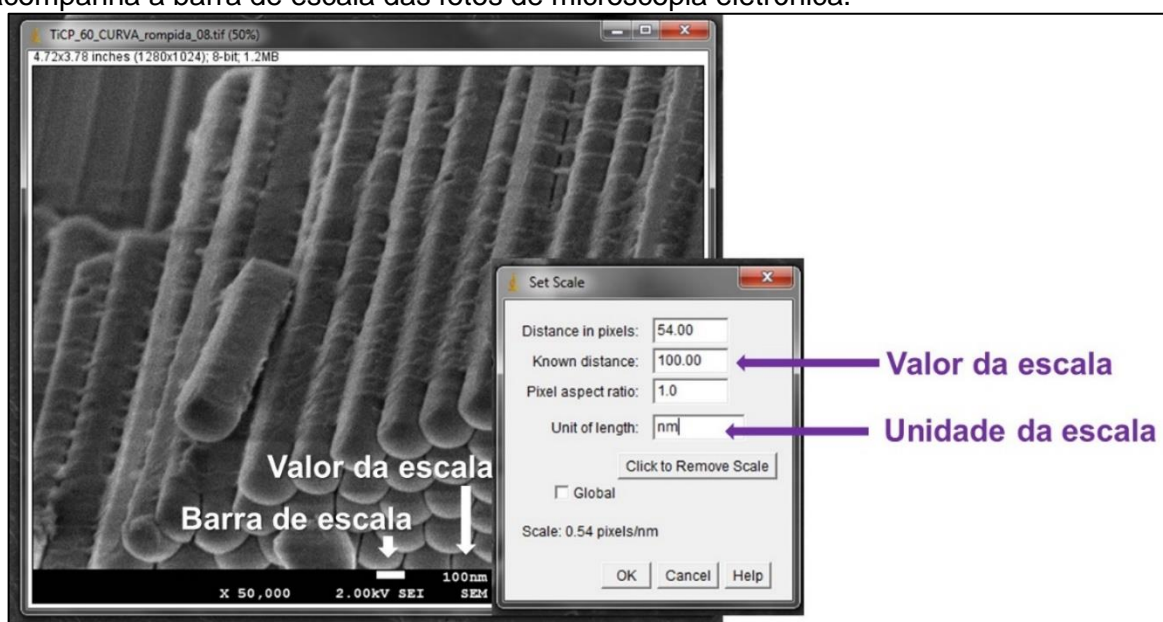
Fonte: TITA, D. L.

Depois disso, entre no menu superior em *Analyze > Set Scale* e, na caixa de diálogo clique em *Click to Remove Scale*, para apagar da memória do software qualquer dado que tenha sido utilizado anteriormente. Ainda na mesma caixa, em

Known distance, coloque o valor correspondente da barra medida anteriormente (i.e. esse valor acompanha a barra de escala e, assim, vem junto com a foto obtida). Para finalizar a calibração da escala, em *unit of length* digite a unidade utilizada na escala (OBS.: se for em μm digite um). Depois de preencher clique em ok.

Esse passo deve ser realizado para todas as fotos que forem tratadas no programa. Se o usuário tiver um conjunto de imagens **de mesma magnificação** é possível selecionar a caixa “*Global*”, que a próxima medida esse acerto de escala já estará fixo. Isso facilita a vida do operador, mas, por precaução é bom verificar se tudo está seguindo o esperado, assim, se marcar a opção *Global*, dê uma olhada em *Analyze > Set Scale* se não ocorreu nenhum problema. Para imagens de magnificações diferentes, sempre realize o processo por completo.

Figura 86. Calibrando a escala via software. Nesse passo, basicamente, estamos dizendo para o programa que o traço em amarelo feito anteriormente equivale a um valor real que acompanha a barra de escala das fotos de microscopia eletrônica.



Fonte: TITA, D. L.

Incluindo a barra de escala dentro da foto e cortante a barra de informações

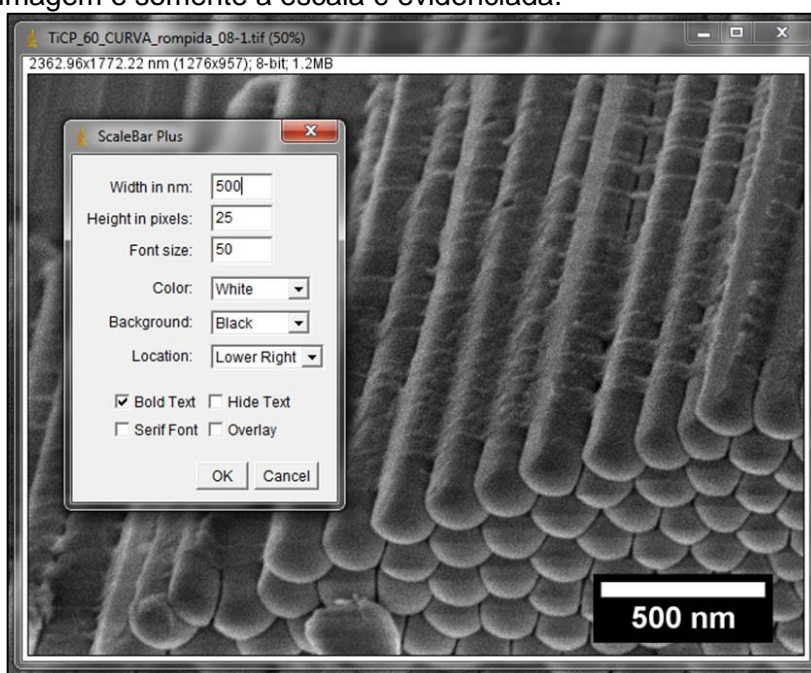
Geralmente, em publicações, teses e dissertações, não é necessário colocar a imagem obtida via microscopia eletrônica com a barra de informações (i.e. barra que contem a magnificação utilizada, aceleração de voltagem, escala, dentre outras informações). Assim, os parâmetros importantes podem ser inclusos na metodologia

e a imagem pode ser exposta somente com a barra de escala e a escala, para isso, segue abaixo um tutorial de como proceder com essa operação via ImageJ.

Depois de calibrar a escala, assim como descrito anteriormente, clique na ferramenta *Rectangular*, selecione a área somente da imagem e deixe para fora da seleção a barra de informações. Pressione Ctrl + Shift + d, para duplicar a área de seleção (i.e. nesse passo a barra de informações já não aparece na nova caixa gerada. De um nome para a duplicação e, depois, pressione Ctrl + s para salvá-la.

No menu superior clique em *Analyze > Tools > Scale Bar*. Na caixa de diálogo *ScaleBar Plus* ajuste os parâmetros da escala como preferir. Segue na Figura 87 um exemplo.

Figura 87. Editando a barra de escala dentro da imagem. Nesse passo a barra de informações é deletada da imagem e somente a escala é evidenciada.



Fonte: TITA, D. L.

Depois disso, pressione Ctrl + Shift + d, para duplicar a imagem, dê um nome e pressione Ctrl + s para salvá-la.

Contagem de partículas

Para a contagem propriamente dita o usuário pode utilizar a foto sem esse passo de cortar a barra de informações, assim, o importante é realizar, simplesmente, a calibração da escala via software. Assim, depois de calibrado, selecione a

ferramenta *Straight* e trace uma linha sobre a primeira partícula a ser contada, se precisar é possível utilizar a lupa para enxergá-la mais de perto. Depois pressione a tecla *m* do teclado, assim, uma nova caixa de diálogo (i.e. *Results*) abrirá com valores referentes a essa primeira medida. Para a segunda medida, trace uma nova linha sobre outra partícula e aperte *m*. Siga esse processo até a análise total das partículas da foto.

No final da contagem é possível salvar o *Results* em *File > Save As* e abri-lo em algum programa de análise de tabelas e gráficos. O termo da planilha que apresenta o tamanho das partículas contadas é o *Lenght*.

Uma dica é que gráficos de barras, elucidando ao leitor do trabalho a distribuição das partículas na amostra, assim como foi utilizado nas discussões desse trabalho, são mais empregados na área de materiais.

D – EMPREGANDO O TUTORIAL DE CONTAGEM DO TAMANHO DE PARTICULAS NA CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA

Com a finalidade de empregar o tutorial discutido anteriormente, segue abaixo um estudo realizado para os materiais de partida (i.e. SPR, LACMH e LACA) que compõem essa tese.

Para a contagem do tamanho médio de partículas foram selecionadas imagens, com as escalas devidamente calibradas via software ImageJ 1.50c ⁸⁵, de domínio público, em diferentes magnificações. O principal critério para a escolha das imagens a serem contadas foi a quantidade de partículas com boa resolução de borda, devidamente espaçadas e que apresentassem uma distribuição de tamanhos que fossem coniventes com o restante das imagens obtidas.

Realizou-se a contagem de forma manual, traçando sobre as partículas uma reta, sempre de forma aleatória, de uma borda até a outra.

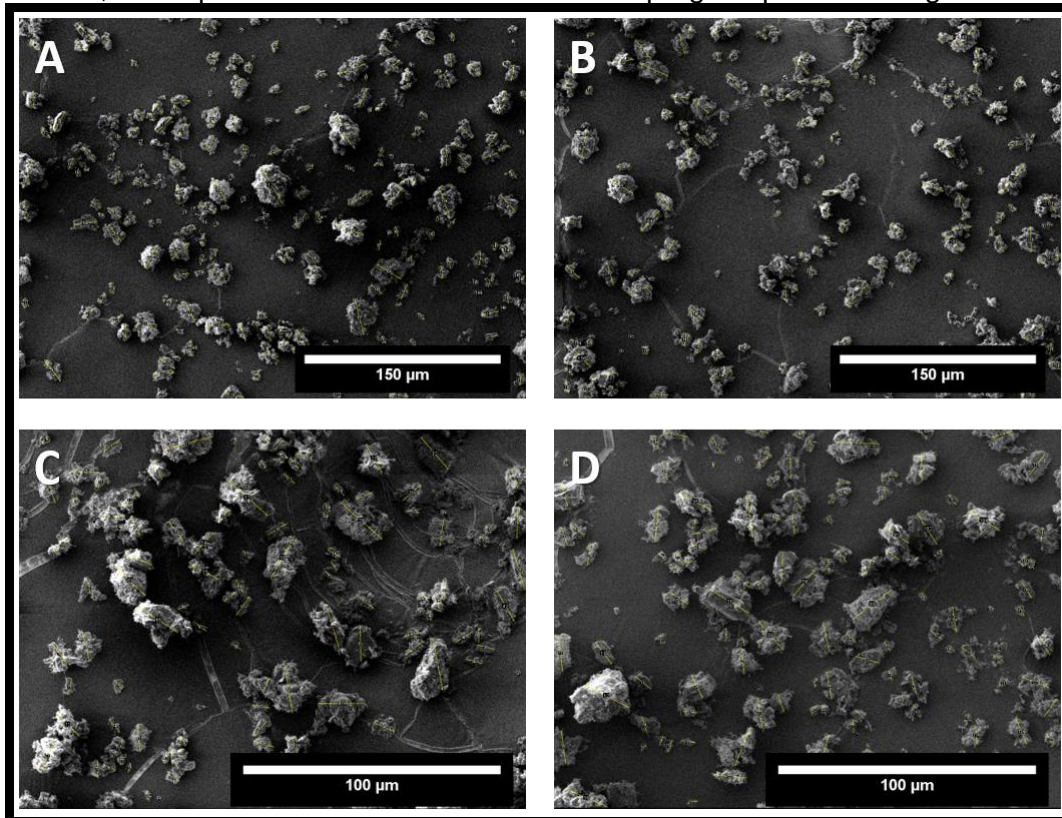
Para a amostra de SPR foram contadas 1063 partículas, para a LACMH 526 e a LACA 512. No tratamento dos dados utilizaram-se programas específicos para obtenção de gráficos, que foram plotados na forma de histograma de barras e em estáticas de destruição d_{10} , d_{50} e d_{90} , sendo que tais valores se referem à média do tamanho das partículas nos intervalos abaixo de 10, 50 e 90 % da curva de distribuição de tamanho.

SPR

Para a contagem do tamanho de partículas foram selecionadas duas imagens de 300 X de magnificação e uma de 600 X, ambas em LM, totalizando 6 imagens. O principal critério para essa seleção foi encontrar imagens que apresentavam uma maior quantidade de partículas com boa resolução de borda e de diferentes tamanhos.

Na Figura 88 são apresentadas 4, das 6 imagens empregadas na contagem, já processadas via ImageJ.

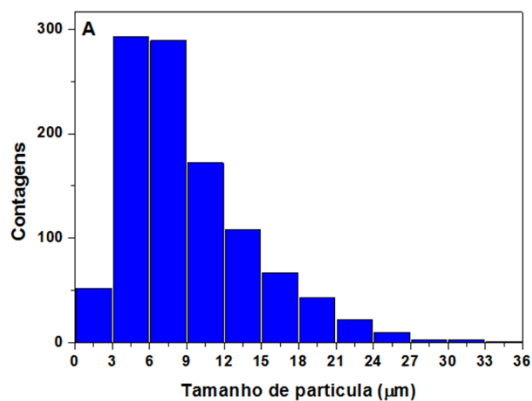
Figura 88. Contagem do tamanho de partícula da amostra SPR. Os traços amarelos, sobre as partículas, correspondem ao tratamento manual empregado para a contagem via ImageJ.



Fonte: TITA, D. L.

Na Figura 89 observa-se o gráfico do número de contagens *vs.* tamanho de partícula (μm), em doze intervalos (bin 12). Com ele é possível entender melhor a distribuição do tamanho médio dessas partículas, sendo que, em observação as duas maiores colunas e estimando os seus valores pelo gráfico, elas representam um pouco menos de 600 partículas, dentre as 1063 do total contabilizadas, tendo em média o tamanho de aproximadamente 6 μm .

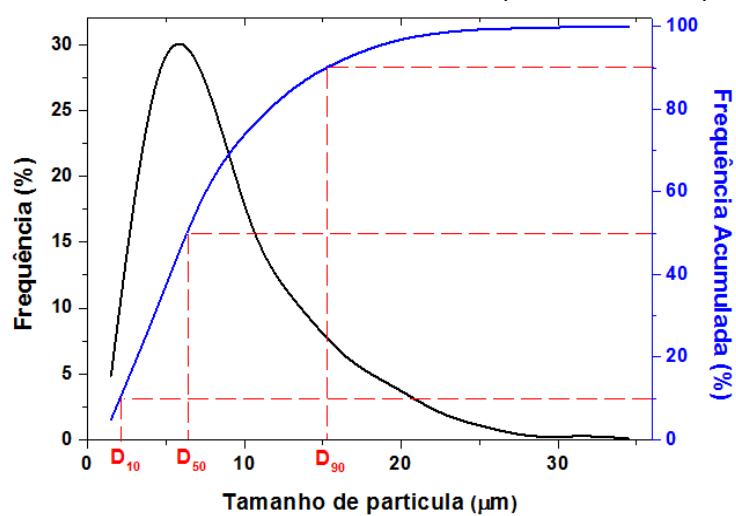
Figura 89. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra SPR. O eixo Y apresenta o número de partículas contadas e o eixo X refere-se ao tamanho das partículas (μm) obtidas via imagens de microscopia eletrônica de varredura. Em observação as duas maiores colunas e estimando os seus valores pelo gráfico, elas representam um pouco menos de 600 partículas, dentre as 1063 do total contabilizadas, tendo em média o tamanho de aproximadamente 6 μm .



Fonte: TITA, D. L.

O gráfico de dispersão de duplo eixo Y, contendo frequência acumulada e frequência relativa, ambos em porcentagem, *vs.* tamanho de partícula (μm) é apresentado na Figura 90. A informação importante extraída dessas curvas são os valores de D_{10} , D_{50} e D_{90} . Nesse caso os valores de D_{10} e D_{90} representam o diâmetro de corte das caudas da curva de frequência acumulada em 10% e 90%, respectivamente. Já D_{50} é o valor da mediana e representa o diâmetro médio das partículas D_m . Sendo assim, para a amostra SPR os valores encontrados foram: $D_{90} = 15,30 \mu\text{m}$, $D_{50} = 6,32 \mu\text{m}$ e o de $D_{10} = 2,11 \mu\text{m}$.

Figura 90. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra de SPR. Eixo Y duplo apresentando frequência (%), na cor preta, e frequência acumulada (%), em azul, e no eixo X o tamanho de partícula (μm). Os valores encontrados são: $D_{90} = 15,30 \mu\text{m}$, $D_{50} = 6,32 \mu\text{m}$ e $D_{10} = 2,11 \mu\text{m}$.

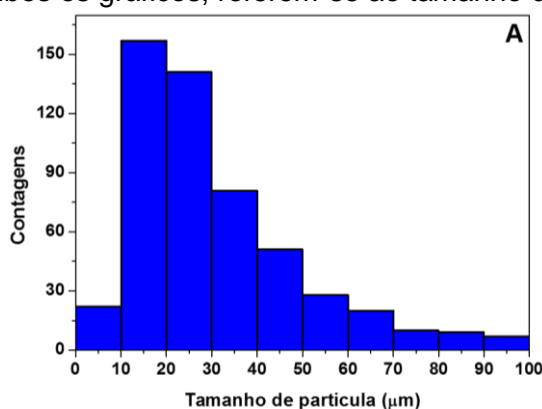


Fonte: TITA, D. L.

LACMH

Na Figura 91 observa-se o gráfico do número de contagens *vs.* tamanho de partícula (μm), em dez intervalos (bin 10). Em observação as duas maiores colunas e estimando os seus valores pelo gráfico, elas representam por volta de 300 partículas, dentre as 526 do total contabilizadas, tendo em média o tamanho aproximado de 20 μm .

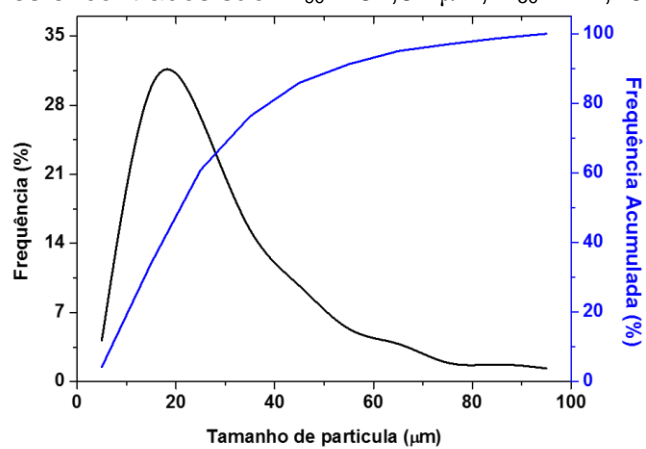
Figura 91. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra LACMH. No gráfico em **A**, o eixo Y apresenta o número de partículas contadas. No **B**, a frequência relativa (%). Já o eixo X, para ambos os gráficos, referem-se ao tamanho de partículas (μm).



Fonte: TITA, D. L.

O gráfico de dispersão de duplo eixo Y, contendo frequência acumulada e frequência relativa, ambos em porcentagem, *vs.* tamanho de partícula (μm) é apresentado na Figura 92. Sendo assim, para a amostra LACMH os valores encontrados foram: $D_{90} = 52,94 \mu\text{m}$, $D_{50} = 21,15 \mu\text{m}$ e o de $D_{10} = 6,94 \mu\text{m}$.

Figura 92. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra LACMH. Eixo Y duplo apresentando frequência (%), na cor preta, e frequência acumulada (%), em azul, e no eixo X o tamanho de partícula (μm). Os valores encontrados são: $D_{90} = 52,94 \mu\text{m}$, $D_{50} = 21,15 \mu\text{m}$ e $D_{10} = 6,94 \mu\text{m}$.

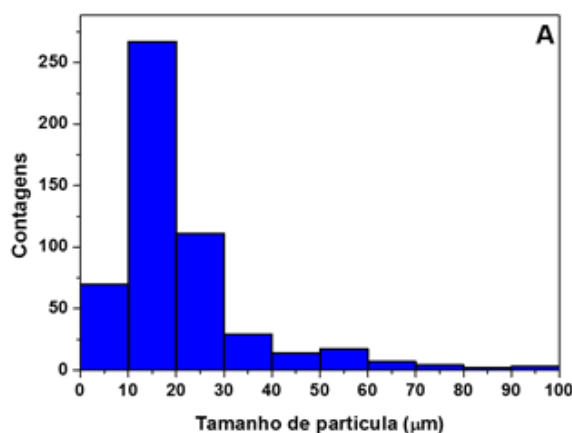


Fonte: TITA, D. L.

LACMH

Na Figura 93 observa-se o número de contagens *vs.* tamanho de partícula (μm), em dez intervalos (bin 10). Em observação a maior coluna e estimando o seu valor pelo gráfico, ela representa por volta de 250 partículas, dentre as 512 do total contabilizadas, tendo em média o tamanho de aproximadamente 15 μm .

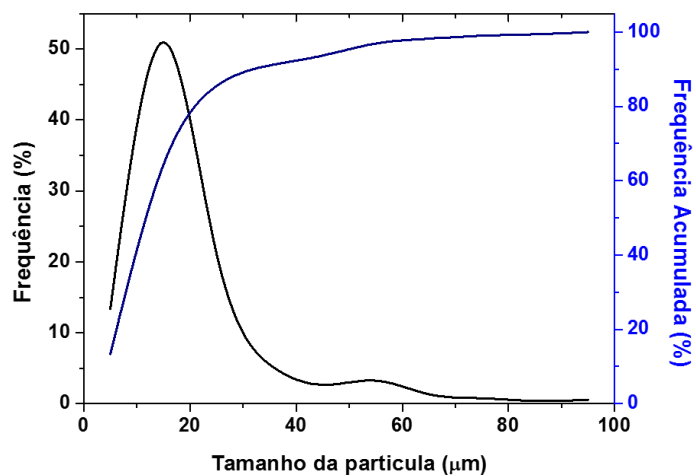
Figura 93. Gráficos da distribuição do tamanho médio das partículas da amostra LACMH. Em observação a maior coluna e estimando o seu valor pelo gráfico, ela representa por volta de 250 partículas, dentre as 512 do total contabilizadas, tendo em média o tamanho de aproximadamente 15 μm .



Fonte: TITA, D. L.

O gráfico de dispersão de duplo eixo Y, contendo frequência acumulada e frequência relativa, ambos em porcentagem, *vs.* tamanho de partícula (μm) é apresentado na Figura 94. Sendo assim, para a amostra LACA os valores encontrados foram: $D_{90} = 31,55 \mu\text{m}$, $D_{50} = 11,64 \mu\text{m}$ e o de $D_{10} = 4,68 \mu\text{m}$.

Figura 94. Gráfico de D_{10} , D_{50} , e D_{90} para a amostra LACA. Eixo Y duplo apresentando frequência (%), na cor preta, e frequência acumulada (%), em azul, e no eixo X o tamanho de partícula (μm). Os valores encontrados são: $D_{90} = 31,55 \mu\text{m}$, $D_{50} = 11,64 \mu\text{m}$ e $D_{10} = 4,68 \mu\text{m}$.



Fonte: TITA, D. L.

E - SIMULAÇÃO DE TAMANHO MÉDIO DE CRISTALITO VIA TOPAS ACADEMIC

Com a simulação do tamanho médio de cristalito, para uma dada fase, é possível variar o tamanho médio de cristalito e observar qual vai ser o comportamento do perfil de difração. É interessante frisar que para a simulação pode-se incluir mais de uma fase.

Para realiza-la, além do *Topas Academic* e do editor de texto *jEdit*, precisamos do arquivo no formato *.cif* das fases de interesse e de uma função que rege a distribuição do tamanho médio de cristalito que pode ser a *CS_L* ou *CS_G*, sendo a primeira para um ajuste de Lorenz e a segunda de Gauss.

Simulando o tamanho médio de cristalito

Para gerar uma simulação da influência do tamanho médio de cristalito para uma fase é só acessar, pelo *jEdit* o menu *TOPAS_Durhan_Menus > Miscellaneous Useful Commands > Simulate pattern from cif*, assim uma caixa de diálogo se abre para que o usuário selecione a fase desejada no formato *.cif*. Manualmente, o usuário pode editar a programação da forma que julgar conveniente para o experimento, sendo assim, para o estudo da distribuição do tamanho médio de cristalito, inclui-se, no final do texto a função *CS_L* (λ , γ), no caso o γ refere-se a esse tamanho médio em nanômetro, que pode ser encontrada em *TOPAS_V5_Menus > Phase level – Structure > CS_L*.

Na área de caracterização de materiais, a determinação do tamanho médio de cristalito é uma das mais importantes informações obtidas através da difratometria de raios X por pó, mas, que infelizmente não pode ser medida de forma direta, como adiante será explicada. Além disso, existe uma grande confusão literária sobre termos como: tamanho de partícula, tamanho de cristal e de cristalito, sendo assim, para uma melhor compreensão desse termos, que estão esquematizados na Figura 95, segue uma discussão com base no *Users Manual* do TOPAS ACADEMIC, escrito por Allan Coelho ⁷⁴.

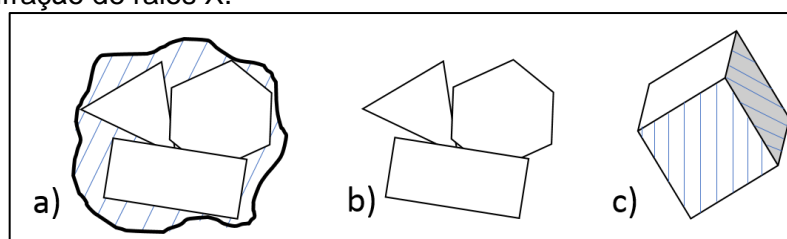
Uma típica partícula (“grão secundário”) está representada na Figura 95 -a), pode ser constituída de um ou mais cristais (“grãos primários”). Esses cristais podem estar separados por interfaces amorfas ou cristalinas, gerando assim, todo o entorno da partícula. Nesse exemplo, percebe-se que o tamanho de partícula não é acessível

por difração de raios X por pó, sendo que os métodos mais comumente utilizados para esse tipo de análise são as microscopias eletrônicas ou óticas, dependendo do tamanho do material, peneiração, *dynamic light scattering (DLS)*, dentre outras. Complicações ainda podem surgir devido à aglomeração das partículas, o que dificulta ainda mais a análise ⁷⁴.

A Figura 95 -b) representa um conjunto de cristais. Assim como o tamanho de partícula, o tamanho de um cristal não pode ser obtido pela difração de raios X por pó. Para a sua caracterização, as mesmas técnicas utilizadas para partículas podem ser empregadas e o efeito de aglomeração pode, também, ser observado e influenciar na análise. Um fato interessante é que o tamanho de um cristal é, em geral, igual ou menor do que o tamanho de uma partícula ⁷⁴.

Cada cristal pode ser constituído de um ou mais cristalitos, assim como apresentado na Figura 95 -c). O tamanho de um cristalito é, em geral, igual ou menor que o tamanho de um cristal. O tamanho do cristalito pode ser determinado por difração de raios X por pó, mas não diretamente, como já mencionado anteriormente, mas sim através do formato dos picos de difração ⁷⁴.

Figura 95. Representação esquemática para os termos: a) partícula, b) cristal e c) cristalito. Em **a** existe a equivalência a grão primário, assim é composta por um ou mais cristais, além de contribuições, que pode ser de material amorfo. Em **b** temos somente a presença de cristais, aleatoriamente distribuídos. E em **c** o cristalito que é, em geral, uma pequena porção do cristal, sendo que, nesse caso, o seu estudo de tamanho (i.e. tamanho de cristalito) é possível pela difração de raios X.



Fonte: TITA, D. L. adaptado do *Users Manual TOPAS ACADEMIC* ⁷⁴.

Para finalizar, o manual do usuário e o manual técnico do *software* Topas são referências importantes para um melhor entendimento de todos os processos envolvidos em um refinamentos.

9 ANEXOS

A - Tabela de Thompson modifica (τ)

Segue na tabela abaixo os resultados para os parâmetros de τ em comparação a n .

Tabela 34. Tabela de Thompson modificada (τ). Segue na tabela os valores de população n e de τ para serem empregados nos cálculos de outliers, assim como foi apresentado em “Estatística para exclusão de um ponto fora da curva (outliers)”. Mais informações sobre o método podem ser encontradas em <http://www.mne.psu.edu/cimbala/me345/Lectures/Outliers.pdf> com o professor *John M. Cimbala*, da *Penn State University*.

Tabela de Thompson modifica (τ)			
n	τ	n	τ
3	1,1511	33	1,9160
4	1,4250	34	1,9174
5	1,5712	35	1,9186
6	1,6563	36	1,9198
7	1,7110	37	1,9209
8	1,7491	38	1,9220
9	1,7770	39	1,9230
10	1,7984	40	1,9240
11	1,8153	42	1,9257
12	1,8290	44	1,9273
13	1,8403	46	1,9288
14	1,8498	48	1,9301
15	1,8579	50	1,9314
16	1,8649	52	1,9325
17	1,8710	54	1,9335
18	1,8764	56	1,9345
19	1,8811	58	1,9354
20	1,8853	60	1,9362
21	1,8891	65	1,9381
22	1,8926	70	1,9397
23	1,8957	75	1,9411
24	1,8985	80	1,9423
25	1,9011	90	1,9443
26	1,9035	100	1,9459
27	1,9057	150	1,9506
28	1,9078	200	1,9530
29	1,9096	500	1,9572
30	1,9114	1000	1,9586
31	1,9130	5000	1,9597
32	1,9146	($\rightarrow\infty$)	1,9600

Fonte: http://www.mne.psu.edu/cimbala/me345/Exams/Modified_Thompson_tau_table.pdf