

DEGRADAÇÃO da GLICINA por TRANSFERÊNCIA de ELECTRÃO em COLISÕES ÁTOMO-MOLÉCULA

Mariana Sampaio de Vargas Lança

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências
e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para a
obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientador: Doutor Filipe Ribeiro Ferreira da Silva

Co-Orientador: Professor Doutor Paulo Manuel Assis Loureiro Limão-Vieira

LISBOA

Junho 2012



**DEGRADAÇÃO DA GLICINA POR TRANSFERÊNCIA DE ELECTRÃO
EM COLISÕES ÁTOMO MOLÉCULA**

“Copyright” em nome de Mariana Sampaio de Vargas Lança, estudante do curso de Engenharia Biomédica, da 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 divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao meu Orientador o Doutor Filipe Ferreira da Silva e ao meu Co-orientador o Professor Doutor Paulo Limão-Vieira, que promoveram a minha curiosidade para o aumento do conhecimento nesta área. Agradeço também pela disponibilidade que sempre demonstraram e pela introdução a esta dinâmica científica, que encontrei pautada de método e de grande ritmo produtivo. Agradeço também ao Professor Doutor Manuel Maneira por todas as sugestões e discussões.

Quero agradecer ao Professor Mário Secca, a quem devo a possibilidade de ter enriquecido académica e pessoalmente. Agradeço pela proactividade e resolução de problemas que sempre demonstrou na qualidade de coordenador do meu curso, por mais atarefado que se encontrasse.

Quero deixar um agradecimento especial para o Diogo Almeida, um pequeno génio da física de quem tenho admiração e respeito. Foi bastante motivador encontrar neste percurso um novo amigo. De carácter inspirador e sempre disposto a ajudar os outros, foi um dos pilares da minha persistência.

Agradeço às minhas amigas Ana Pedrosa e Joana Neto. Tive muita sorte em encontrar pessoas tão inteligentes e bem formadas. Se não fossem elas, a vida não me teria trazido até aqui. Ensinaram-me a nunca desistir. Agradeço pela sincera amizade e recordo com saudade, as nossas noitadas de estudo.

Ao André, o meu Coach , por me fazer acordar feliz todos os dias.

Apesar do potencial cliché, gostaria de agradecer, à pessoa mais importante de todas. Quem me puxou pelo braço em todos os momentos de dúvida. Me inspirou quando eu mais precisava de criatividade, me encontrou quando me perdi. Por me transmitir a serenidade e a força para abraçar cada desafio. É a ti mãe.

Resumo

O objectivo deste trabalho é estudar o padrão de fragmentação da glicina, por colisões átomo (K) – molécula (glicina). O padrão de fragmentação é ditado não só pela estrutura da molécula alvo mas também pela energia de colisão e pela presença de um terceiro corpo, ião K^+ , no complexo de colisão. A fragmentação da glicina, no presente caso, resulta da interacção de um feixe neutro de átomos de potássio (K), a diferentes energias de colisão, com um alvo molecular, glicina. Os fragmentos aniónicos produzidos por transferência de electrão são analisados por espectrometria de massa do tipo tempo de voo (TOF-*Time of Flight*).

Neste trabalho é estudada a transferência de electrão em colisões de potássio com o aminoácido mais simples, a glicina, para energias de colisão entre os 20 e os 100 eV. A decomposição unimolecular dos padrões de fragmentação obtidos por este método, é diferente dos resultantes pelo método de captura electrónica dissociativa. A peculiaridade mais relevante é a diminuição relativa do anião molecular progenitor desidrogenado relativamente ao anião hidrogénio à medida que a energia de colisão aumenta. Para baixas energias de colisão este fenómeno pode ser explicado pela inibição da autolibertação electrónica enquanto para altas energias, o ião molecular negativo pode ser formado com um excesso de energia interna que poderá conduzir à fragmentação. Uma possível explicação para a formação dos três fragmentos aniónicos, 12 u.m.a. 12,5 u.m.a e 25 u.m.a., é o decaimento metastável. É ainda discutida a relação entre a energia disponível durante o processo de transferência de electrão e a respectiva formação dos fragmentos isobáricos com massas 15 u.m.a., 16 u.m.a. e 26 u.m.a.

Abstract

The aim of this work is to study the fragmentation pattern of the simplest aminoacid glycine, by atom-molecule collisions. The fragmentation pattern of glycine derived from atom-molecule collisions depends not only on the target molecule structure but on the collision energy and also on the presence of the third body (K^+) in the collision complex. In this case, the glycine fragmentation pattern results from the interaction of a neutral K beam at different collision energies with the molecular target. The anionic fragments produced by electron transfer are Time of Flight (TOF) mass analysed.

This study has been investigated in the energy range from 20 to 100 eV. In the unimolecular decomposition, fragmentation patterns obtained through TOF mass spectrometry show peculiar differences in comparison with dissociative electron attachment measurements. The most prominent feature in the collision regime is the relative decrease of the dehydrogenated parent anion signal with respect to the hydrogen anion as the collision energy increases.

For low collision energies this can be rationalized in terms of autodetachment inhibition, whereas at higher collision energies, the negative molecular ion can be formed with an excess of internal energy which might even result in fragmentation. Metastable decay is here suggested to play a particular role leading to the formation of three anions, 12 a.m.u., 12,5 a.m.u. and 25 a.m.u., assigned in the light of recent dissociative electron attachment studies. The formation of isobaric fragments with masses 15, 16 and 26 a.m.u. is also discussed on the basis of the energy available in the electron transfer process.

Índice

Enquadramento, objectivos e estrutura da dissertação	1
Introdução teórica	3
1.1. Física molecular e o seu papel na biomedicina	3
1.2. Glicina	5
1.2.1. Glicina: perspectiva estrutural	7
1.2.2. Glicina: perspectiva funcional	7
1.2.3. Outras áreas onde a glicina está presente	8
1.3. Processos de transferência de carga	11
1.3.1. Captura Electrónica (CE)	11
1.3.2. Transferência de electrões	13
1.4. Teoria de colisão e formação de pares de iões	15
1.4.1. Modelo da colisão	15
1.4.2. Tempo de colisão	15
1.4.3. Formalismo de Landau-Zener e probabilidade de transição não adiabática de Landau-Zener .	15
1.4.4. Aproximação de Born-Oppenheimer	18
1.4.5. Colisão átomo-átomo	19
1.4.6. Colisão átomo-molécula	21
1.4.7. Colisão de duas partículas e formação de pares de iões	21
1.5. Estado da arte	22
1.6. Notas finais	24
Montagem Experimental	25
2.1. Descrição Geral	25
2.2. Primeira câmara - produção de feixe de potássio neutro	27
2.2.1. Sistema de troca de carga	27
2.2.2. Placas deflectoras de iões ou “Tira-iões”	29

2.3. Segunda câmara- câmara de colisões	30
2.3.1 Detector de ionização do tipo Langmuir-Taylor.....	30
2.3.2. Forno de moléculas sólidas.....	31
2.4. Tecnologia do vácuo.....	31
2.4.1. Bombas rotatórias.....	31
2.4.2. Bomba difusora.....	32
2.4.3. Válvula electromagnética.....	32
2.4.4. Alto vácuo	32
2.5. Sistema de detecção de partículas.....	33
2.5.1. Lentes Einzel.....	33
2.5.2. Detector do tipo canaltrão.....	34
2.5.3 Espectros de massa.....	35
Resultados e discussão.....	43
3.1. Condições experimentais	43
3.2 Resultados	45
3.2.1. Resultados dos espectros a baixas, médias e altas energias	45
3.2.2 Análise dos fragmentos obtidos.....	48
3.3 Fracções aniónicas.....	53
3.4. Secção eficaz total relativa	56
3.5. Tempos de colisão.....	56
Conclusão.....	58
Trabalho futuro	59
Referências bibliográficas	55

Índice de Figuras

Figura 1.1 Esquema estrutural da glicina.....	6
Figura 1.2 Aminoácidos que existem no nosso corpo.....	6
Figura 1.3 Formação da treonina: exemplo de processo onde a glicina intervém.....	8
Figura 1.4 Glicina comercial.....	9
Figura 1.5 Glicina na vertente comercial: uso e metabolismo.....	9
Figura 1.6 Estrutura do colagénio: (a) forma de triplete presente nas matrizes colagénicas; (b) tropocolagénio; (c) hélice tripla; (d) Modelo do quarto alternado pentafibrilar proposto por Smith.....	10
Figura 1.7 Curvas diabáticas, iónica e covalente, representando a colisão entre dois átomos consoante a distância internuclear.....	16
Figura 1.8 Representação das trajectórias envolvidas numa colisão entre um átomo alcalino e uma molécula. O raio de cruzamento corresponde ao círculo exterior e a região repulsiva dos potenciais está representada pelo círculo interno.....	18
Figura 1.9 Curvas de energias potenciais de Born-Oppenheimer, ilustrando a afinidade electrónica adiabática (AE) e a afinidade electrónica vertical (AE_V).....	19
Figura 1.10 Curvas da evolução dos estados adiabáticos dependendo da distância internuclear, sendo a curva azul a correspondente ao estado adiabático covalente e a curva vermelha a correspondente ao estado adiabático iónico. As curvas a tracejado representam o estado diabático iónico (vermelha) e o estado diabático iónico (azul).....	20
Figura 2.1 Fotografia do aparelho de feixes moleculares cruzados onde a) câmara de colisões; b) câmara de troca de carga; c) bombas de alto vácuo; d) zona de extracção; e) tubo de tempo de voo.....	25
Figura 2.2 Esquema representativo do equipamento experimental.....	27
Figura 2.3 Esquema representativo do sistema de troca de carga.....	28
Figura 2.4 Esquema representativo da deflecção de iões.....	29
Figura 2.5 Imagem referente à localização do filamento de irídio.....	30

Figura 2.6 Esquema ilustrativo do sistema de extração e detecção.....	33
Figura 2.7 Esquema do pulso na detecção de iões negativos.....	34
Figura 2.8 Esquema genérico de um sistema de tempo de voo de dois estágios.....	Error! Bookmark not defined.
Figura 2.9 Representação esquemática da zona de extracção. a) ião negativo numa zona sem campo extractor. b) ião negativo é acelerado na direcção do eléctrodo positivo. c) o ião passa pela grelha de extracção, entrando na zona de aceleração.....	35
Figura 2.10 Representação da aceleração ganha pelos iões na zona de aceleração.....	36
Figura 2.11 Tensões aplicadas no sistema de extracção TOF.....	42
Figura 3.1 Comparação do perfil de fragmentação do aminoácido glicina para 20, 40 e 100 eV	45
Figura 3.2 Esquema dos fragmentos aniónicos resultantes da fragmentação da glicina.	47
Figura 3.3 Branching Ratios dos fragmentos de massa 1 u.m.a.,15 u.m.a., 16 u.m.a. e 74 u.m.a.....	53
Figura 3.4 Branching Ratios dos fragmentos de massa 17 u.m.a.,25 u.m.a. e 41 u.m.a.....	54
Figura 3.5 Gráfico da evolução da secção eficaz em relação à energia do centro de massa e em relação á velocidade relativa.....	56
Figura 3.6 Evolução do tempo de colisão com a energia.....	57

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 Valores de energia.....	43
Tabela 3.2 Parâmetros experimentais para 20, 40 e 100eV.	44
Tabela 3.3 Comparação de fragmentos aniônicos observados por colisões potássio-glicina numa gama de energias de 20-100 eV	48

Simbologia e notações

ΔT_m	Diferença de tempo de voo de duas massas consecutivas
a_1	Aceleração do fragmento na zona de extracção
a_2	Aceleração do fragmento na zona de aceleração
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AE	Afinidade electrónica
AE_{ad}	Afinidade electrónica adiabática
AE_v	Afinidade electrónica vertical
ARN	Ácido ribonucleico
b	Parâmetro de impacto
CE	Captura electrónica
CED	Captura electrónica dissociativa
CEFITEC	Centro de Física e Investigação Tecnológica
DF	Departamento de Física
DEA	<i>Dissociative Electron Attachment</i>
DSB	" <i>Doublestrandbreaks</i> " (quebras duplas de cadeia)
E_1	Campo eléctrico aplicado na zona de extracção
E_2	Campo eléctrico aplicado na zona de aceleração
EBE	Electrões de baixa energia
E_{diss}	Energia de dissociação de ligação
EI	Energia de ionização
h	Constante de Planck, $6.626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}^{-1}$
\hbar	Constante de Planck reduzida, $6.6 \times 10^{-16} \text{ eV}\cdot\text{s}$ ($h/2\pi$)
K^+_{hip}	lão potássio hipertérmico
K^+_{ter}	lão potássio térmico
K^o_{hip}	Átomo de potássio hipertérmico
K^o_{ter}	Átomo de potássio térmico
LCAM	Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares
mA	Miliampere (10^{-3} A)
mbar	Milibar (10^{-3} bar)
ns	Nanossegundo (10^{-9} s)

P	Probabilidade de Landau-Zener
ps	Picossegundo (10^{-12} s)
q	Unidade de carga elementar ($1,602 \times 10^{-19}$ C)
Rc	Raio de cruzamento
Rc₁	Raio ao primeiro cruzamento
Rc₂	Raio ao segundo cruzamento
s₁	Distância entre prato de extracção e a zona de aceleração
s₂	Distância entre o centro de colisão e a zona livre de campo
s₃	Comprimento da zona de aceleração
SSB	" <i>Singlestrandbreaks</i> " (quebras simples de cadeia)
t_{s1}	Tempo de voo na zona de extracção
t_{s2}	Tempo de voo na zona de aceleração
t_{s3}	Tempo de voo na zona livre de campo
TE	Transferência de electrão
TNI	ião temporário negativo (" <i>Temporary Negative Ion</i> ")
TOF	" <i>Time OfFlight</i> " (Tempo de voo, espectrómetro)
t_{TOF}	Tempo total de voo
u.m.a.	Unidade de massa atómica ($1,66 \times 10^{-27}$ Kg)
v	Velocidade relativa
v*	Velocidade reduzida
v₀	Velocidade inicial do fragmento
v₂	Velocidade do fragmento na zona de aceleração
v₃	Velocidade do fragmento da zona livre de campo
v_r	Velocidade radial
W	Energia total da partícula
W₀	Energia cinética inicial
W₁	Energia potencial na zona de extracção
W₂	Energia potencial na zona de aceleração
Γ	Largura (em energia) da ressonância
ΔE	Endoergicidade
λ	Livre percurso médio
μs	Microsssegundo (10^{-6} s)

μV	Microvolt (10^{-6}V)
N	Frequência (Hz)
Q	Secção eficaz
T	Tempo de vida

Enquadramento, objectivos e estrutura da dissertação

No meio biológico existem vários tipos de moléculas e compostos moleculares. Estas diferenciam-se pela sua constituição e função. Como exemplo temos os lípidos, nomeadamente os fosfolípidos como componentes essenciais das membranas biológicas, as enzimas como catalizadores de reacções químicas, os polissacarídeos que armazenam energia química, os ácidos nucleicos que armazenam a informação hereditária e as proteínas responsáveis por reacções químicas específicas. As proteínas tem como unidades estruturais os aminoácidos, sendo a glicina o mais simples. O estudo físico-químico desta molécula é então de vital importância, não só pela sua própria importância por ser o mais simples aminoácido mas também, por poder ser usado como modelo para o estudo de outros aminoácidos mais complexos ou eventualmente de proteínas. Neste trabalho em particular, o enfoque é colocado no padrão de fragmentação da glicina após transferência de electrão por colisão átomo (K) – molécula (glicina). Desde logo, esta informação é de crítica importância para a compreensão dos mecanismos de captação de electrões por parte da glicina. É de notar que a informação obtida por este estudo pode ser extensível ao estudo de outras moléculas de interesse biológico, das quais a glicina pode servir como modelo.

De forma a contextualizar a importância do estudo das espécies aniónicas de moléculas biológicas, pode-se invocar o estudo pioneiro de Sanche *et al* ^[1]. Neste estudo foi demonstrado que a interacção de electrões secundários, criados indirectamente pela radiação ionizante incidente, pode provocar danos ao nível do DNA. Por cada 1 MeV de radiação incidente em ambiente biológico são produzidos cerca de 5×10^4 electrões secundários ^[1]. Recentemente descobriu-se que a radiação ionizante tem papel activo na destruição de células não só directa como indirectamente devido à produção de electrões secundários de baixa energia (EBE). Estes EBE com distribuição de energia entre os 0 e os 20 eV têm a capacidade de quebrar ligações simples e duplas da cadeia de ADN, mesmo a energias abaixo do limiar de ionização, que é cerca de 11 eV ^[2]. Contudo em meio fisiológico não existem electrões “livres” pelo que o mecanismo de degradação poderá ser devido à interacção de um electrão “ligado” com uma estrutura atómica e/ou molecular. Assim, os processos de transferência electrónica em meio biológico parecem mais ajustados em detrimento dos de captura electrónica dissociativa.

A análise do efeito dos fragmentos aniónicos, na estrutura celular tem relevância uma vez que o estudo do padrão de fragmentação dos aminoácidos permite não só prever os fragmentos aniónicos resultantes da interacção de electrões de baixa energia produzidos pela radiação incidente mas também precaver possíveis alterações nas proteínas e conseqüentemente na actividade biológica.

O trabalho apresentado nesta tese tem então por objectivo o estudo do padrão de fragmentação da glicina por transferência de electrão em colisões átomo molécula. A glicina é o aminoácido mais simples do corpo humano. A importância deste estudo reside na obtenção dos valores de energia incidente que originam quebras de ligações específicas na glicina, o que poderá ser útil para terapia radiativa^[3]. Outra informação importante que obtemos com este trabalho é a previsão dos fragmentos neutros resultantes, que poderão apresentar carácter reactivo e desta forma interagir com outras moléculas e conseqüentemente desencadear quebra de ligações em constituintes moleculares biológicos relevantes.

Esta tese é composta por uma introdução, que aborda os pressupostos teóricos do trabalho experimental. Na introdução são discutidas algumas noções de física atómica e molecular e por fim é apresentado o contexto dos estudos de decomposição deste aminoácido disponíveis na literatura. Esta última parte da introdução proporciona ao leitor uma actualização de resultados científicos, relativamente ao padrão de fragmentação da glicina, realizados noutros laboratórios, nomeadamente em Innsbruck, Áustria e em Berlim, Alemanha. Nestes estudos, o processo que provoca a fragmentação da glicina, é a captura electrónica dissociativa. Por fim, encontram-se as notas finais no âmbito de conclusão da introdução. O capítulo II consiste na descrição do equipamento experimental, seguido do capítulo de análise de resultados, Capítulo III, no qual se faz a análise dos fragmentos obtidos. Por fim, conclui-se este estudo com sugestão de futuras linhas de investigação.

Introdução teórica

1.1. Física molecular e o seu papel na biomedicina

No contexto de compreender a dinâmica do corpo humano, a química, a física e a biologia tiveram um papel relevante para a compreensão a nível molecular. O seu contributo proporcionou um avanço em várias áreas da medicina, nomeadamente melhoramentos a nível de diagnóstico, bem como prevenção e tratamento de inúmeras patologias.

Interdisciplinaridade

A física atómica e molecular é uma área de investigação intimamente relacionada com a radiação nas suas diversas formas. O estudo da interacção desta radiação com a matéria é efectivamente um dos grandes focos de investigação na física atómica e molecular, cujo conhecimento obtido tem-se revelado fundamental para muitas áreas da química e da biologia celular. Existem inúmeros exemplos desta sinergia. Os processos químicos e físicos estão por norma correlacionados. Temos o exemplo do mecanismo da bomba sódio-potássio, a acção enzimática, e muitos outros processos biológicos nos quais um fenómeno físico/químico provoca outro físico/químico. É necessário um grande controlo das moléculas e dos seus princípios activos para o tratamento químico dos pacientes.

Avanço tecnológico e os seus inconvenientes

Hoje em dia, com o avanço tecnológico, assiste-se a um aumento da exposição à radiação. Quer passivamente, como no caso de radiação solar, da exposição ao “banho” electromagnético que nos rodeia, quer na perspectiva de tratamentos de cariz radiativo, como é o caso da radioterapia usada no tratamento oncológico. Existem efeitos secundários que advêm da exposição dos pacientes a esses tratamentos, que podem ser desencadeados por electrões de baixa energia.

Assim, de forma a compreender os efeitos da exposição à radiação, surge a necessidade de estudar ao nível fundamental a interacção da radiação com as unidades estruturais do nosso organismo, isto é, a nível celular. No caso do tratamento das patologias oncológicas, a radiação tem por finalidade destruir unidades estruturais com anomalias através de quebras de ligações das mesmas, evitando assim a reprodução celular dessas espécies.

Devido à eficácia da radiação em danificar tecidos biológicos, o interesse prático de estudos feitos nesta área apresenta duas vertentes. Por um lado, estes estudos permitem encontrar modos de minimizar o dano indesejado mas, por outro lado, estes mesmos estudos podem também fornecer meios de potenciar o dano efectuado, algo bastante útil em radioterapia.

A questão coloca-se na eficácia com que esses objectivos são cumpridos. Esta energia pode favorecer quebras de ligações indesejadas, reagir com outras espécies biológicas e/ou criar radicais livres que são altamente nocivos para o organismo.

Tendência científica na área de física atómica e molecular

Existe um ramo da física molecular que incide no estudo da reacção de certos elementos estruturais perante a incidência de radiação ou perante uma reacção de transferência de carga resultante de uma acção indirecta de absorção radiativa.

Neste âmbito, o grupo de estudo de Lisboa do Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares do CEFITEC, estuda padrões de fragmentação de moléculas após transferência de um electrão proveniente de um átomo neutroacelerado.

O estudo das colisões átomo–molécula simula o processo de transferência de electrão para uma molécula alvo, de forma a se observar a resposta da mesma para várias energias de colisão.

É de extrema relevância a capacidade de uma carga electrónica induzir alterações tão significativas na molécula ao ponto de a fragmentar. Com o equipamento experimental utilizado e, que será descrito na secção 3, é possível obter os padrões de fragmentação da glicina para diferentes energias cinéticas de colisão, o que nos permite obter informação sobre o padrão de fragmentação da glicina após transferência de electrão.

Este estudo enquadra-se na Engenharia Biomédica uma vez que incide na interacção entre constituintes moleculares biológicos e radiação. O conhecimento dos fragmentos que resultam para energias de colisão conhecidas pode ser utilizado para quebrar ligações específicas de estruturas moleculares.

O tema de interacção da radiação com a matéria é indiscutivelmente uma área de interesse e em desenvolvimento nas ciências biomédicas.

1.2. Glicina

Os aminoácidos são moléculas orgânicas que existem no nosso corpo. Esta classe de moléculas caracteriza-se por possuir um grupo amina, um grupo carboxílico e uma cadeia lateral específica para cada aminoácido. Existem dois tipos de aminoácidos no nosso organismo, os essenciais e os não essenciais. Os primeiros são os que não são produzidos pelo corpo humano estando a sua acessibilidade dependente da ingestão dos mesmos. Por sua vez, os aminoácidos não essenciais, são aqueles que o organismo consegue sintetizar. Nesta última classe de aminoácidos insere-se a glicina. Este é o aminoácido não essencial mais simples e encontra-se presente no nosso organismo por biossíntese e ingestão.

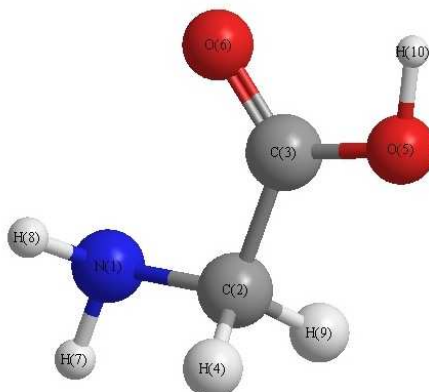


Figura 1.1 Esquema estrutural da glicina.

A glicina, apresentada estruturalmente na Figura 1.1, é composta por um grupo amina e um grupo carboxílico, de estrutura $\text{NH}_2\text{--CH}_2\text{--COOH}$ e de massa molar $75,06 \text{ g mol}^{-1}$. A sua cadeia lateral é composta por um átomo de hidrogénio apenas, o que confere a não quiralidade à molécula. Como consequência este é o único aminoácido que não apresenta actividade óptica. É um dos aminoácidos produzidos pelo nosso organismo a partir do aminoácido serina numa reacção catalisada pela enzima serina hidroximetiltransferase. Na Figura 1.2 apresentam-se os 64 tripletes resultantes das combinações das unidades elementares do ARN, em que cada um codifica um aminoácido específico no nosso organismo: Alanina (Ala), Arginina (Arg), ..., Tirosina (Tyr) e Valina (Val).

		2.ª BASE				
		U	C	A	G	
1.ª BASE	U	UUU } Fenilalanina (Phe) UUC } UUA } Leucina (Leu) UUG }	UCU } Serina (Ser) UCC } UCA } UCG }	UAU } Tirosina (Tyr) UAC } UAA } Códice de terminação UAG } Códice de terminação	UGU } Cisteína (Cys) UGC } UGA } Códice de terminação UGG } Triptofano (Trp)	3.ª BASE U C A G
	C	CUU } Leucina (Leu) CUC } CUA } CUG }	CCU } Prolina (Pro) CCC } CCA } CCG }	CAU } Histidina (His) CAC } CAA } Glutamina (Gln) CAG }	CGU } Arginina (Arg) CGC } CGA } CGG }	
	A	AUU } Isoleucina (Ile) AUC } AUA } AUG } Metionina (Met) Códice de iniciação	ACU } Treonina (Thr) ACC } ACA } ACG }	AUU } Alanina (Ala) AAC } AAA } Lisina (Lys) AAG }	AUU } Serina (Ser) AUC } AUA } AUG } Arginina (Arg)	
	G	GUU } Valina (Val) GUC } GUA } GUG }	GUU } Alanina (Ala) GUC } GUA } GUG }	GAU } Ácido aspártico (Asp) GAC } GAA } Ácido glutâmico (Gln) GAG }	GUU } Glicina (Gly) GUC } GUA } GUG }	

Figura 1.2 Aminoácidos que existem no nosso corpo.

1.2.1. Glicina: perspectiva estrutural

Como unidade estrutural, devido à sua simplicidade, a glicina tende a ser conservada em proteínas como o citocromo *c*, a mioglobina e a hemoglobina. A maioria das proteínas possui pequenas quantidades de glicina^[4,5]. O colagénio é uma excepção, uma vez que a glicina constitui cerca de um terço da sua estrutura primária. Esta molécula tem também relevância na formação da camada de peptidoglicano na parede celular das bactérias Gram – positivas, pois forma a pentaglicina que é importante na ligação entre resíduos de ácido N-acetilmurâmico. Constitui também a glutaniona, que é um tripéptido essencial na manutenção do equilíbrio redox intracelular.

Comercialmente, esta molécula apresenta-se no estado sólido como um pó branco cristalino, bastante solúvel em água.

1.2.2. Glicina: perspectiva funcional

A glicina intervém em vários processos biológicos^[4,5], entre os quais:

- Intermediação de algumas biossínteses: a glicina está presente indirectamente em diversas biossínteses;
- Participa da síntese de purinas, responsáveis por exemplo pelos ácidos nucleicos e de biomoléculas como Adenosina Monofosfato;
- Precursora da fosfocreatina quando se liga inicialmente com a arginina;
- Formação do oxalato (equilíbrio ácido-base);
- Pode ser degradada em piruvato, um importante composto de vias metabólicas energéticas;

- Actua também como neurotransmissor, que é uma biosubstância produzida para estimular a despolarização dos neurónios e gerar potenciais de acção, o que causa uma inibição do neurónio, através da entrada de iões de cloro na célula;
- Possui também importância na formação estrutural de algumas regiões através das suas ligações com outros aminoácidos.

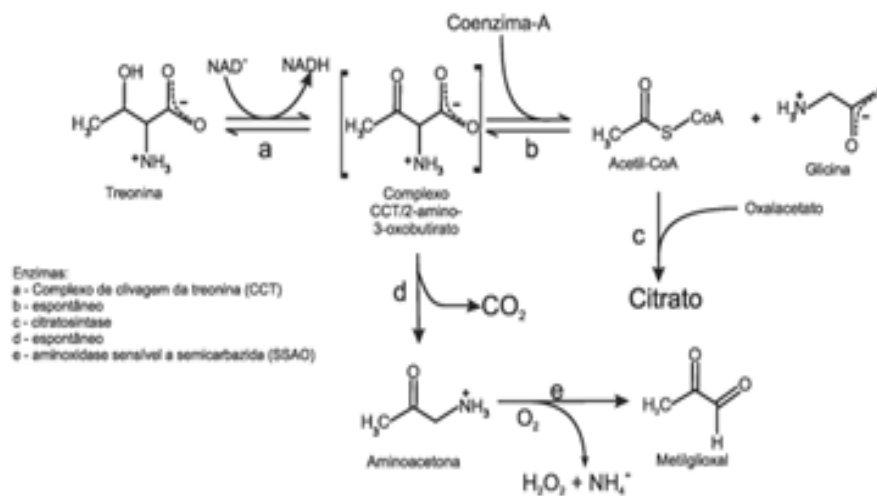


Figura 1.3 Formação da treonina: exemplo de processo onde a glicina intervém^[4].

1.2.3. Outras áreas onde a glicina está presente

A glicina é também usada na indústria farmacêutica e dermatológica. Na

Figura 1., pode-se visualizar a glicina numa perspectiva comercial onde esta é promovida como químico industrial.

Produtos para Indústria

Alimentos e Bebidas | Cosméticos | Farmacêuticos | Nutrição Animal

Alimentos e Bebidas

Aminoácidos | Condimentos | Edulcorantes | Enzimas | Realçadores de Sabor (Substâncias Umami) | Kokumi

Aminoácidos

- ÁCIDO GLUTÂMICO
- ALANINA
- ARGININA
- ARGININA HCL
- CISTEÍNA
- CISTEÍNA ANIDRA *
- CISTEÍNA HCl H2O

MONOGRAFIAS OFICIAIS

USP (USP 26, NF 21)
ER (4ª edição, 2002)
ChP (2000)
JP (14ª edição)
FCC (4ª edição)
JSFA (7ª edição)

GLICINA
Ácido Aminoetanóico / Ácido Aminoacético

Figura 1.4 Glicina comercial.

É interessante realçar os seguintes aspectos:

USO

A glicina é usada no campo farmacêutico como um componente de medicamentos dermatológicos para eczemas e dermatites, agentes hepáticos e antialérgicos, e em elaborações integrais de aminoácidos. Na nutrição clínica, é usado como componente para nutrição enteral e parenteral. Para alimentos processados, a glicina é usada como condimento e também como aditivo que garante melhor conservação do alimento por conta de sua ação antibacteriana. É usada em grandes quantidades como um aminoácido essencial em nutrição de frangos. Outras aplicações incluem seu uso como matéria-prima na produção de surfactantes e herbicidas.

METABOLISMO

Aminoácido glicogênico e não essencial. Existem várias vias para o catabolismo da glicina. A clivagem da glicina no complexo da mitocôndria é considerada o mais importante entre os mamíferos. Nesta via, a glicina é descarboxilada em dióxido de carbono e N5, N10-ácido metilenotetrahydrofólico (N5, N10-THF) pela glicina sintase. Esta reação é reversível. Por outro lado, a glicina é reversivelmente convertida em serina pela serina hidroximetiltransferase e subsequentemente pode fazer o caminho envolvendo sua metabolização em ácido pirúvico. A glicina é metilada para formar sarcosina (N-monometilglicina) e betaína (N-trimetilglicina). Esta reação também representa um precursor da creatina, que tem um profundo envolvimento na contração muscular. É também um componente da glutathione, que é um importante antioxidante no organismo.

Figura 1.5 Glicina na vertente comercial: uso e metabolismo^[6].

No ramo nutricional, esta é também utilizada como conservante, devido à sua acção antibacteriana e como agente optimizador de sabor. É encontrada na alimentação humana, por norma

em derivados animais. A título de exemplo, em 100g de carne vermelha e ovos, existe aproximadamente 1679mg e 467mg de glicina, respectivamente.

- **Curiosidade:** A gelatina é obtida mediante uma hidrólise controlada do colágeno de proteínas fibrosas insolúveis. Por ser uma proteína, a gelatina está composta por uma sequência única de aminoácidos. As características da gelatina estão relacionadas com o seu alto conteúdo em aminoácidos de glicina, prolina e hidroxiprolina.

Também na área dos biomateriais poderá ser relevante contribuição da glicina pois o colágeno é uma proteína muito popular na cirurgia estética e um terço da sua composição é glicina. O colágeno é utilizado muito frequentemente como biomaterial e é responsável pela modulação das forças externas e internas exercidas dentro do organismo. As diferentes propriedades dos tecidos são em parte devido ao resultado de diferentes organizações das fibras de colágeno. Uma característica importante é a formação de fibras insolúveis com grande resistência à tracção. Além do seu papel estrutural nos tecidos, o colágeno possui também outras características. Este apresenta a função de orientar os tecidos em desenvolvimento, que é altamente compatível com a sua utilização como biomaterial.

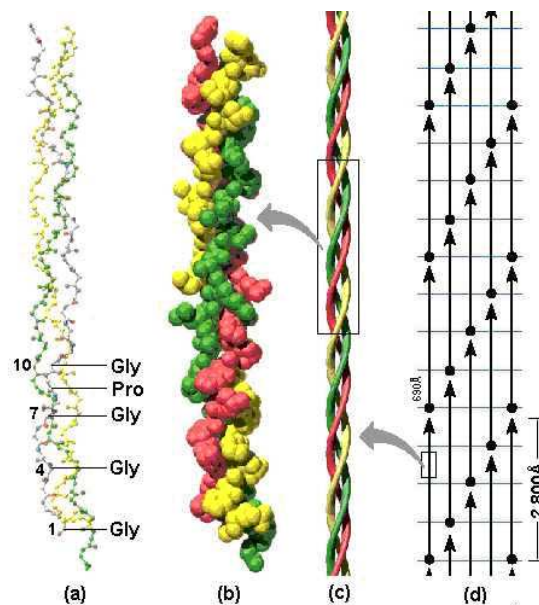


Figura 1.6 Estrutura do colágeno: (a) forma de triplete presente nas matrizes colagénicas; (b) tropocolágeno; (c) hélice tripla; (d) Modelo do quarto alternado pentafibrilar proposto por Smith^[4].

1.3. Processos de transferência de carga

Os processos de dissociação molecular podem ser desencadeados por mecanismos de transferência de electrão ou captura electrónica. Considere-se A um átomo neutro e BC uma molécula neutra, onde o mecanismo de transferência de electrão pode ser representado por:



1.3.1. Captura Electrónica (CE)

A captura de electrões livres é um processo que pode gerar a formação de um ião transiente negativo (TNI). Dependendo do tempo de vida do TNI relativamente à auto-libertação electrónica, o referido ião pode decaír para fragmentos aniónicos e para fragmentos neutros.

Esta interacção pode ser dividida em duas classes: dispersão directa e dispersão ressonante. Na dispersão directa o electrão incidente colide com a molécula alvo sendo, eventualmente, desviado da sua trajectória original. Na dispersão ressonante o electrão fica retido por um período de tempo significativamente longo (10^{-12} a 10^{-13} s) na vizinhança da molécula, formando um anião transiente negativo. A captura electrónica só pode acontecer se a energia do electrão incidente for a mesma do estado electrónico que gera o supra referido ião e o seu tempo de vida depende da energia da ressonância e da dimensão espacial da molécula. Esta variação vai desde alguns períodos vibracionais (10^{-14} s) até alguns microssegundos no caso de moléculas poliatómicas. De acordo com o princípio de incerteza de Heisenberg, o tempo de vida de um TNI está relacionado com a largura de energia, e é dado por:

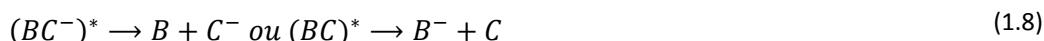
$$\tau \approx \frac{\hbar}{\Gamma} \quad (1.4)$$

onde $\hbar = \frac{h}{2\pi} = 6.6 \cdot 10^{-16} eV$ e Γ representa a largura a meia altura

A captura de electrão pela molécula expressa por :



Originaa formação de umião transiente negativo, o qual pode decair por três processos diferentes:



Neste caso temos representada a auto-libertação electrónica (equação 1.6), a estabilização radiativa (equação 1.7) e a captura electrónica dissociativa, CED (equação 1.8).

Em reacções do tipo (1.6), a molécula não sofre qualquer tipo de dissociação, voltando a ficar neutra. No entanto, devido ao tempo de permanência do electrão extra, a molécula neutra pode ficar num estado vibracional excitado.

Em reacções do tipo (1.7), o electrão liga-se à molécula, mas o excesso de energia interna do sistema provoca a libertação de um fotão com energia igual ao excesso. Como os tempos de vida radiativos são da ordem dos $10^{-9} - 10^{-8}$ s, as reacções do tipo (1.7) são mais lentas comparativamente às reacções (1.6) e (1.8), o que faz com que este processo não seja competitivo com os restantes^[7]. Por último, a captura electrónica dissociativa (equação 1.8) possui tempos de reacção da ordem dos 10^{-14} e 10^{-12} s^[7], levando à decomposição do TNI. Esta decomposição é gerada pela instabilidade provocada pela presença temporária de um electrão extra. Estudos efectuados por Sanche *et al.*^[2] demonstraram que as energias para as quais os electrões de baixa energia têm capacidade de induzir danos ao nível do ADN coincidem com as energias às quais a CED produz dissociação molecular nos seus constituintes elementares - as bases. Se o canal da captura dissociativa estiver acessível, este vai competir fortemente

com o processo de auto-libertação electrónica e os electrões produzidos pela radiação primária (raios-X, β , partículas α) podem induzir CED em locais específicos da dupla hélice do ADN, formando TNI que ao decaír podem produzir radicais e outros iões estáveis. São muitas vezes as espécies reactivas que provocam dano nas estruturas adjacentes na hélice de ADN.

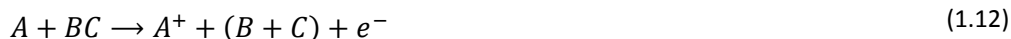
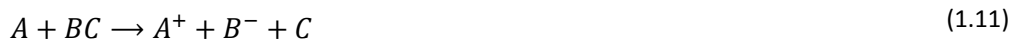
No entanto, nem todos os processos colisionais que ocorrem no ADN são explicados por captura electrónica, existem outros processos, como é o caso da transferência por electrões.

1.3.2. Transferência de electrões

Em meio biológico não existem electrões livres. Após sofrerem diversos mecanismos de perda de energia cinética, os electrões são termalizados e eventualmente atingindo um estado de pré-e/ou solvatação. Assim, processos de captura electrónica (CE) revelam-se pouco adequados para modelo explicativo dos fenómenos de degradação do ADN. Deste modo, o estudo de mecanismos de transferência de electrão (TE) em moléculas biológicas pode revelar-se de grande importância, pois permite descrever o tipo de interacção de forma mais fiel ao que se passa em meio biológico, usando electrões que se encontram previamente ligados a estruturas atómicas ou moleculares. Mecanismos de transferência de electrão permitem aceder a estados electrónicos não acessíveis por electrões livres uma vez que através de colisões átomo-molécula é possível aceder a estados com afinidades electrónicas positivas.

Os processos de ionização por colisão incluem todas as interacções entre partículas neutras nas quais se verifica um processo de transferência de electrão. As expressões (1.9) a (1.17) resumem os diferentes tipos de processos de transferência de electrão observados entre átomos e moléculas no estado fundamental. Estes são a ionização não dissociativa (expressão 1.9 e 1.10), a ionização dissociativa (1.11), ionização do “projectil” (1.12), ionização química reactiva (1.13, 1.14 e 1.15), ionização química associativa (1.16) e dissociação polar induzida por colisão (1.17).





Uma forma de proceder à transferência de electrões é usar um átomo dador de electrões, ou seja, um átomo que devido à sua estrutura electrónica tem grandes probabilidades de transferir o seu electrão de valência para a molécula alvo. Um exemplo deste tipo de átomos são os metais alcalinos (K, Na, Cs por exemplo). No caso do estudo realizado no âmbito desta dissertação o átomo dador de electrões, como já foi referido anteriormente, é o potássio (K). A energia de ionização do potássio é relativamente baixa (cerca de 4,34 eV), o que significa que o potássio pode ser um bom dador de electrões. A capacidade de um átomo ou molécula formar termodinamicamente um anião estável é representada pela Afinidade Electrónica (AE) (equação 1.18):

$$AE(BC) = E(BC) - E(BC^-) \quad (1.18)$$

A AE é definida pela diferença de energia entre o estado fundamental de um átomo ou molécula neutra e o estado fundamental do seu anião. A AE é negativa se a energia do estado de BC^- for superior ao estado neutro BC , e é positiva se for inferior. Um valor positivo da AE indicia a provável formação de um anião estável.

1.4. Teoria de colisão e formação de pares de iões

1.4.1. Modelo da colisão

Neste modelo considera-se que a rotação e a vibração da molécula não são relevantes e por conseguinte é possível aproximar-se a um sistema de colisão átomo-átomo. Isto em primeira aproximação é válido uma vez que os tempos de rotação e vibração podem ser muito inferiores que os tempos de colisão. Deste modo, a molécula pode ser considerada como rígida e o movimento interno da molécula ou do ião molecular durante o processo de colisão e o movimento do átomo alcalinosão considerados independentes. Este modelo é utilizado para energias elevadas^[8].

1.4.2. Tempo de colisão

O estudo do tempo de colisão é crucial para a análise de sistemas com transições vibracionais durante a respectiva colisão. O tempo de colisão encontra-se dependente da energia, sendo tanto menor quanto maior for a energia^[8].

1.4.3. Formalismo de Landau-Zener e probabilidade de transição não adiabática de Landau-Zener

Para colisões entre átomos alcalinos e moléculas halogenadas a secção eficaz total relativa à formação de pares de iões na região das altas velocidades pode ser avaliada pelo formalismo de Landau-Zener.

Este formalismo foi apresentado por Landau e Zener numa perspectiva muito geral de encontrar uma probabilidade de transição não adiabática entre dois estados de energia. A fórmula de Landau-Zener é uma solução analítica para as equações de movimento que regem a dinâmica de transição de um sistema de mecânica quântica composto por duas partículas, com um Hamiltoniano dependente do tempo^[8].

De acordo com a descrição do modelo a dois estados, iónico e covalente, a transição entre eles é possível se o princípio da adiabaticidade for satisfeito, ou seja, se as partículas se aproximarem

lentamente. Nesta situação os electrões têm tempo suficiente para, de uma forma continuada, se ajustarem à variação da separação internuclear que ocorre durante uma colisão. Este ajuste resulta numa transição do electrão de valência do átomo alcalino para a molécula. Se, por outro lado a distância internuclear variar rapidamente, numa perspectiva diabática, o electrão de valência tem uma probabilidade de não transitar. Neste caso o sistema mantém-se com a mesma configuração electrónica. Existem dois pontos de cruzamento, o primeiro é atravessado na aproximação do potássio à molécula e o segundo quando este se afasta da mesma. De seguida podemos visualizar o processo de interacção entre duas partículas, neste caso para o átomo de potássio e a molécula em estudo.

A transferência de electrão em colisões átomo-molécula é geralmente mediada pelo cruzamento das superfícies de energia potencial do complexo neutro ($A+B$) e iónico (A^+B^-).

Para grandes distâncias entre átomo e molécula, a curva da energia potencial iónica está acima da covalente, como podemos observar na Figura 1. e na Figura 1..

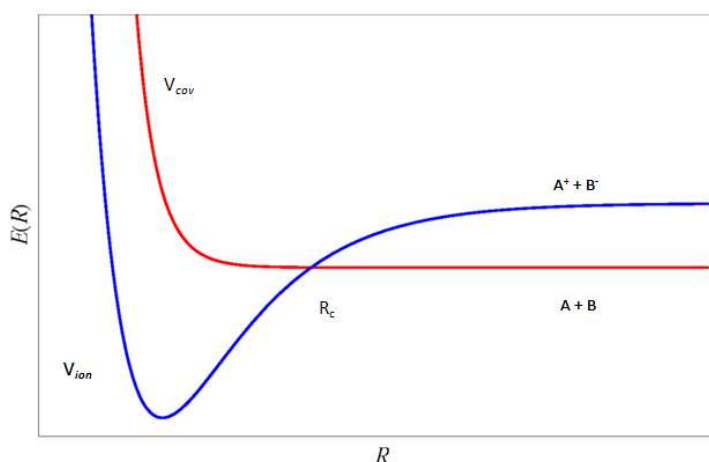


Figura 1.7 Curvas diabáticas, iónica e covalente, representando a colisão entre dois átomos consoante a distância internuclear^[9].

Segundo Kleyn *et al.*^[10], no complexo de colisão $[A+B-]^*$ existe um ponto de cruzamento no qual as duas curvas tomam o mesmo valor devido ao potencial que é maioritariamente de Coulomb. Esta interacção leva à formação de um ião positivo e um anião molecular, o que permite o acesso a estados moleculares que não são acessíveis por captura electrónica de electrões livres.

Durante o processo de formação de iões negativos moleculares, a distância internuclear de equilíbrio é em geral sempre superior à distância de equilíbrio da molécula neutra. Este fenómeno deve-se à captura de um electrão extra que vai afectar a energia de ligação, tornando-a mais fraca.

Numa colisão quando se dá a transferência do electrão de valência do átomo alcalino para a molécula, o ião negativo é formado numa zona repulsiva do potencial. Contudo se durante a colisão houver lugar a uma variação da distância intramolecular, a este fenómeno denominamos por extensão da ligação (*bond-stretching*). Assim, a $EA(R_m)$, ou seja a afinidade electrónica em relação ao centro de massa da molécula, aumenta assim como a expansão da distância de cruzamento, R_c .

No contexto de uma colisão átomo-átomo, a equação 1.19 descreve a dependência da afinidade electrónica com R_m e explica o conseqüente acréscimo da distância de cruzamento^[8]:

$$R_c(\text{\AA}) \approx \frac{e^2}{\Delta E} = \frac{14.41}{EI - AE(R_m)} \quad (1.19)$$

Se assumirmos que a transição que ocorre a R_c , onde a velocidade radial, v_r , é constante (trajectória rectilínea) e igual para os dois estados electrónicos, a probabilidade de transição não-adiabática de Landau-Zener, p , é determinada por^[8]:

$$p = \exp\left(-\frac{v^*}{v_r}\right) = \exp\left[-\frac{v^*}{v_r}\left(1 - \frac{b^2}{R_c^2}\right)^{-1/2}\right] \quad (1.20)$$

onde, b é o parâmetro de impacto e v^* é a velocidade reduzida..

$$\text{Sendo } v^* = 2\pi H_{12}^2 R_c^2 \quad e \quad v_r = v \left(1 - \frac{b^2}{R_c^2}\right)^{1/2}$$

Existem quatro trajetórias possíveis durante uma colisão como poderemos observar na Figura 1.. Seja p , a probabilidade de a cada cruzamento ocorrer transição não-adiabática e $(1-p)$ a probabilidade de se continuar na mesma curva de potencial adiabática, e assumindo que para um sistema de dois átomos, a probabilidade de cruzamento p não varia entre o primeiro e o segundo cruzamento; duas trajetórias com duas transições adiabáticas ou duas transições não-adiabáticas, conduzem a uma dispersão elástica, enquanto que as outras duas trajetórias, que consistem numa transição adiabática e numa não-adiabática, com probabilidades $p(1-p)$ ou $(1-p)p$, respectivamente, conduzem à formação de pares de iões.

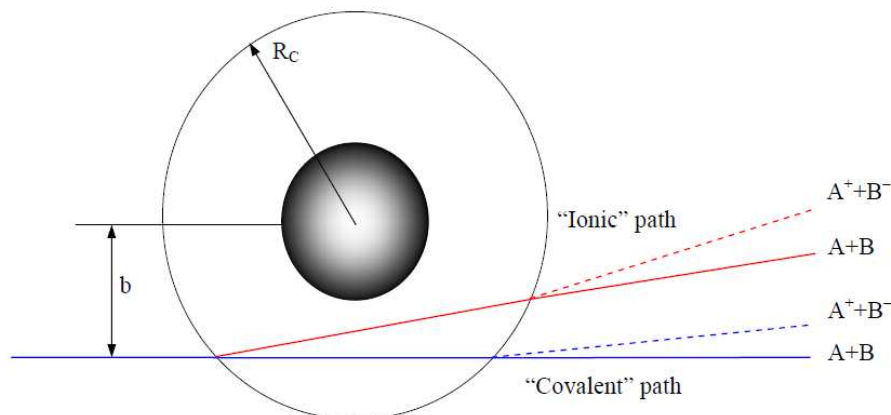


Figura 1.8 Representação das trajetórias envolvidas numa colisão entre um átomo alcalino e uma molécula. O raio de cruzamento corresponde ao círculo exterior e a região repulsiva dos potenciais está representada pelo círculo interno ^[9].

Assim, a probabilidade total para a formação de pares de iões numa colisão é ^[8]:

$$P = p(1-p) + (1-p)p = 2p(1-p) \quad (1.21)$$

O estudo de colisões entre átomos e moléculas neutras com formação de pares de iões revela-se extremamente importante, pois permite através da transferência de electrão, o estudo da formação dos iões negativos. Numa tentativa de descrição dos processos a nível molecular e de aproximação aos processos que ocorrem no meio fisiológico que envolvem electrões, é útil estudar este tipo de mecanismos, sendo assim possível simular os processos de transferência de electrão, que levam à degradação de moléculas biológicas.

1.4.4. Aproximação de Born-Oppenheimer

Os sistemas moleculares poliatómicos não têm soluções exactas para a equação de Schrödinger. A aproximação de Born-Oppenheimer, estabelece que os núcleos estão fixos em relação aos electrões. Esta teoria baseia-se no facto dos núcleos serem muito mais pesados que os electrões. Deste modo, o movimento electrónico pode ser tratado separadamente do movimento nuclear e consequentemente

resolver-se a equação de Schrödinger onde os valores próprios são considerados potenciais intermoleculares (para 2 corpos) e superfícies de energia potencial (para 3 ou mais corpos) que por sua vez determinam o movimento nuclear^[8]. Abaixo encontram-se potenciais intermoleculares para a estrutura neutra e aniónica de uma molécula diatómica genérica AB. Pode ver-se AE (AB) como sendo a afinidade electrónica adiabática. A afinidade electrónica vertical vai variar conforme a extensão da ligação A-B aquando da captura do electrão. Para o caso em que a distância A-B é a distância de equilíbrio, a afinidade electrónica vertical vai ser ligeiramente positiva.

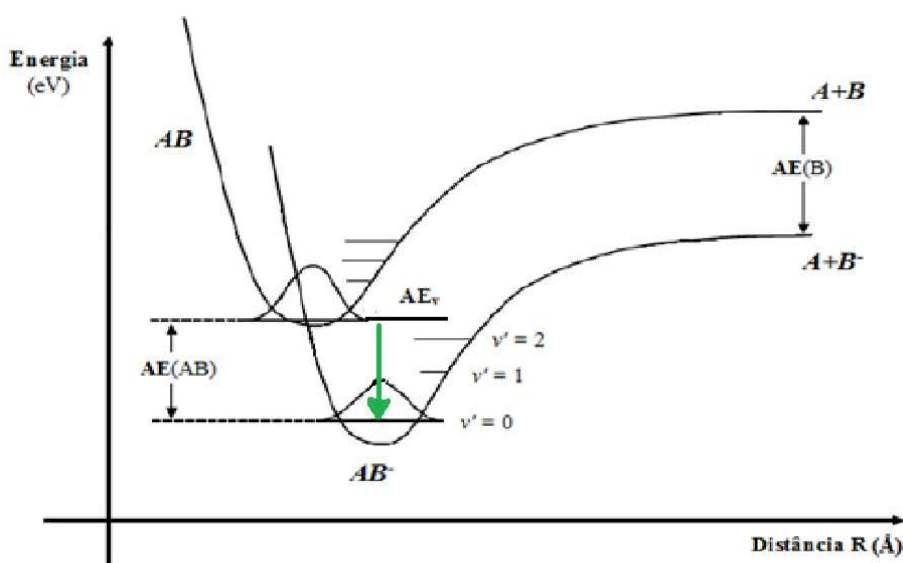


Figura 1.9 Curvas de energias potenciais de Born-Oppenheimer, ilustrando a afinidade electrónica adiabática (AE) e a afinidade electrónica vertical (AE_v) adaptada de^[7].

1.4.5. Colisão átomo-átomo

Quando dois átomos no estado fundamental colidem podem ocorrer dois processos. Um é denominado dispersão elástica, onde após a colisão, ambos os átomos permanecem no estado fundamental, ambas as espécies se mantêm neutras e a energia cinética total do sistema é conservada. O outro denomina-se dispersão inelástica, na qual ocorre troca de carga entre os átomos durante a colisão e estes passam para o estado iónico, não havendo conservação de energia cinética.

Este processo é de extrema relevância para este estudo, uma vez que retrata a formação de iões negativos por transferência de electrões^[9].

Para caracterizar o processo de transferência de electrão numa colisão “átomo-átomo” podemos simular a colisão de um átomo alcalino e de outro átomo do grupo dos halogénios.



Esquemáticamente os estados diabáticos covalente ($A + B$) e iónico ($A^+ + B^-$) têm curvas de potencial que estão representados na Figura 1.7. O ponto de cruzamento das curvas diabáticas é o já referido R_c . Considerando que ambos os estados têm a mesma simetria, as curvas de potencial adiabáticas correspondentes vão evitar um ponto de cruzamento R_c , devido ao Princípio de Exclusão de Pauli, conforme está apresentado na Figura 1..

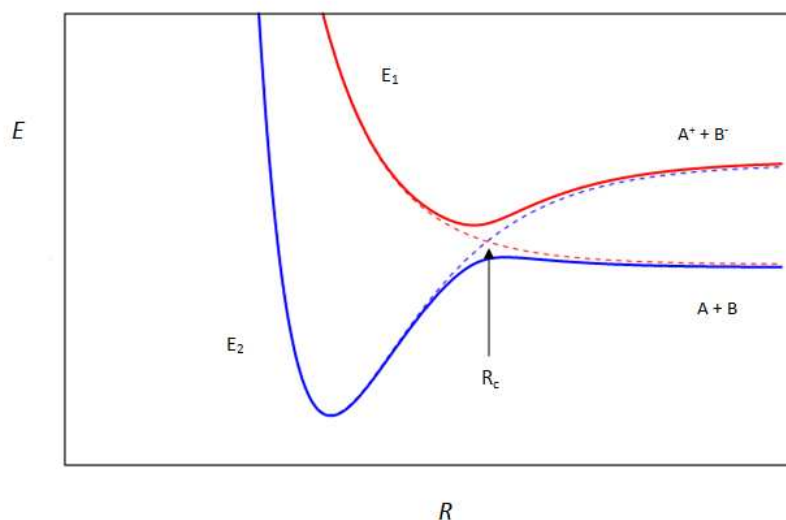


Figura 1.10 Curvas da evolução dos estados adiabáticos dependendo da distância internuclear^[9], sendo a curva azul a correspondente ao estado adiabático covalente e a curva vermelha a correspondente ao estado adiabático iónico. As curvas a tracejado representam o estado diabático iónico(vermelha) e o estado diabático covalente(azul).

Estas curvas representam a distância entre as duas partículas (o átomo dador e átomo aceitador) e os seus estados correspondentes. Começando pela direita do gráfico, podemos simular a aproximação do átomodador ao átomo aceitadorpela curva azul até atingir o primeiro ponto de

cruzamento. O segundo ponto de cruzamento é simulado observando o gráfico da esquerda para a direita.

Para grandes distâncias entre os dois átomos, a separação entre o potencial covalente e o iónico, é dado pela endoenergicidade, ΔE (diferença entre a energia de ionização de um átomo e a electroafinidade do outro). Considerando que o ponto de cruzamento se localiza a grandes distâncias internucleares, podemos desprezar as forças de indução e as forças de Van der Waals e considerar que o potencial covalente é nulo e o potencial iónico é puramente de Coulomb.

1.4.6. Colisão átomo-molécula

Comparativamente às colisões átomo-átomo no estado fundamental, as colisões átomo-molécula para as mesmas condições exigem uma análise com acrescida complexidade devido ao aumento de complexidade estrutural da molécula. Processos estes como a excitação rotacional, excitação vibracional, dissociação induzida por colisão, excitação electrónica ou a combinação de todos estes processos. A descrição das colisões átomo-molécula é interpretada por curvas de potencial multi-dimensionais, ao invés das curvas de potencial de uma dimensão utilizadas para as colisões átomo-átomo. Neste contexto deve ter-se em conta os tempos associados a movimentos rotacionais e vibracionais da molécula. O tempo de rotação da própria molécula é um processo relativamente lento quando comparado com o tempo de colisão, razão pela qual se despreza. No entanto, os tempos de vibração podem ter a mesma ordem de grandeza dos tempo de colisão, o que nos leva a considerar os efeitos da vibração molecular no referido processo^[9].

Existem várias aproximações desenvolvidas com o objectivo de descrever electronicamente as colisões átomo-molécula inelásticas (processos não adiabáticos). Na perspectiva clássica, o movimento do núcleo é descrito desprezando os efeitos de interferência e as probabilidades de transição são calculadas utilizando métodos de mecânica quântica.

1.4.7. Colisão de duas partículas e formação de pares de iões

Considerando que duas partículas no estado covalente (A+B) se estão a aproximar, ao chegarem ao ponto de cruzamento R_c (conforme a Figura 1.8), pode acontecer uma de duas situações. Se o ponto de cruzamento, designado por 1º cruzamento, é atravessado adiabaticamente, o electrão é transferido

de uma partícula para outra, o que irá alterar as configurações destes intervenientes de modo a promover a “formação de pares de iões” ($A^+ + B^-$). Por outro lado, se este ponto é atravessado diabaticamente, então não existe transferência de electrão e ambos os intervenientes permanecem no estado covalente. No entanto, recorrendo novamente à Figura 1.8, o átomo dador de electrão ao 2º cruzamento tem novamente a possibilidade de recapturar o electrão i.e., dá-se uma reneutralização, i.e., transição para o estado covalente. No caso de não ter existido transferência de electrão no primeiro cruzamento, então pode haver transição deste no segundo cruzamento, o que implica uma transição para o estado iónico. Resumindo, existem então quatro trajetórias possíveis.

Após o primeiro cruzamento, as partículas permanecem juntas até voltarem a separar-se. Nessa altura o ponto de cruzamento é outra vez atravessado. Neste segundo momento, se ambas as partículas apresentarem num estado covalente, poderão atravessá-lo diabaticamente, mantendo a configuração original de ambos, ou poderão atravessá-lo adiabaticamente originando a formação de pares ($A^+ + B^-$). Por outro lado, se estas partículas estão no estado iónico ao passar este ponto de cruzamento pela segunda vez, podem atravessá-lo diabaticamente ou adiabaticamente. Na primeira situação os átomos mantêm o seu carácter iónico, sendo que na segunda estes poderão voltar a ficar neutros, passando para o estado covalente ($A+B$)^[9].

Podemos concluir que após a colisão, os átomos podem gerar formação de pares de iões se houver uma transição adiabática, aquando uma das passagens pelo ponto de cruzamento, promovendo a alteração do estado covalente para o iónico.

1.5. Estado de arte

A descoberta da relação entre electrões de baixa energia e a degradação do ADN, suscitou um interesse crescente no estudo dos padrões de fragmentação de moléculas biológicas^[2].

O padrão de fragmentação da glicina já foi extensivamente estudado por diversos grupos ao longo dos anos através de processos de CED^[11,12,13,14,15]. O LCAM recorre ao processo de TE para o estudo

de padrões de fragmentação de diferentes alvos moleculares, nomeadamente constituintes de proteínas e DNA / RNA.

Para compreender e prever a fragmentação do TNI, é preciso ter em conta a termodinâmica dos processos moleculares assim como os conceitos de CED e TE. Na CED o electrão adicional fornecido à molécula alvo provém de um feixe de electrões ^[11,12].

Neste contexto cria-se um ião transiente negativo, que é uma estrutura ressonante que acomoda um electrão extra. Ao acomodar um electrão, durante o tempo de vida do TNI apresentado na equação 1.4, existe competição entre a autolibertação do electrão e a fragmentação da estrutura devido à presença do referido electrão. No segundo caso os fragmentos iónicos podem ser detectados por espectrometria do tipo TOF.

Em estudos de CED, é interessante notar que apesar de se utilizar a mesma técnica, com condições e parâmetros experimentais muito parecidos, existem diferenças nos resultados obtidos. Estudos efectuados por Ptasinska *et al.* ^[11] e Gohlke *et al.* ^[12], onde a diferença apenas reside no gás calibrante (CCl₄ e SF₆ respectivamente) e na diferença subtil de pressões, demonstram algumas diferenças no que diz respeito ao padrão de fragmentação da glicina.

Estudos de CED foram também elaborados para vários aminoácidos ^[11-18] ou moléculas com semelhantes grupos funcionais, como o ácido fórmico ^[19-22], ácido acético ^[23,24]. De um ponto de vista teórico, contribuições tais como cálculos teóricos da Teoria de Funcionais de Densidade ^[25,26], Hartree – Fock ^[25] e o método multicanal de Schwinger ^[27] foram também realizados.

O grupo de Lisboa tem realizado diversos estudos no sentido de averiguar o perfil de fragmentação por processo de transferência de electrão de um feixe de potássio com biomoléculas, como a Timina, Uracilo e Glicina ^[3,7,9,28,29,30].

Nas colisões potássio-molécula, a transferência de electrão que gera a formação de pares de iões, só ocorre se a energia de colisão for superior à endoergicidade, ΔE .

A grande diferença entre a metodologia do estudo de TE e CED, para além da utilização do feixe de potássio em vez do feixe de electrões, consiste na inibição da autolibertação electrónica por um intervalo tempo maior que no CED, devido às forças coulombianas que se estabelecem quando o catião de potássio está próximo da glicina, o que poderá favorecer outros canais de fragmentação, inacessíveis

por CED. Se o método de transferência de electrão for o processo que descreve mais fielmente o que se passa em meio biológico, então é de referir que deste resulta no caso da colisão potássio-glicina a baixas energias (~30 eV) a produção maioritária de um radical de H^[30]. Este pormenor tem toda a relevância, uma vez que o hidrogénio radicalar é bastante reactivo e tem grande mobilidade, ou seja, facilmente se liga a outras estruturas biológicas quando em contacto com estas. Deste modo pode haver indução de quebras de ligações e conseqüente dissociação molecular, o que pode afectar a integridade biológica.

1.6. Notas finais

O estudo da degradação da glicina, efectuado no âmbito desta dissertação, tem como objectivo tentar compreender quais os fenómenos e como ocorrem na molécula de glicina, quando é sujeita à interacção com um átomo dador de electrão, potássio. Deste modo simula-se a interacção de espécies secundárias (ex. electrões) provenientes da acção da radiação em meio fisiológico. A importância deste estudo deve-se à capacidade dos electrões de baixa energia induzirem degradação ao nível dos aminoácidos e conseqüentemente proteínas. Estas alterações irreversíveis são iniciadas pela formação de estados electrónicos associados a um ião transiente negativo, o qual, ao se dissociar, produz outros fragmentos aniónicos e neutros que podem apresentar um carácter acrescido de reactividade.

Montagem Experimental

Neste capítulo descreve-se o equipamento experimental utilizado para efectuar os estudos de transferência de electrão em colisões de potássio com glicina.

2.1. Descrição Geral

O trabalho experimental foi realizado no Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares (LCAM), da linha 2 do CEFITEC, no aparelho de feixes moleculares cruzados, apresentado na Figura 2.3.



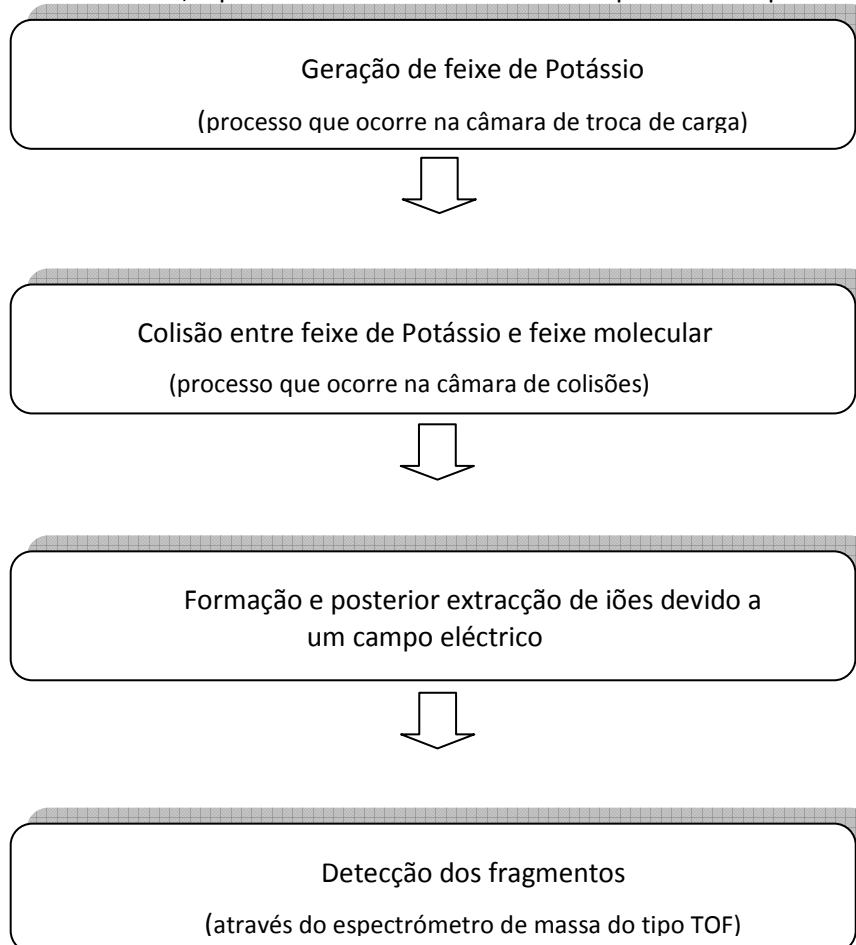
Figura 2.3 Fotografia do aparelho de feixes moleculares cruzados onde a) câmara de colisões; b) câmara de troca de carga; c) bombas de alto-vácuo; d) zona de extracção; e) tubo de tempo de voo.

Este aparelho de feixes moleculares cruzados, consiste num feixe de potássio neutro acelerado que cruza ortogonalmente com um feixe molecular na zona de colisão. Os fragmentos iónicos formados após interacção de ambos os feixes são analisados em massanum espectrómetro do tipo tempo de

voos(TOF). É constituído por duas câmaras de alto vácuo, sendo que este é assegurado por bombas difusoras que por sua vez estão ligadas a bombas rotatórias. Estas câmaras têm bombeamento independente e estão ligadas entre si por uma válvula intercâmaras. A monitorização do vácuo é efectuada em diversos locais com o auxílio de medidores de pressão. Na câmara (b) ocorre a criação do feixe de potássio neutro hipertérmico através de um processo de troca de carga ressonante. O referido feixe é monitorizado na câmara adjacente, câmara (a) por um detector do tipo Langmuir-Taylor. Ortogonalmente é produzido um feixe molecular neutro através de uma fenda de 1 mm de diâmetro. Ambos os feixes cruzam na zona de colisão onde ocorre a troca de carga. A zona de colisão está localizada entre dois pratos paralelos com 1,2 cm de afastamento. Os iões resultantes da colisão dos dois feixes são extraídos através de um campo eléctrico na direcção normal ao plano de cruzamento. Estes iões são direccionados para o tubo de tempo de voo atravessando um sistema de lentes Einzel e posteriormente são detectados através de um detector de partículas carregadas do tipo canaltrão.

Com o intuito de obter padrões de fragmentação da glicina para diferentes energias, em colisões átomo molécula, faz-se colidir o feixe de potássio neutro acelerado a diferentes energias, com o feixe de glicina, promovendo a transferência de electrão e consequente formação de iões negativos.

Esquemáticamente, o processo anteriormente descrito pode ser simplificado em



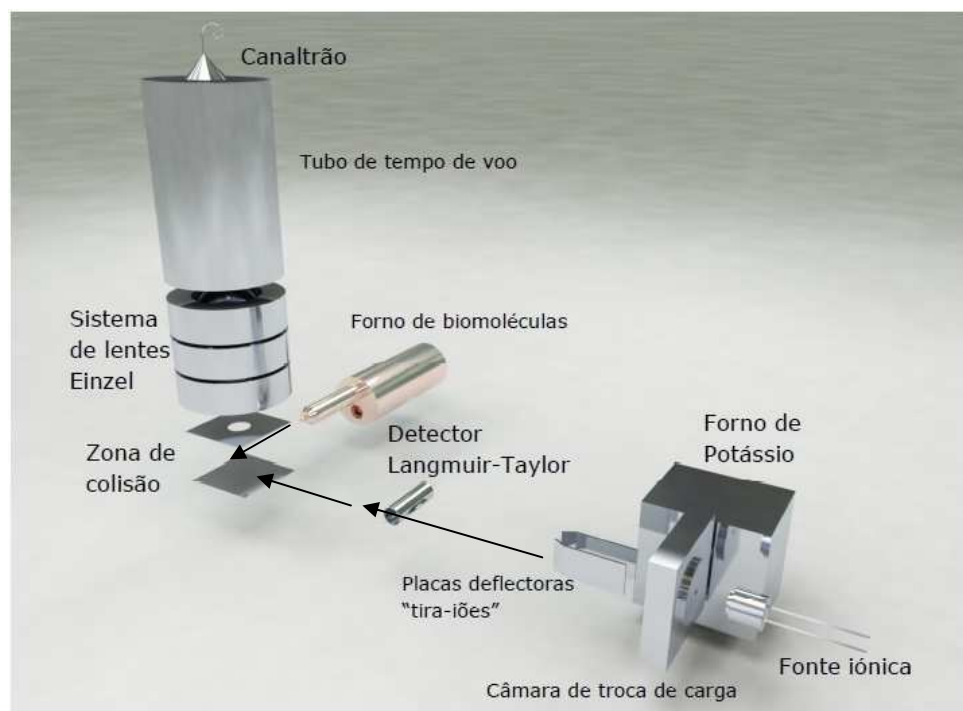


Figura 2.4 Esquema representativo do equipamento experimental

2.2. Primeira câmara - produção de feixe de potássio neutro

2.2.1. Sistema de troca de carga

No sistema de troca de carga é criado um feixe neutro acelerado de potássio hipertérmico. Este sistema é constituído por um forno, uma câmara de troca de carga e uma fonte de iões de potássio, K_{hyper}^+ que devido a um processo de troca de carga ressonante produz um feixe de potássio neutro acelerado, K_{hyper}^0 .

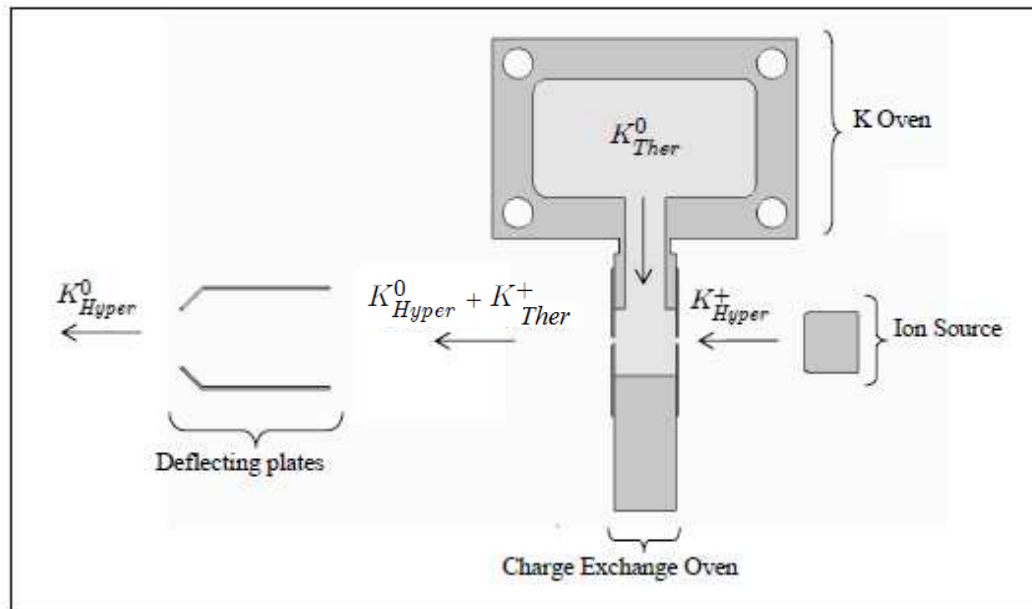


Figura 2.5 Esquema representativo do sistema de troca de carga^[7].

O sistema de troca de carga possui uma fonte de íões de potássio (K_{hyper}^+) que são acelerados até passarem por uma fenda circular onde interagem com átomos de potássio neutros aquecidos provenientes do forno. Este forno é um dispositivo de ácido inox que permite o aquecimento do potássio sólido a uma temperatura de 420K. Deste modo os íões K_{hyper}^+ provenientes da fonte de íões, entram em contacto com os átomos de potássio neutro e recebem um electrão dos átomos K_{ther}^0 originando à saída da câmara de troca de carga um feixe neutro acelerado K_{hyper}^0 e um feixe iónico com energia térmica K_{ther}^+ .

O processo de troca de carga pode ser expresso através da seguinte equação:



Os íões K_{hyper}^+ são acelerados por aplicação de uma diferença de potencial aos terminais da fonte de potássio (pastilha), originando um feixe K^+ acelerado com a energia cinética pretendida. A câmara de troca de carga é aquecida através de duas resistências a uma temperatura típica de 440 K. A temperatura da câmara de troca de carga é superior à do forno, de modo a evitar a

eventual condensação do potássio no seu interior. As fendas são circulares, de 1,5mm de diâmetro e são importantes para assegurar a densidade e colimação do feixe. As resistências de aquecimento e o medidor de temperatura são controlados exteriormente por um controlador PID (*Proportional-Integrator-Derivative*).

2.2.2. Placas deflectoras de iões ou “Tira-iões”

Com o objectivo de assegurar um feixe de átomos neutros de potássio, uma vez que nem todos os iões produzidos pela fonte iónica sofrem troca de carga resonante, existem duas placas rectangulares, uma com potencial positivo em relação à outra que permite a deflexão das partículas iónicas.

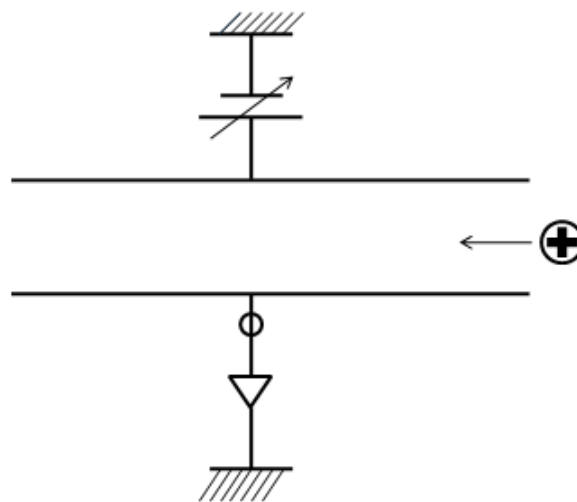


Figura 2.6 Esquema representativo da deflexão de iões.

A placa colectora está ligada a um electrómetro e é usada para a medição de corrente iónica, o que permite monitorizar a taxa de produção de iões K^+ .

2.3. Segunda câmara- câmara de colisões

2.3.1 Detector de ionização do tipo Langmuir-Taylor

Este detector permite a monitorização da corrente de potássio neutro que chega à zona de colisões.

O detector Langmuir-Taylor consiste num colector cilíndrico, que possui ao longo do seu eixo central um filamento ionizador de Iridio (0,125 mm de espessura, pureza > 99%). Possui duas aberturas para permitir a passagem do feixe de potássio neutro para a zona de colisões. O filamento de Iridio encontra-se acima do eixo central da fenda para não interferir com a passagem do feixe enquanto permite a sua medição.

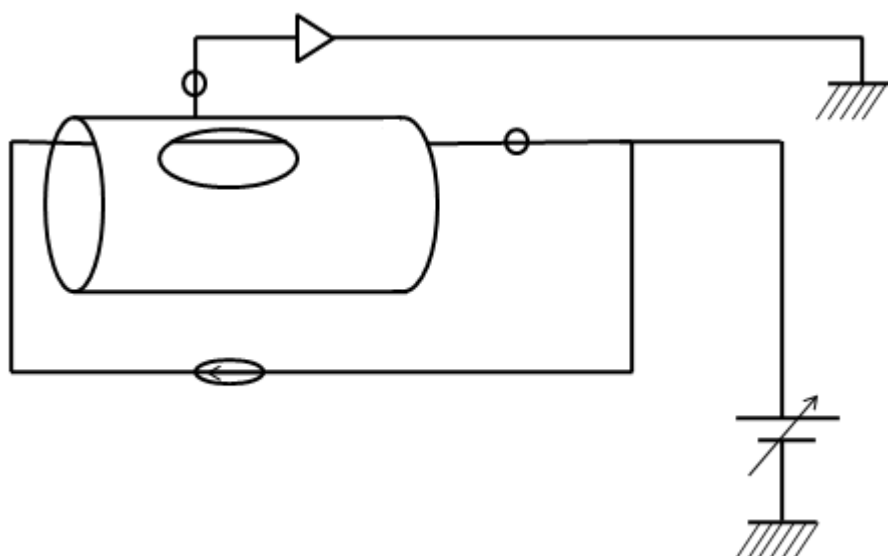


Figura 2.7. Imagem referente à localização do filamento de irídio.

Para medir a corrente iónica num electrómetro, aplica-se ao filamento uma corrente típica de 0,630 A e uma tensão de deflexão de +60 V. A corrente mede-se em relação ao colector, criando-se um campo eléctrico entre o filamento e o colector deflectindo os iões provenientes da ionização dos átomos neutros K_{hiper}^0 . Deste modo produz-se uma corrente no colector, proporcional à intensidade do feixe

neutro acelerado. Torna-se então possível monitorizar a corrente de K_{hiper}^0 que entra na câmara de colisões.

2.3.2. Forno de moléculas sólidas

O forno é uma estrutura cilíndrica em cobre e onde se colocam as amostras sólidas a aquecer e vaporizar, permitindo assim gerar um feixe efusivo de moléculas neutras.

O controlo da temperatura do forno é efectuado por um sensor de temperatura do tipo termopar com uma junção crómo-alúmel. O termopar do tipo K utilizado apresenta uma incerteza de 2,5% entre 230 K e 600 K.

Após o aquecimento da amostra e criação do feixe efusivo de moléculas de glicina, este é direccionado para a zona de colisão através de uma fenda de colimação de 1 mm de diâmetro.

2.4. Tecnologia do vácuo

O sistema de vácuo é constituído por três bombas rotatórias, duas bombas difusoras e uma bomba turbomolecular. Cada câmara tem associada uma bomba rotatória de dois estágios e uma bomba difusora de modo a ser possível a obtenção de alto-vácuo. A zona onde está situado o canaltrão é bombeada por uma bomba turbomolecular e a zona de introdução de amostras está equipada com uma terceira bomba rotatória.

2.4.1. Bombas rotatórias

As bombas rotatórias são responsáveis pela extracção dos gases do sistema, lançando-os para a atmosfera. As bombas rotatórias atingem, tipicamente, valores de 10^{-2} mbar.

2.4.2. Bomba difusora

A bomba difusora, por sua vez, é constituída por um invólucro cilíndrico, dentro do qual existe um conjunto de ejectores para o óleo da bomba e entre estes uma chaminé que conduz o vapor aos vários andares de ejectores. As moléculas do vapor de óleo, ao saírem dos ejectores, arrastam as moléculas do gás existentes dentro da bomba para baixo e em direcção às suas paredes. Como estas são arrefecidas, por circulação de água externa, ocorre condensação do fluído que posteriormente regressa ao vaporizador. O gás arrastado é comprimido na parte inferior, de onde é retirado pela bomba rotatória associada à bomba de difusão. A pressão final dos gases permanentes é tão baixa que o vácuo atingido só é determinado pela tensão de vapor do óleo da bomba. Estas bombas baixam a pressão para valores na ordem dos 10^{-7} mbar- 10^{-8} mbar^[31].

2.4.3. Válvula electromagnética

Entre cada uma das bombas rotatórias e respectivas bombas difusoras existe, uma válvula electromagnética de isolamento e um condensador – trapa de zeólitos, que previne a migração do óleo da bomba rotatória para a zona de baixa pressão, ou seja, para o sistema. Este tipo de condensadores permitem grandes velocidades no bombeamento do vapor de água e de vapores de óleo provenientes da bomba rotatória devido ao seu poder de absorção.

2.4.4. Alto-vácuo

Sendo o livre percurso médio uma grandeza da distância média percorrida por um átomo, ou molécula, entre duas colisões sucessivas, este pode ser descrito pela seguinte expressão:

$$\lambda \cong \frac{7 \times 10^{-3}}{P_{\text{trabalho (mbar)}}} [\text{cm}] \quad (2.2)$$

Utilizando a expressão 2.1 e, tendo em consideração as pressões utilizadas, na ordem de $3 \cdot 10^{-7}$ mbar, o livre percurso médio calculado é, aproximadamente, 233 m. Uma vez que a distância entre o local de produção do feixe de potássio e o local de formação de iões é de cerca de 50cm, é possível constatar que a colisão átomo-molécula que ocorre é uma colisão de característica binária.

O controlo do vácuo primário é efectuado por um sensor do tipo pirani, enquanto na gama de alto-vácuo este é conseguido por um sensor do tipo “penning”.

O tubo de tempo de voo é bombeado por uma bomba turbomolecular que permite um bombeamento de base da ordem dos 10^{-8} mbar. As bombas turbomoleculares baseiam-se na transferência de momento linear de um rotor a grande velocidade para as moléculas de gás situadas entre o rotor e o estator, conferindo-se movimento às moléculas de modo que estas saiam do sistema a bombear.

2.5. Sistema de detecção de partículas

O espectrómetro de massa do tipo tempo de voo (TOF – “*Time of Flight*”) é composto por duas fendas de colimação, um prato de extracção, duas redes, um sistema de lentes Einzel, uma zona livre de campo, um detector de partículas carregadas do tipo canaltrão e possui um tubo de tempo de voo de comprimento efectivo com 1,4 m.

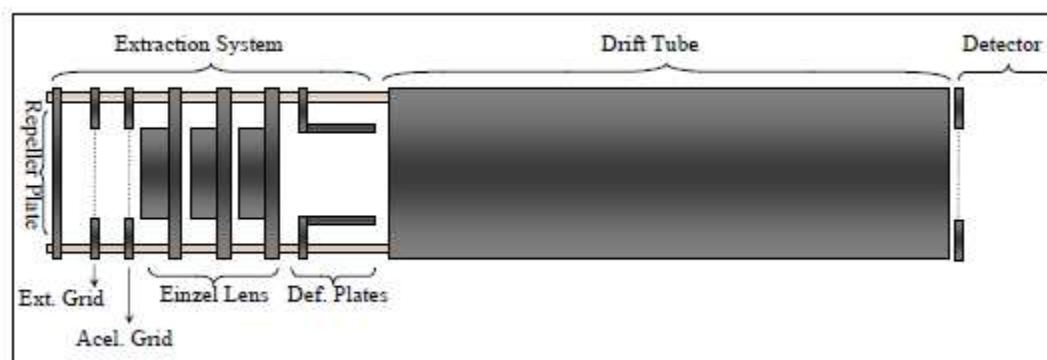


Figura 2.8 Esquema ilustrativo do sistema de extração e detecção^[9].

2.5.1. Lentes Einzel

As lentes de Einzel são um sistema de três cilindros que mantém a trajetória das partículas carregadas (que foram extraídas após colisão) no sentido ascendente e permite a convergência das

mesmas para a entrada do detector do tipo canaltrão, permitindo assim otimizar a sua detecção. Na configuração actual do espectrómetro TOF, é aplicada uma tensão de 1,5kV na segunda lente e 0V na primeira e terceira lentes.

2.5.2. Detector do tipo canaltrão

Este detector é um dispositivo multiplicador de electrões, que permite que as partículas carregadas que cheguem à sua entrada e colidirem com as paredes internas produzirem a emissão de electrões secundários. Devido à diferença de tensão de 2000V entre as extremidades do detector, os electrões secundários gerados no seu interior, vão ser acelerados e ao embater outra vez nas paredes do detector vão produzir mais electrões promovendo um efeito de multiplicação em cascata.

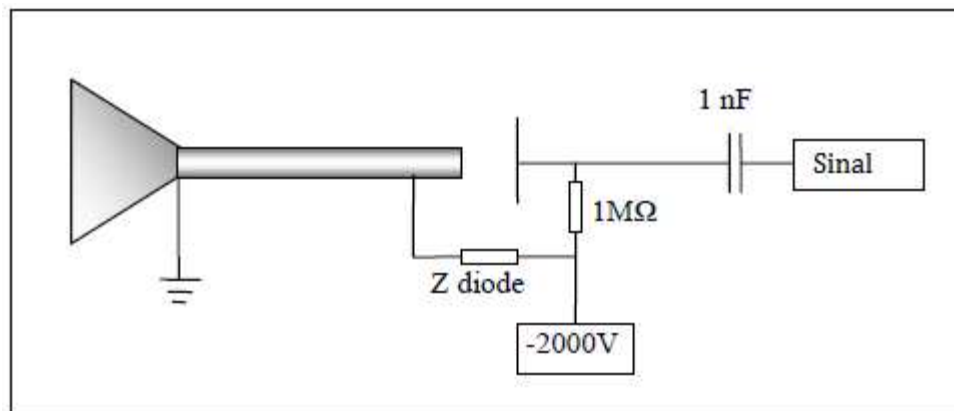


Figura 2.9 Esquema do pulso na detecção de iões negativos.

A detecção de um ião corresponde a um impulso negativo de duração aproximada de 8 μ s e amplitude de -20mV. O tempo entre cada impulso consecutivo é de 80 μ s. O impulso obtido é isolado, amplificado e discriminado.

2.5.3 Espectros de massa

2.5.3.1. Espectrómetro de massa do tipo Tempo de Voo

Na zona de colisão, após a interacção de um feixe de átomos neutros com um alvo molecular gasoso dá-se a formação de um grupo de iões. Este grupo de iões é acelerado por campos eléctricos e projectado através de um espaço livre de campo em direcção ao detector. O tempo de voo de um ião é proporcional a $(m/q)^{1/2}$, assim, se o sinal detectado é em função do tempo, observa-se uma série de picos, cada um representando os iões de um determinado valor m/q .

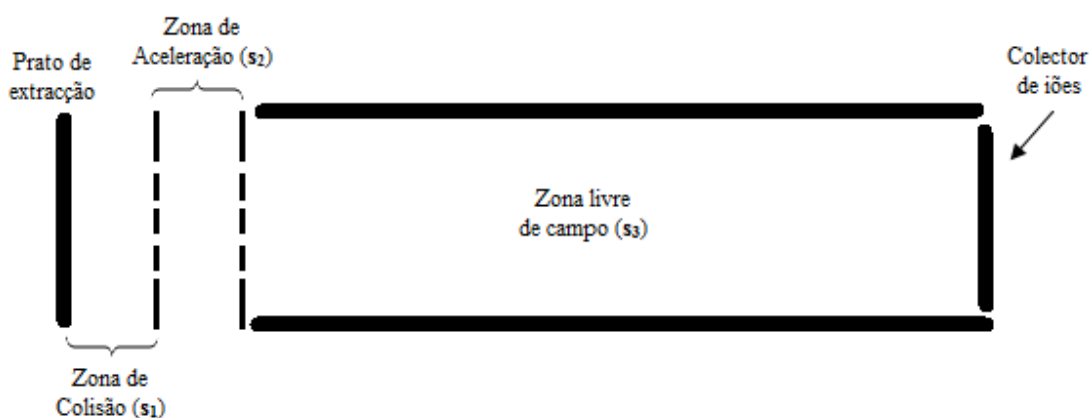


Figura 2.8. Esquema genérico de um sistema de tempo de voo de dois estágios.

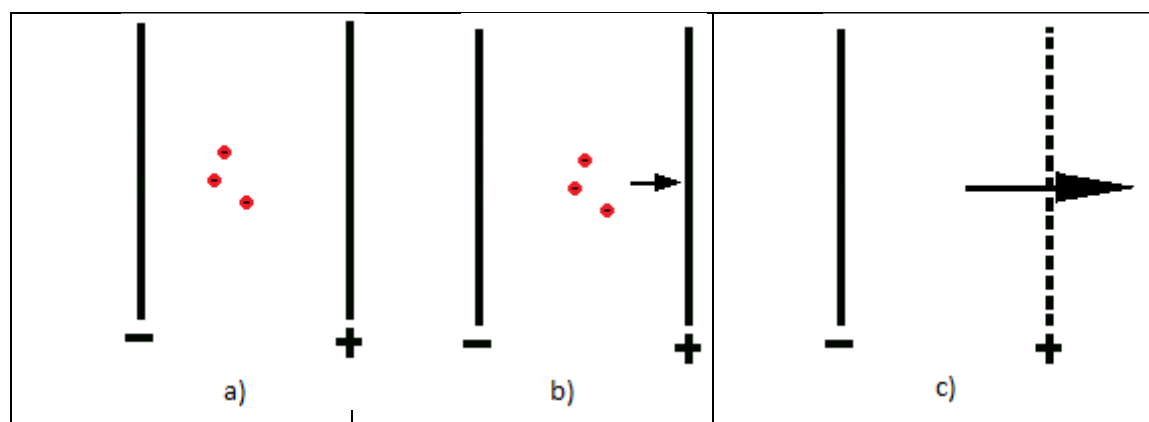
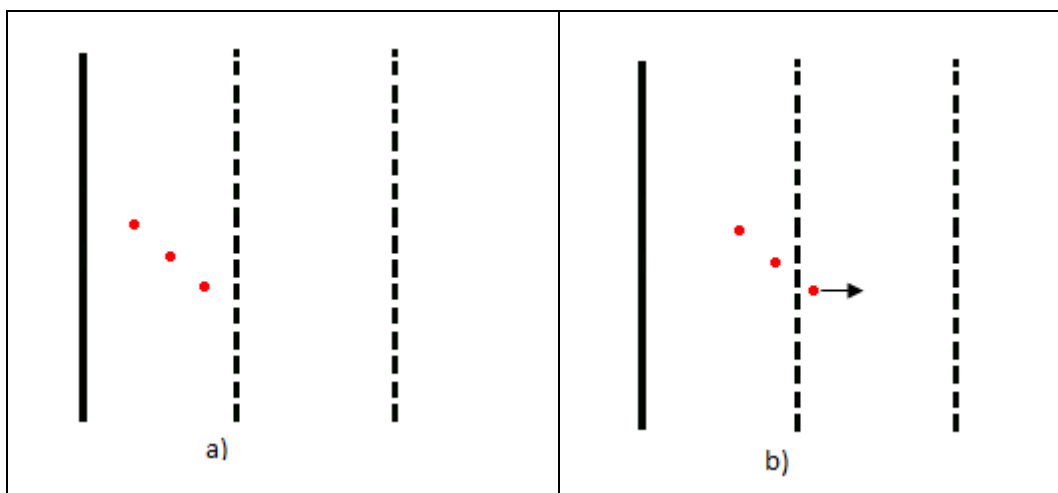


Figura 2.9. Representação esquemática da zona de extracção. a) ião negativo numa zona sem campo extractor. b) ião negativo é acelerado na direcção do eléctrodo positivo. c) o ião passa pela grelha de extracção, entrando na zona de aceleração.

Tomemos como exemplo um ião negativo, este vai ser acelerado na direcção do eléctrodo positivo. Se o eléctrodo positivo for substituído por uma grelha, o ião irá passar através dela e sairá da zona de colisão. Essa grelha é chamada de grelha de extracção. O eléctrodo oposto ao da grelha de extracção repele os iões.

Num espectrómetro do tipo tempo de voo (TOF-Time of Flight) com um só campo extractor, se dois iões começarem com velocidades axiais de igual magnitude, mas em sentidos opostos, o ião ejectado no sentido contrário ao campo aplicado será desacelerado, e o ião que é ejectado na direcção do campo é acelerado em direcção ao detector. O ião que inicialmente se movia contrariamente ao campo aplicado, passará no plano de origem com a mesma velocidade que o ião que vai no sentido do campo, mas com um atraso temporal que irá persistir ao longo de todo o percurso até ao detector. Este atraso deve ser menor que a diferença de tempo entre duas massas adjacentes. Este defeito pode ser parcialmente corrigido com a introdução de mais um campo (acelerador) no espectrómetro TOF. Deste modo, os iões que possuem velocidade menor vão permanecer na zona de aceleração mais tempo, adquirindo assim maior aceleração e diminuindo o tempo de atraso (figura 2.10).

Os iões formados na zona de colisão são retirados pelo primeiro campo eléctrico E1, sendo em seguida acelerados pelo segundo campo E2 antes de entrarem no tubo de voo (que não tem qualquer campo aplicado), chegando ao detector.



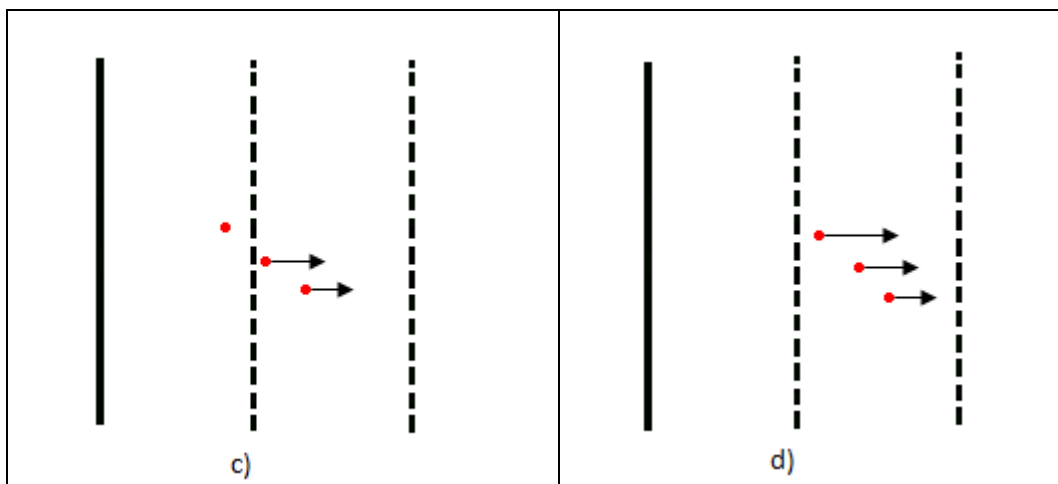


Figura 2.10. Representação da aceleração ganha pelos íões na zona de aceleração

Tendo em conta as notações da figura 2.8., vamos proceder ao cálculo dos tempos de voo t_{s1} , t_{s2} e t_{s3} para os três percursos s_1 , s_2 e s_3 . Considerando que a partícula se encontra sobre o eixo dos xx , comecemos pelo cálculo do tempo de voo na zona s_1 :

Equação do movimento,

$$x = x_0 + v_0 t_{s1} + \frac{1}{2} a_1 t_{s1}^2 \quad (2.3)$$

Visto que s_1 é a distância entre as placas, $s_1 = x - x_0$ logo, a expressão anterior toma a forma:

$$\frac{1}{2} a_1 t_{s1}^2 + v_0 t_{s1} - s_1 = 0 \quad (2.4)$$

Através da energia cinética inicial, podemos calcular a velocidade inicial da partícula:

$$W_0 = \frac{1}{2} m v_0^2 \Leftrightarrow v_0 = \pm \sqrt{\frac{2W_0}{m}} \quad (2.5)$$

Onde W_0 é a energia cinética inicial de um íão (fragmento). Tanto a solução positiva como a negativa são válidas. Os sinais (-) e (+) na equação 2.5 referem-se aos componentes da velocidade inicial orientados na direcção contrária e favorável ao detector, respectivamente.

Resolvendo a expressão 2.4:

$$t_{s1} = \frac{-v_0 \pm \sqrt{v_0^2 + 2a_1 \cdot s_1}}{a_1} \quad (2.6)$$

Substituindo a_1 e v_0 pelas expressões 2.2 e 2.5, respectivamente

$$t_{s1} = \frac{\pm \sqrt{\frac{2W_0}{m}} \pm \sqrt{\frac{2W_0}{m} + \frac{2zeE_1}{m} s_1}}{\frac{zeE_1}{m}} \quad (2.7)$$

Temos assim quatro soluções possíveis analiticamente, duas positivas e duas negativas. No entanto, apenas fazem sentido as soluções positivas, visto estarmos a calcular um tempo. Assim, o tempo de voo na zona s_1 (zona de extracção) é:

$$t_{s1} = \frac{(2M)^{1/2}}{zeE_1} \left[(W_0 + zeE_1 s_1)^{1/2} \pm W_0^{1/2} \right] \quad (2.8)$$

Para esta equação existem duas soluções possíveis. Quando $W_0^{1/2}$ é positivo t_{s1} é maior do que quando $W_0^{1/2}$ é negativo, o que significa que as partículas que inicialmente se movem no sentido contrário ao campo extractor têm um $W_0^{1/2}$ positivo, o seu tempo de voo é maior. Ao contrário, as partículas que se movem na direcção do campo extractor têm um $W_0^{1/2}$ negativo, o seu tempo de voo é menor. São assim obtidos os valores do máximo e mínimo (velocidade e aceleração) de tempo de voo para duas partículas iguais que tenham sido criadas no mesmo ponto do espaço, mas não possuem a mesma energia cinética inicial.

Passemos ao cálculo do tempo de voo na zona s_2 (zona de aceleração). Tanto a aceleração como a equação do movimento são semelhantes à da zona de extracção s_1 :

$$a_2 = \frac{F}{m} = \frac{zeE_2}{m} \quad (2.9)$$

$$x = x_2 + v_2 t_{s2} + \frac{1}{2} a_2 t_{s2}^2 \quad (2.10)$$

tendo em conta que a distância entre as duas placas é dada por $s_2 = x - x_a$,

$$\frac{1}{2}a_2t_2^2 + v_2t_{s_2} - d = 0 \quad (2.11)$$

sabendo que energia total de um ião é dada pela soma das energias em cada zona:

$$W = W_0 + W_1 + W_2 = W_0 + zeE_1s_1 + zeE_2s_2 \quad (2.12)$$

Sendo,

W_0 – energia inicial da partícula

W_1 – energia adquirida na zona de extracção

W_2 – energia adquirida na zona de aceleração

A energia total, W é independente da orientação inicial do vector velocidade visto que os iões que se movem na direcção directa e inversa deixam a região de aceleração com a mesma energia cinética. Então, a energia da partícula ao entrar na zona de aceleração é dada por:

$$W - W_2 = W_0 + W_1 \quad (2.13)$$

Sabe-se ainda que nesta zona a partícula adquire a energia:

$$W_2 = zeE_2s_2 \quad (2.14)$$

A velocidade de uma partícula que se move na zona de aceleração pode assim ser calculada por:

$$W_0 + W_1 = \frac{1}{2}mv_2^2 \Leftrightarrow v_2 = \sqrt{\frac{2(W_0 + W_1)}{m}} \quad (2.15)$$

Apesar de serem possíveis duas soluções em (2.15), apenas serão consideradas as velocidades positivas. Tal deve-se ao facto de na zona de extracção ser aplicado um campo com o mesmo sentido do campo aplicado na zona de aceleração, o que garante uma velocidade positiva.

Resolvendo a equação (2.11) e substituindo os valores da velocidade v_2 e da aceleração a_2 obtidos nas expressões (2.15) e (2.9):

$$t_{s2} = \frac{-\sqrt{\frac{2(W_0+W_1)}{m}} \pm \sqrt{2} \cdot \sqrt{\frac{W_0+W_1}{m} + \frac{qE_2}{m} s_2}}{\frac{zeE_2}{m}} \quad (2.16)$$

Apesar de a expressão (2.16) apresentar duas soluções, apenas a positiva é fisicamente possível, visto $t_2 > 0$,

$$t_{s2} = \frac{(2m)^{1/2}}{zeE_2} \left[-\sqrt{(W_0 + W_1)} + \sqrt{W_0 + W_1 + qE_2 s_2} \right] \quad (2.17)$$

Assim, substituindo (2.12) e (2.13) na equação anterior temos a expressão que permite calcular o tempo de voo de uma partícula na zona de aceleração:

$$t_{s2} = \frac{(2m)^{1/2}}{zeE_2} \left[W^{1/2} - (W_0 + zeE_1 s_1)^{1/2} \right] \quad (2.18)$$

Falta agora calcular o tempo de voo na zona livre de campo, s_3 . O procedimento a efectuar é igual ao efectuado para os outros dois casos. Neste caso não haverá a componente da aceleração, visto nenhum campo estar a ser aplicado. O tempo de voo na zona livre de campo será dado pela razão entre a distância percorrida pela partícula até à zona livre de campo, $x - x_D$ e a velocidade que a partícula tem ao entrar nesta zona, v_D :

$$t_3 = \frac{x - x_3}{v_3} = \frac{s_3}{v_3} \quad (2.19)$$

Calculando v_3 ,

$$W = \frac{1}{2} m v_3^2 \Leftrightarrow v_3 = \pm \sqrt{\frac{2W}{m}} \quad (2.20)$$

e substituindo v_3 obtido em (2.20) em (2.19):

$$t_{s3} = \frac{(2m)^{1/2}s_3}{2W^{1/2}} \quad (2.21)$$

Sabendo que o tempo total de voo de uma partícula é dado por $t_{TOF} = t_1 + t_2 + t_3$, temos:

$$t_{TOF} = \sqrt{\frac{m}{2}} \times \left[\frac{s_3}{W_0 + zes_1E_1 + zes_2E_2} + \frac{2(\sqrt{W_0 + zesE_1} \pm \sqrt{W_0})}{zeE_1} + \frac{2(\sqrt{W} - \sqrt{W_0 + zes_1E_1})}{zeE_2} \right] \quad (2.22)$$

No caso ideal, onde todos os iões começam a deslocar-se no plano situado a uma distância s_1 com uma energia cinética de zero, $W_0 = 0$, o tempo total de voo $t_{TOF} = t_1 + t_2 + t_3$, pode ser escrito na forma:

$$t_{TOF} = \left(\frac{m}{2W}\right)^{1/2} \left(2k^{1/2}s_1 + \frac{2k^{1/2}s_2}{k^{1/2} + 1} + s_3\right) \quad (2.23)$$

sendo k uma constante definida como,

$$k = \frac{E_1s_1 + E_2s_2}{E_1s_1} \quad (2.24)$$

A diferença entre os tempos de voo de duas massas consecutivas m e $m+1$ é chamada de resolução em massa. Assumindo que as partículas foram criadas com o mesmo valor em módulo de s e W_0 , a resolução em massa pode ser calculada do seguinte modo:

$$\Delta T_m = t_{m+1} - t_m = \left(2k^{1/2}s_1 + \frac{2k^{1/2}s_2}{k^{1/2} + 1} + s_3\right) \left[\frac{1}{(2W)^{1/2}}(m+1)^{1/2} - m^{1/2}\right] \quad (2.25)$$

Esta expressão pode ainda ser simplificada, visto que k é uma constante, ou seja analisando (2.24), significa considerar os campos eléctricos das zonas de extracção E_1 e da zona de aceleração E_2 como sendo constantes, assim como as distâncias s_1 e s_2 . Reescrevendo (2.25) e assumindo algumas aproximações, temos:

$$\Delta T_m = \frac{k}{(2W)^{1/2}} m^{1/2} \left[\left(m + \frac{1}{m} \right)^{1/2} - 1 \right] = t_m \left[\left(m + \frac{1}{m} \right)^{1/2} - 1 \right] \approx \frac{t_m}{2m} \quad (2.26)$$

Através da expressão anterior podemos afirmar que à medida que as massas dos fragmentos a analisar aumentam, a capacidade que um aparelho possui para as distinguir diminui.

A seguinte figura apresenta as tensões eléctricas típicas utilizadas no sistema de extração TOF.

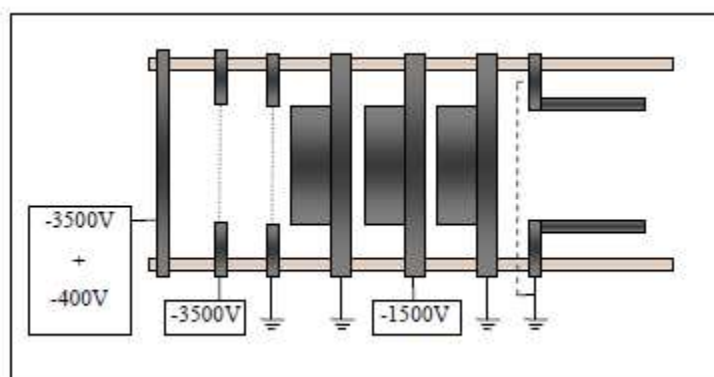


Figura 2.11 Tensões aplicadas no sistema de extração TOF^[9].

Resultados e discussão

Este trabalho tem como objectivo o estudo e análise do padrão de fragmentação da glicina após transferência de electrão, através do processo de troca de carga em colisões de átomos (K) com moléculas (glicina). Como foi descrito anteriormente, electrões de baixa energia levam à degradação de sistemas moleculares como o ADN. Vários são os estudos publicados da fragmentação da glicina por CED, contudo, este é o primeiro estudo recorrendo a TE.

3.1. Condições experimentais

A energia cinética no centro de massa é dada pela seguinte expressão:

$$E_{CM} = V_{aceleração} \times 0.9 \times \frac{m_{alvo}}{m_{alvo} + m_{projétil}} \quad (3.27)$$

Onde m_{alvo} refere-se à massa da glicina e $m_{projétil}$ refere-se à massa do potássio, que são respectivamente 75 g mol^{-1} e 39 g mol^{-1} .

Para sabermos a energia envolvida no processo de colisão, a energia disponível na transferência de electrão, temos de subtrair a energia de ionização do potássio que é de 4,34 eV. O valor 0.9 na expressão (3.1) é um factor de correcção que depende da função do aparelho.

Para os valores de tensão de aceleração aplicada, têm-se os valores de energia de centro de massa e disponível, apresentados na tabela 3.1:

Tabela 3.1 Valores de energia

V aceleração [V]	Energia no Centro de Massa [eV]	Energia disponível [eV]
20	12,0	7,7
30	18,0	13,7
40	24,0	19,7

50	30,0	25,7
60	36,0	31,7
90	54,0	49,7
100	60,0	55,7

Obtiveram-se espectros de massa de tempo de voo de iões negativos formados por transferência de electrão para as diferentes energias. Os iões negativos formados na zona de interacção são extraídos por um campo eléctrico de 333 Vcm^{-1} , com uma duração de $1,5 \mu\text{s}$. Os espectros de tempo de voo são obtidos, sempre que possível de forma a que as áreas dos picos apresentem uma boa estatística, i.e., uma boa razão sinal/ruído. Consideramos que a intensidade do ruído de fundo não deve ser superior a 10% da intensidade máxima dos picos mais abundantes. A molécula de glicina utilizada encontra-se comercialmente disponível sob a forma sólida, por isso foi necessário aquecê-la no forno de moléculas sólidas de forma a aumentar a sua pressão de vapor com produção de um feixe efusivo de glicina direccionado para o centro da zona de cruzamento dos feixes.

A temperatura necessária à vaporização da amostra deve ser controlada de forma a não levar à decomposição térmica da amostra. O controlo da não decomposição molecular pela temperatura, foi feito pela comparação da intensidade relativa de picos de diferentes fragmentos para diferentes temperaturas. A não variação da intensidade dos picos, garante a não decomposição térmica da glicina à temperatura de trabalho.

Tabela 3.2. Parâmetros experimentais para 20, 40 e 100eV.

Potencial de aceleração	20eV	40eV	100eV
Número de canais	2048	2048	2048
Largura de cada canal	8 ns	8 ns	8 ns
Tempo de aquisição	290800 s	71700 s	58000 s
Corrente LT(valor médio)	0,33 pA	7,47 pA	144,40 pA

3.2. Resultados

Neste capítulo apresenta-se a evolução dos perfis de fragmentação para diferentes energias de colisão, Figura 3.10, assim como um esquema dos fragmentos aniônicos obtidos, Figura 3.11, e uma tabela com os fragmentos aniônicos obtidos em comparação com outros estudos de CED, Tabela 3.3

3.2.1. Resultados dos espectros a baixas, médias e altas energias

Destacamos três espectros de massa de formação de iões negativos, que permitem a análise do comportamento de dissociação dos padrões de fragmentação a energias de aceleração do feixe de potássio (ou de colisão) de 20, 40 e 100 eV.

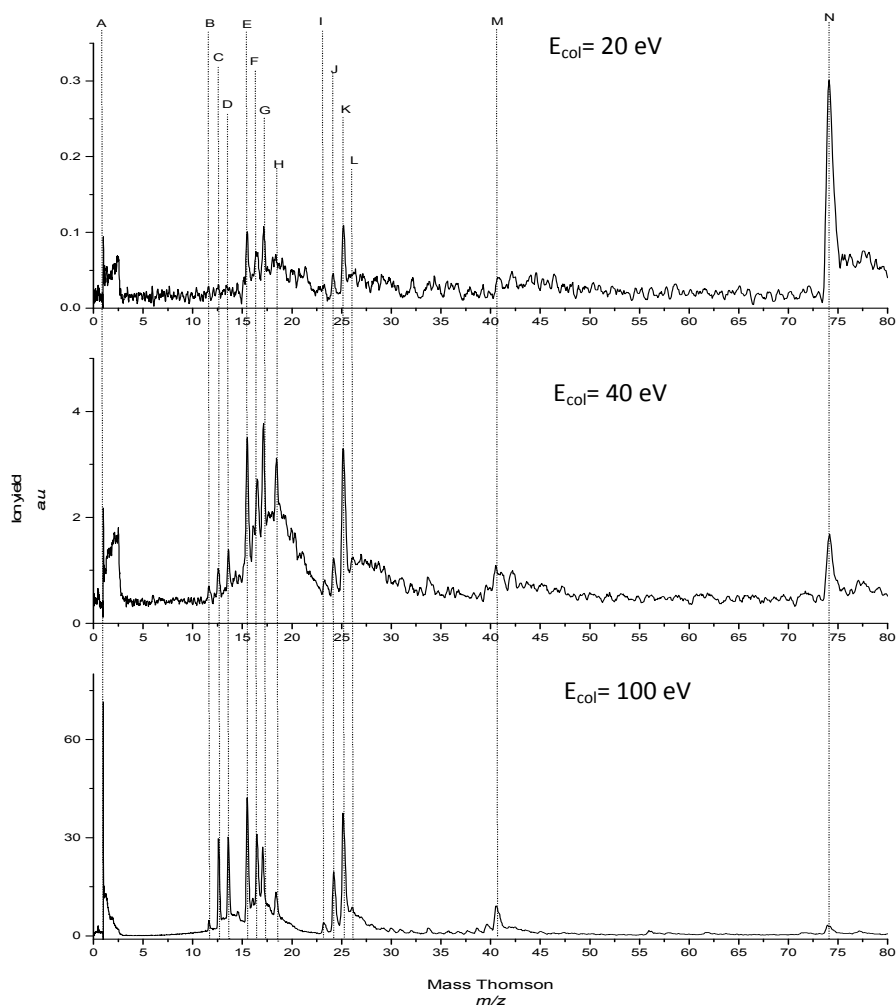


Figura 3.10 Comparação do perfil de fragmentação do aminoácido glicina para 20, 40 e 100 eV^[30].

Através da análise destes espectros, podemos afirmar que existe uma alteração do perfil de fragmentação com o aumento de energia de colisão. À medida que a energia de colisão aumenta, observamos um aumento de intensidade para os fragmentos mais leves enquanto que o anião de maior massa é produzido cada vez mais em menor quantidade relativa aos outros fragmentos. Outro ponto relevante é a formação de fragmentos com a mesma razão massa-carga, i.e. fragmentos isobáricos.

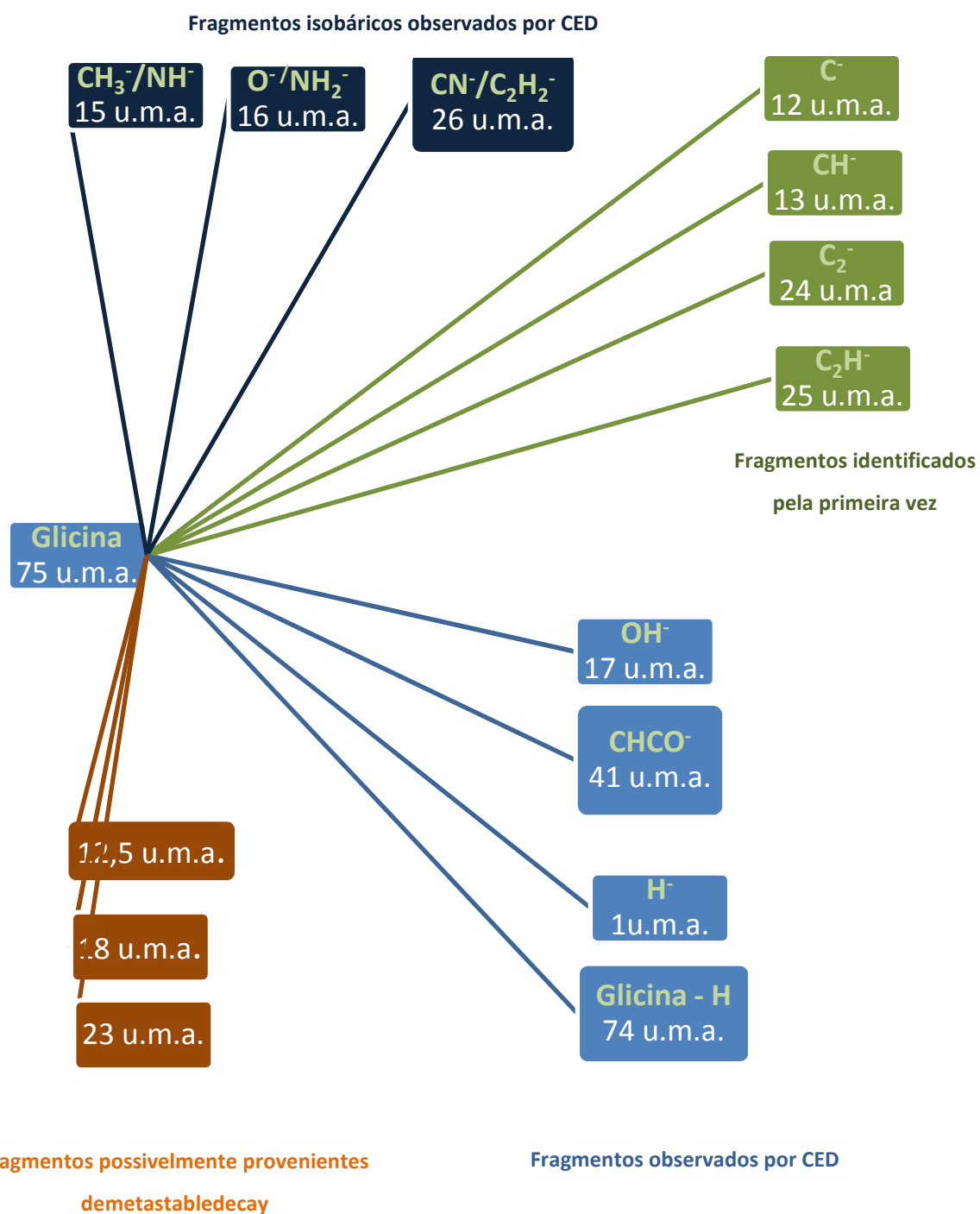


Figura 3.11 Esquema dos fragmentos aniônicos resultantes da fragmentação da glicina.

3.2.2 Análise dos fragmentos obtidos

Tabela 3.3 Comparação de fragmentos aniónicos observados por colisões potássio-glicina numa gama de energias de 20-100 eV^[30].

Presente trabalho	massa (u.m.a.)	Fragmentos aniónicos	Fragmentos obtidos por CED
A	1	H ⁻	[12]
B	12	C ⁻	-
C	12.5	Mdecay	-
D	13	CH ⁻	-
-	14	-	[14]
E	15	CH ₃ ⁻ / NH ⁻	[13], [14]
F	16	O ⁻	[11], [12], [13]
G	17	OH ⁻	[11], [12], [14]
H	18	Mdecay	-
I	23	Mdecay	-
J	24	C ₂ ⁻	-
K	25	C ₂ H ⁻	-
L	26	CN ⁻ / C ₂ H ₂ ⁻	[11], [12], [13], [14]
-	28	H ₂ CN ⁻	[11], [12], [14]
-	39	-	[14]
M	41	CHCO ⁻	[14]
-	44	-	[14]
-	45	HCO ₂ ⁻	[11], [12], [14]
-	46	-	[14]
-	56	H ₂ C ₂ NO ⁻	[11], [12], [14]
-	58	H ₂ C ₂ O ₂ ⁻ / H ₄ C ₂ NO ⁻	[11], [12], [14]
-	59	-	[14]
-	72	-	[14]
-	73	-	[14]
N	74	NH ₂ CH ₂ COO ⁻	[11], [12], [14]

3.2.2.1 Anião progenitor desidrogenado: (Glicina-H)⁻ (74 u.m.a.)

Esta massa é frequentemente denominada como anião progenitor desidrogenado. A intensidade deste anião aumenta com o aumento da energia de colisão. No entanto, podemos observar que com o aumento da energia de colisão, a intensidade deste anião relativamente aos outros fragmentos diminui.

A intensidade significativa deste anião a baixas energias pode ser explicada pela inibição da autolibertação do electrão. Uma vez que a estas energias (20 eV) a velocidade do potássio é menor do que a energias mais elevadas. O catião K⁺ permanece na vizinhança da molécula alvo durante mais tempo, permitindo uma maior interacção coulombiana que tenderá a estabilizar o complexo molecular e diminuir assim a probabilidade do electrão transferido para a molécula ser ejectado. Por outro lado, para energias mais altas, a diminuição da intensidade relativa deste fragmento pode ser explicado devido ao aumento da energia disponível no sistema, o que pode promover outros canais de fragmentação. Este facto pode explicar a formação do fragmento de 24 u.m.a. identificado como C₂⁻. Estudos realizados pelo grupo de Innsbruck^[11] mostraram que o anião progenitor desidrogenado formado com excesso de energia interna pode decaír na formação de fragmentos aniónicos mais leves^[30]. Este processo que se deve ao decaimento metastável (*metastable decay*) pode estar relacionado com a diminuição da intensidade relativa deste anião.

O anião progenitor desidrogenado é formado pela captura de um electrão numa orbital π^* do grupo COOH. Estudos teóricos de Rescigno et al.^[32], mostraram que para espécies carboxílicas, como o ácido fórmico, o electrão é capturado pela orbital π^* do grupo COOH conduzindo à formação de um anião progenitor desidrogenado de camada fechada e um radical H[•]. A energia neces é de 1,93 eV e foi calculada por estudos de espectroscopia de transmissão electrónica^[18]. Rescigno et al.^[33], concluíram também que o acoplamento entre a orbital σ^* e π^* de menor energia, pode ser responsável pela fragmentação ao longo da ligação O-H conduzindo à ejeção do átomo de hidrogénio. No entanto estudos recentes de Gallup et al.^[33,34] concluíram que a ejeção do H ocorre apenas via captura electrónica pelas orbitais σ^* do grupo OH. Apesar de estudos realizados por CED reportarem ejeção do H a energias de sub-excitação electrónica inferiores a 3 eV, associada à captura por estados de valência, não podemos descartar a relevância dos estados dipolares, em face do elevado valor do momento dipolar da glicina 5.7D^[30]. Com base na discussão do momento dipolar, podemos sugerir que a abstracção do H se deve ao acesso às ressonâncias de Feshbach do estado aniónico dipolar, e que por

acoplamento adiabático com os estados repulsivos de carácter σ^* que se encontram acima do limite assintótico, permitem assim o tunelamento do átomo de Hidrogénio, conduzindo à dissociação.

Se a descrição dos processos em meio fisiológicos forem idênticos aos que aí apresentamos do ponto de vista da formação de iões negativos, a formação deste anião, pode ter relevância do ponto de vista biológico, uma vez que implica a presença de uma espécie neutra radicalar com grande mobilidade, H° e por isso susceptível de provocar dano em meio fisiológico. Estas espécies radicalares são extremamente eficientes em provocar quebras de ligações moleculares em outras estruturas ou pelo menos de formação de outras espécies. Os radicais livres estão associadas com o stress oxidativo que por sua vez está relacionado com quadros de doenças neurodegenerativas e oncológicas.

3.2.2.2 H^- (1 u.m.a) – A relação com o anião pai desidrogenado

Estudos realizados por Gohlke *et al.*[12], reportaram um pico associado a H^- para um valor de energia perto de 0 eV. A formação de H^- é complementar à reacção de desidrogenação da molécula de glicina, o que nos espectros de massa de TOF da Figura 3.1 se evidencia pela variação proporcionalmente inversa das intensidades em função da energia de colisão.

No presente estudo, por análise dos espectros de massa obtidos, observa-se este anião em todas as energias de colisão, é o pico mais proeminente a 100 eV. Apesar de ter sido feita a calibração e subtracção dos espectros de fundo, não se descarta a presença de algum artefacto que possa ter potenciado a intensidade deste pico. Experimentalmente e por forma a aferir da natureza deste anião, a substituição dos átomos de hidrogénio pelo isótopo deutério, permitirão em estudos futuros esclarecer esta questão.

3.2.2.3 Fragmentos isobáricos : CH_3^-/NH^- (15u.m.a.), O^-/NH_2^- (16 u.m.a.), $CN^-/C_2H_2^-$ (26 u.m.a.)

Estes fragmentos estudados por Maraucher *et al.*^[13] pelo método de CED, utilizando um espectrómetro de massa com alta resolução, são formados pelo acesso a “core excited resonances” sendo que o fragmento de massa 26 u.m.a. pode ser formado também através de uma ressonância de baixa energia a 2 eV. No presente estudo estes fragmentos isobáricos são explicados em termos de energia disponível através da observação das intensidades aniónicas.

Analisando a massa de 15 u.m.a. podemos inferir que se trata da espécie NH^- ou da espécie CH_3^- . Os estudos de Mauracher *et al.*[13], mostram que este fragmento resulta do acesso a uma ressonância entre os 4 e os 8eV com um máximo nos 6 eV e por outra ressonância entre os 9 e os 14eV centrada em 11.5 eV. A primeira é responsável pela formação de CH_3^- e a segunda por NH^- . Neste estudo, o anião formado a esta razão massa-carga, aumenta com a energia de colisão sendo o mais intenso para médias e altas energias. Para baixas energias, o anião pai desidrogenado, os compostos OH^- e C_2H^- são os mais intensos. Para baixas energias, ou seja a 20eV, a energia disponível é de aproximadamente 7,5eV ou seja, só são permitidos os canais energéticos por acesso a ressonâncias até esse valor, sugerindo-se então que o anião formado com 15 u.m.a. é CH_3^- . Esta situação permite-nos afirmar que para baixas energias, a contribuição para este pico se deve exclusivamente à formação de CH_3^- ao passo que para médias e altas energias a intensidade do pico deve-se à contribuição de ambos os fragmentos, i.e., CH_3^- e NH^- .

Para os fragmentos de massa 16 u.m.a. nos estudos de DEA^[13], pode-se distinguir a formação de NH_2^- e de O^- através da definição do valor da energia dos electrões incidente. Assim os valores das ressonâncias que permitem aceder à formação de NH_2^- , situam-se entre 4 a 8eV e para formação de O^- entre os 7 e os 15eV, com um máximo em 10eV. No presente estudo, para baixas energias com base na energia disponível, a intensidade do pico de 16 u.m.a. corresponde apenas à contribuição de NH_2^- . No entanto para médias e altas energias, a intensidade do pico deve-se à formação de ambos os fragmentos. Nesse sentido a utilização de isótopos é uma linha que pretendemos estudar para determinar efectivamente a contribuição de cada fragmento para este pico no espectro de massa de TOF.

Para os fragmentos de massa 26 u.m.a. podemos inferir que são os isobáricos menos intensos neste estudo. De acordo com os estudos de DEA, podemos dizer que existe uma ressonância associada à formação deste fragmento centrada em 2 eV, outra ressonância entre os 4 e os 8,5 eV com máximo em 6,5 eV, e ainda uma contribuição entre os 8,5 e os 14 eV com máximo em 11eV^[13]. Os mesmos estudos reportam que a formação de CN^- provem de todas as ressonâncias e que a formação de C_2H_2^- resulta apenas da ressonância de maior energia. Assim, no presente estudo a 20eV, esperaríamos a formação de CN^- , no entanto este pico não é significativo nos diversos espectros de massa de TOF.

3.2.2.4 Outros fragmentos

A formação dos fragmentos de massa 17 u.m.a. é reportada em vários estudos de CED^[11,12,14], e foi identificada como OH^- , espécie esta também visível em todos os espectros de massa no presente estudo. Este facto permite-nos afirmar, com base na energia disponível na colisão, que o valor do limiar de aparecimento é inferior a 7,5eV. O fragmento de 41 u.m.a. corresponde ao anião CHCO^- , também detectado em estudos de CED^[14]. Os estudos realizados por Muftakov and Shchukin^[14], mostraram que as ressonâncias que levam à formação deste fragmento se encontram entre os 6 e os 11eV, o que nos permite concluir que a formação deste composto molecular é visível a partir das energias de colisão intermédias.

Dos estudos de transferência de electrão em colisões potássio-glicina, foi possível obter pela primeira os seguintes fragmentos aniónicos: C^- (12a.m.u.), CH^- (13 a.m.u.), C_2^- (24 a.m.u.) e C_2H^- (25 a.m.u.). Tendo em conta os dados disponíveis na literatura dos valores das entalpias de formação^[35], $\Delta_f H^0(\text{C}^-) = 6.17 \text{ eV}$, $\Delta_f H^0(\text{CH}^-) = 6.56 \text{ eV}$ e $\Delta_f H^0(\text{C}_2^-) = 5.17 \text{ eV}$, para baixas energias, 20eV, maioritariamente temos a formação de C_2^- , enquanto para médias e altas energias todas as espécies se encontram presentes. A formação de C_2H^- requer uma complexidade de rearranjos moleculares e várias quebras de ligações do anião precursor. No entanto C_2H tem uma electroafinidade consideravelmente alta (2,969eV)^[36] razão pela qual observamos este fragmento a baixas energias. Por análise espectral podemos observar que a formação destes aniões aumenta como aumento da energia de colisão.

Fragmentos de massa 12,5 u.m.a., 18 u.m.a. e 23 u.m.a. são provavelmente devidos aos processos de decaimento metastável de outros fragmentos mais pesados, nomeadamente do anião progenitor desidrogenado. Estudos realizados pelo grupo de Innsbruck^[30], indicaram existir decaimento metastável do anião progenitor desidrogenado maioritariamente em fragmentos aniónicos de massas 45 a.m.u. e 46 a.m.u.. Apesar de não nos ser possível neste momento observar espécies provenientes de decaimento metastável, com base nesses estudos associamos a origem destes fragmentos à decomposição do anião pai desidrogenado.

3.3 Frações aniónicas

O conceito de frações aniónicas permite medir a quantidade relativa de um fragmento em relação a todos os outros para uma determinada energia de colisão. Através da análise destes dados pode-se concluir que a quantidade relativado ião pai desidrogenado diminui com o aumento da energia ao passo que a quantidade relativa dos outros fragmentos aniónicos aumenta com o aumento da energia de colisão.

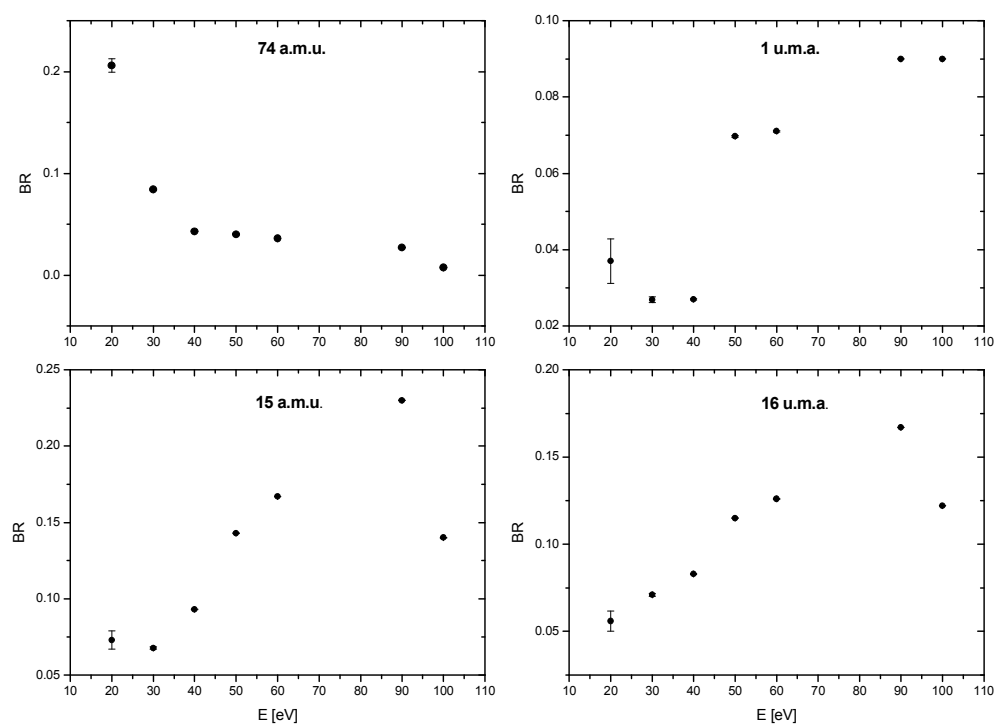


Figura 3.12 Frações aniónicas dos fragmentos de massa 1 u.m.a., 15u.m.a., 16u.m.a.e 74u.m.a.

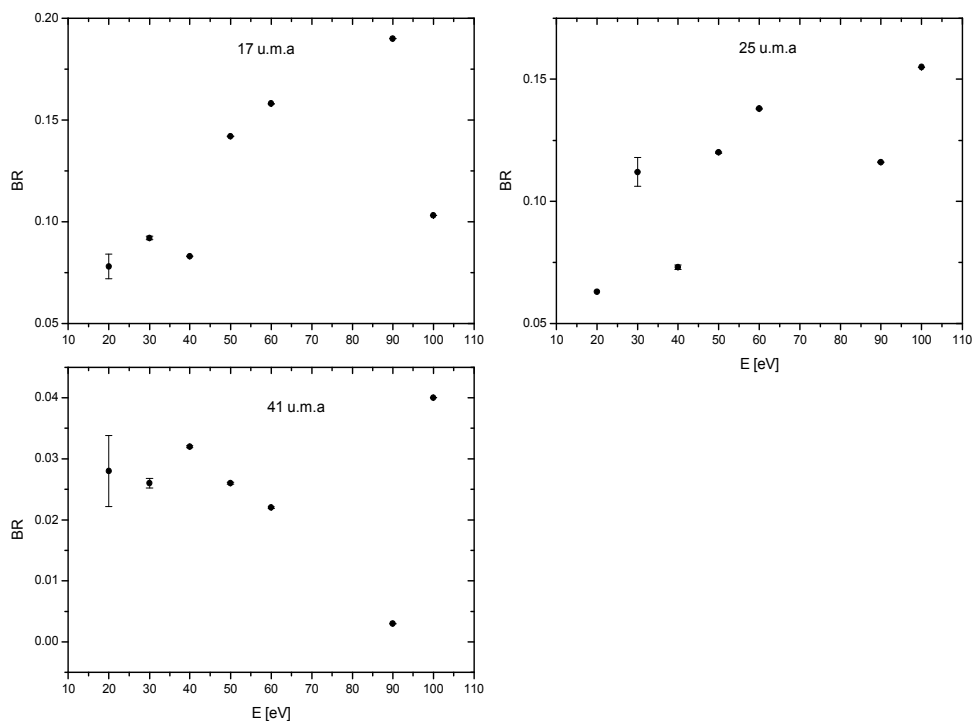


Figura 3.13 Frações aniónicas dos fragmentos de massa 17 u.m.a., 25 u.m.a. e 41 u.m.a.

A informação destas representações gráficas vai de encontro ao proposto por Gohlke et al.^[12], uma vez que é possível observar uma relação de complementaridade entre a massa 74 u.m.a. (o anião progenitor desidrogenado) e a massa 1 u.m.a. (H^-). Com o aumento da energia de colisão, o primeiro diminui e o segundo aumenta a sua intensidade relativa.

Em relação aos fragmentos isobáricos de 15 u.m.a. (CH_3^-/NH^-) e 16 u.m.a. (O^-/NH_2^-), o perfil de ambos é semelhante, apresentando um aumento de intensidade relativa com o aumento da energia de colisão. Para uma energia de colisão de 100 eV, existe um decréscimo da sua intensidade relativa. Uma explicação para este facto é o favorecimento de outros canais dissociativos que permitem obter outras espécies aniónicas.

O fragmento de 25 u.m.a. (C_2H^-) apresenta um perfil de aumento de intensidade relativa com o aumento da energia de colisão.

O fragmento de 17 u.m.a. (OH^-) tem um perfil semelhante ao dos fragmentos isobáricos. O fragmento de 41 u.m.a. tem um comportamento peculiar, pois está presente para baixas e médias energias, o que vai de encontro ao estudo de CED que reportam uma ressonância entre 6 e 11eV. Este fragmento pode ser produzido para energias de colisão de 20eV (energia disponível de 7,5 eV). Para altas energias, a sua intensidade relativa diminui bastante. Poderá ser favorecido outro canal dissociativo.

3.4 Secção eficaz total relativa

A secção eficaz está relacionada com a probabilidade de colisão entre dois feixes de partículas que conduzem à formação de determinadas espécies.

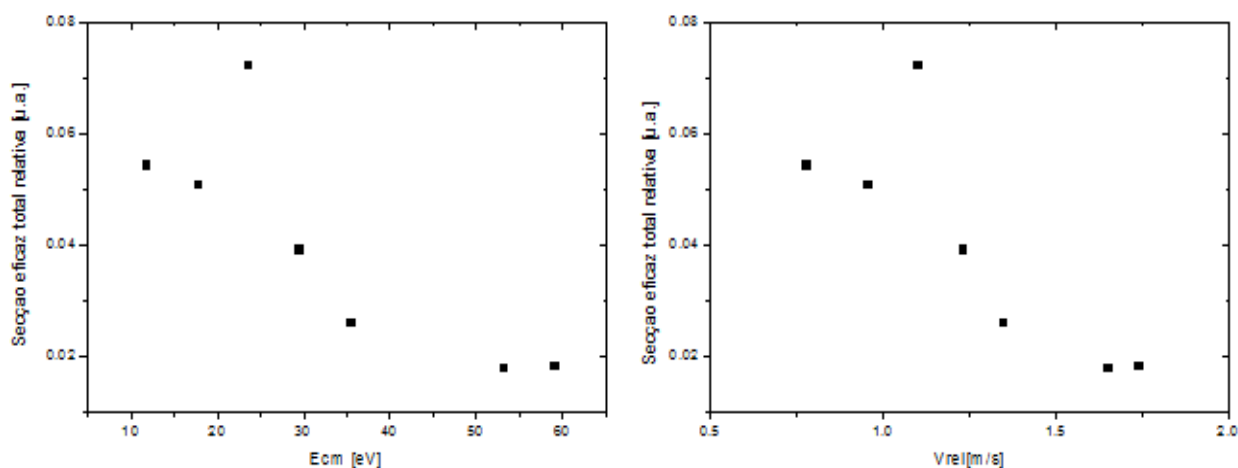


Figura 3.14 Gráficos da evolução da secção eficaz em relação à energia do centro de massa e em relação à velocidade relativa.

3.5 Tempos de colisão

Considerando que a trajectória efectuada pelo potássio entre o primeiro e o segundo cruzamento é rectilínea, a velocidade radial (m/s) é dada por:

$$v_r = \sqrt{\frac{2E_{CM}}{\mu}} \quad (3.4)$$

O tempo de colisão tende a diminuir com o aumento da energia de colisão. Os cálculos dos tempos de colisão foram efectuados considerando que não existe o efeito da extensão da ligação e admitindo que $R_{c1}=R_{c2}=R_c$.

$$t_{colisão} = \frac{\sqrt{2}R_c}{v_r} \quad (3.5)$$

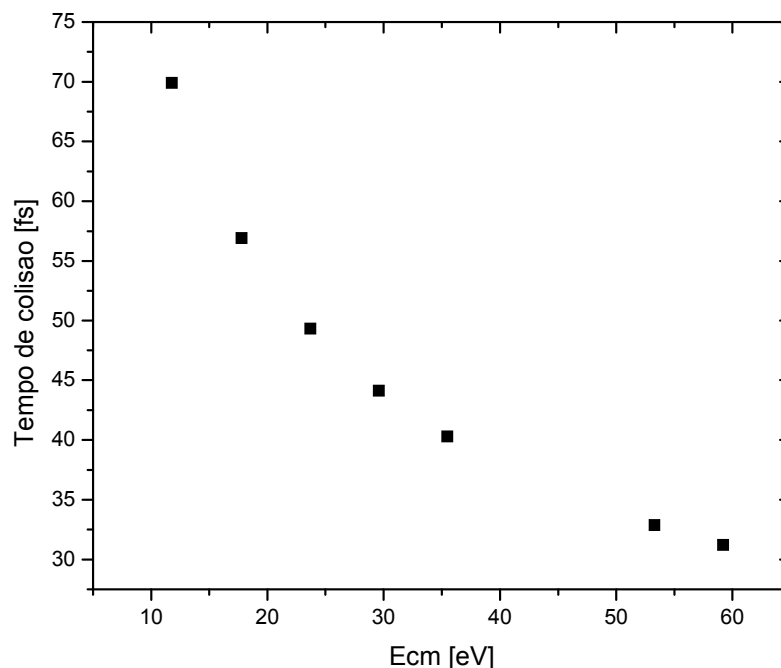


Figura 3.15 Evolução do tempo de colisão com a energia.

Este gráfico representa o tempo de colisão para uma energia de colisão crescente relativa ao centro de massa.

O tempo de colisão diminui com o aumento da energia de colisão isto porque quanto mais energético for o feixe de potássio, mais rápidos serão os átomos do respectivo feixe e menor será o tempo de contacto entre estes e as moléculas de glicina.

Como aproximação modelar para esta variável, a partir de momento que sucede a transição electrónica vertical ao primeiro cruzamento, consideramos que a distância internuclear depende do tempo e que o estado electrónico final poderá ser descrito por um potencial de Morse^[8].

Conclusão

No presente estudo reportamos os espectros de massa do tipo TOF formados nas colisões de átomos de potássio com moléculas de glicina. A principal característica encontrada é a diminuição da intensidade relativa do anião progenitor desidrogenado com o aumento da energia de colisão. Para baixas energias, a formação de fragmentos aniónicos deve-se ao atraso no processo de autolibertação do electrão do TNI, devido à estabilização coulombiana do complexo de colisão $K^+/Glicina^-$.

Para energias de colisão mais altas, o padrão de fragmentação é interpretado através do aumento de energia disponível assim como pelo possível decaimento metastável de fragmentos mais pesados, nomeadamente do anião progenitor desidrogenado. Estes fragmentos apresentam 12.5, 18 e 23 u.m.a.. Evidenciamos a presença dos fragmentos isobáricos de 15, 16 e 26 u.m.a. e a relação da sua intensidade com a energia disponível. Reportamos pela primeira vez a formação de fragmentos com 12, 13, 24 e 25 u.m.a. que foram identificados como compostos C^- , CH^- , C_2^- , e C_2H^- respectivamente.

Do ponto de vista da biomedicina, este estudo contribui com informações importantes no campo da medicina nuclear e radioterapia. A formação a baixas energias do anião pai desidrogenado implica a formação da espécie complementar, o radical H° , que é altamente reactivo e tem grande mobilidade e que poderá ser responsável por processos de degradação molecular. A presença de espécies isobáricas e o facto de energias definidas favorecerem quebras ligações específicas, pode ter importância nas aplicações em radiomedicina. Outro dado importante diz respeito á formação de espécies aniónicas que podem ser reactivas no meio fisiológico, como é o caso dos fragmentos observados pela primeira vez. Se o processo de transferência de electrão é o mais adequado aos processos de degradação de moléculas biológicas por interacção com electrões, então os fragmentos C^- , CH^- , C_2^- , e C_2H^- , podem resultar da fragmentação deste aminoácido, o que levantaria sérias questões quanto à integridade dos aminoácidos em meio biológico.

Trabalho futuro

Uma interessante evolução nesta linha de investigação seria no sentido de aumentar a complexidade da estrutura a analisar. O estudo de aminoácidos com diferentes cadeias laterais, providenciaria maior aproximação à realidade biológica, uma vez que os aminoácidos não se encontram isolados no organismo, mas sim ligados a outros para assim possuírem relevância funcional, formando proteínas com funções específicas. No entanto o estudo de um aminoácido isolado contribui para o conhecimento das energias específicas a que ocorrem as ressonâncias que geram a quebra das suas ligações intramoleculares e conduzem à formação de determinados aniões.

Seria interessante deuteroar ou metilar os hidrogénios para se descobrir para uma certa energia, qual é a ligação que se quebra e gera a abstracção destes átomos.

Outro ponto que seria interessante averiguar se os fragmentos de razão massa-carga 12,5u.m.a., 18u.m.a. e 23u.m.a. são formados à custa do decaimento metastável de outras espécies, tais como o anião progenitor desidrogenado.

Referências bibliográficas

- [1] International Commission on Radiation Units and Measurements, ICRU Report 31, ICRU, Washington, DC (1979).
- [2] B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. A. Huels, L. Sanche, *Science* 287, 1658 (2000)
- [3] G. Martins, Transferência de electrão em bases de ADN por colisões átomo-molécula. UNL, Lisboa, (2010)
- [4] Greenwood, N. N. , Earnshaw, W. A. , *“Chemistry of the Elements”*, 2nd Edition, Butterworth Heinemann, New York (1997).
- [5] Metzler, D. E. , *“Biochemistry”*, Vol. 1, 2^a Edition, Harcourt Academic Press, New York (2001).
- [6] <http://www.ajinomoto.com.br/2008/index.php?area=produtos&sub=glicina>
- [7] C. Matias “ Decomposição do Uracilo por colisões átomo molécula - formação do anião NCO” in Physics, UNL, Lisboa (2011)
- [8] P. Limão-Vieira, “Fragmentação de iões negativos de halobenzenos induzida por colisão”. UNL, Lisboa (1999).
- [9] R. Antunes “The Role of Halouracils in Radiotherapy studied by Electron Transfer in Atom-Molecule collision” in Physics, UNL, Lisboa (2011)
- [10] A.W. Kleyn, "Vibronic Excitation in Atom Molecule Collisions" in Physics, Universiteit Van Amsterdam (1980)
- [11] S. Ptasinska, S. Denifl, A. Abedi, P. Scheier, T. D. Märk, *Anal Bioanal Chem*, 377, 115 (2003)
- [12] S. Gohlke, A. Rosa, E. Illenberger, F. Brüning, M. A. Huels, *J. Chem. Phys.*, 116, 10164 (2002)
- [13] A. Mauracher, S. Denifl, A. Aleem, N. Wendt, F. Zappa, P. Cicman, M. Probst, T. D. Märk, P. Scheier, H. D. Flosadóttir, O. Ingólfsson, E. Illenberger, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9, 5680 (2007)
- [14] M. V. Muftakhov, P. V. Shchukin, *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, 59 896 (2010)
- [15] P. V. Shchukin, M. V. Muftakhov, J. Morré, M. L. Deinzer, Y. V. Vasil'ev, *J. Chem. Phys.*, 132, 234306 (2010)

- [16]Y. V. Vasil'ev, B. F.J. Figard, V. G. Voinov, D. F. Barofsky, M. L. Deinzer, J. Am. Chem. Soc., 128, 5506 (2006)
- [17]Vizcaino, P. Bartl, D. Gschliesser, S. E. Huber, M. Probst, T. D. Märk, P. Scheier, S. Denifl, Chem. Phys. Chem, 12, 1272 (2011)
- [18]K. Aflatooni, B. Hitt, G. A. Gallup, P. D. Burrow, J. Chem. Phys., 115, 6489 (2001)
- [19]M. Allan, Phys. Rev. Lett., 98, 123201 (2007)
- [20]V. S. Prabhudesai, D. Nandi, A. H. Kelkar, R. Parajuli, E. Krishnakumar, Chem. Phys. Lett., 405, 172 (2005)
- [21]A. Pelc, W. Sailer, P. Scheier, N. J. Mason, T. D. Märk, Eurp. Phys. J. D, 20, 441 (2002)
- [22]A. Pelc, W. Sailer, P. Scheier, N. J. Mason, E. Illenberger, T. D. Märk, Chem. Phys. Lett., 361, 277 (2002)
- [23]T. C. Freitas, M. T. N. Varella, R. F. da Costa, M. A. P. Lima, M. H. F. Bettega, Phys. Ver. A, 79, 022706 (2009)
- [24]W. Sailer, A. Pelc, M. Probst, J. Limtrakul, P. Scheier, E. Illenberger, T. D. Märk, Chem. Phys. Lett., 378, 250 (2003)
- [25]J. J. Neville, Y. Zheng, C. E. Brion, J. Am. Chem. Soc., 118, 5080 (2000)
- [26]F. Ban, J. W. Gault, R. J. Boyd, J. Phys. Chem. A, 104, 5080 (2000)
- [27]M. H. F. Bettega, Phys. Rev. A, 74, 054701 (2006)
- [28]D. Almeida, R. Antunes, G. Martins, S. Eden, F. Ferreira da Silva, Y. Nunes, G. Garcia, P. Limão-Vieira, Phys. Chem. Chem. Phys., 13, 15657 (2011)
- [29]R. Antunes, D.Almeida, G.Martins,N.J.Mason.,G. Garcia, M.J.P.Maneira,Y. Nunes,P.Limão-Vieira,Phys.Chem.Chem.Phys., 12,12513 (2010).
- [30]F. Ferreira da Silva, M. Lança, D. Almeida, G. Garcíaand P. Limão-Vieira,Eur.Phys. J.D.,66,3 (2012).
- [31]A. M. C. Moutinho, M. E. F. Silva and M. A. Cunha, *Tecnologia de Vácuo*. UNL, Lisboa (1980).
- [32]T. N. Rescigno, C. S. Trevisan, and A. E. Orel, Phys. Rev. Lett., 96, 213201 (2006).

-
- [33]G.A. Gallup, P.D. Burrow,I.I.Fabrikant,Phys.Rev.A, 79, 042701(2009)
- [34]G.A. Gallup, P.D. Burrow,I.I.Fabrikant,Phys.Rev.A, 80, 046702(2009)
- [35]<http://webbook.nist.gov/chemistry>
- [36]J.C.Rienstra- Kiracofe,G.S. Tschumper,H.F.Schaefer III, Chem.Rev.102,238(2002)

ANEXOS

Calibração de espectros

Por forma a relacionar o numero de contagens dos fragmentos aniónicos por canal às respectivas massas obtidos no espectro de tempo de voo, foi necessário efectuar a sua calibração. Esta baseia a atribuição de massas aos respectivos canais, tendo em conta um valor de referencia, o do nitrometano que é um gas calibrante.

O método de calibração utilizado segue os seguintes passos:

1. Identificar no espectro os picos referentes aos fragmentos conhecidos e registar os seus canais.

Para calibrar os espectros recorreu-se a uma calibração já conhecida, a do Nitrometano.

Canal	Massa
301	1
990	16
1558	42
1625	46
1847	60

Tabela A1. Valores utilizados na calibração dos espectros.

2. Dividir o numero de contagens pelo tempo de aquisição por forma a obter a unidade "counts/s"
3. Posteriormente ajustou-se a uma curva não linear de calibração. A massa do fragmento irá ser ajustada a esta expressão, calculada por * :

$$m_{\text{fragmento}} = \frac{(\text{canal} - A)^2}{B} \quad (\text{A1})$$

A: 74,3 com desvio padrão: 2,77

B: 52357,3 com desvio padrão: 186,6

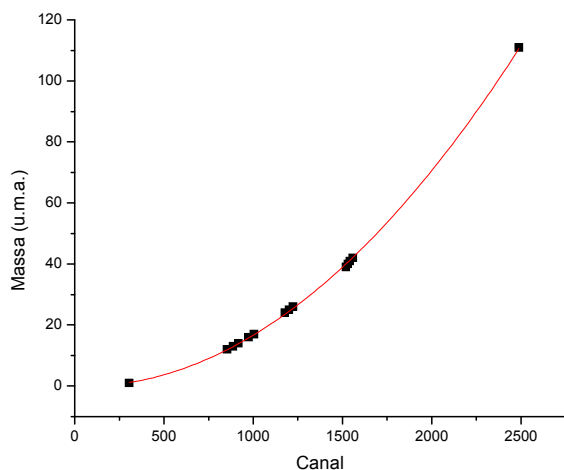


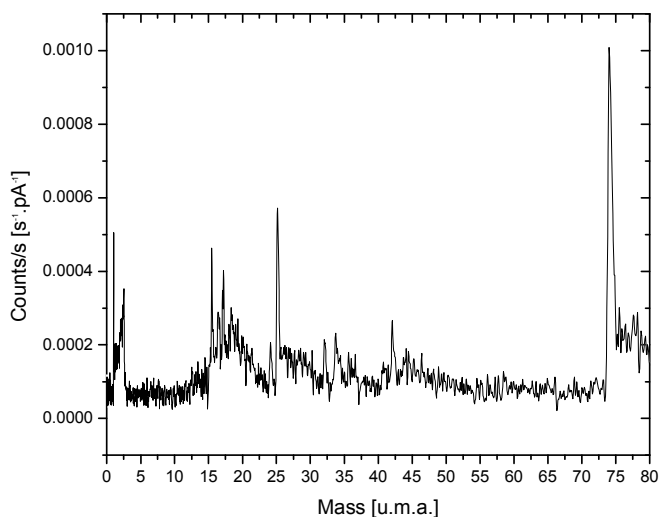
Figura A1. Curva de calibração dos espectros de massa^[13].

4. Ao aplicar os parâmetros da curva não linear de calibração aos valores observados obtemos espectro calibrado;
5. A partir do espectro calibrado, temos de subtrair o espectro de gás residual, que é o remanescente das medições feitas. Para o retirar, é feita uma medição dos fragmentos obtidos, mas sem o feixe de glicina.
6. Calibramos o espectro resultante da medição supra referida
7. Subtraímos o espectro obtido do background ao espectro da glicina
8. Estamos em condições de identificar e registar em massa a posição de cada fragmento aniônico.

Outros resultados

Os espectros apresentados abaixo, foram previamente normalizados considerando a corrente medida no detector de Langmuir-Taylor e o tempo de acumulação.

20 eV



FiguraA3. Espectro de fragmentação da glicina para 20 eV.

Picosrelevantes (10^{-4} contagens/s)	Intensidade (10^{-4} contagens/s)	Branching Ratio
1	6,62	0,036959
15	13,16	0,073472
16	10,07	0,056221
17	13,99	0,078106
18	7,55	0,042152
19	8,454	0,047199
25	11,23	0,062697

41	5,03	0,028083
74	36,95	0,206293
Total	179,114	

Tabela A2 .Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 20 eV

30 eV

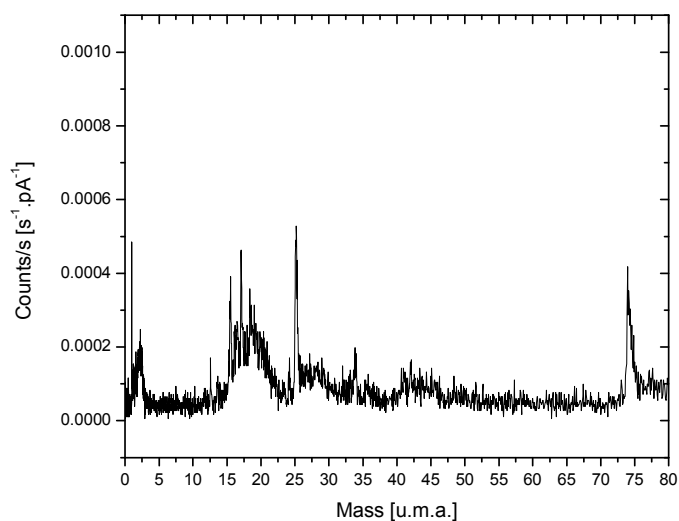


Figura A4. Espectro de fragmentação da glicina para 30 eV.

Picos relevantes (10^{-4} contagens/s)	Intensidade (10^{-4} contagens/s)	Branching Ratio
1	35,31	0,026919
13	94,33	0,071913
15	88,8	0,067697
16	92,9	0,070823

17	120,9	0,092169
18	91,08	0,069436
25	147,28	0,112280
41	33,97	0,025897
74	109,7	0,083631
Total	1311,72	

Tabela A3. Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 30 eV.

40 eV

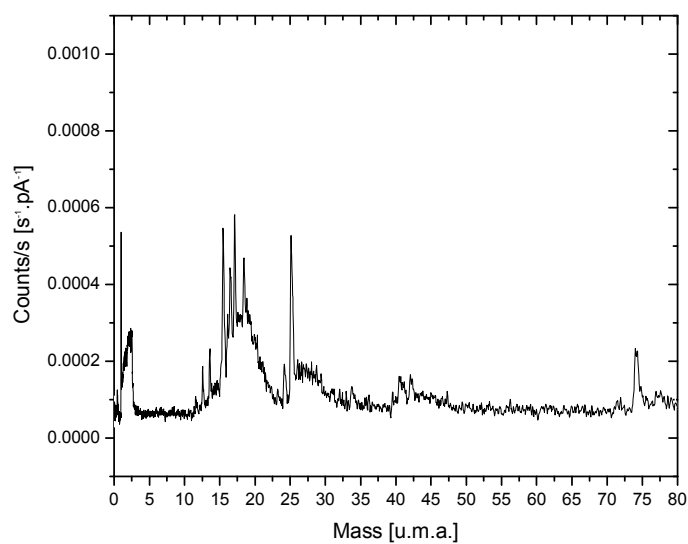


Figura A5. Espectro de fragmentação da glicina para 40 eV.

Picosrelevantes (10^{-4} contagens/s)	Intensidade (10^{-4} contagens/s)	Branching Ratio
1	146,47	0,027130

13	183,6	0,034007
15	501,6	0,092909
16	445,6	0,082536
17	445,5	0,082518
18	426,6	0,079017
25	396,3	0,073405
41	176,8	0,032748
74	234,28	0,043394
Total	5398,85	

Tabela A4. Picos resultantes da fragmentação da glicina e branching ratio 40 eV.

50 eV

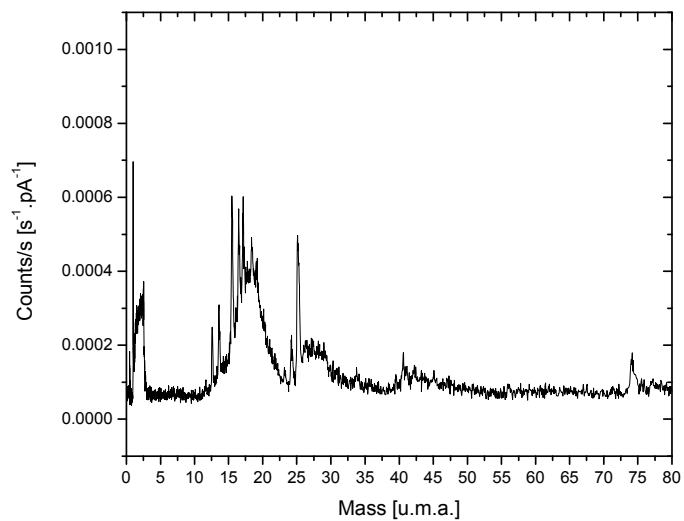


Figura A6. Espectro de fragmentação da glicina para 50 eV.

Picosrelevantes (10 ⁻⁴ contagens/s)	Intensidade (10 ⁻⁴ contagens/s)	Branching Ratio
1	426,5	0,069716
13	322,7	0,052749
15	876,5	0,143274
16	703,2	0,114946
17	867,1	0,141738
18	624	0,102000
25	736,8	0,120439
41	176,8	0,028900
74	247,5	0,040457
Total	6117,64	

Tabela.A5 Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 50 eV.

60 eV

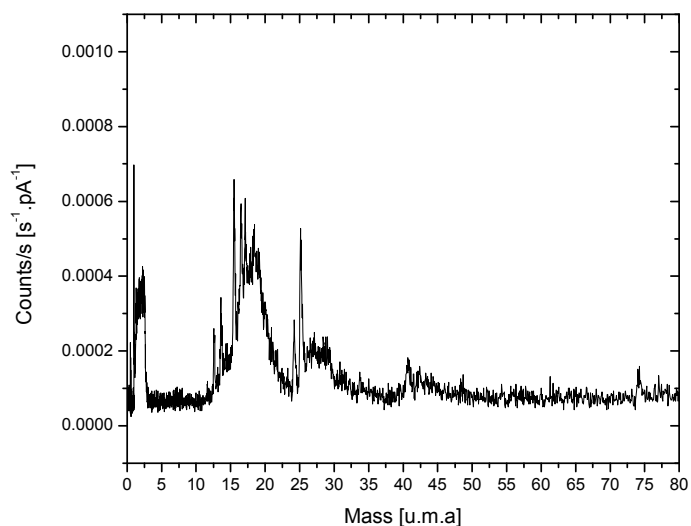


Figura A7. Espectro de fragmentação da glicina para 60 eV.

Picosrelevantes (10^{-4} contagens/s)	Intensidade (10^{-4} contagens/s)	Branching Ratio
1	539,3	0,07064
13	457,9	0,05998
15	1277,7	0,16736
16	964,5	0,12633
17	1204,2	0,15773
25	1054,5	0,13812
41	169	0,02214
74	274,3	0,03593
Total	7634,5	

Tabela.A6 Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 60 eV.

90 eV

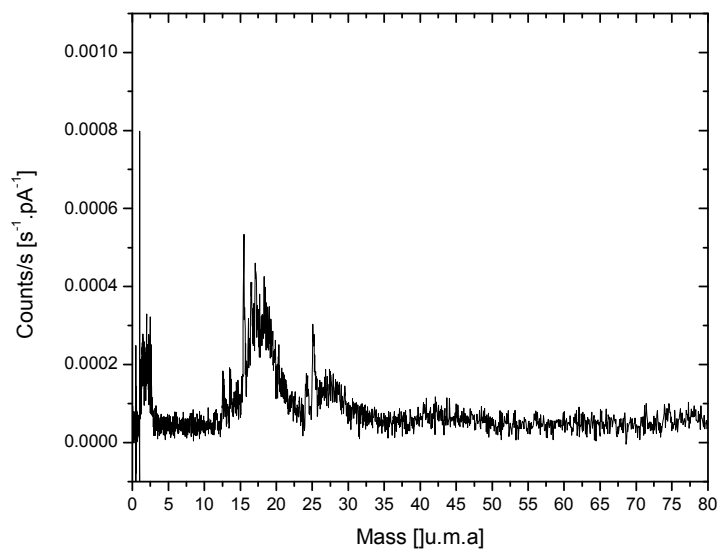


Figura A8. Espectro de fragmentação da glicina para 100 eV.

Picosrelevantes (10^{-4} contagens/s)	Intensidade (10^{-4} contagens/s)	Branching Ratio
1	1735	0,092324
13	1460,1	0,077696
15	4332	0,230517
16	3140	0,167088
17	3617	0,192470
25	2171	0,115525
41	615	0,032726
74	511	0,027192

Total	18792,5
-------	---------

Tabela.A7 Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 90 eV

100 eV

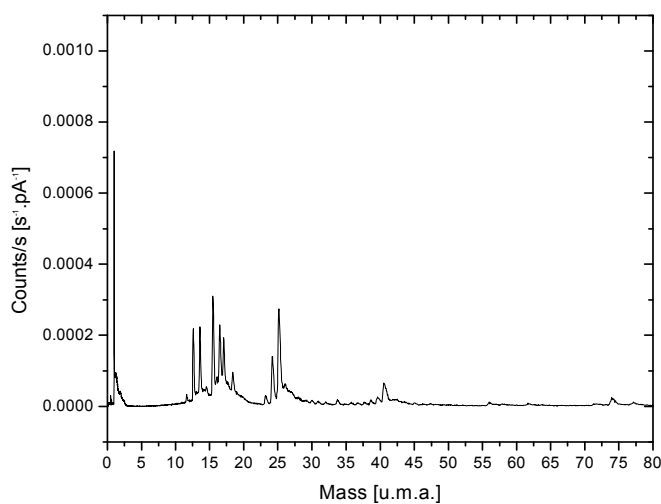


Figura A9. Espectro de fragmentação da glicina para 100 eV.

Picosrelevantes (10-4contagens/s)	Intensidade (10-4contagens/s)	Branching Ratio
1	2407,8	0,0922072
13	2660	0,1018652
15	3717,7	0,1423701
16	3174,6	0,1215720
17	2685	0,1028226
18	1619,6	0,0620229
25	4035	0,1545212

41	930,5	0,0356337
74	191,7	0,0073412
Total	26112,93	

Tabela.A8 Picos resultantes da fragmentação da glicina e seu branching ratio para 100 eV.

Estudo da corrente

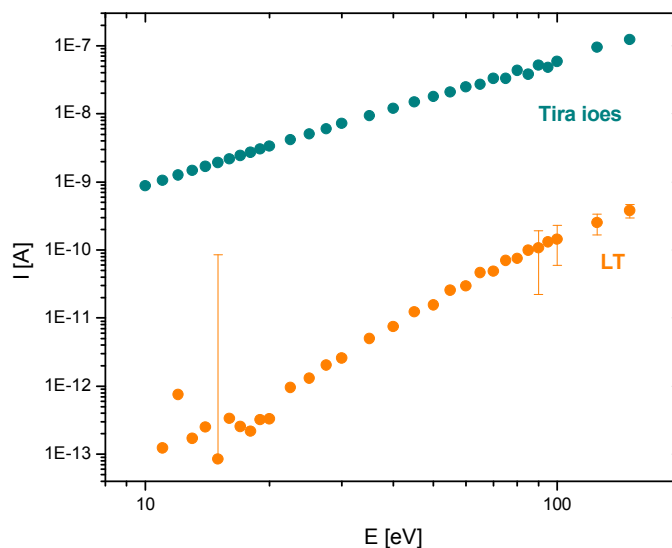


Figura A2. Comparação da corrente do tira-iões com a de Langmuir-Taylor