



Pedro Miguel Gomes Silva

Licenciado em Ciências da Engenharia Física

Caracterização molecular de esteroides

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Física

Orientador: António Alberto Dias, Professor Auxiliar,
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade
Nova de Lisboa

Júri:

Presidente:

Arguentes:

Vogais:

Caracterização molecular de esteroides

Copyright © Pedro Miguel Gomes Silva, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Aos meus pais.

“The one who knows he may lose is the most likely to succeed.”

Agradecimentos

Em primeiro lugar, um agradecimento especial ao meu orientador, Professor António Dias, por todos os ensinamentos que me passou, pelo apoio e paciência durante a realização desta dissertação.

À Professora Maria Luísa Carvalho agradeço o dinamismo que trouxe ao LI-BPhys na FCT UNL e por se mostrar sempre disponível e pronta a ajudar. Agradeço também à Professora Maria de Lourdes Costa um agradecimento especial por todos os conselhos e encorajamento que me deu. Agradeço ao senhor Mesquita por tudo o que me ensinou, e claro, pela boa disposição constante. Ao meu amigo e colega de curso Guilherme Pereira, deixo um agradecimento especial por toda a ajuda durante a manutenção do espectrómetro, a qual não teria sido possível sem a sua contribuição. Não poderia deixar de agradecer ao António Barroso e a Catarina Fonseca por estes seis anos de amizade e pelos bons momentos passados no laboratório e fora dele.

Ao meu “mano” Pedro Gouveia, mais que um agradecimento, um muito obrigado, por esta grande amizade que nunca me deixou baixar os braços quando me senti mais perdido. Agradeço também à Sara Lopes que sem o seu suporte e compreensão durante os momentos mais difíceis desta dissertação a sua realização não seria possível.

Obrigado a toda a minha família que sempre esteve ao meu lado nos bons e nos maus momentos, em especial, aos meus pais, a quem dedico esta dissertação, por proporcionarem a minha formação enquanto profissional e acima de tudo enquanto pessoa.

Obrigado ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade NOVA de Lisboa por me acolher enquanto estudante de Engenharia Física. Ao LIBPhys um agradecimento pelo financiamento deste projeto.

Resumo

Os esteroides são compostos orgânicos presentes em todos os meios biológicos. O modo como estes compostos atuam, bem como a intensidade dos efeitos produzidos, estão fortemente dependentes da sua estrutura molecular, geometria e estrutura eletrônica. Pequenas alterações na estrutura molecular dos esteroides provocam mudanças drásticas no seu comportamento quando expostos em meio biológico. Por este facto, torna-se fundamental possuir uma boa caracterização das propriedades moleculares dos esteroides, nomeadamente, da estrutura eletrônica de valência. Atualmente a técnica mais versátil e poderosa para estudar a estrutura eletrônica da camada de valência de átomos ou moléculas é a espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta (UVPES).

Através de um espectrómetro de fotoeletrões de ultravioleta que utiliza descargas em HeI para produção de radiação monocromática de 584 \AA (21,22 eV), em conjunto com um reator de vaporização de amostras orgânicas, foram otimizadas as condições experimentais para a recolha de espectros de dois compostos, o adrenosterona e a cortisona. Até à data, não existe disponível na literatura qualquer estudo experimental por UVPES dos compostos referidos. Esta dissertação apresenta os primeiros espectros de adrenosterona e de cortisona utilizando a técnica de UVPES. Os resultados obtidos foram confrontados com os estudos teóricos existentes.

Palavras-chave: Espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta; Energia de ionização; Esteroides; Adrenosterona; Cortisona.

Abstract

Steroids are organic compounds present in all biological environments. The way these compounds act, as well as the intensity of the effects produced, are strongly dependent on their molecular structure, geometry and electronic structure. Small changes in the molecular structure of steroids cause drastic changes in their behavior when exposed in biological environment. For this reason, it is essential to have a good characterization of the molecular properties of steroids, in particular, of the electronic valence structure. Currently the most versatile and powerful technique for studying the electron structure of the valence layer of atoms or molecules is ultraviolet photoelectron spectroscopy (UVPES).

Using an ultraviolet photoelectron spectrometer which uses HeI discharges to produce monochromatic radiation of 584 Å (21.22 eV), together with a vaporization reactor for organic samples, the experimental conditions were optimized for the collection of UVPES spectra of two compounds, adrenosterona and cortisone. To date, no experimental study by UVPES of the above compounds has been available in the literature. This dissertation presents the first spectra of adrenosterona and cortisone using a UVPES technique. The results obtained were compared with the existing theoretical studies.

Keywords: Ultraviolet photoelectron spectroscopy; Ionization energy; Steroids; Adrenosterona; Cortisone.

Índice

RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE TABELAS	XVII
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	XIX
INTRODUÇÃO	1
1.1 APLICAÇÃO DE ESPETROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE ULTRAVIOLETA NA CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESTEROIDES	1
1.2 ESTEROIDES.....	1
1.3 OBJETIVOS	3
1.4 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	4
MÉTODO EXPERIMENTAL	5
2.1 ESPETROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE ULTRAVIOLETA	5
2.2 FUNDAMENTOS	6
2.2.1 PROCESSOS DE FOTOIONIZAÇÃO	7
2.2.3 PRINCÍPIO DE FRANK-CONDON	8
2.3 APARATO EXPERIMENTAL.....	10
2.3.1 FONTE DE RADIAÇÃO	11
2.3.2 SISTEMA DE INTRODUÇÃO DE AMOSTRA.....	12
2.3.3 CÉLULA DE REAÇÃO	14
2.3.4 ANALISADOR.....	15
2.3.5 DETECTOR.....	16
2.3.6 SISTEMA DE BOMBEAMENTO	18
2.3.7 BLINDAGEM AO CAMPO MAGNÉTICO.....	19
2.3.8 CONTROLO E AQUISIÇÃO DE DADOS	20

2.2.9 MONTAGEM EXPERIMENTAL E CALIBRAÇÃO	22
<u>REVISÃO DO ESPETRÓMETRO.....</u>	25
3.1 INTRODUÇÃO.....	25
3.2 FONTE DE RADIAÇÃO	25
3.3 BOMBAS DIFUSORAS	26
3.4 ANALISADOR	27
3.5 MAXIMIZAR CONTAGENS	29
3.6 REATOR DE VAPORIZAÇÃO	30
<u>ADRENOSTERONA.....</u>	33
4.1 INTRODUÇÃO.....	33
4.2 AMOSTRA	35
4.3 PROCEDIMENTO	35
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.5 CORTISONA	40
<u>CONCLUSÕES</u>	43
<u>BIBLIOGRAFIA.....</u>	45
<u>APÊNDICE A: RESUMO DA EXPOSIÇÃO ORAL.....</u>	46

Lista de Figuras

FIGURA 1: ESTRUTURA BASE DE QUALQUER ESTEROIDE. TRÊS ANÉIS DE SEIS ÁTOMOS DE CARBONO (A, B E C) E UM ANEL COM CINCO ÁTOMOS DE CARBONO, D. POSIÇÕES DOS GRUPOS FUNCIONAIS EM 3, 11 E 17.	2
FIGURA 2: ESTEROIDES ESTUDADOS NESTA DISSERTAÇÃO. EM (A) ADRENOSTERONA E EM (B) CORTISONA [3].	3
FIGURA 3: CURVA DE ENERGIA POTENCIAL EM FUNÇÃO DA DISTÂNCIA INTERATÓMICA PARA UMA MOLÉCULA M NO ESTADO FUNDAMENTAL E PARA VÁRIOS ESTADOS IÔNICOS $M + [12]$	9
FIGURA 4: DIAGRAMA DE BLOCOS GENÉRICO DE UM ESPETRÔMETRO DE FOTOELETRÔES DE ULTRAVIOLETA.	10
FIGURA 5: ESQUEMA DA FONTE DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DO ESPETRÔMETRO DE FOTOELETRÔES UTILIZADO [10].	12
FIGURA 6: ESQUEMA DA CÉLULA DE REAÇÃO COM O REATOR DE VAPORIZAÇÃO ACOPLADO NA PARTE INFERIOR [10].	13
FIGURA 7: DISTRIBUIÇÃO TÉRMICA DO REATOR COM PONTEIRA DE COBRE, (A), E COM UMA PONTEIRA DE AÇO INOXIDÁVEL, (B), PARA UMA TEMPERATURA DE AQUECIMENTO DO REATOR DE 773 K [10]. DISTRIBUIÇÃO FEITA NO PROGRAMA GMSH.	13
FIGURA 8: ESQUEMA DO ANALISADOR HEMISFÉRICO DE ENERGIA DO ESPETRÔMETRO UTILIZADO [10].	16
FIGURA 9: DETETOR TIPO CANALTRÃO.	17
FIGURA 10: ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DE BOMBEAMENTO DO ESPETRÔMETRO.	18
FIGURA 11: RACK COM AS UNIDADES DE CONTROLO E OPERAÇÃO DA FONTE DE RADIAÇÃO, BOBINAS DE HELMHOLTZ, SISTEMA DE BOMBEAMENTO E DETETOR.	20
FIGURA 12: JANELA DE INTERFACE COM O UTILIZADOR DO PROGRAMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS.	21
FIGURA 13: ESQUEMÁTICO DA MONTAGEM EXPERIMENTAL, COM UMA VISTA DETALHADA DO REATOR DE VAPORIZAÇÃO. A - FONTE DE RADIAÇÃO UV, B - CÉLULA DE REAÇÃO, C - REATOR DE VAPORIZAÇÃO, D - SISTEMA DE ADMISSÃO DE GASES NO INTERIOR DO ESPETRÔMETRO, E - FENDA DE ENTRADA NO ANALISADOR, G - FENDA DE SAÍDA, F - ANALISADOR HEMISFÉRICO, H - CANALTRÃO. ADAPTAÇÃO DE [10].	22
FIGURA 14: ESQUEMA DO TUBO DE NITRETO DE BORO QUE FOI MAQUINADO PARA COLOCAR NA FONTE DE RADIAÇÃO. TODAS AS MEDIDAS EM MILÍMETROS.	26
FIGURA 15: VÁRIOS MOMENTOS DO PROCESSO DE MANUTENÇÃO DOS HEMISFÉRIOS DO ANALISADOR. EM CIMA OS HEMISFÉRIOS APÓS SER RETIRADA A CAMADA DE GRAFITE. EM BAIXO, COLOCAÇÃO DE UMA NOVA CAMADA DE GRAFITE.	27
FIGURA 16: ESPETRO ANTES DA MANUTENÇÃO DOS HEMISFÉRIOS DO ANALISADOR (EM CIMA) E APÓS A SUA MANUTENÇÃO (EM BAIXO).	28
FIGURA 17: EM (A), ALINHAMENTO DO DETETOR. EM (B), CÉLULA DE REAÇÃO ANTES DE SER MONTADA.	29
FIGURA 18: ESPETRO DE FOTOELETRÔES DE ULTRAVIOLETA DO ÁRGON APÓS A REVISÃO DO ESPETRÔMETRO.	30
FIGURA 19: FONTE DE ALIMENTAÇÃO DO REATOR DE VAPORIZAÇÃO E O CONTROLADOR PID NO CANTO SUPERIOR ESQUERDO DA CAIXA.	31
FIGURA 20: ESTRUTURA MOLECULAR DO ADRENOSTERONA. ÁTOMOS DE CARBONO A CINZENTO, DE HIDROGÉNIO A VERDE E A VERMELHO OS ÁTOMOS DE OXIGÉNIO [3].	33

FIGURA 21: ESPETRO EXPERIMENTAL DE ESPETROSCOPIA DE FOTOELETRÔES DE ULTRAVIOLETA DO ESTEROIDE 5A-ANDROSTANE-3, 11, 17-TRIONE (LINHA PRETA) E RESPECTIVO ESPETRO TEÓRICO (LINHA AZUL). ESPETRO TEÓRICO DE ADRENOSTERONA (LINHA VERMELHA) [3]	34
FIGURA 22: ESPETROS DE AR E O ₂ RECOLHIDOS ANTES DE DAR INÍCIO A RECOLHA DE ESPETROS DE ADRENOSTERONA. À ESQUERDA O ESPETRO DE AR PARA VERIFICAR A RESOLUÇÃO DO ESPETRÓMETRO (TIPICAMENTE DE 0,03 eV). À DIREITA, UM ESPETRO DE O ₂ PARA VERIFICAR A TRANSMISSÃO DO APARELHO.	36
FIGURA 23: ESPETRO DE FOTOELETRÔES PREVISTO PARA O ADRENOSTERONA [3].....	37
FIGURA 24: PRINCIPAIS ORBITAIS MOLECULARES DO ADRENOSTERONA [3].....	38
FIGURA 25: ESPETRO DE FOTOELETRÔES DO ADRENOSTERONA RECOLHIDO A 210 °C. COM AS BANDAS DE IONIZAÇÃO 1, 2, 3 E 4 IDENTIFICADAS E TAMBÉM OS PICOS DE H ₂ O E AR.....	39
FIGURA 26: À ESQUERDA ESTRUTURA MOLECULAR DA CORTISONA. À DIREITA ESPETROS DE FOTOELETRÔES PARA DOIS ISÔMEROS DA CORTISONA CALCULADOS POR SAC-CI [3].....	41
FIGURA 27: ESPETRO DE FOTOELETRÔES DE ULTRAVIOLETA DA CORTISONA RECOLHIDO A 225 °C NÃO CALIBRADO. SÃO IDENTIFICADAS (1 - 8) DIFERENTES BANDAS DE IONIZAÇÃO.	42

Lista de Tabelas

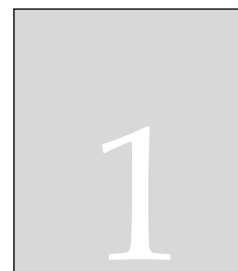
TABELA 1: RISCAS PRODUZIDAS POR DESCARGAS ELETRICAS EM HÉLIO E RESPETIVAS ENERGIAS, TRANSIÇÕES E INTENSIDADES RELATIVAS [8].....	11
TABELA 2: ENERGIAS DE LIGAÇÃO PREVISTAS E OBTIDAS EXPERIMENTALMENTE, JUNTAMENTE COM O PRINCIPAL CARÁTER DAS ORBITAIS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE IONIZAÇÃO DO ADRENOSTERONA.....	40

Lista de Acrónimos

AC	<i>Alternating Corrent</i>
ATX	<i>Advanced Technology Extended</i>
DC	<i>Direct Corrent</i>
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
IE	<i>Ionization Energy</i>
KE	<i>Kinetic Energy</i>
PID	<i>Proportional-Integral-Diferencial</i>
SAC-CI	<i>Symmetry Adapted Cluster-Configuration Interaction</i>
SSR	<i>Solid State Relay</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>
UVPES	<i>Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy</i>

TLC

Thin-layer Chromatography



Introdução

1.1 Aplicação de espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta na caracterização molecular de esteroides

Os esteroides são compostos orgânicos com um grande impacto no meio biológico. Alterações na estrutura molecular do composto produzem mudanças no seu modo de atuação. O conhecimento da estrutura molecular de um esteroide permite-nos compreender o seu comportamento quando presente em meio biológico. Em particular, o conhecimento da estrutura eletrônica da camada de valência é de extrema importância uma vez que são os elétrons nela presentes os primeiros a interagir em qualquer reação química.

No estudo da estrutura eletrônica da camada de valência dos esteroides, a técnica de espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta é a mais poderosa e versátil para o efeito. Ao utilizar, como radiação ionizante, fótons ultravioleta pouco energéticos é possível remover elétrons da camada de valência. Ao estudarmos a energia cinética dos elétrons removidos conseguimos determinar a energia que possuíam antes da sua remoção, ou seja, a sua energia de ligação, informação essencial para uma caracterização molecular.

Esta dissertação deu origem a uma exposição oral na *20ª Conferência Nacional de Física e 26º Encontro Ibérico para o Ensino da Física*. O resumo da exposição oral está disponível no *Apêndice A*.

1.2 Esteroides

Em biologia, os esteroides são frequentemente conhecidos como hormonas, e são produzidos pelas glândulas endócrinas ou por tecidos periféricos. Estes compostos são transportados através do organismo pela corrente sanguínea até ao local onde vão atuar [1].

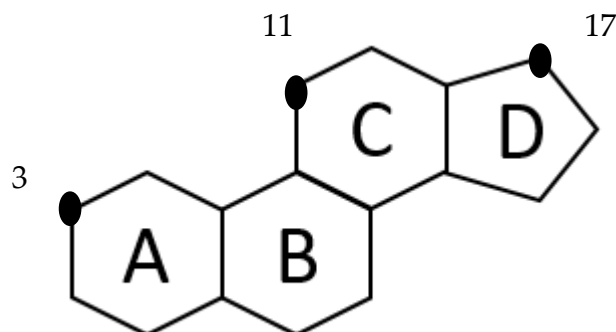


Figura 1: Estrutura base de qualquer esteroide. Três anéis de seis átomos de carbono (A, B e C) e um anel com cinco átomos de carbono, D. Posições dos grupos funcionais em 3, 11 e 17.

Todos os esteroides possuem o mesmo esqueleto composto por dezassete carbonos dispostos em três anéis (A, B e C) de seis carbonos cada, aos quais se liga um quarto anel (D) de apenas cinco carbonos. Esta estrutura é designada por Ciclopentanoperidrofenantreno, também conhecida por Gonano (Figura 1) [2].

Os esteroides diferem entre si com base nos diferentes grupos funcionais a eles ligados, os quais são formados por átomos de carbono, hidrogénio e também átomos de oxigénio. Os grupos funcionais não se ligam aos esteroides em qualquer posição. As posições preferenciais para os grupos funcionais são a três, onze e dezassete, como é indicado na Figura 1.

Dentro de cada tipo de esteroide há ainda que ter em conta os diferentes isómeros, ou seja, esteroides que apesar de terem a mesma fórmula química apresentam diferentes distribuições espaciais dos átomos. O número de isómeros que cada esteroide possui, bem como as suas abundâncias relativas, podem variar do estado sólido para o estado gasoso.

Um dos esteroides analisados é o adrenosterona (Figura 2, composto (a)). Este esteroide apresenta apenas um isômero em estado gasoso [3] e está presente em pequenas quantidades no corpo humano, no entanto é responsável pela liberação da principal hormona sexual nos peixes.

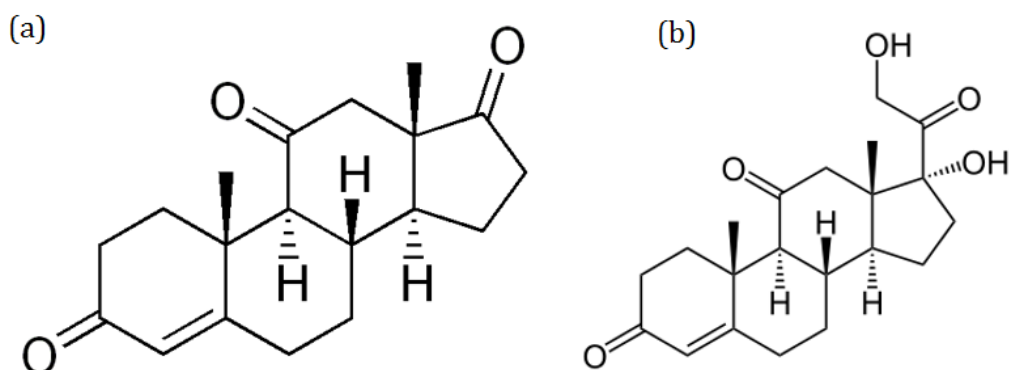


Figura 2: Esteroides estudados nesta dissertação. Em (a) Adrenosterona e em (b) Cortisona [3].

O adrenosterona é também comercializado, desde 2007, como suplemento alimentar, provocando a perda de gorduras e estimulando ganhos musculares [4][5]. Outro esteroide estudado foi a cortisona (Figura 2 composto (b)), esteroide de elevada importância para a medicina e que apresenta dois isômeros em estado gasoso [3]. A cortisona é usada em diversas áreas da medicina e é a principal hormona libertada pelo corpo em resposta ao *stress* [6].

1.3 Objetivos

A escolha do adrenosterona e da cortisona não é aleatória, ambos são de extrema importância em diversas áreas, nomeadamente, em medicina e farmacologia. Estes compostos têm sido estudados nos últimos anos principalmente através de estudos teóricos [3]. No entanto, não existia nenhum trabalho experimental, por espectroscopia de fotoelétrons de ultravioleta, disponível na literatura para estes compostos.

Esta investigação possui dois objetivos. Em primeiro lugar, estudar os esteroides adrenosterona e cortisona através de espectroscopia de fotoelétrons de ultravioleta (UVPES, do inglês *Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy*).

Em segundo lugar, deixar um registo das condições em que devem ser feitos este tipo de estudos, para que no futuro possa ser dada continuação a este trabalho com outros esteroides, uma vez que há muito trabalho a desenvolver nesta área, nomeadamente, a nível experimental.

Inicialmente estava prevista a realização de testes com outros dois compostos: Estradiol e Costicosterone. No entanto, por falta de tempo, não foi possível estudar estes compostos.

1.4 Estrutura da Dissertação

Esta dissertação está dividida em cinco partes distintas. A primeira parte composta pelo presente capítulo, capítulo 1, para propósitos introdutórios. O capítulo 2, onde são abordados os principais aspetos teóricos e experimentais relativos à técnica utilizada. Os capítulos 3 e capítulo 4, dedicada aos trabalhos realizados e aos resultados obtidos. E por fim o capítulo 5 para evidenciar os principais resultados obtidos.

Capítulo 2, *Método Experimental*, apresenta uma descrição da técnica utilizada nesta dissertação, a espectroscopia de fotoelétrons de ultravioleta. São descritos os principais fundamentos teóricos por detrás da técnica, e também uma descrição dos vários componentes do espectrómetro utilizado.

Capítulo 3, *Revisão do Espectrómetro*, descreve todo o processo de revisão e manutenção do espectrómetro realizado antes de começar os estudos dos esteroides, nomeadamente, a manutenção de: Fonte de radiação; Bombas difusoras; Analisador hemisférico; Célula de reação; Reator de vaporização.

Capítulo 4, *Adrenosterona*, aborda os estudos experimentais realizados. É feita uma descrição do processo de preparação das amostras e obtenção das condições de trabalho do espectrómetro e procedimento utilizado nos estudos. São identificadas as bandas de ionização do adrenosterona, e comparados os resultados com os mais recentes estudos teóricos. São ainda abordados os estudos espectroscópicos realizados na cortisona.

Capítulo 5, *Conclusões*, são evidenciados os resultados obtidos durante esta dissertação.



Método experimental

2.1 Espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta

Quando se estuda interações entre diferentes compostos, os eletrões presentes na camada de valência apresentam uma importância acrescida relativamente aos eletrões das camadas mais internas. Dois átomos ao se aproximarem um do outro reagem entre si. São os eletrões presentes na camada de valência que interagem em primeiro lugar, uma vez que são os mais externos. São, portanto, os eletrões de valência os principais intervenientes de qualquer reação química entre diferentes compostos. Por este facto, torna-se de extrema importância o estudo da estrutura eletrónica da camada de valência, para que possamos compreender o modo como as amostras interagem quando expostas em meio biológico.

Atualmente, a técnica mais poderosa para realizar estudos quanto à estrutura eletrónica da camada de valência de átomos e moléculas é a espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta - UVPES.

Até à década de 60, do séc. XX, a única técnica de espectroscopia de fotoeletrões existente era a espectroscopia de fotoeletrões de raios-X. Devido à elevada energia da radiação ionizante (os raios-X), permite analisar não só os eletrões dos níveis de valência mas, também, eletrões de níveis mais próximos do núcleo (*core*). No entanto, quando o objetivo é fazer uma análise detalhada dos níveis eletrónicos de valência, a espectroscopia de fotoeletrões de raios-X não é uma técnica viável devido à fraca resolução em energia (normalmente superior a 1 eV). Para colmatar esta lacuna foi desenvolvida em 1962, pelos grupos de Turner e Al Jobory[7], a espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta. Em simultâneo, mas de forma independente, um grupo de investigadores liderados por Vilesov, na Rússia, desenvolvia a mesma técnica[8].

O desenvolvimento desta técnica deve-se sobretudo ao aparecimento das primeiras fontes de radiação estáveis na região do ultravioleta, menos energéticos que as suas antecessoras fontes de raios-X. Com esta técnica de espectroscopia de fotoeletrões conseguimos remover apenas os eletrões de valência, levando assim a uma melhoria significativa na resolução em energia, que é da ordem de 25 – 35 meV. Com esta técnica conseguimos proceder a uma caracterização molecular dos níveis de valência da amostra em causa ao estudarmos a energia dos fotoeletrões ejetados. [8]

Este capítulo é inteiramente dedicado à técnica de espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta, que, de agora em diante, passará a ser designada apenas como espectroscopia de fotoeletrões. Vão ser discutidos os pilares teóricos que sustentam a espectroscopia de fotoeletrões no subcapítulo 2.2 *Fundamentos*. Posteriormente, no subcapítulo 2.3 *Aparato experimental*, são apresentadas em pormenor as principais componentes que constituem o espectrómetro de fotoeletrões utilizado.

2.2 Fundamentos

A espectroscopia de fotoeletrões é uma aplicação prática do efeito fotoelétrico, segundo o qual, quando fotões com uma energia mínima interagem com uma amostra, promovem a remoção de eletrões ligados à estrutura molecular [8], sendo cada fotão responsável pela remoção de apenas um eletrão.

A energia mínima necessária para remover um eletrão da sua orbital, ou seja, para que o eletrão deixe de sentir qualquer força atrativa por parte de respetivo núcleo, átomo ou molécula, é designada: Energia de Ionização, IE (do inglês: *Ionization energy*). Segundo a aproximação conhecida por Teorema de Koopman, a IE de um eletrão é igual ao simétrico da energia da orbital a que pertence, [8] segundo a seguinte expressão:

$$IE_j \approx -\varepsilon_j \quad (1)$$

onde IE_j representa a energia de ionização de um eletrão na orbital j e ε_j a energia da orbital j . Este teorema tem demonstrado aplicação em muitos sistemas moleculares e atómicos. Porém, são conhecidos diversos casos nos quais o teorema de Koopman falha, tais como, árgon e azoto molecular [9].

Em espectroscopia de fotoeletrões, são utilizadas fontes de fotões como radiação ionizante. Parte da energia dos fotões é usada para remover o eletrão da estrutura atómica ou molecular. Sendo a restante energia transferida, sobre a forma de energia,

para o eletrão, KE_e . Neste processo a energia transferida para o ião é desprezada segundo a equação:

$$h\nu = IE - KE_e \quad (2)$$

Na espectroscopia de fotoeletrões é feita a medição da quantidade de eletrões (ou corrente) em função da sua energia cinética, KE . Uma vez que a fonte de radiação é monocromática, ou seja, emite radiação com energia constante ($h\nu$ constante) obtemos um espectro em que o eixo das abcissas pode ser apresentado em energia cinética, KE_e , ou em energia de ionização, IE . O eixo das ordenadas representa a intensidade observada para cada energia.

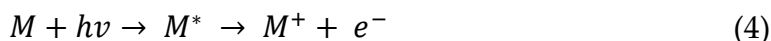
2.2.1 Processos de fotoionização

Entende-se por fenómenos de ionização, processos que promovem a criação de iões, espécies quimicamente carregadas. Fenómenos de fotoionização são, portanto, processos nos quais a radiação (fotões) é responsável pelo processo de ionização. A ionização pode dar-se de duas formas distintas: ionização direta ou autoionização [10].

No caso da ionização direta (ou fotoionização direta) a molécula encontra-se inicialmente no seu estado fundamental. Quando é removido um eletrão da molécula forma-se o ião molecular, o que pode ser deduzido da seguinte expressão:



Durante o processo de ionização pode ou não haver um rearranjo da geometria da molécula. O processo de autoionização é semelhante ao processo de ionização direta, porém a remoção do eletrão e conseqüente formação do ião molecular dá-se em duas fases. Uma primeira fase em que a molécula neutra passa do estado fundamental para um estado excitado, por ação da radiação incidente, e uma segunda fase, em que o eletrão é ejetado de forma espontânea da molécula. O processo de autoionização pode ser descrito pela expressão:



No presente trabalho apenas os processos de fotoionização direta serão tidos em conta.

2.2.3 Princípio de Frank-Condon

O princípio de Frank-Condon é a base para compreender a origem e a intensidade das estruturas vibracionais presentes nos espectros de espectroscopia de fotoeletrões [9].

Na Figura 3 estão representadas as curvas de energia potencial para uma molécula diatômica em função da distância interatômica. A curva com o mínimo de energia potencial representa o estado fundamental da molécula M , enquanto as restantes curvas, $M^+(a)$, $M^+(b)$ e $M^+(c)$ representam os vários estados iônicos M^+ . Para cada uma das curvas estão ainda representados os diferentes níveis vibracionais da molécula com as respetivas funções de onda.

As orbitais moleculares de onde os eletrões são ejetados, podem ser classificadas de três formas, consoante as variações da distância internuclear causada pela remoção do eletrão: orbitais não-ligantes, orbitais ligantes e orbitais antiligantes.

Numa estrutura vibracional o espaçamento entre as diferentes riscas depende da frequência de vibração do ião. A energia de vibração é dada por:

$$E_{vib} = \left(\vartheta + \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (5)$$

Onde ϑ representa o número quântico vibracional e ν a frequência. A frequência depende da força da ligação para os diferentes estados iônicos. Para um oscilador harmónico:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \left(\frac{k}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (6)$$

k é constante de força e μ a massa reduzida, $\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$.

No caso mais simples, considerando apenas uma molécula com dois núcleos, quando temos uma orbital ligante, a remoção de um eletrão provoca um enfraquecimento da ligação entre os dois núcleos, k diminui, levando a um aumento da distância internuclear como esquematizado na curva $M^+(b)$ da Figura 3, esta alteração leva a uma diminuição da frequência de vibração da molécula.

Quando se trata uma orbital não-ligante o elétron removido não provoca alterações nas forças que mantém a molécula coesa, e, como tal, não há alterações na distância internuclear. A transição da molécula do estado fundamental para o estado iônico é, usualmente, designada de transição vertical no diagrama de curvas de potencial como indicado na curva $M^+(a)$ da Figura 3. Neste caso a frequência de vibração da molécula não sofre alterações.

Por vezes dá-se o caso das orbitais serem antiligantes, ou seja, os elétrons pre-

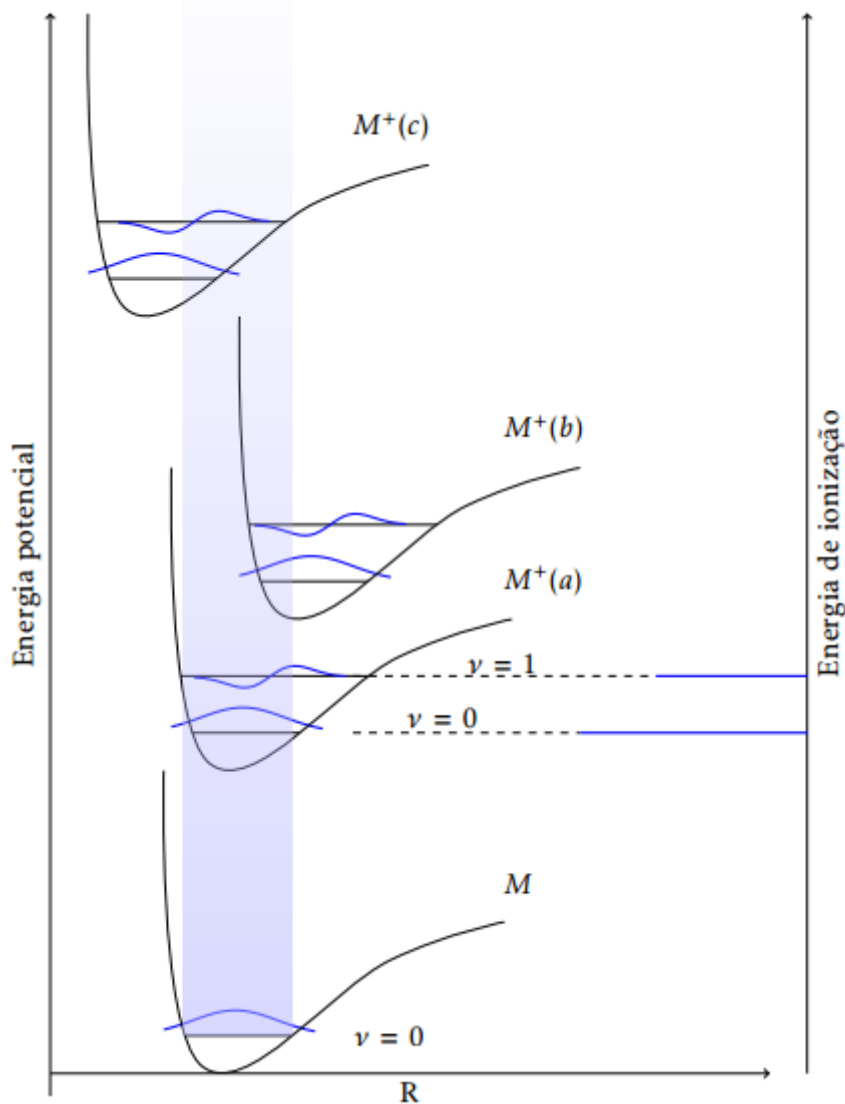


Figura 3: Curva de energia potencial em função da distância interatômica para uma molécula M no estado fundamental e para vários estados iônicos M^+ [12].

sentes na orbital estão a contribuir para que os dois núcleos se afastem. Uma vez re-

movido um eletrão a força de ligação aumenta, levando a uma diminuição da distância internuclear e a um aumento da frequência de vibração da molécula. Esta transição está representada na curva $M^+(c)$ da Figura 3.

Por definição a intensidade de um pico num espectro de fotoeletrões é proporcional à probabilidade de ocorrência da respetiva transição. Esta probabilidade é calculada pelo módulo da sobreposição das funções de onda do estado inicial e final [9]. Nas orbitais não-ligantes, ao darem origem a transições verticais, a sobreposição das funções de onda é máxima, dando origem a bandas com intensidade superior às orbitais ligantes e antiligantes.

2.3 Aparato experimental

Neste projeto de dissertação foi utilizado um espectrómetro de fotoeletrões de ultravioleta presente no departamento de física da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa. Na Figura 4 estão esquematizados os oito principais componentes de um espectrómetro de fotoeletrões:

- Fonte de radiação (A);
- Sistema de introdução de amostras (B);
- Célula de reação (C);
- Analisador hemisférico de energia (D);
- Detetor tipo canaltrão (E);
- Sistema de controlo e aquisição de dados (F);
- Sistema de bombeamento (G);
- Sistema de blindagem do campo magnético (H).

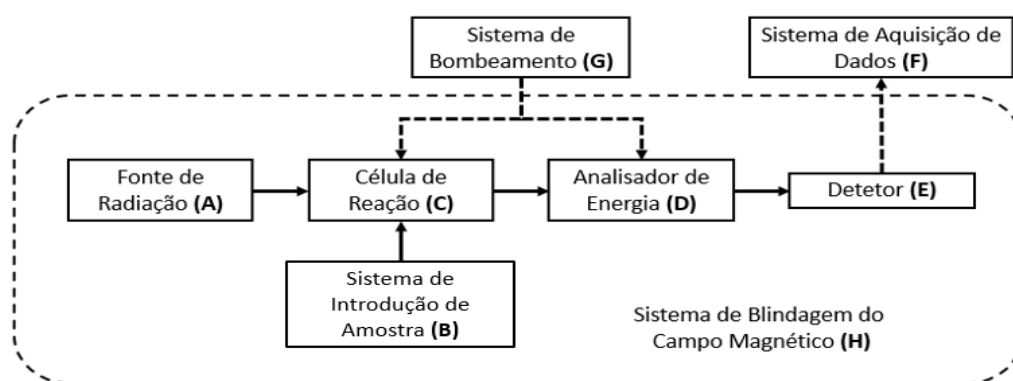


Figura 4: Diagrama de blocos genérico de um espectrómetro de fotoeletrões de ultravioleta.

Nas secções seguintes é apresentada uma descrição pormenorizada dos vários componentes acima mencionados.

2.3.1 Fonte de radiação

A radiação ultravioleta é produzida através de uma descarga DC em hélio (*He I*). O hélio é introduzido num capilar de quartzo (capilar de descarga) com um diâmetro aproximado de 1 mm. Uma das extremidades do capilar está em contacto com um eléctrodo de alumínio, cátodo, ao qual é aplicado um potencial até 3,2 kV para iniciar a descarga e produzir um plasma confinado. Uma vez a descarga iniciada o potencial eléctrico aplicado no eléctrodo é regulado para valores na ordem de 500-700 V, consoante a corrente de trabalho desejada que, tipicamente, varia entre 40-60 mA.

Pela Tabela 1 observamos que uma descarga DC em hélio produz diferentes riscas, ou seja, nestas descargas são produzidos fotões com diferentes energias. Este facto poderia apresentar-se como um problema, pois são necessárias fontes de radiação cujos fotões produzidos tenham apenas uma energia, fontes monocromáticas. Contudo, cerca de 98% da radiação produzida corresponde à risca *He I α* com uma energia de 21,22 eV. A risca *He I β* corresponde, aproximadamente, a 1 – 2% da radiação produzida; as restantes riscas apresentam uma percentagem de emissão inferior a 1% [8]. Dada a elevada intensidade da risca *He I α* , as restantes riscas podem ser desprezadas. Tendo em conta esta aproximação, podemos afirmar que a fonte de radiação é monocromática, produzindo fotões com 584 Å de comprimento de onda, ou seja, energia de 21,22 eV.

Tabela 1: Riscas produzidas por descargas eletricas em hélio e respetivas energias, transições e intensidades relativas [8].

Risca	(eV)	Transição	Intensidade
He I α	21,2182	1s 2p \rightarrow 1s ²	100
He I β	23,0872	1s 3p \rightarrow 1s ²	2
He I γ	23,7423	1s 4p \rightarrow 1s ²	0,5

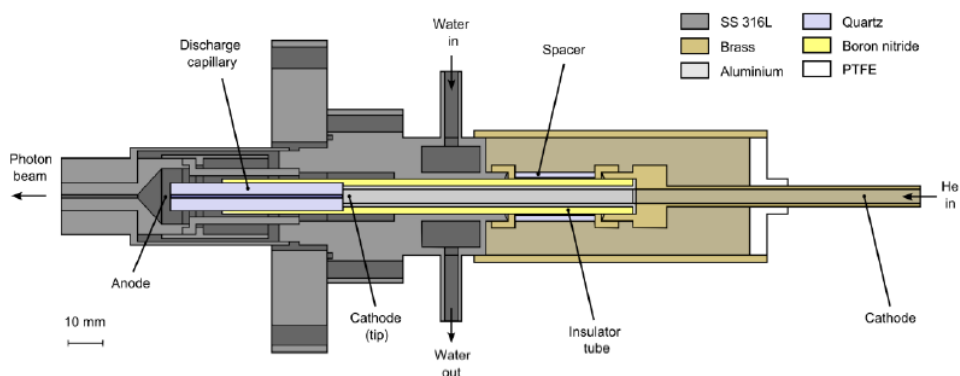


Figura 5: Esquema da fonte de radiação ultravioleta do espectrômetro de fotoeletrões utilizado [10].

Na **Figura 5** é apresentado o esquema da fonte de radiação. O capilar de quartzo, onde se dá a descarga elétrica, está isolado eletricamente do restante do espectrômetro por um tubo de nitreto de boro. Devido ao elevado potencial elétrico aplicado ao eletrodo este processo dissipa muita energia sob a forma de calor e torna-se essencial a existência de um sistema de arrefecimento da fonte. Este arrefecimento é conseguido através de água que circula constantemente no exterior do tubo de nitreto de boro [10].

2.3.2 Sistema de introdução de amostra

O sistema que introduz a amostra no interior da região de fotoionização depende do estado físico da amostra e da sua tensão de vapor. Podemos trabalhar com amostras em estado gasoso, líquido ou sólido, no entanto no momento de serem introduzidas na região de fotoionização todas devem estar sobre a forma gasosa.

No caso mais simples, quando a amostra é gasosa, basta utilizar uma válvula de agulha para controlar o fluxo de gás que entra no espectrômetro, por diferença de pressão. Caso a amostra esteja em estado líquido ou sólido, duas situações podem ocorrer dependendo da sua tensão de vapor. Independentemente do seu estado, se a tensão de vapor da amostra for suficientemente elevada a amostra evapora e basta ter um reservatório exterior onde a colocar e conectá-lo com o interior do espectrômetro, por um sistema de válvulas de agulha. Mais uma vez, por diferença de pressão, a amostra entra na região de fotoionização. Caso a amostra não evapore naturalmente, ou seja, caso a sua pressão de vapor seja baixa, é necessário um sistema de vaporização prévio

As amostras orgânicas utilizadas neste trabalho estão nas condições normais de pressão e temperatura na fase sólida. Como tal as amostras para serem estudadas precisam de ser vaporizadas pelo que se usa o reator que de seguida se descreve.

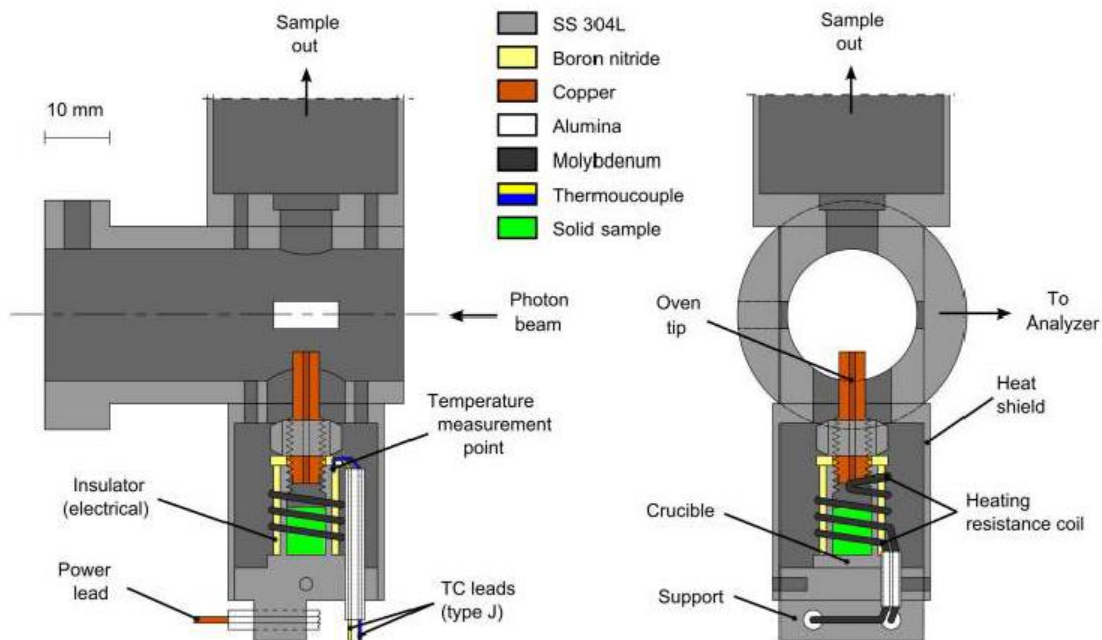


Figura 6: Esquema da célula de reação com o reator de vaporização acoplado na parte inferior [10].

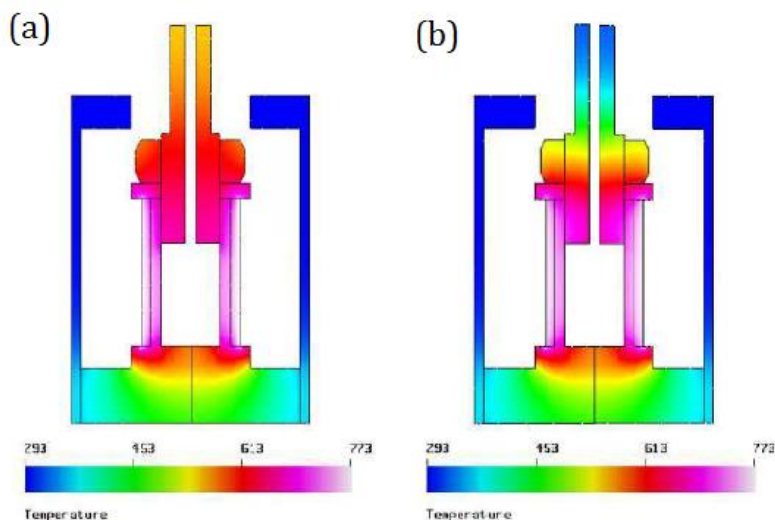


Figura 7: Distribuição térmica do reator com ponteira de cobre, (a), e com uma ponteira de aço inoxidável, (b), para uma temperatura de aquecimento do reator de 773 K [10]. Distribuição feita no programa Gmsh.

O reator de vaporização é apresentado na Figura 6. Possui um recipiente de aço, onde é colocada a amostra, o qual está isolado eletricamente do restante do espectrómetro, à semelhança da fonte de radiação, por um tubo de nitreto de boro. O nitreto de boro é um material com uma elevada condutividade térmica e em simultâneo um excelente isolador elétrico, com um ponto de fusão de 3246 K. Ao redor do tubo de nitreto de boro existe um filamento de molibdénio, Mo, com uma pureza de 99% e diâmetro de 1 mm, enrolado em dupla hélice. Aos terminais do filamento, conforme a informação do controlador PID, é aplicada uma diferença de potencial de 5 V, capaz de produzir uma corrente de 12 A. Esta corrente é suficiente para deixar o filamento incandescente e haver transferência de energia para o interior do recipiente, por condução. A frequência com que os terminais do filamento são alimentados é otimizada pelo controlador PID de modo a obter a temperatura programada pelo utilizador. O relé de estado sólido é o elemento que recebe a informação do controlador PID e interrompe a alimentação dos filamentos. O controlo da temperatura é detalhado no subcapítulo 2.3.8 *Controlo e aquisição de dados*. A temperatura é monitorizada por um termopar tipo K que está colocado em contacto direto com a parede externa do recipiente. Tanto o termopar como o filamento de molibdénio estão isolados da base do reator por cerâmicas de óxido de alumínio. Uma vez a amostra evaporada, a diferença de pressão faz com que esta se encaminhe para a região de fotoionização através de uma ponteira de cobre. [10]

Uma das mais-valias deste sistema é o facto do reator de vaporização estar aco- plado à célula de reação evitando perdas por condensação. Uma vez a amostra eva- porada, esta deixa a região aquecida e começa a perder energia. Quanto maior o per- curso que a amostra percorre, desde que é evaporada até à região de fotoionização, maiores são as perdas de energia, consequentemente, maior é o risco da amostra con- densar, levando à perda de sinal. Pode dar-se o caso da condensação obstruir comple- tamente da passagem, bloqueando o fluxo da amostra. Com este reator as perdas por condensação são mínimas, uma vez que o trajeto a percorrer pela amostra é muito pequeno, aproximadamente 2 cm. As perdas de amostra devido à condensação tam- bém são reduzidas pelo facto da ponteira do reator ser de cobre. Na Figura 7 são apre- sentados os resultados de duas simulações de distribuição térmica no reator, uma com uma ponteira de cobre (a) e outra com uma ponteira de aço inoxidável (b). Como é visível, dada a elevada condutividade térmica do cobre face à do aço inoxidável, a temperatura ao longo da ponteira de cobre não decai tão abruptamente quanto na ponteira de aço, o que minimiza as transferências de energia da amostra para o mate- rial, evitando a sua condensação.

2.3.3 Célula de reação

É na célula de reação (Figura 6) que ocorre a ionização da amostra por interação com a radiação ultravioleta. A célula de reação é uma peça de aço inoxidável com uma abertura na lateral para a entrada de fótons, uma abertura na parte inferior para a entrada da amostra na região de fotoionização e uma abertura superior para evacuar a amostra. Apresenta ainda duas fendas com, aproximadamente, 1 mm nas laterais alinhadas com o analisador para colimar o feixe de fotoelétrons antes de entrar no analisador.

Apesar de serem removidos elétrons da amostra em todas as direções, apenas os elétrons ejetados segundo um ângulo de, aproximadamente, 90° com os dois feixes (de radiação e da amostra) vão entrar no analisador. A célula de reação é extremamente vantajosa uma vez que aumenta a concentração de amostra no seu interior o que, por sua vez, aumenta a intensidade do sinal.

2.3.4 *Analisador*

O analisador é uma das peças fundamentais de qualquer espectrômetro de fotoelétrons. Trata-se de um analisador electrostático de setor hemisférico, o qual é constituído por dois hemisférios concêntricos, isolados eletricamente um do outro e do restante espectrômetro. Os hemisférios apresentam raios de $R_1 = 180$ mm e $R_2 = 220$ mm, e raio médio $R_0 = 200$ mm, tal como indicado na Figura 8. Quando uma diferença de potencial é aplicada aos hemisférios gera-se um campo elétrico entre ambos.

Os fotoelétrons que entram no analisador ficam sujeitos ao campo elétrico. As tensões aplicadas são sempre simétricas e variam de 0 V a 4 V no hemisfério interior e de 0 V a -4 V no hemisfério exterior. Para cada uma das diferenças de potencial aplicada apenas os fotoelétrons com uma determinada energia cinética, adquirida no processo de fotoionização, têm a capacidade de percorrer o analisador sem colidir com os hemisférios. Deste modo conseguimos realizar um varrimento da energia cinética dos fotoelétrons que entram no analisador.

A energia cinética dos fotoelétrons que conseguem chegar ao detetor, percorrendo todo o analisador, E_0 , é obtida em função da diferença de potencial entre os hemisférios, ΔV , como na equação seguinte:

$$E_0 = Cq\Delta V \quad (7)$$

Onde C é a constante de calibração dada por $C = \frac{R_1 R_2}{\gamma(1+\xi) R_0 \Delta R}$, com R_0 o raio médio dos hemisférios e $\Delta R = R_2 - R_1$ a diferença entre os raios dos hemisférios [10].

Os parâmetros ξ e γ estão relacionados, respetivamente, com a centralidade e polarização da entrada do analisador. Considerando uma entrada centralizada, ou seja, uma entrada perfeitamente alinhada com o raio médio do analisador, e à qual não é aplicado qualquer potencial elétrico, $\xi = \gamma = 1$. Usando os valores dos raios dos hemisférios, obtemos:

$$\Delta V = \frac{E_0}{2,475 q} \quad (8)$$

Com ΔV em V e E_0 em eV [10].

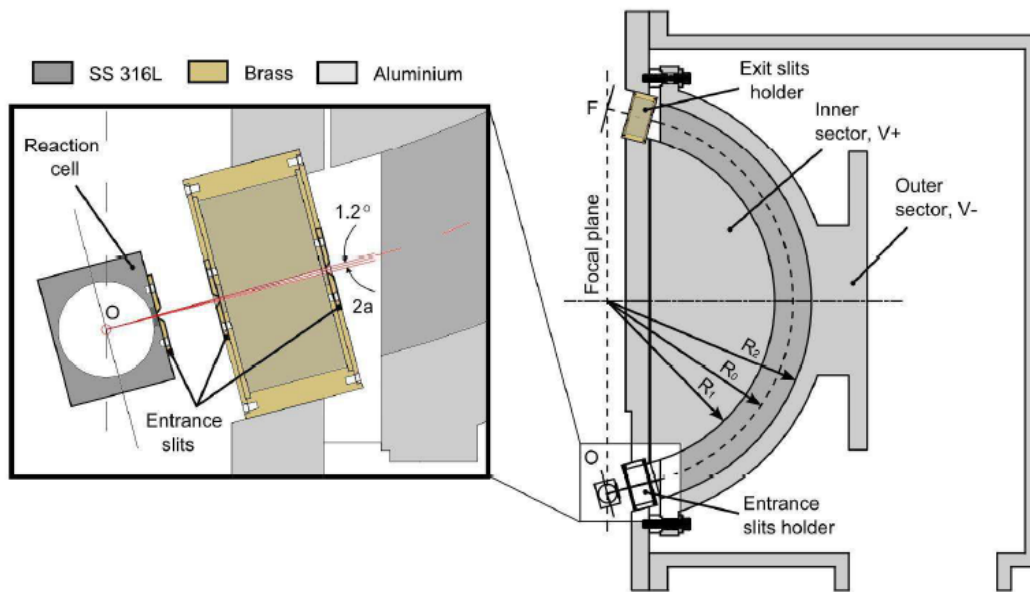


Figura 8: Esquema do analisador hemisférico de energia do espectrómetro utilizado [10].

2.3.5 Detetor

A corrente gerada por algumas centenas de eletrões é tão baixa que não possuímos aparelhos com capacidade de a detetar de forma direta. Para resolver esta incapacidade a presença de um detetor torna-se imprescindível.

O detetor é um multiplicador de elétrons, também conhecido por canaltrão. É constituído por um tubo curvo, revestido de um material com alta resistividade elétrica, Figura 9. Aos terminais do canaltrão é aplicada uma diferença de potencial, tipicamente de 2,6 kV, acelerando os fotoelétrons para o seu interior.



Figura 9: Detetor tipo canaltrão.

Sempre que um fotoelétrão chega ao detetor é acelerado para o seu interior por ação da tensão positiva aplicada ao canaltrão. Quando o fotoelétrão entra no canaltrão embate na parede interna promovendo a libertação de elétrons secundários. Estes, por sua vez, são também acelerados para o interior do canaltrão e vão embater nas paredes promovendo a libertação de mais elétrons secundários. Deste modo é desencadeado um processo em avalanche que, a cada fotoelétrão que entra no canaltrão é gerado um pulso de corrente mensurável.

O sinal produzido por um canaltrão é um pulso de corrente cuja intensidade é proporcional ao ganho do canaltrão. A largura deste pulso é de aproximadamente 10 ns. O ganho típico deste tipo de detetores é de 10^8 [10], ou seja, por cada fotoelétrão detetado o canaltrão produz um pulso de $1,6 \times 10^{-11} C$. Supondo que chegam ao detetor 10^3 fotoelétrons por segundo, o pulso gerado apresenta uma intensidade de 16 nA.

2.3.6 Sistema de bombeamento

As condições ideais de trabalho são alcançadas quando o espectrômetro se encontra em alto-vácuo. Assim garantimos que o percurso livre médio dos fotoeletrões é muito superior ao percurso que têm que efetuar até ao detetor.

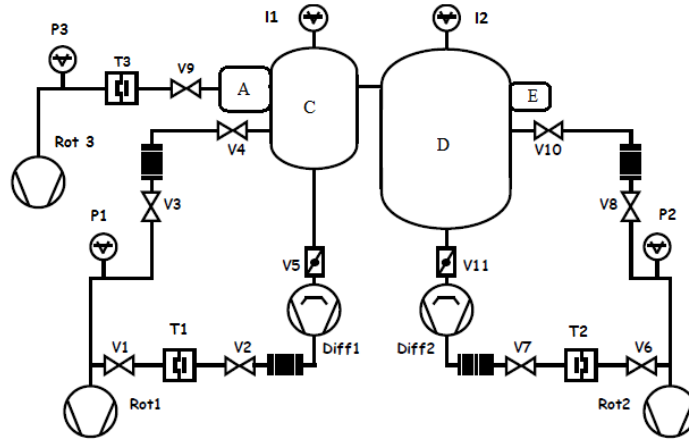


Figura 10: Esquemático do sistema de bombeamento do espectrômetro.

O sistema de bombeamento do espectrômetro está esquematizado na Figura 10 e conta com três bombas rotatórias (Rot1, Rot2 e Rot3), duas bombas difusoras (Diff1 e Diff2), três condensadores (T1, T2 e T3) e cinco manómetros, três do tipo *Pirani* (P1, P2 e P3) e dois *Ion Gauges* (I1 e I2). Fazem também parte do sistema nove válvulas de membrana (V1, V2, V3, V4, V6, V7, V8, V9 e V10) e duas válvulas borboleta (V5 e V11).

Este é um sistema de bombeamento diferencial, *By-pass*, com dois estágios. O primeiro que atinge pressões de vácuo primário na ordem dos 10^{-2} mbar, e um segundo estágio para pressões de alto vácuo, com pressões até 2×10^{-6} mbar. No processo de bombeamento do espectrômetro o segundo estágio apenas é iniciado quando o primeiro está concluído.

No primeiro estágio as bombas rotatórias Rot1 e Rot2 são ligadas e dá-se início ao bombeamento da câmara do analisador (D) pelo sistema *By-pass* abrindo as válvulas de membrana V8 e V10, e seguidamente inicia-se o bombeamento da câmara da região de fotoionização (C), também pelo sistema *By-pass*, abrindo as válvulas V3 e V4. Uma vez as duas câmaras a serem bombeadas deve esperar-se até que a pressão entre na região de 10^{-2} mbar.

Uma vez terminado o primeiro estágio fechamos o sistema *By-pass*, fechando as válvulas V4 e V10 seguidas das válvulas V3 e V8. No segundo estágio são necessárias as bombas difusoras, no entanto estas apenas podem operar a partir de vácuo primário. Para tal, com as bombas rotatórias ligadas, são abertas as válvulas V1 e V6, V2 e V7. Quando a pressão no interior das bombas difusoras D1 e D2 estabilizar em pressões de vácuo primário (10^{-2} mbar) podemos então abrir as válvulas borboleta V5 e V11 para conectar as bombas difusoras ao analisador e à região de fotoionização. Uma vez todo o sistema com pressões de vácuo primário podemos ligar as bombas difusoras e esperar que o sistema atinga pressões de alto vácuo, 2×10^{-6} mbar.

Os condensadores T1, T2 e T3 têm como função evitar a migração de óleos das bombas rotatórias para regiões de baixa pressão.

A bomba rotatória R3 é utilizada para evacuar a fonte de radiação, podendo ser ligada em qualquer dos estágios. Esta bomba deve ser ligada antes de ligar a fonte de radiação.

2.3.7 Blindagem ao campo magnético

Todo o espectrómetro está sujeito à presença de campos magnéticos, não só o terrestre, mas também os campos gerados pelos aparelhos elétricos ao seu redor (telemóveis, computadores, etc.). Os fotoelétrons de baixa energia, como partículas carregadas, são fortemente sensíveis ao campo magnético. A sua trajetória é portanto afetada pela presença de campos magnéticos externos, de acordo com a seguinte expressão:

$$F_M = |q|vB\sin\theta \quad (9)$$

Onde F_M representa a força sentida pelos fotoelétrons com uma carga q e velocidade v na presença de um campo magnético B . O ângulo θ é o ângulo formado, no plano, pelo vetor da velocidade v e pelo vetor do campo magnético B [11].

Para evitar que o campo magnético influencie os resultados, o espectrómetro possui um sistema de blindagem composto por três pares de bobinas de Helmholtz. As bobinas estão dispostas nas direções: este-oeste, norte-sul e vertical. Ao fazemos passar corrente nas bobinas gera-se um campo magnético induzido na direção normal ao plano da respetiva bobina. Este campo magnético induzido é utilizado para contrabalançar o campo magnético externo, fazendo com que os fotoelétrons não sofram alterações de trajetória.

As bobinas são alimentadas por uma fonte de corrente constante DC que fornece 0,5 – 1,2 A ajustáveis manualmente através de potenciômetros. Com o auxílio de um gaussímetro (medidor de campo magnético), colocado paralelamente à direção de uma bobina, regula-se a corrente da respetiva bobina para que a leitura no gaussímetro seja nula. Este processo é repetido para todas as bobinas até que o campo magnético seja completamente contrabalançado em todas as direções.

2.3.8 Controlo e aquisição de dados

As unidades de controlo e operação do sistema de bombeamento, bobinas de Helmholtz, detetor e da fonte de radiação estão reunidas todas na mesma *rack*, Figura 11.



Figura 11: *Rack* com as unidades de controlo e operação da fonte de radiação, bobinas de Helmholtz, sistema de bombeamento e detetor.

Os monitores do vacuómetro de condutividade térmica *Pirani* e do vacuómetro de ionização de cátodo quente *Ion gauges* da câmara do analisador e da câmara da região de fotoionização estão montados no mesmo suporte, onde o utilizador pode ligar e desligar os vacuómetros e visualizar, em simultâneo, as pressões das duas câmaras.

A fonte de radiação é alimentada de fonte de tensão constante com a capacidade de fornecer 150 mA a 4000 V no máximo (600 W).

No que toca ao detetor, a tensão aplicada (2500 – 3000 V) pode ser controlada pelo utilizador na respetiva unidade de operação bem como ligar e desligar o amplificador. O utilizador pode também ter uma rápida visualização do número de contagens, através do medidor de taxa de contagens instalado na unidade.

O programa de aquisição foi desenvolvido por Guilherme Pereira [12]. A linguagem utilizada para desenvolver o programa foi o LabView. Na Figura 12 é apresentada a janela de interface gráfica com o utilizador. O funcionamento do programa é integrado com uma placa de aquisição da *National Instruments* denominada NI PCI-6230. Esta placa permite aplicar tensões com amplitude de ± 10 V e resolução de 0,31 mV em dois canais controlados separadamente.

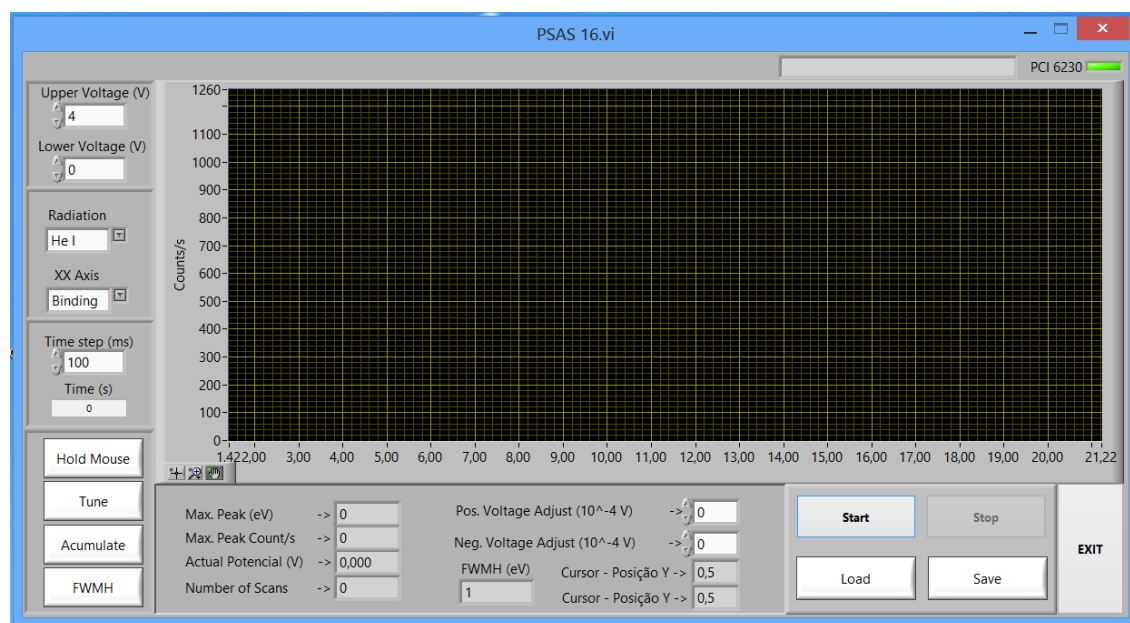


Figura 12: Janela de interface com o utilizador do programa de aquisição de dados

O sistema de alimentação do reator de vaporização é constituído por três elementos principais: Fonte de alimentação ATX de 500 W; Relé de estado sólido (SSR, do inglês: *solid state relay*); Controlador proporcional integral diferencial (PID, do inglês: *proportional-integral-diferencial*).

A fonte de alimentação ATX é um tipo de fonte de alimentação usada para alimentação de componentes sensíveis de computadores apresentando portanto um

output DC bastante preciso. Esta fonte tem a capacidade de fornecer um máximo de 18 A a 12 V DC.

O relé de estado sólido funciona como uma interruptor que liga/desliga a alimentação da resistência de aquecimento. Através de uma tensão de 5 V, aplicada ao *gate* do relé, ele interrompe a ligação do *output* de 12 V da fonte ATX com a resistência de aquecimento. A frequência com que a ligação é interrompida é controlada pelo controlador PID.

O controlador PID é o modelo de controlo de temperatura 3300 da CAL Controls [13]. Este controlador recebe o sinal de um sensor de temperatura, neste caso um termopar tipo K, e ajusta a frequência do sinal de saída que alimenta o relé. O controlador permite que o utilizador faça *autotune*, ajustando automaticamente os melhores parâmetros para o PID de acordo com o método de aquecimento programado e regulado com a própria inércia de aquecimento do sistema a ser aquecido [10].

2.2.9 Montagem Experimental e Calibração

A Figura 13 apresenta a montagem experimental utilizada nos estudos espectroscópicos.

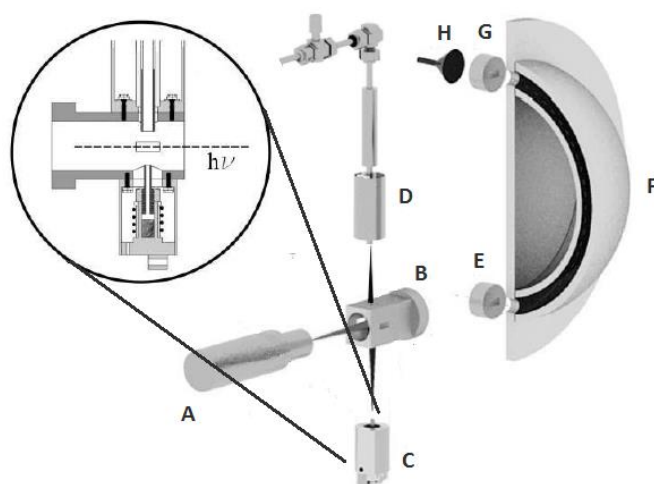


Figura 13: Esquemático da montagem experimental, com uma vista detalhada do reator de vaporização. A - fonte de radiação UV, B - célula de reação, C - reator de vaporização, D - sistema de admissão de gases no interior do espectrómetro, E - fenda de entrada no analisador, G - fenda de saída, F - analisador hemisférico, H - canaltrão. Adaptação de [10].

Os diversos componentes foram descritos anteriormente. A amostra é colocada no reator de vaporização (C) onde é aquecida e evaporada sendo encaminhada para a célula de reação (B) para ser ionizada por radiação UV proveniente da fonte de radiação (A). Os fotoelétrons resultantes do processo de ionização entram no analisador (F) e apenas os que apresentam a energia cinética de acordo com a tensão aplicada nos hemisférios colidem com o detetor (H).

A calibração da escala de energia foi realizada com recurso às duas riscas de ionização do Ar e de H₂O residual presente no sistema. A admissão de Ar no interior do espectrómetro foi realizada através do sistema de admissão de gases na parte superior da célula de reação (D).

Revisão do espectrômetro

3.1 Introdução

O espectrômetro de fotoeletrões utilizado neste projeto de dissertação apresentava, inicialmente, alguns problemas de funcionamento que tiveram de ser solucionados antes de darmos início ao estudo da amostra. O trabalho de revisão do espectrômetro contou com a colaboração do colega Guilherme Pereira e foi extremamente moroso ocupando, aproximadamente, cinco meses de trabalho.

Neste capítulo vão ser descritas de forma pormenorizada as várias etapas que decorreram durante a recuperação do espectrômetro, bem como as principais dificuldades sentidas para as ultrapassar. Este capítulo tem também como objetivo deixar um registo de possíveis soluções de problemas que o espectrômetro possa vir a apresentar em trabalhos futuros.

3.2 Fonte de Radiação

A primeira fase passou pela recuperação da fonte de radiação. Ao ser aplicado um potencial elétrico à extremidade do capilar onde se encontrava o hélio o processo de formação de plasma não ocorria, não produzindo radiação ultravioleta. Este problema estava a ser causado pelo tubo de nitreto de boro que isola eletricamente o capilar do restante espectrômetro. Com o uso criaram-se pequenas fissuras na parede externa do tubo devido à fricção causada pelas porcas que fixam o tubo, originando pontos de fuga.

Para solucionar este problema, o tubo de nitreto de boro que estava instalado foi removido e substituído por um novo. O tubo disponível no laboratório não tinha as dimensões corretas, pelo que teve de ser maquinado nas oficinas do Departamento de Física com as dimensões indicadas na **Figura 14**. O nitreto de boro é uma cerâmica muito rígida, o que faz com que a sua maquinação tenha de ser feita com extrema precaução para não rachar a cerâmica.

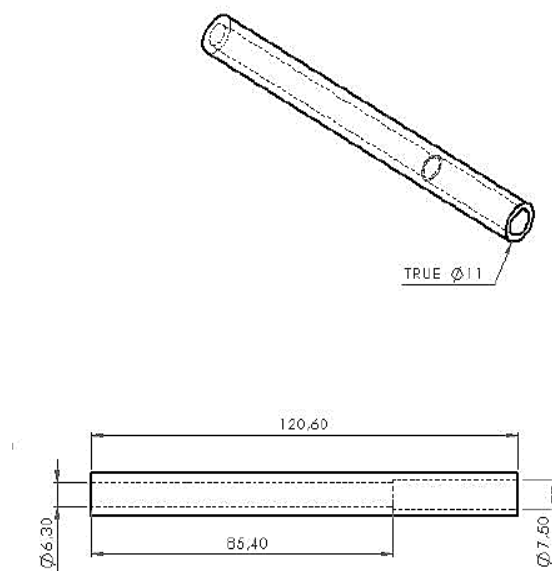


Figura 14: Esquema do tubo de nitreto de boro que foi maquinado para colocar na fonte de radiação. Todas as medidas em milímetros.

Depois destas alterações realizadas a descarga iniciou-se normalmente a uma diferença de potencial de aproximadamente 2 kV. Conseguimos então ter a fonte de radiação ligada durante longos períodos de tempo com uma descarga de 50 mA e 600 V.

3.3 Bombas Difusoras

A manutenção das bombas difusoras é essencial para o bom funcionamento do espectrómetro. Estas bombas utilizam óleos de elevada viscosidade que, com o passar do tempo, degradam-se e migram para as zonas de baixa pressão. Ambas as bombas foram desmontadas do espectrómetro e os óleos foram removidos. Com acetona, limpou-se o interior das duas bombas. No final adicionou-se óleo até atingir os níveis indicados pelo fabricante e voltou-se a montar as bombas.

Testando o sistema de vácuo verificou-se a existência de uma fuga numa das bombas difusoras. A bomba em causa foi colocada em vácuo primário com o auxílio de uma das bombas rotatórias. Com uma pistola de pressão ligada à garrafa de hélio passamos hélio em todos os lugares vedados por O-rings e nas serpentinas de refrigeração. A fuga foi então detetada na parte inferior da bomba, no O-ring do nível de óleo. O O-ring estava seco e completamente rígido, não vedando corretamente. O O-ring foi então substituído, bem como os O-rings das válvulas borboleta de ambas as bombas difusoras, os quais apresentavam alguns sinais de desgaste. Após esta manutenção, as bombas difusoras passaram a conseguir atingir níveis de alto-vácuo, na ordem dos 2×10^{-6} mbar.

3.4 Analisador

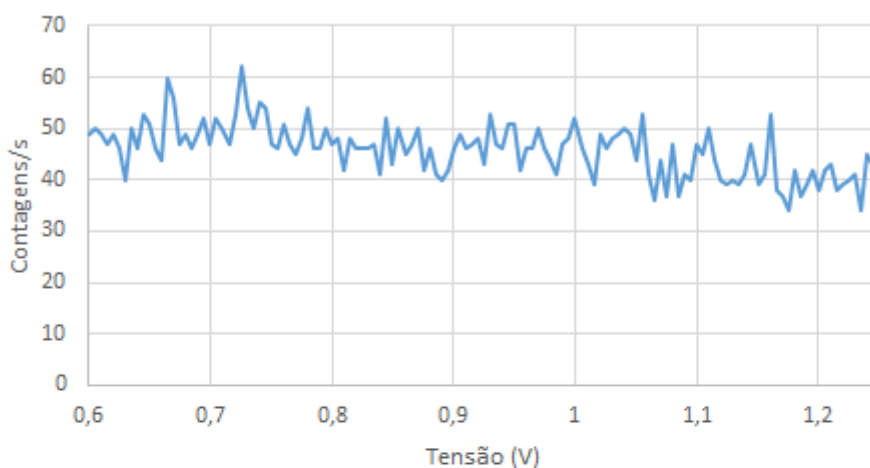
Uma vez que a fonte de fotões ultravioleta e as bombas de vácuo estavam a funcionar sem limitações, foi feita uma tentativa de recolha de espectro do árgon. Apesar das melhorias conseguidas continuávamos sem obter um registo das riscas do árgon.



Figura 15: Vários momentos do processo de manutenção dos hemisférios do analisador. Em cima os hemisférios após ser retirada a camada de grafite. Em baixo, colocação de uma nova camada de grafite.

A existência de potenciais locais no interior do espectrómetro, criados pela contaminação das suas paredes pelas amostras utilizadas, é uma das causas de deterioração da resolução do espectrómetro. Para despirar a possível existência destes potenciais locais foi feita a manutenção do analisador de energia. Ao abrirmos a câmara do analisador verificamos a existência de manchas na pintura dos hemisférios do analisador. Estas manchas significam que a densidade de grafite ao longo do eletrodo não é uniforme, podendo criar potenciais locais e consequentemente desviando os fotoelétrons da sua trajetória.

Árgon



Árgon

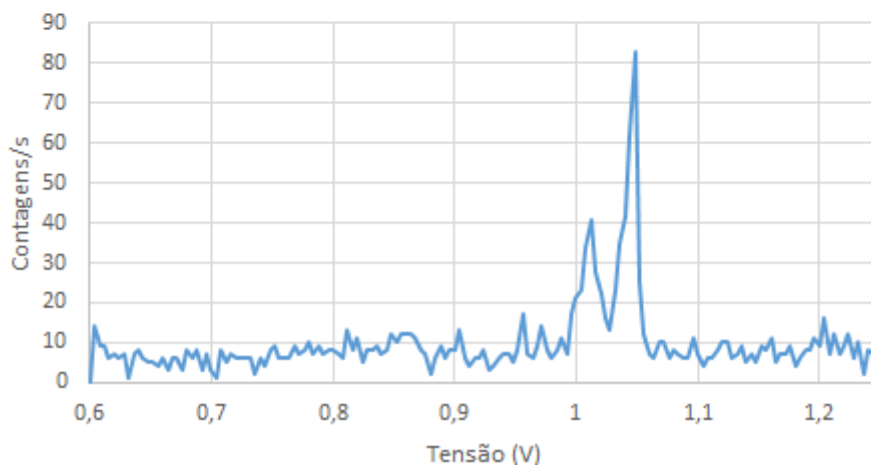


Figura 16: Espectro antes da manutenção dos hemisférios do analisador (em cima) e após a sua manutenção (em baixo).

O analisador foi desmontado e retirada a camada de grafite dos hemisférios com ajuda de acetona. Seguidamente foi colocada uma nova camada fina e homogénea de grafite por pulverização de solução de grafite coloidal (DAG 580) em álcool etílico usando um aerógrafo. Este é um trabalho demorado e requer muita prática para garantir a uniformidade da camada depositada. Na Figura 15 estão registados alguns momentos deste trabalho.

Uma vez feita a manutenção do analisador voltamos recolher espectros de árgon, desta feita com sucesso apesar de ainda apresentar poucas contagens. A Figura 16, em cima, mostra o espectro recolhido antes da manutenção, apenas com ruído de fundo. Em baixo, o primeiro espectro de árgon registado durante a dissertação.

3.5 Maximizar contagens

Uma vez obtido o primeiro espectro foi necessário maximizar as contagens. Para o efeito foi sempre utilizado o espectro de árgon que apresenta dois picos bem definidos a 15,76 eV e 15,94 eV [14].

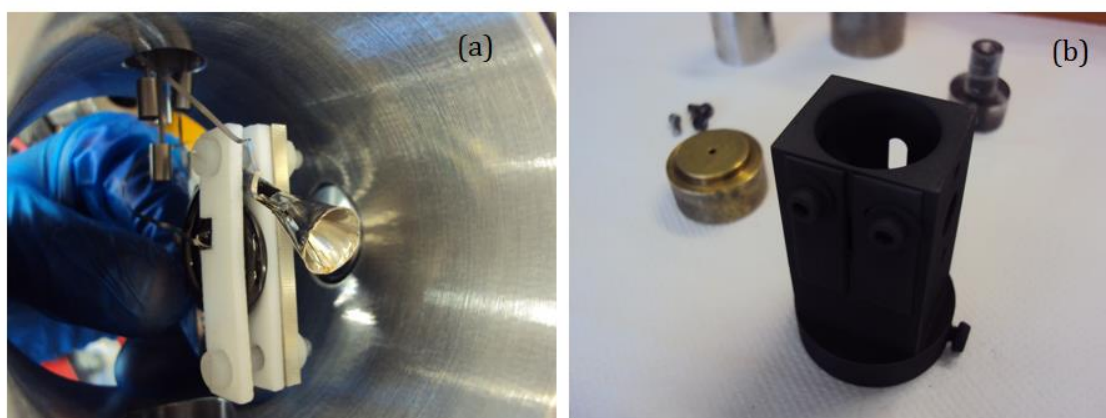


Figura 17: Em (a), alinhamento do detetor. Em (b), célula de reação antes de ser montada.

A célula de reação, imagem (b) da Figura 17, até então não utilizada, foi desmontada e limpa num banho de ultrassons. Após todas as peças estarem secas, foi colocada uma nova camada de grafite, à semelhança do que foi feito nos hemisférios do analisador. A célula de reação foi então montada e colocada na região de fotoionização. Aspectos importantes quanto à montagem da célula de reação são: em primeiro lugar, verificar se os pontos de suporte não possuem camada de grafite para que a célula de reação esteja completamente isolada do restante espectrómetro; em segundo lugar, é

necessário fazer um alinhamento preciso das fendas da célula de reação com a fenda de entrada do analisador.

Foi ainda verificado o alinhamento do detetor com a fenda de saída do analisador, imagem (a) da Figura 17.

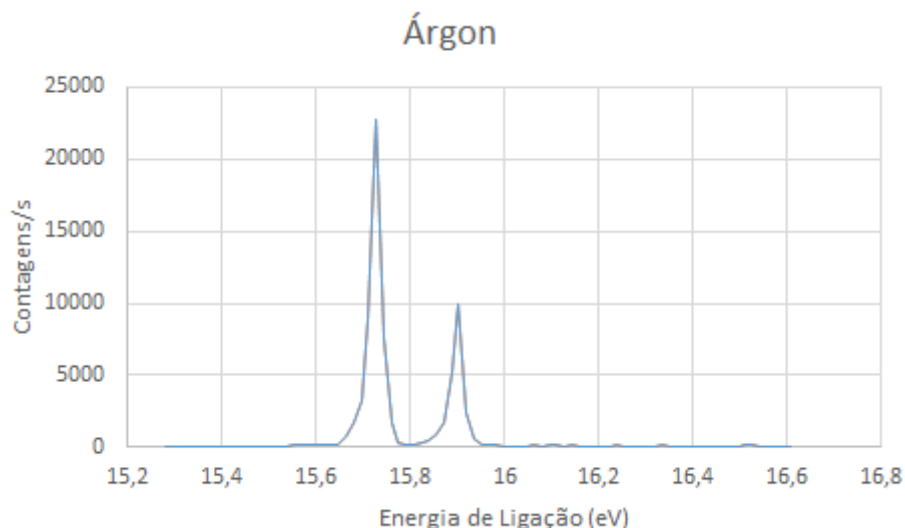


Figura 18: Espectro de fotoeletrões de ultravioleta do árgon após a revisão do espectrómetro.

Depois de feitas todas as alterações voltamos a recolher espectros de árgon, os quais apresentavam mais de 20.000 contagens por segundo, Figura 18.

3.6 Reator de Vaporização

Com o espectrómetro a funcionar em pleno faltava apenas testar um componente: o reator de vaporização. Este reator foi projetado e construído de origem pelo Professor Dr. Rui Pinto para a sua Tese de Doutoramento em 2011 [10].

O primeiro teste foi verificar se o termopar estava em condições. Ao retirarmos o termopar verificou-se, de imediato, que este estava oxidado, pelo que teve de ser substituído por um novo termopar tipo K. De referir que a junção do termopar foi feita nas oficinas do departamento e posteriormente moldada para caber no pequeno orifício em contacto com a parede externa do recipiente do reator.

Todas as ligações do reator ao passador de vácuo e do passador de vácuo à fonte de alimentação foram verificadas e substituídas as que apresentavam defeitos. Um aspeto importante é o isolamento das ligações no interior do passador de vácuo, uma

vez que o espaço no seu interior é reduzido. Os quatros cabos, dois para a resistência de aquecimento e dois para o termopar, devem estar bem isolados entre si e das paredes do passador de vácuo.

O reator foi testado no exterior do espectrómetro à pressão atmosférica e sem qualquer amostra no recipiente para várias temperaturas de modo a certificarmos de dois aspetos: primeiro, que a fonte de alimentação do reator estava a fornecer corrente suficiente para o aquecimento do filamento; e em segundo, para verificar que o controlador PID estava a conseguir um controlo estável da temperatura.



Figura 19: Fonte de alimentação do reator de vaporização e o controlador PID no canto superior esquerdo da caixa.

No que toca ao controlador PID não foi verificado qualquer problema. O mesmo não aconteceu com a fonte de alimentação a qual avariou ao fim de alguns testes. Não sendo possível identificar a causa da avaria, teve de se substituir a fonte de alimentação por uma idêntica à anterior, Figura 19.

Neste ponto, com o espectrómetro e o reator de vaporização operacionais, podemos dar início aos primeiros estudos com esteroides.

Adrenosterona

4.1 Introdução

Isolada pela primeira vez em 1936, a adrenosterona é uma feromona de enorme interesse para a medicina uma vez que se converte em uma hormona conhecida como 11-ketotestosterone, que está presente em pequenas quantidades no corpo humano e é a principal hormona sexual nos peixes [4]. Por promover perdas de gordura e estimular ganhos de massa muscular de forma rápida, desde 2007, a adrenosterona foi comercializada como suplemento alimentar para desportistas [5].

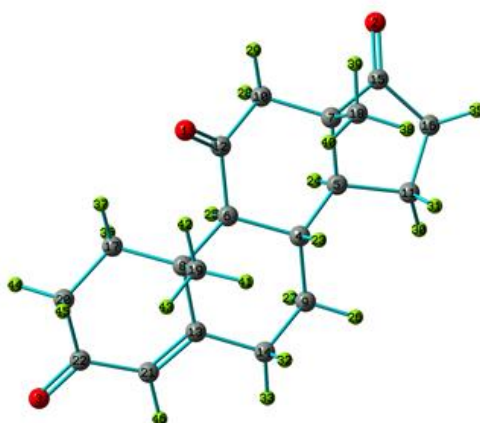


Figura 20: Estrutura molecular do adrenosterona. Átomos de carbono a cinzento, de hidrogénio a verde e a vermelho os átomos de oxigénio [3].

O adrenoesterona, 4-Androstane-3, 11, 17-trione é uma molécula composta por um sistema de 46 átomos, $H_{19}C_{24}O_3$, apresentando nas posições 3, 11 e 17 grupos funcionais simples compostos por apenas um átomo de oxigénio cada um, como sugerido na Figura 20.

Atualmente existem cálculos feitos para as possíveis bandas de ionização do adrenoesterona [3] como o apresentado na Figura 21 (espectro a vermelho), contudo não existia, até à data, nenhum trabalho experimental para poder ser comparado com o estudo teórico. Com este trabalho de dissertação obtivemos pela primeira vez um espectro de fotoelétrons de ultravioleta experimental de adrenoesterona.

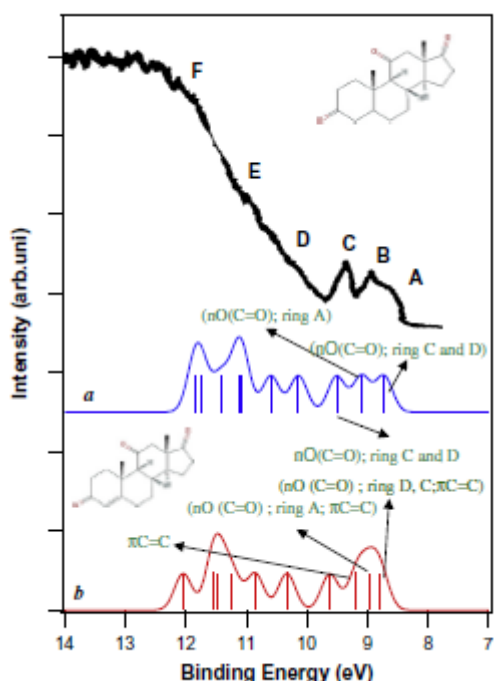


Figura 21: Espectro experimental de espectroscopia de fotoelétrons de ultravioleta do esteroide 5α -androstane-3, 11, 17-trione (linha preta) e respetivo espectro teórico (linha azul). Espectro teórico de Adrenoesterona (linha vermelha) [3].

Na Figura 21 estão ainda representados o espectro teórico (espectro a azul) do esteroide 5α -Androstane-3, 11, 17-trione e o respetivo espectro experimental (espectro a negro) recolhido em 1989 por T. Cvitas e os seus colaboradores [2]. Este esteroide é muito semelhante ao adrenoesterona, contendo igualmente um átomo de oxigénio nas posições 3, 7 e 17. A diferença entre as duas moléculas reside na ligação insaturada $C=C$ no anel A. Esta diferença é responsável por as moléculas apresentarem funções distintas em meio biológico. Contudo, esperamos que os espectros de UVPES de ambas sejam semelhantes.

4.2 Amostra

A amostra de adrenosterona foi comprada à Sigma Aldrich [15]. 5 g de 4-androstane-3,11,17-trione (Adrenosterona) com pureza $\geq 98\%$ medida por TLC (*Thin-layer chromatography*) e com um peso molecular de 300,39 g/mol.

Foram tomadas medidas de prevenção no manuseamento do composto, como recomendação do fabricante, nomeadamente, a utilização de luvas, máscara e óculos protetores.

4.3 Procedimento

O espectrómetro de fotoeletrões utilizado nesta dissertação está descrito anteriormente (Método experimental), bem como a montagem experimental realizada.

A recolha de espectros de fotoeletrões do adrenosterona foi morosa e resultou de um processo de aprendizagem, uma vez que existe muito pouca informação na literatura quanto a trabalhos laboratoriais com o adrenosterona ou compostos semelhantes. Para adquirir espectros de fotoeletrões foram necessários três dias de trabalho. Dois dias para preparar a amostra e reunir as condições ótimas de operação do espectrómetro e um terceiro dia para recolher espectros.

O primeiro dia foi reservado para deixar a amostra na estufa a 60 °C durante, aproximadamente, 24 h. Deste modo eliminamos, por evaporação, a presença de solventes residuais que possam estar presentes na amostra cuja tensão de vapor seja compatível com o regime de temperatura usado. Durante este período a camada de grafite da célula de reação que está contaminada com amostra foi removida com auxílio de um banho de ultrassons e acetona. Depois das diversas partes estarem limpas e secas procedeu-se à colocação de uma nova camada fina e homogénea de grafite por pulverização de solução de grafite coloidal (DAG 580) em álcool etílico, usando um aerógrafo. Este processo foi repetido sempre que se iniciava uma nova recolha de espectros uma vez que a camada de grafite no interior da célula de reação fica visivelmente contaminada em cada processo de vaporização da amostra.

No segundo dia a amostra foi retirada da estufa e colocada de imediato no interior do espectrómetro. Para atingir as pressões de alto-vácuo na ordem de $2,5 \times 10^{-6}$ mbar foi necessário ter as bombas difusoras e rotatórias em funcionamento durante aproximadamente 9 h, pelo que o segundo dia foi reservado apenas para atingir a pressão desejada.

Antes de começar o aquecimento da amostra foram realizados espectros para verificar as condições de resolução do espectrómetro e a transmissão do analisador. Os espectros recolhidos foram de Ar (árgon) e do O₂ (oxigénio). O espectro de Ar foi utilizado para verificar a resolução do espectrómetro através da medição da largura a meia altura (FWHM) da risca $(3p)^{-1} 2P_{3/2} Ar^+$. O espectro de O₂ foi utilizado para verificar a transmissão do analisador. O termo transmissão é utilizada para qualificar quão bem os fotoelétrões, especialmente os de baixa energia, percorrem o analisador sem serem desviados por campos eletrostáticos residuais. Espectros típicos de Ar e do O₂ são apresentados na Figura 22.

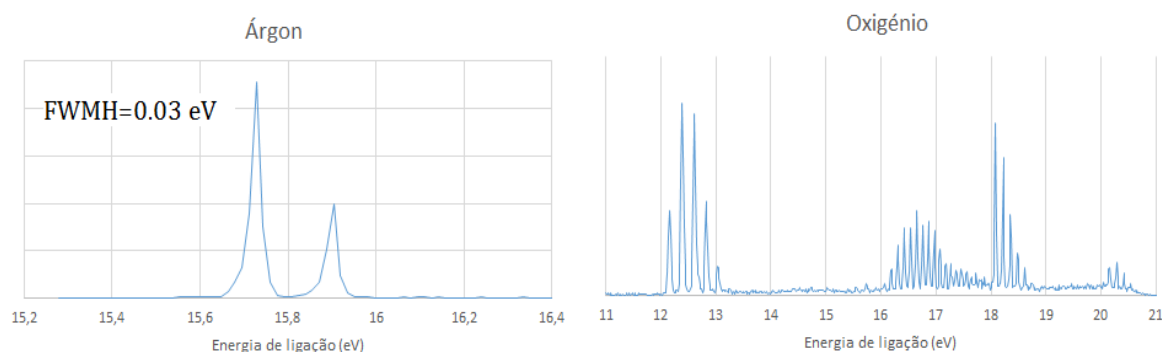


Figura 22: Espectros de Ar e O₂ recolhidos antes de dar início a recolha de espectros de adenos-terona. À esquerda o espectro de Ar para verificar a resolução do espectrómetro (tipicamente de 0,03 eV). À direita, um espectro de O₂ para verificar a transmissão do aparelho.

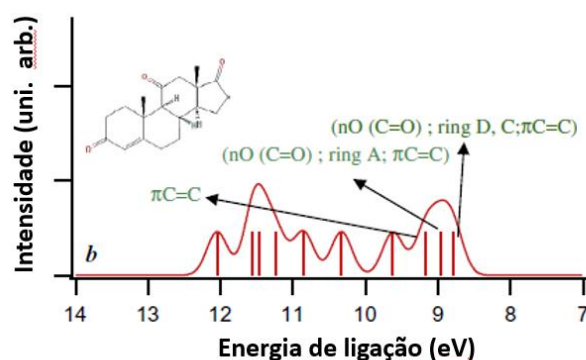
Observando o espectro de O₂ da Figura 22 (espectro da direita) podemos afirmar que o analisador apresenta uma boa transmissão, uma vez que a quinta banda de ionização está bem visível. A quinta banda de ionização do oxigénio (conjunto de picos mais à direita no espectro) corresponde a eletrões com uma energia de ligação superior a 20 eV, que ao serem removidos adquirem uma energia cinética inferior a 1 eV. Por possuírem uma energia cinética muito baixa estes fotoelétrões são extremamente sensíveis a qualquer campo eletrostático residual que se lhe apresente, fazendo com que facilmente se desviem da sua trajetória não chegando ao detetor, o que consequentemente diminui a transmissão. Apenas um espectrómetro cujo analisador apresenta uma elevada transmissão permite que estes fotoelétrões de baixa energia, removidos do oxigénio, sejam detetados em quantidade suficiente para formar uma estrutura vibracional bem definida, como a apresentada na Figura 22.

Uma vez averiguadas as condições operacionais do espectrómetro e caso nada de anómalo tivesse sido detetado, dávamos início ao aquecimento do reator. O aquecimento iniciava-se sempre de forma lenta e gradual, com o objetivo de aproximar a

temperatura do reator da temperatura de sublimação da amostra, mas nunca chegando à temperatura de evaporação. Este regime inicial de aquecimento foi sempre feito até atingir os 200 °C, com a temperatura a ser mantida durante aproximadamente dez minutos a 50 °C, 100 °C, 150 °C e 175 °C. A partir deste ponto iniciávamos a recolha de espectros com pequenos incrementos de temperatura, de 2 °C ou 1 °C. A sublimação da amostra dava-se entre os 205 °C e os 215 °C. Uma vez que a quantidade de amostra no interior do espectrómetro é limitada, quando a temperatura de sublimação era atingida dispúnhamos de, aproximadamente, vinte e cinco minutos para recolher espectros, antes de toda a amostra evaporar.

4.4 Resultados e discussão

Foi estudada a estrutura eletrónica do adrenosterona através de espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta. Todos os resultados teóricos apresentados resultam de um estudo realizado por Abyar Fatemeh e Farrokhpour Hossein no departamento de química da Universidade de tecnologia de Isfahan, Irão [3]. Neste estudo utilizaram o método SAC-CI (*Symmetry Adapted Cluster-Configuration Interaction*) para calcular as energias de ionização de vários esteroides importantes, incluído o adrenosterona. Para os propósitos desta dissertação não foram realizados estudos computacionais.



O espectro de fotoeletrões simulado por Fatemeh e Hossein do adrenosterona está apresentado na Figura 23. Neste são representadas as diferentes bandas de ionização previstas. Um espectro típico de fotoeletrões do adrenosterona, obtido a 210 °C, é apresentado na Figura 25, são indicadas as bandas de ionização. As energias de ionização experimentais das diferentes bandas, as respectivas incertezas associadas e a energias de ionização teóricas são apresentadas na Tabela 2, juntamente com o principal caráter da orbital molecular de onde são removidos eletrões que originam as bandas espectrais.

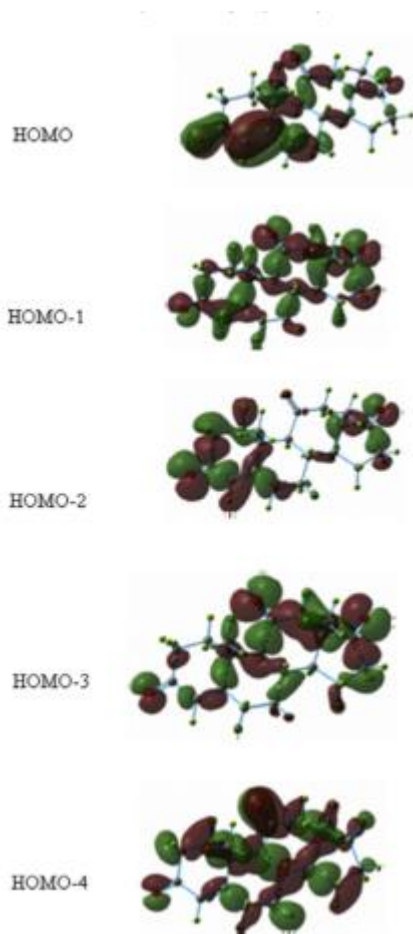


Figura 24: Principais orbitais moleculares do adrenosterona [3].

Na Figura 24 são apresentadas as distribuições espaciais das principais orbitais moleculares do adrenosterona, a orbital molecular ocupada mais energética, HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e as orbitais menos energéticas, HOMO-1, HOMO-2, HOMO-3 e HOMO-4. Estas representações das orbitais foram obtidas por Fatemeh e Hossein [3].

Como pode ser observado na Figura 25, apenas podem ser bem resolvidas bandas até aos 10 eV. Acima de 10 eV forma-se uma banda contínua, que embora tenha intensidades diferenciadas em algumas regiões, não nos permitem fazer medições quanto a valores de energia de ionização.

Pela Tabela 2, podemos observar que foram previstas duas bandas iniciais a 8,79 eV e a 8,97 eV que estão de acordo com os resultados obtidos experimentalmente, respetivamente $8,83 \pm 0,05$ eV (banda 1) e $9,02 \pm 0,04$ eV (banda 2). A banda 1 tem origem maioritariamente na orbital HOMO-1 (Figura 24) com um carácter n(O2) devido ao par de eletrões desemparelhados do átomo de oxigénio no anel D. Quanto a banda 2 originada pela orbital molecular HOMO-2 com um carácter n(O3) devido ao par de eletrões desemparelhados presentes no anel A.

A terceira banda calculada por SAC-CI com uma energia de ligação de 9,18 eV com origem na HOMO e com um carácter π (C13-C21) devido a ligação insaturada de átomos de carbono do anel A, não corresponde aos resultados obtidos experimentalmente. A terceira banda obtida experimentalmente tem uma energia de ligação de $9,42 \pm 0,03$ eV (banda 3).

A quarta banda prevista a 9,62 eV foi identificada experimentalmente com uma energia de ligação de $9,59 \pm 0,02$ eV (banda 4) a qual se deve à orbital HOMO-3 apresenta um carácter n(O1) devido ao par de eletrões desemparelhados do anel C. Foi ainda prevista uma quinta banda de ionização, com energia de ligação 10,33 eV e carácter σ (C8-C17) da orbital HOMO-4, que não foi identificada experimentalmente.

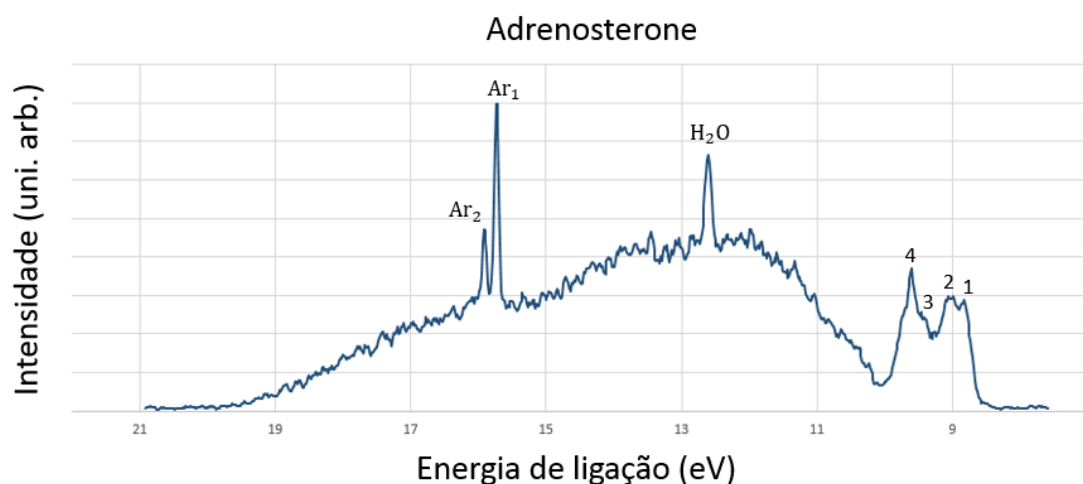


Figura 25: Espectro de fotoeletrões do adrenosterona recolhido a 210 °C. Com as bandas de ionização 1, 2, 3 e 4 identificadas e também os picos de H₂O e Ar.

Tabela 2: Energias de ligação previstas e obtidas experimentalmente, juntamente com o principal caráter das orbitais envolvidas no processo de ionização do adrenosterona.

<i>Banda</i>	Orbital molecular	Energia de ligação experimental [eV]	Previsão [eV]	Caracter
1	HOMO-1	8,83 ± 0,05	8,79	n(O2)
2	HOMO-2	9,02 ± 0,04	8,97	n(O3)
3	HOMO	9,42 ± 0,03	9,18	π (C13-C21)
4	HOMO-3	9,59 ± 0,02	9,62	n(O1)
5	HOMO-4		10,33	σ (C8-C17)

O adrenosterona trata-se de uma molécula que não segue o teorema de Koopman, como pode ser observado na Tabela 2. A primeira banda tem principal contribuição da HOMO-1 e não da HOMO, que segundo o teorema de Koopman, seria a responsável pela primeira banda de ionização. O teorema falha também para a segunda e terceira bandas. A falha ao teorema de Koopman deve-se à energia de relaxação da orbital, que representa a variação em energia de uma orbital do estado neutro para o estado iónico. Levando a que a HOMO de uma molécula no estado neutro não continue a ser HOMO no estado iónico [9]. Em tais casos várias energias de ionização podem estar associadas a uma orbital.

Os resultados teóricos para as bandas de ionização do adrenosterona apresentam um desajuste quanto as bandas experimentais observadas. O método de cálculo usado obtém resultados de acordo com as observações experimentais para orbitais com caráter n(O1), n(O2) e n(O3) com um desvio médio de 0,04 eV. Já para orbitais com caráter π e σ o método falha em prever as bandas de ionização do adrenosterona. Torna-se, portanto, necessário melhorar os métodos de cálculo utilizados para a previsão de bandas do adrenosterona.

4.5 Cortisona

Além do adrenosterona foram iniciados estudos espectroscópicos de fotoeletrões de outra hormona, a cortisona. É a principal hormona libertada pelo organismo em resposta ao *stress*, sendo um composto de enorme importância, usado em diversos ramos da medicina.

A cortisona é composta por 54 átomos, $C_{21}H_{28}O_5$, apresentando na posição 3 e 11 (Figura 1) um grupo funcional simples composto por apenas um átomo de oxigênio e

na posição 17 encontra-se um grupo funcional formado por dois átomos de carbono, quatro de hidrogénio e três de oxigénio como é visível na Figura 26, imagem da esquerda. A amostra foi comprada na Sigma Aldrich [15] com uma pureza $\geq 98\%$ e com um peso molecular de 360,44 g/mol.

Até à data não existia nenhum espectro UVPES experimental para a cortisona disponível na literatura, apenas estudos teóricos como o apresentado na Figura 26 (imagem da direita), realizado pelo mesmo grupo de investigadores que realizou o estudo do adrenosterona. Os estudos espectroscópicos aqui apresentados foram realizados nas mesmas condições que os do adrenosterona, com a diferença que a temperatura de sublimação da cortisona é entre os 220 e os 230 °C. Por falta de tempo não foi possível fazer a calibração dos espectros recolhidos para a cortisona.

Na Figura 27 é apresentado o aspeto típico de um espectro de cortisona recolhido a 225 °C onde é possível identificar seis bandas de ionização. Numa primeira análise é possível identificar semelhanças quanto a distribuição das bandas de ionização entre o espectro recolhido e o previsto (Figura 26, imagem da direita) feitas para dois isómeros da cortisona pelo grupo de Abyar Fatemeh e Farrokhpour Hossein [3].

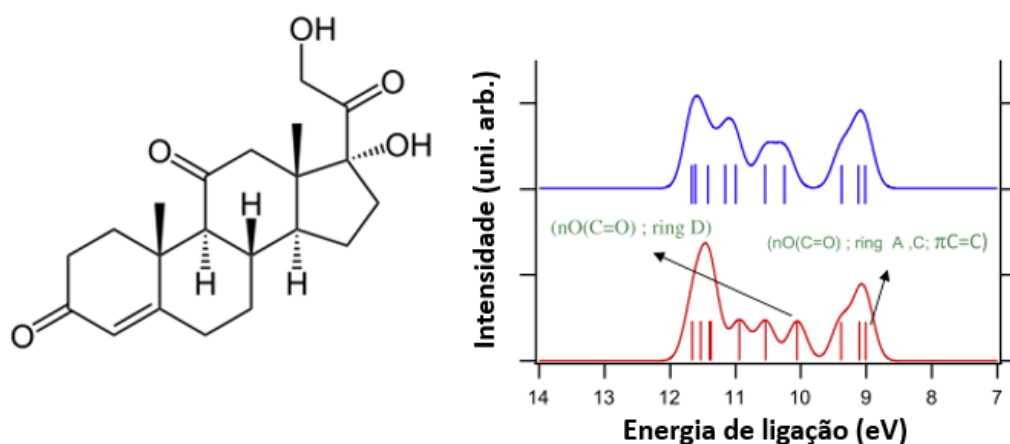


Figura 26: À esquerda estrutura molecular da cortisona. À direita espectros de fotoeletrões para dois isómeros da cortisona calculados por SAC-CI [3].



Figura 27: Espectro de fotoelétrons de ultravioleta da cortisona recolhido a 225 °C não calibrado. São identificadas (1 - 8) diferentes bandas de ionização.

5

Conclusões

Com este projeto de dissertação foram realizados os primeiros espectros experimentais de espectroscopia de fotoeletrões de ultravioleta para os esteroides adrenosterona e cortisona. Foram identificadas as primeiras quatro bandas de ionização do adrenosterona: Banda 1 - $8,83 \pm 0,06$ eV ($n(O2)$); Banda 2 - $9,02 \pm 0,04$ eV ($n(O3)$); Banda 3 - $9,42 \pm 0,03$ eV ($\pi(C13-C21)$); Banda 4 - $9,59 \pm 0,02$ eV ($n(O1)$). Para a cortisona, foram apenas iniciados os estudos espectroscópicos, sem calibração dos espectros. Contudo, foi possível identificar várias bandas de ionização analisando espectros de forma isolada e comparando com os resultados teóricos.

Foi criado um protocolo para a realização de testes em esteroides, dividido em três dias. No primeiro a amostra é colocada numa estufa durante 24 h, para eliminar possíveis solventes presentes no composto cuja tensão de vapor seja compatível com o regime de temperatura utilizada. No segundo dia a amostra é colocada no espectrómetro e iniciado o sistema de bombeamento até atingir pressões na ordem de $2,5 \times 10^{-6}$ mbar (alto-vácuo). No terceiro dia são verificadas as condições operacionais do espectrómetro, inicia-se o aquecimento do reator de vaporização e finalmente dá-se início à recolha de espectros.

Foi descrito todo o processo de manutenção do espectrómetro no qual foram abordadas várias temáticas como a manutenção da fonte de radiação, bombas difusoras, analisador, célula de reação, detetor e reator de vaporização. A realização destes testes requer muita prática e precisão por parte do operador, uma vez que obriga à manutenção constante de toda a região de fotoionização. Uma das grandes limitações deste trabalho reside na quantidade de amostra que é possível utilizar em cada teste. A amostra que é evaporada está limitada ao volume do reservatório do reator sendo por

isso necessário encontrar um equilíbrio entre o tempo de aquisição e o número de espectros recolhido por dia.

Verificou-se a existência de um desajuste entre os resultados teóricos e os obtidos experimentalmente, principalmente nas orbitais moleculares com caráter π e σ . As orbitais com caráter $n(O1)$, $n(O2)$ e $n(O3)$ apresentam um desvio médio de 0,04 eV dos resultados experimentais. É portanto evidente a necessidade de melhorar os métodos de cálculo utilizados para a previsão de bandas de ionização para moléculas como o adrenosterona.

Bibliografia

- [1] F. Stranczyk, "Glob. libr. women's med, (ISSN: 1756-2228)," 2009. [Online]. Available: http://www.glowm.com/section_view/item/277. [Accessed: 01-Jan-2016].
- [2] T. Cvita, "Photoelectron spectra , electronic structure and long-range electronic interaction in some steroids," vol. 61, no. 12, pp. 2139–2150, 1989.
- [3] F. Abyar and H. Farrokhpour, "Symmetry adapted cluster–configuration interaction calculation of the photoelectron spectra of famous biological active steroids," *J. Mol. Struct.*, vol. 1076, pp. 69–79, 2014.
- [4] M. Blasco, P. Carriquiriborde, D. Marino, A. E. Ronco, and G. M. Somoza, "A quantitative HPLC-MS method for the simultaneous determination of testosterone, 11-ketotestosterone and 11- β hydroxyandrostenedione in fish serum," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 877, no. 14–15, pp. 1509–1515, 2009.
- [5] L. Brooker *et al.*, "Development of criteria for the detection of adrenosterone administration by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-combustion- isotope ratio mass spectrometry for doping control," *Drug Test. Anal.*, vol. 1, no. 11–12, pp. 587–595, 2009.
- [6] "MAYO CLINIC." [Online]. Available: <http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/cortisone-shots/home/ovc-20206814>. [Accessed: 15-Jul-2016].

- [7] D. W. Turner and M. I. Al Jobory, "Determination of Ionization Potentials by Photoelectron Energy Measurement," *J. Chem. Phys.*, vol. 37, no. 12, p. 3007, 1962.
- [8] J. H. D. Eland, *Photoelectron spectroscopy : an introduction to ultraviolet photoelectron spectroscopy in the gas phase*. London, 1974.
- [9] A. Ellis, M. Feher, and T. Wringht, *Electronic and photoelectron Spectroscopy, fundamentals and case studies*. New York: Cambridge University Press, 2005.
- [10] R. M. V.-R. Pinto, "Photoelectron Spectroscopy of Nitrogen Containing Molecules of Biological and Industrial Interest," Universidade Nova de Lisboa, 2011.
- [11] M. Alonso and E. J. Finn, *FÍSICA um curso universitário - Volume II, 2ª*. 1972.
- [12] G. P. Pereira, "Programa de aquisição para um espectrómetro de fotoeletrões de ultravioleta," Universidade Nova de Lisboa, 2016.
- [13] "WEST Control Solution." [Online]. Available: <http://www.west-cs.com/>. [Accessed: 12-Jan-2017].
- [14] K. Kimura, S. Katasumata, Y. Achiba, T. Yamazaki, and S. Iwata, *Handbook of HeI Photoelectron Spectra of Fundamental Organic Molecules*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1981.
- [15] "Sigma-Aldrich." [Online]. Available: <http://www.sigmaaldrich.com/portugal.html>. [Accessed: 23-Jun-2016].



Apêndice A: Resumo da exposição oral

Resumo da exposição oral realizada na 20^a Conferencia Nacional de Física e 26^o Encontro Ibérico para o Ensino da Física.

APLICAÇÃO DE ESPETROSCOPIA DE FOTOELETRÕES DE ULTRAVIOLETA NA CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA MOLECULAR DE ESTEROIDES

Como indicado pelo mais recente estudo teórico [1], alguns esteroides possuem bandas de ionização cujo registo experimental disponível não possibilita retirar conclusões sustentadas devido à sua fraca resolução espectral.

A utilização de um espectrómetro de fotoelétrons de ultravioleta, com a região de fotoionização e analisador em câmaras diferenciadas, em conjunto com um reator de vaporização de amostras, possibilita não só a otimização das condições de vaporização, mas também evita a contaminação do analisador.

Esta montagem experimental apresenta melhorias significativas em relação às suas antecessoras permitindo registar, pela primeira vez, bandas de ionização de esteroides num espectro de alta resolução.

[1] F. Abyar and H. Farrokhpour, "Symmetry adapted cluster–configuration interaction calculation of the photoelectron spectra of famous biological active steroids," *J. Mol. Struct.*, vol. 1076, pp. 69–79, 2014.