



Carolina Raquel Guedes Matias

Licenciatura em Engenharia Física

**DECOMPOSIÇÃO DO URACILO POR
COLISÕES ÁTOMO-MOLÉCULA:
FORMAÇÃO DE NCO⁻**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia
Física

Orientador: Doutor Filipe Ribeiro Ferreira da Silva
Co-orientador: Professor Doutor Paulo Manuel Assis Loureiro
Limão Vieira

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Orlando Manuel Duarte Teodoro
Arguente: Prof. Doutor Augusto Manuel Celorico Moutinho
Vogal(ais): Prof. Doutor Paulo Manuel Assis Loureiro Limão Vieira
Doutor Filipe Ribeiro Ferreira da Silva

Carolina Raquel Guedes Matias

Licenciatura em Engenharia Física

**DECOMPOSIÇÃO DO URACILO POR COLISÕES ÁTOMO-
MOLÉCULA: FORMAÇÃO DE NCO⁻**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Física

Orientador: Doutor Filipe Ribeiro Ferreira da Silva

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

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Orlando Manuel Duarte Teodoro

Arguente: Prof. Doutor Augusto Manuel Celorico Moutinho

Vogal(ais): Prof. Doutor Paulo Manuel Assis Loureiro Limão Vieira
Doutor Filipe Ribeiro Ferreira da Silva



Setembro 2011

Decomposição do uracilo por colisões átomo-molécula: formação do anião NCO

“*Copyright*” em nome de Carolina Raquel Guedes Matias, estudante do curso de Engenharia Física, 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

Agradeço ao meu orientador, o Doutor Filipe Ferreira da Silva e ao meu co-orientador Professor Doutor Paulo Limão-Vieira não só terem-me dado a possibilidade de realizar a dissertação de mestrado sob a sua orientação, mas também por todo o apoio, dedicação e orientação, disponibilizando todo o tempo que fosse necessário para me ajudar a compreender certos temas nesta área.

Agradeço ainda ao Professor Doutor Manuel Maneira, aos Engenheiros Diogo Almeida e Gonçalo Martins, do Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares (LCAM), todo o conhecimento transmitido, comentários críticos construtivos no presente trabalho e pelo acolhimento no laboratório com todo o bom ambiente e boa disposição.

Ao CEFITEC e ao Departamento de Física pelas condições de trabalho proporcionadas.

Aos meus pais e ao meu irmão, pelo apoio incondicional, pela confiança e pelas oportunidades que proporcionaram ao longo da vida.

A todas as pessoas cujo os nomes não foram mencionados mas que de alguma forma me ajudaram ao longo do meu percurso.

Resumo

A interacção da radiação de alta energia (p.ex. raios-X, raios γ , partículas α) com o meio fisiológico, produz ao longo do percurso de ionização diversas espécies secundárias (p.ex. iões, radicais, electrões) que podem produzir efeito genotóxico mais relevante do que a radiação primária. Dessas espécies formadas, os electrões secundários são as mais abundantes e podem assim interagir com o ADN celular. Encontra-se bem documentado na literatura que por cada MeV de radiação incidente, produzem-se cerca de 5×10^4 electrões secundários com uma distribuição de energias cinéticas abaixo de 20 eV. Estes electrões podem provocar a quebra simples e dupla das cadeias no ADN. Desta forma é de extrema importância proceder ao estudo de processos de interacção de electrões de baixa energia com moléculas constituintes do ADN, visto que tais quebras podem causar lesões mutagénicas e genotóxicas potenciando em última instância o aparecimento e desenvolvimento de patologias oncológicas. Dada a semelhança estrutural entre as moléculas de timina (base de ADN) e uracilo (base de ARN), preferiu-se nesta dissertação estudar por colisões átomo-molécula a fragmentação da molécula de uracilo. O mecanismo de dissociação destas moléculas resulta da interacção de um feixe neutro de átomos de potássio (K) de energia variável com um alvo molecular gasoso. O primeiro é obtido à custa do processo de troca de carga ressonante, e o último é produzido por evaporação num forno. No processo de colisão átomo-molécula há uma transferência do electrão de valência do projectil para o alvo, produzindo-se aniões moleculares que são detectados por espectrometria de massa do tipo tempo de voo (TOF). Os padrões de fragmentação são fortemente ditados pela presença do ião de potássio (K⁺) no complexo de colisão. A resolução do aparelho de feixes moleculares utilizada permitiu a identificação de vários fragmentos, dando-se particular atenção ao estudo da dinâmica da colisão na formação do ião NCO⁻. Neste trabalho é apresentado o rendimento relativo de NCO⁻ em função da energia de centro de massa disponível, assim como em função da velocidade relativa. Por comparação com estudos de captura electrónica dissociativa, o perfil de formação do ião NCO⁻ em função de energia, apresenta um limiar de aparecimento similar.

Palavras-chave: Transferência de electrões, potássio, uracilo, NCO⁻

Abstract

When high-energy radiation (x-rays, γ -rays, α particles) interacts with DNA creates along its ionization track secondary species, which can be more reactive than the primary radiation, inducing therefore further damage to the physiological environment. From those species, secondary electrons are the most abundant. It is now well established that they are produced at a rate of 5×10^4 per MeV of incident radiation, with an energy distribution < 20 eV. These ballistic electrons can induce single and double-strand breaks in DNA. It is thus of relevant the study of such processes, since such breaks can cause mutagenic and genotoxic damage enhancing cancer. Due to the structural similarity between thymine (DNA base) and Uracil (RNA based) molecules, we have studied the fragmentation of uracil molecules by atom-molecule collisions. The mechanism of dissociation of these molecules results from the interaction of a beam of neutral atoms of potassium (K) with a molecular target gas. The first is obtained by a resonant charge exchange process and the latter is produced in an oven. In the atom-molecule collision process there is a transfer of the valence electron of the projectile to the target. The negative ions produced are time of flight TOF mass analyzed. The fragmentation patterns are strongly dictated by the presence of the potassium cation (K^+) in the collision complex. The resolution of the molecular beam apparatus used allowed the detection of various spectral signatures. In this work we give particular attention to the formation of the anion NCO. We show the relative yield of NCO^- as a function of the center of mass energy and as a function of the relative velocity. The threshold for NCO^- as a function of center of mass energy is shown to be similar to the profile of anionic fragments obtained by DEA.

Keywords: Electron transfer, potassium, uracil, NCO^-

Índice de Matérias

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Índice de Matérias	ix
Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xiii
Simbologia e notações	xv
Capítulo 1 . Introdução	1
Capítulo 2 . Processos de dissociação molecular	5
Captura electrónica (CE).....	5
Transferência de electrões.....	7
Mecanismo <i>Harpoon</i>	10
Probabilidade de transição não adiabática de Landau-Zener	12
Capítulo 3 . Uracilo.....	15
3.1 Comparação entre Uracilo e Timina	16
3.2 Formação de NCO ⁻ como principal fragmento em processos de transferência de electrões	18
3.3 Notas finais	19
Capítulo 4 . Montagem Experimental	21
4.1 Primeira Câmara–Produção de feixe de potássio neutro.....	23
4.1.1 Sistema de troca de carga ⁸	23
4.1.2 Placas deflectoras de iões.....	24
4.2 Segunda Câmara – Câmara de colisões	25
4.2.1 Detector de ionização do tipo Langmuir-Taylor.....	25
4.2.2 Forno de moléculas sólidas	25
4.3 Sistema de vácuo ³³	25

4.4 Sistema de detecção de partículas	27
4.4.1 Lentes Einzel.....	27
4.4.2 Detector do tipo canaltrão	27
4.4.3 Espectrómetros de massa	28
4.4.3.1 Princípios de análise de massa.....	28
4.4.3.2 Espectrómetro do massa do tipo Tempo de Voo	29
Capítulo 5 . Resultados e discussão	37
5.1 Condições experimentais	37
5.2 Calibração de espectros.....	40
5.3 Porque é que existe um aumento da intensidade do fragmento NCO ⁻ ?.....	41
5.3.1 Etapas da quebra do anel.....	42
5.4 Análise de resultados	44
5.4.1 Região das baixas velocidades.....	47
5.4.2 Região das altas velocidades.....	47
5.4.3 Comparação entre os processos de CED e TE a baixas energias.....	48
5.4.4 Frações aniónicas	50
5.4.5 Secção eficaz total relativa.....	52
5.4.6 Tempos de colisão.....	53
Capítulo 6 . Conclusão.....	55
Referências bibliográficas.....	57
Anexos	61

Índice de Figuras

Figura 1.1 - Ilustração da interacção de radiação com uma cadeia de ADN. Esquema representativo dos efeitos da radiação no ADN. Um electrão secundário interage com a molécula-alvo produzindo degradação.	1
Figura 1.2 - Diagrama temporal dos danos possíveis provocados pela interacção da radiação ionizante com o ADN	2
Figura 2.1 - Representação esquemática da distribuição de electrões num átomo de potássio.	8
Figura 2.2 - Curvas de energias potenciais de Born-Oppenheimer, ilustrando a afinidade electrónica adiabática (AE) e a afinidade electrónica vertical (AE _v).	9
Figura 2.3 - 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 com os quadrados. O canal covalente está representado por (o) e a formação de pares de iões por (+). ²⁶ (Adaptado de A. W. Kleyn <i>et al</i> ²³)	10
Figura 2.4 - Representação esquemática da intersecção das curvas potenciais do K + Br ₂ e K ⁺ + Br ₂ ⁻ . Identificação do raio de cruzamento R _c . Adaptado da ref. ²⁷	11
Figura 3.1– Estrutura química do uracilo.....	15
Figura 3.2 – Esquema representativo do ADN e ARN e respectivas bases. Adaptado de ref. ²⁸	15
Figura 3.3 – Identificação do grupo de simetria C _s	16
Figura 3.4 – Espectros de Timina (preto) vs. Uracilo (vermelho), obtidos a energia de colisão de 100 eV.....	18
Figura 4.1– Fotografia da montagem experimental	21
Figura 4.2 – Esquema do aparelho experimental.....	22
Figura 4.3 - Esquema da câmara de troca de carga e da produção de átomos de potássio neutros hipertérmicos.....	24
Figura 4.4– Esquema genérico de um sistema de tempo de voo de dois estágios.	29
Figura 4.5 – 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.....	30
Figura 4.6 – Representação da aceleração ganha pelos iões na zona de aceleração	31
Figura 5.1 – À esquerda, densidade de corrente do feixe projectil em função da energia de laboratório e curva ajustada a esses valores de modo a determinar o parâmetro de Child. À direita, corrente do feixe projectil medida no colector do detector Langmuir-Taylor vs. energia de colisão no referencial de laboratório (em escala logarítmica).....	39

Figura 5.2 – Curva de calibração dos espectros de massa.	41
Figura 0.1 – () representa a intensidade de $[T - H]^-$ em função da energia dos electrões para Timina embebida em agregados de He a 0.37K. (—) representa a intensidade de $[T - H]^-$ em fase gasosa. (- - -) representa a soma das intensidades de todos os outros fragmentos observados. Dados obtidos por CED. Adaptado da ref. ³⁹	43
Figura 5.4 – Simulações feitas por Gianturco <i>et al.</i> ⁴⁰ da energia de ressonância em função da deformação do anel de Uracilo, levando à sua quebra. A figura da esquerda diz respeito à ligação C(2)–N(1) e a da direita à C(4)–N(3).....	44
Figura 5.5 – Razão de formação de NCO^- relativamente a $(U-H)^-$ obtido por TE em função da energia de colisão no referencial de centro de massa e da energia de laboratório	45
Figura 5.6 - Razão de formação de NCO^- relativamente a $(U-H)^-$ obtido por TE em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial de centro de massa.....	46
Figura 5.7 – À esquerda está representado o perfil de ressonância em função da energia para a formação de NCO^- obtido por Denifl <i>et al.</i> ¹² através de CED. À direita encontra-se a integração do perfil de NCO^- normalizado.	49
Figura 5.8 – Comparação entre os processos de CED e TE para baixas energias. A curva a preto representa o perfil do fragmento de NCO^- obtido através de captura electrónica dissociativa. Os círculos representam o perfil do fragmento de NCO^- obtido através de transferência de electrão. A curva castanha representa uma curva de ajuste aos pontos obtidos por TE.	49
Figura 5.9 – Fração do fragmento $C_4H_3N_2O_2^-$, $(U-H)^-$ (figura da esquerda) e fração do fragmento NCO^- (figura da direita) da percentagem de fragmentação em colisões de $K+C_4H_4N_2O_2$ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa	50
Figura 5.10 – Comparação entre a fração do fragmento NCO^- e a fração do fragmento $(U-H)^-$ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa.	51
Figura 5.11 - Secção eficaz total de colisões de $K+C_4H_4N_2O_2$ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa.	52
Figura 5.12 – Tempo de colisão em função da energia de colisão no referencial de centro de massa em colisões de $K+C_4H_4N_2O_2$	54
Figura 6.1 – Espectro para uma energia de colisão de 25 eV no referencial de laboratório.	61
Figura 6.2 – Relações entre os principais fragmentos obtidos e a formação de $NCO^-/(U-H)^-$	64

Índice de Tabelas

Tabela 3.1– Fragmentos comuns entre a molécula de uracilo e a molécula de timina estudada tanto por CED como por TE. Adaptado da ref. ²⁹	17
Tabela 5.1- Parâmetros e condições experimentais mantidos constantes ao longo da experiência	38
Tabela 5.2 – Massas utilizadas na calibração dos espectros	40
Tabela 6.1– Tempos de colisão.....	65

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
DSB	" <i>Double strand breaks</i> " (quebras de cadeia dupla)
e^-	Electrão
E₁	Campo eléctrico aplicado na zona de extracção
E₂	Campo eléctrico aplicado na zona de aceleração
EBE	Electrões de baixa energia
E_{diss}	Energia de dissociação de ligação para criação do anião
EI	Energia de ionização
eV	Electrão Volt
FCT	Faculdade de Ciências e Tecnologia
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}	Ião potássio hipertérmico
K⁺_{ter}	Ião potássio térmico
K⁰_{hip}	Átomo de potássio hipertérmico
K⁰_{ter}	Átomo de potássio térmico
LCAM	Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares
mA	Miliampere (10^{-3} A)
mbar	Milibar (10^{-3} bar)
mm	Milímetro (10^{-3} m)
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	Primeiro cruzamento
Rc₂	Segundo cruzamento
s	Segundo (unidade de tempo)
s₁	Distância a partir do prato de extracção
s₂	Distância entre o centro de colisão e o prato de extracção
s₃	Comprimento da zona de aceleração
SSB	" <i>Single strand breaks</i> " (quebras de cadeia simples)
T	Timina
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 Of Flight</i> " (Tempo de voo, espectrómetro)
t_{TOF}	Tempo total de voo
U	Uracilo
u.m.a.	Unidade de massa atómica ($1,66 \times 10^{-27}$ Kg)
UNL	Universidade Nova de Lisboa
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	Microsegundo (10^{-6} s)
μV	Microvolt (10^{-6} V)
v	Frequência (Hz)
σ	Secção eficaz
τ	Tempo de vida

Capítulo 1 . Introdução

Há várias décadas que se conhecem bem os efeitos nocivos da exposição às radiações ionizantes. A acção de radiação/partículas de alta energia (p.ex., raios-X, β , partículas α , iões) com o meio fisiológico, produz ao longo do percurso de ionização um conjunto de espécies secundárias (iões, radicais, electrões) que podem produzir efeito genotóxico, nos componentes celulares, mais degradante do que a radiação primária. Estes efeitos incluem a produção de processos de ionização nas estruturas elementares, conduzindo a vários canais de dissociação e à formação de espécies radicais. Das espécies secundárias produzidas, as mais abundantes ($\sim 5 \times 10^4$ por MeV de radiação incidente) são electrões secundários com energias < 20 eV.¹ Encontra-se bem documentado na literatura que cerca de 1/3 do dano provocado nas células advém da energia que é transferida para as estruturas do ácido desoxirribonucleico (ADN), assim como para as moléculas de água próximas ao ADN. Os restantes 2/3 resultam de processos indirectos desencadeados pelos radicais que são criados em meio aquoso e da decomposição das outras moléculas que rodeiam as estruturas de ADN.²⁻⁴

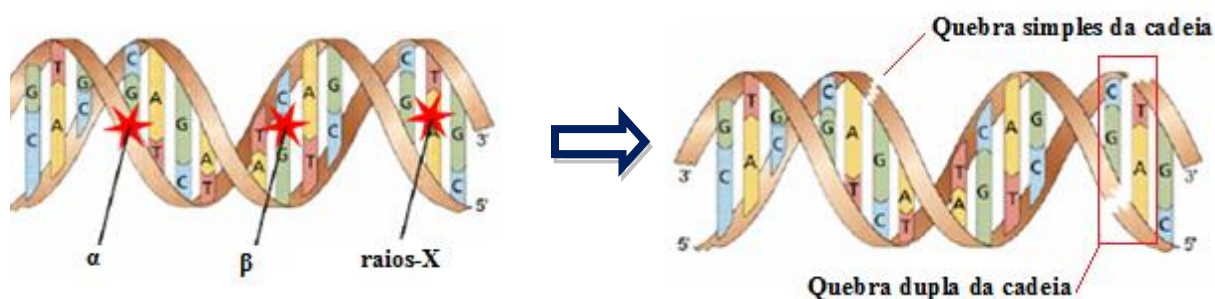


Figura 1.1 - Ilustração da interacção de radiação com uma cadeia de ADN. Esquema representativo dos efeitos da radiação no ADN. Um electrão secundário interage com a molécula-alvo produzindo degradação.

Estudos realizados por Boudaiffa *et al.*¹ mostraram que não só os fotões, mas também os electrões com energias abaixo do limiar de ionização podem promover danos nas cadeias de ADN, levando à quebra simples e duplas (SSB e DSB) das mesmas.^{1,5} A interacção dos electrões secundários com energias abaixo dos limiares de ionização dos vários componentes moleculares, como as moléculas base do ADN, dá origem à formação de um ião transitente negativo (TNI), que decai para estados dissociativos electronicamente excitados ou para aniões dissociativos estáveis

e radicais neutros.⁶ É este decaimento que pode desencadear os processos de quebra de ligações no ADN.

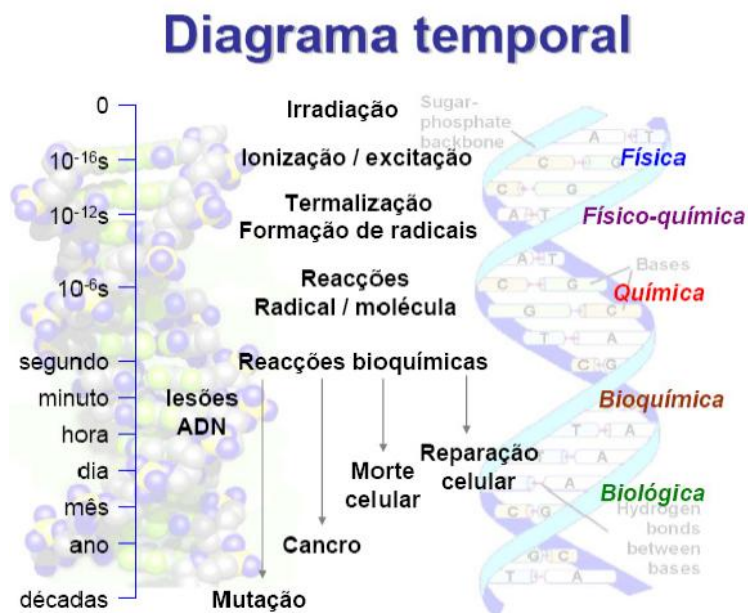


Figura 1.2 - Diagrama temporal dos danos possíveis provocados pela interacção da radiação ionizante com o ADN

Os danos provocados pela radiação ionizante no organismo não são meramente instantâneos, acontecem numa janela temporal que vai desde o instante de interacção até vários anos. As alterações fisiológicas provocadas pela acção directa e indirecta da radiação têm consequências graves, podendo potenciar o desenvolvimento de cancro. A radiação ao interagir com o ADN das células pode provocar alterações no genoma, levando à morte celular. No entanto, este facto pode ser visto como uma vantagem, motivo pelo qual este tipo de radiação é usado em tratamentos radioterapêuticos com o intuito de destruir células cancerígenas. Embora a utilização de radiação em tratamentos radioterapêuticos seja eficaz, esta pode provocar outros danos em células vizinhas saudáveis, que por sua vez poderão desenvolver uma patologia oncológica.⁷

Até à data ainda não se sabe como o excesso de electrões em meio fisiológico induz quebras nas cadeias de ADN. É, então de grande interesse proceder ao estudo dos processos que conduzem à degradação celular provocada por radiação ou pelos produtos secundários da interacção desta com o meio fisiológico. Um mecanismo possível por este tipo de dissociação é a Captura Electrónica Dissociativa (CED), no qual um electrão de energia abaixo do limiar de

ionização e excitação electrónica, ao interagir com uma molécula, é capturado por esta dando origem a um fragmento negativo e outros produtos neutros de fragmentação.⁸ No entanto, nem todos os processos colisionais dependem do impacto directo de electrões, podendo também ser descritos por transferência de electrões (TE). Nestes, a interacção de um átomo ou molécula dadora de electrões com as estruturas elementares de ADN, leva à formação de um ião positivo e de um anião molecular, permitindo o acesso a estados moleculares que não são acessíveis por CE.^{9, 10} A TE, é talvez um processo mais relevante em condições fisiológicas, uma vez que não é esperada uma grande densidade de electrões livres no organismo, mas sim de electrões provenientes de processos de ionização de espécies atómicas e moleculares.⁸

A compreensão dos fenómenos que desencadeiam as quebras duplas e simples no ADN requer um grande conhecimento dos processos moleculares envolvidos. Assim é de todo o interesse estudar as propriedades dos blocos isolados constituintes do ADN, que são os locais iniciais das quebras de ligações estruturais e da integridade genómica.¹¹⁻¹³ A análise dos possíveis mecanismos moleculares que levam à transferência de electrão, e que podem por sua vez, levar à quebra selectiva de ligações e fragmentação em partes moleculares específicas, tem sido a preocupação de várias publicações recentes de diversos grupos experimentais. Todos estes estudos se têm focado na decomposição de moléculas constituintes de ADN/ARN na fase gasosa.^{5, 14-19}

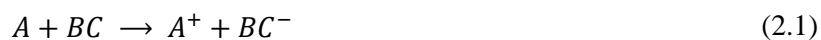
Dada a semelhança estrutural entre o uracilo (uma das bases de ARN) e a molécula de timina (uma das bases de ADN) é possível fazer-se uma comparação válida entre os processos de dissociação dessas moléculas. Nesta dissertação pretende-se estudar a formação de NCO^- a partir da fragmentação da molécula de uracilo por colisões átomo-molécula. O mecanismo de dissociação desta molécula resulta da interacção de um feixe neutro de átomos de potássio (K) com o alvo molecular gasoso (uracilo). Neste processo há uma transferência do electrão de valência do projectil para o alvo, produzindo-se aniões moleculares que serão detectados por espectrometria de massa do tipo tempo de voo (TOF).

Esta dissertação está dividida em seis capítulos. No presente capítulo, Capítulo 1, fez-se uma breve introdução à motivação científica em que se realiza estudos de CED e TE em biomoléculas, mais concretamente em bases de ADN e ARN. No Capítulo 2 faz-se uma pequena descrição dos processos de dissociação molecular, dos conceitos e mecanismos que se pretendem estudar com o aparelho de feixes moleculares cruzados. No Capítulo 3 faz-se a comparação entre a molécula de timina (T) e a molécula de uracilo (U) e refere-se qual a importância da formação

de NCO^- . O aparelho de feixes moleculares cruzados utilizado para as medidas experimentais deste trabalho, é descrito no Capítulo 4. No Capítulo 5 são apresentados os resultados obtidos e a análise efectuada para a molécula de uracilo. O Capítulo 6 é o capítulo terminal desta dissertação, no qual são descritas as conclusões inerentes ao trabalho efectuado.

Capítulo 2 . Processos de dissociação molecular

Os processos de dissociação molecular podem ser desencadeados por mecanismos que envolvem um electrão adicional. Considere-se A um átomo e BC uma molécula, onde o mecanismo de transferência de electrão pode ser representado por:



e o de captura de electrões livres por:



Captura electrónica (CE)

A captura de electrões livres é um processo que cria um TNI (ou metastável). Dependendo do tempo de vida da auto-libertação electrónica, o TNI pode decair para fragmentos aniónicos e correspondentes fragmentos neutros.¹¹ O estado final é característico do TNI formado.

Esta interacção pode ser dividida em duas classes: dispersão directa e dispersão ressonante. Na dispersão directa o electrão incidente colide com a molécula alvo e vai, eventualmente ser desviado da sua trajectória original. Na dispersão ressonante, o electrão que é projectado fica retido por um período de tempo significativamente longo (10^{-12} a 10^{-13} s) na vizinhança da molécula, formando um TNI. A captura electrónica só pode acontecer se a energia do electrão incidente for a mesma do estado electrónico do TNI. O tempo de vida de um TNI varia grandemente, dependendo 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 principio de incerteza de Heisenberg, o tempo de vida de um TNI está relacionado com a largura de energia, e é dado por:²⁰

$$\tau \approx \frac{\hbar}{\Gamma} \quad (2.4)$$

Com $\hbar = h/2\pi = 6.6 \cdot 10^{-16} eV \cdot s$. Após a formação do TNI, este pode decair por três processos diferentes:



Em reacções do tipo (2.5), a molécula não sofre qualquer tipo de dissociação, voltando a ficar neutra. No entanto, devido ao grande tempo de permanência do electrão extra, a molécula neutra pode ficar num estado vibracional excitado. Tais estados metastáveis são tipicamente gerados a energias muito próximas de 0 eV, para as quais não se torna acessível nenhum canal dissociativo que origine fragmentos estáveis.

Em reacções do tipo (2.6), o electrão vai ligar-se à molécula, mas o excesso de energia interna do sistema provoca a libertação de um fóton com energia igual ao excesso. Como os tempos de vida radiativos são da ordem dos $10^{-9} - 10^{-8}$ s, as reacções do tipo (2.6) são mais lentas comparativamente às reacções (2.5) e (2.7), o que faz com que este processo não seja competitivo com os restantes.

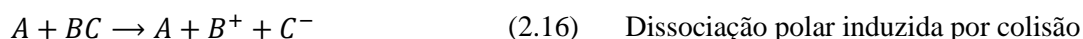
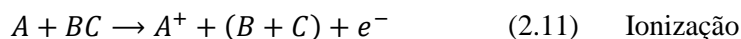
Por último, a captura electrónica dissociativa (CED) (equação 2.7) possui tempos de reacção da ordem dos 10^{-14} e 10^{-12} s. A decomposição do TNI dá-se não só pela instabilidade provocada pela presença temporária de um electrão extra, o que altera o potencial intramolecular, como pelo excesso de energia interna, o que faz com que o TNI passe a um estado excitado. Este processo é selectivo quanto à ligação química (*bond selective*) e quanto à localização na estrutura molecular (*site selective*), visto que depende da ligação e da posição do grupo ou átomo onde o electrão interacciona com a molécula.²⁰ 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 em bases de ADN. Os electrões produzidos pela radiação primária (raios-X, β , partículas α) induzem CED em locais específicos da dupla hélice do ADN, formando iões transientes que ao decair produzem radicais e outros iões estáveis, danificando a hélice de ADN.¹
²¹ Se o canal da captura dissociativa estiver acessível, então vai competir fortemente com o processo de auto-libertação electrónica.

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.

Transferência de electrões

Em meio fisiológico não se encontram electrões livres, logo os processos de CE revelam-se insuficientes como modelo explicativo dos fenómenos de degradação do ADN. Assim, torna-se revelante estudar o processo de transferência de electrão (TE), pois este permite descrever o tipo de interacção de forma mais fiel ao que se passará no meio biológico, usando electrões que se encontram previamente ligados a estruturas atómicas ou moleculares. É assim possível aceder a estados electrónicos, que não seriam acessíveis com outras técnicas nomeadamente com CED.

Os processos de ionização colisional incluem todas as interacções entre partículas neutras nas quais se verifica um processo de transferência de electrões. As expressões (2.8) a (2.16) resumem os diferentes tipos de processos de transferência de electrão observados entre átomos e moléculas no estado fundamental.



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...). No caso do estudo realizado para esta dissertação o átomo dador de electrões, como já foi referido anteriormente, é o potássio (K). O potássio é um elemento do

primeiro grupo da tabela periódica e como tal um metal alcalino, cuja energia de ionização é relativamente baixa²² (cerca de 4,34 eV – o que significa que o potássio é um bom dador de electrões). A capacidade de um átomo ou molécula formar termodinamicamente um anião estável é representada pela Afinidade Electrónica (AE):

$$AE(BC) = E(BC) - E(BC^-) \quad (2.17)$$

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 o estado de energia BC^- estiver acima do estado neutro BC , e é positiva se estiver abaixo. Um valor positivo da AE indica a existência de um anião estável.

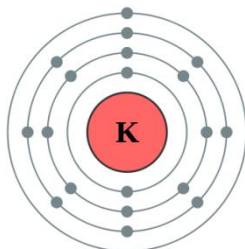


Figura 2.1 - Representação esquemática da distribuição de electrões num átomo de potássio.

É ainda importante estabelecer a diferença entre afinidade electrónica adiabática (AE_{ad}) e vertical (AE_v). Na primeira a transição faz-se entre $v' = 0 \leftarrow v'' = 0$, enquanto que para a segunda se faz entre $v' = v (v \neq 0) \leftarrow v'' = 0$.

A endoergicidade do processo estabelece uma ligação entre a afinidade electrónica da molécula BC e a energia de ionização do átomo A de acordo com:

$$\Delta E = EI(A) - AE(BC) \quad (2.18)$$

O processo é exotérmico se o valor de $EI(A)$ for inferior ao valor de $AE(BC)$ (endoergicidade é negativa). Caso o processo seja endotérmico a energia em excesso pode permitir ao electrão transitar para estados electrónicos de energia inferior àqueles em que se encontrava antes do processo de TE, dando-se uma estabilização do sistema electrão-molécula. O facto de a afinidade electrónica tomar um valor positivo significa que é possível formar um anião estável BC^- (o electrão extra encontra-se num estado ligado).

A figura 2.2 ilustra a situação de uma molécula neutra e o seu anião em termos de energia total e da energia de ligação de electrões.

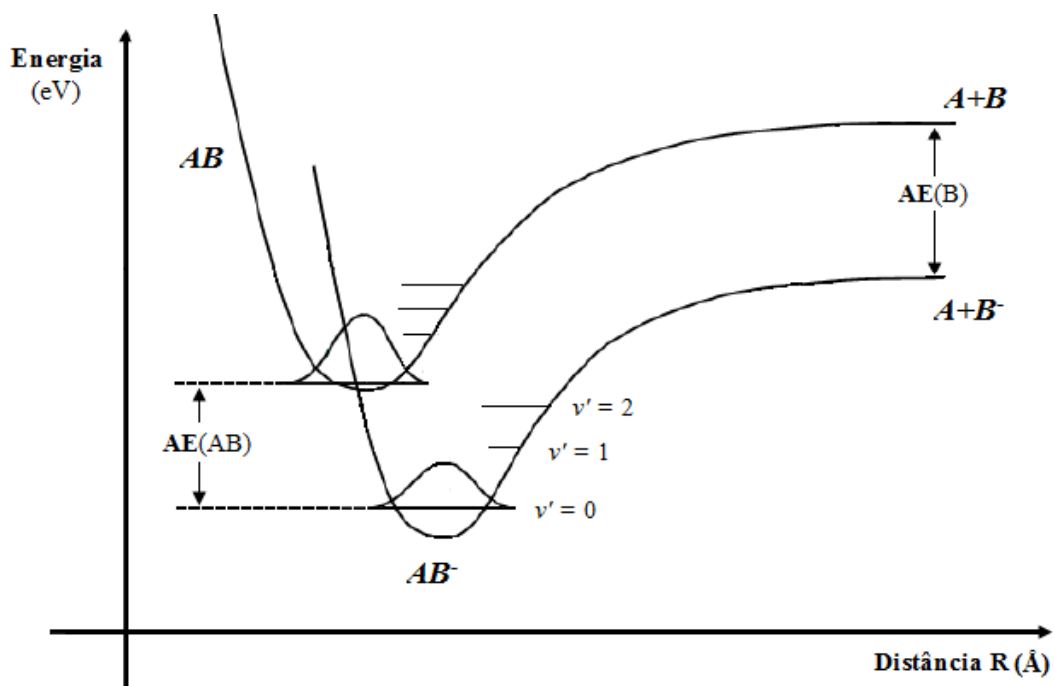


Figura 2.2 - Curvas de energias potenciais de Born-Oppenheimer, ilustrando a afinidade eletrônica adiabática (AE).

A transferência de electrão em colisões átomo-molécula é geralmente mediada pelo cruzamento das superfícies de energia potencial do complexo neutro $A+BC$ e iónico A^+BC^- . Segundo Kleyn *et al.*²³, para grandes distâncias entre átomo e molécula, a curva de energia potencial iónica está acima da covalente, contudo, devido ao potencial de Coulomb do complexo de colisão $[A^+BC^-]^*$ existe um ponto de cruzamento no qual as duas curvas tomam o mesmo valor.⁸ Tal interacção leva à formação de um ião positivo e um anião molecular, podendo permitir o acesso a estados moleculares que não são acessíveis por captura electrónica de electrões livres.¹⁰

Aquando da formação de iões negativos moleculares, a distância internuclear de equilíbrio correspondente ao modo interno que conduz à dissociação, é em geral sempre superior à distância de equilíbrio da molécula neutra²⁴, pois a captura de um electrão extra reduz a energia de ligação. Quando se dá a transferência do electrão de valência do átomo alcalino para a molécula numa colisão, o ião é formado numa zona repulsiva do potencial, o que tende a provocar um aumento gradual de distância entre o átomo alcalino projectil e o centro de massa da molécula (R_m), denominado por extensão da ligação (*bond-stretching*)²⁵, com o conseqüente aumento da $EA(R_m)$ e com a expansão da distância de cruzamento, R_c . A dependência da

afinidade electrónica com R_m , resulta num acréscimo da distância de cruzamento, tal como se evidencia na seguinte relação:²⁶

$$R_c(\text{Å}) \approx \frac{e^2}{\Delta E} = \frac{14.41}{EI - AE(R_m)} \quad (2.19)$$

No caso das dispersões iónicas, há duas distâncias de cruzamento, i.e., uma na aproximação, R_{c1} , e outra no afastamento, $R_{c2}(> R_{c1})$ (figura 2.3), dependendo esta última da velocidade de colisão, o que reflecte o comportamento da variação da afinidade electrónica com o parâmetro R_m .²⁶

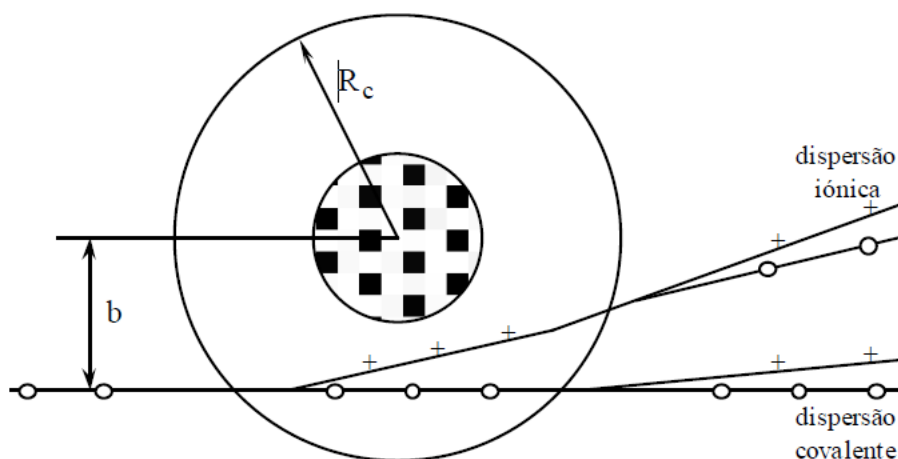


Figura 2.3 - Representação das trajetórias envolvidas numa colisão entre um átomo alcalino e uma molécula. O raio de cruzamento corresponde ao círculo exterior e a região repulsiva dos potenciais está representada pelo círculo com os quadrados. O canal covalente está representado por (o) e a formação de pares de iões por (+).²⁶ (Adaptado de A. W. Kley *et al*²³)

Mecanismo *Harpoon*

O mecanismo *harpoon* apenas se aplica a reacções entre átomos (ou moléculas) com um potencial de ionização muito baixo e moléculas com uma afinidade electrónica muito alta. O mecanismo foi proposto por Michael Polanyi em 1932 de forma a explicar as grandes secções eficazes, ($\sigma > 100 \text{ Å}^2$) obtidas pela colisão entre átomos alcalinos e moléculas halogéneas em contraste com o valor tipicamente obtido pelos parâmetros moleculares²⁷:

$$\sigma \approx \pi R_c^2 \quad (2.20)$$

Como exemplo vamos considerar a colisão entre K e Br₂. Numa primeira etapa da reacção dá-se a transferência do electrão de valência do átomo do metal alcalino para a molécula de halogénio. Uma vez realizada a transferência, é formado um par de iões temporário (ex.: K⁺Br₂⁻), a força de Coulomb fortemente atractiva faz com que os dois iões se juntem, dando origem à formação do KBr estável e ejeção de um átomo de Br. O átomo alcalino utilizou, o seu electrão de valência como um "arpão", de modo a puxar a molécula de halogénio.



A figura 2.4 esquematiza a intersecção das curvas potenciais de modo a modelar o *harpoon mechanism* do K + Br₂. A curva quase plana representa o intervalo de interacção K-Br₂, onde ambos os corpos estão neutros. A curva (2) é uma atracção Coulombica aproximando-se do potencial iónico de K⁺-Br₂⁻. Ao diminuir a distância R até ao ponto de cruzamento R_c, o estado de energia mais baixo do sistema (K-Br₂) troca, passando do estado covalente para o estado iónico e segue a curva (2), de menor energia, até K⁺-Br₂⁻. Devido à grande atracção Coulombiana, a reacção dá-se "imediatamente" após a transferência do electrão.²⁷

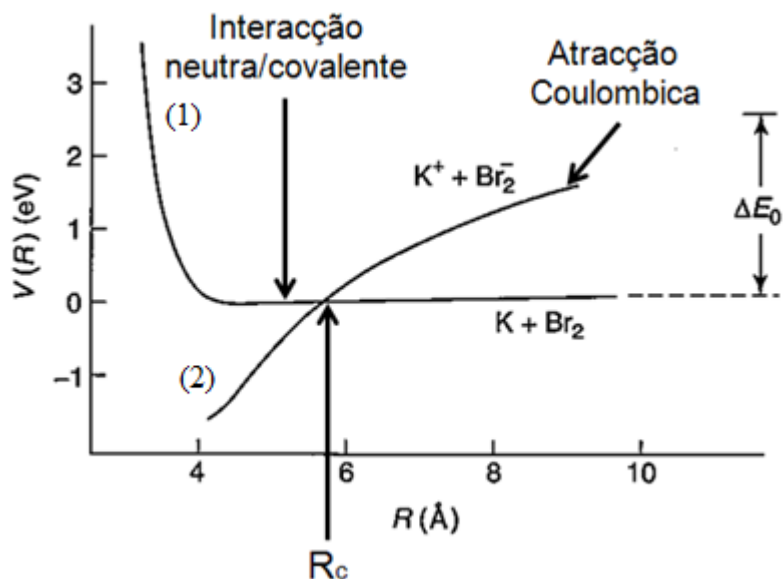


Figura 2.4 - Representação esquemática da intersecção das curvas potenciais do K + Br₂ e K⁺ + Br₂⁻. Identificação do raio de cruzamento R_c. Adaptado da ref.²⁷

Para $b > R_c$, os parceiros da colisão nunca vão ficar “suficientemente próximos” de modo a ocorrer transferência de carga, visto que o potencial de Coulomb sentido é muito fraco. Quando $b < R_c$, a transferência de carga pode ocorrer, a forte atracção de Coulomb supera a repulsão centrífuga e há formação de pares de iões.

O modelo de *harpoon* permite uma compreensão do mecanismo das reacções de ionização que ocorrem numa colisão (ex.: $K + BC \rightarrow K^+ + BC^-$).

Probabilidade de transição não adiabática de Landau-Zener

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, i.e., 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, o electrão de valência tem uma probabilidade de não transitar. Neste caso o sistema mantém-se com a mesma configuração electrónica.^{23, 26}

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 por²⁶:

$$p = \exp\left(-\frac{v^*}{v_r}\right) = \exp\left[-\frac{v^*}{v_r}\left(1 - \frac{b^2}{R_c^2}\right)^{-1/2}\right] \quad (2.21)$$

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

Analisando a figura 2.3 podemos verificar que existem quatro transições possíveis durante uma colisão. 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. Assim, a probabilidade total para a formação de pares de iões numa colisão é:²⁶

$$P = p(1-p) + (1-p)p = 2p(1-p) \quad (2.22)$$

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 electrões, 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 e que envolvem electrões, é útil estudar este tipo de mecanismos, sendo assim possível simular os processos de transferência de electrão, que levam à degradação do ADN.

Capítulo 3 . Uracilo



Figura 3.1– Estrutura química do uracilo

O uracilo ($C_4H_4N_2O_2$) é uma das quatro bases constituintes do ARN (ácido ribonucleico). É uma molécula plana, orgânica, insaturada da família das pirimidinas, com massa molar de 112.08676 g/mol. O uracilo está ligado na cadeia de ARN por um grupo fosfato e um açúcar e substitui a timina durante a transcrição de ADN. É uma base exclusiva do ARN, não estando presente no ADN. A figura 3.2 representa as estruturas do ADN e ARN e suas respectivas bases.

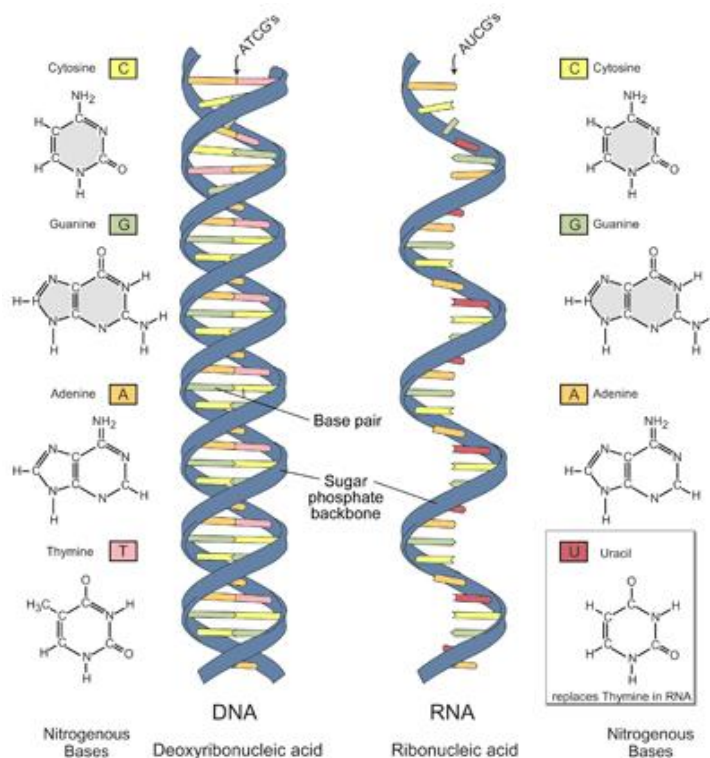


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

Figura 3.2 – Esquema representativo do ADN e ARN e respectivas bases. Adaptado de ref.²⁸

3.1 Comparação entre Uracilo e Timina

Há muito tempo que os processos de radiação ionizante são tidos em conta como uma fonte significativa de danos biológicos, nomeadamente na origem de mutações e desenvolvimento de patologias oncológicas. Boudaïffa *et al.*¹ e Martin *et al.*¹⁹ demonstraram por CED, que para energias de electrão abaixo dos 20 eV podem ser induzidos danos substanciais no ADN, nomeadamente *SSBs* e *DSBs*. Mesmo a energias de electrão incidente abaixo do limite de ionização do ADN, a severidade dos danos causados pode ter consequências muito significativas para a integridade do ADN/RNA.

O uracilo é estruturalmente semelhante à molécula da base de ADN, timina (diferindo apenas na posição 5, sendo que no caso da timina o carbono está ligado a um grupo metilo e no caso do uracilo este está ligado a um átomo de hidrogénio), como é possível constatar a partir da figura 3.2. Ambas as moléculas pertencem ao grupo de simetria C_s , o que significa que existe um plano que divide as moléculas em duas metades simétricas. O plano atravessa as ligações σ do anel de maneira que a reflexão dos átomos no plano forme um arranjo tridimensional indistinguível do original.

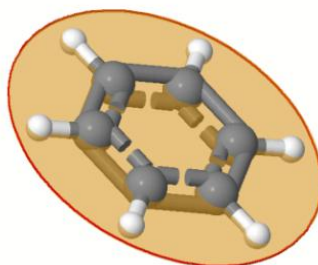


Figura 3.3 – Identificação do grupo de simetria C_s

A partir dos estudos de CED efectuados por Denifl *et al.*^{5, 11, 12}, Ptasinska *et al.*⁵ e dos estudos de TE efectuados por Almeida *et al.*²⁹, fez-se uma comparação entre os padrões de fragmentação da timina e do uracilo. Na tabela 3.1 encontram-se registados os fragmentos obtidos pelos processos de CED e TE, respectivamente.

Tabela 3.1– Fragmentos comuns entre a molécula de uracilo e a molécula de timina estudada tanto por CED como por TE. Adaptado da ref.²⁹

Uracilo				Timina			
M	Anião proposto	CED	TE	M	Anião proposto	CED	TE
(u.m.a.)		[5, 12]	[29]	(u.m.a.)		[5, 30]	[29]
1	H ⁻	✓	✓	1	H ⁻	✗	✓
13	CH ⁻	✗	✓	15	NH ⁻ /CH ₃ ⁻	✗	✓
15	NH ⁻ /CH ₃ ⁻	✗	✓	16	O ⁻	✓	✓
16	O ⁻	✓	✓	17	OH ⁻	✗	✓
17	OH ⁻	✗	✓	24	C ₂ ⁻	✗	✓
24	C ₂ ⁻	✗	✓	25	C ₂ H ⁻	✗	✓
25	C ₂ H ⁻	✗	✓	26	CN ⁻	✓	✓
26	CN ⁻	✓	✓	38	C ₃ H ₂ ⁻ /C ₂ N ⁻	✗	✓
39	C ₂ HN ⁻ /C ₃ H ₃ ⁻	✗	✓	39	C ₂ HN ⁻ /C ₃ H ₃ ⁻	✗	✓
40	C ₂ H ₂ N ⁻ /C ₂ O ⁻	✓	✓	40	C ₂ H ₂ N ⁻ /C ₂ O ⁻	✗	✓
41	C ₂ H ₃ N ⁻ /C ₂ HO ⁻	✓	✓	41	C ₂ H ₃ N ⁻ /C ₂ HO ⁻	✗	✓
42	CNO ⁻	✓	✓	42	CNO ⁻	✓	✓
50	C ₃ N ⁻	✓	✗	50	C ₃ N ⁻	✗	✓
58	CH ₂ N ₂ O ⁻	✗	✓	52	C ₃ H ₂ N ⁻ /C ₃ O ⁻	✗	✓
64	C ₃ N ₂ ⁻	✗	✓	54	C ₂ NO ⁻ /C ₃ H ₄ N ⁻	✓	✓
65	C ₃ HN ₂ ⁻	✓	✓	55	C ₂ HNO ⁻ /C ₃ H ₃ O ⁻	✗	✓
66	C ₃ NO ⁻	✓	✓	66	C ₃ NO ⁻	✗	✓
67	C ₃ HNO ⁻	✓	✓	68	C ₃ H ₂ NO ⁻	✓	✓
68	C ₃ H ₂ NO ⁻	✓	✓	71	C ₂ H ₃ N ₂ O ⁻	✓	✗
83	C ₃ H ₃ N ₂ O ⁻	✓	✓	97	C ₄ H ₅ N ₂ O ⁻	✓	✓
110	C ₄ H ₂ N ₂ O ₂ ⁻	✓	✓	111	C ₄ H ₃ N ₂ O ₂ ⁻	✗	✓
111	C ₄ H ₃ N ₂ O ₂ ⁻	✓	✓	124	C ₅ H ₄ N ₂ O ₂ ⁻	✓	✓
				125	C ₅ H ₅ N ₂ O ₂ ⁻	✓	✓

Tendo em conta o processo pelo qual as moléculas de timina e uracilo foram fragmentadas, podemos observar, através da tabela 3.1, que essa fragmentação é bastante similar. Este facto não é surpreendente, dado que as configurações das moléculas (como foi dito anteriormente) no estado neutro são muito idênticas (figura 3.2). Na figura 3.4, também é possível

observar as semelhanças entre os espectros de massa de TOF de íões negativos de timina e uracilo para o processo de TE.

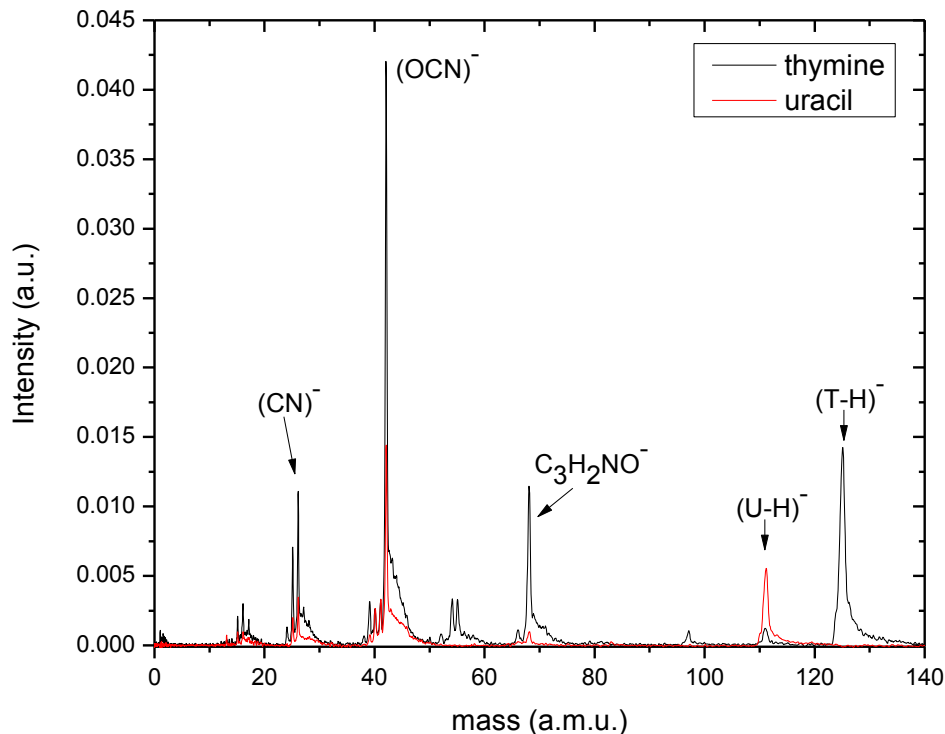


Figura 3.4 – Espectros de timina (preto) vs. uracilo (vermelho), obtidos a energia de colisão de 100 eV.

Como é possível observar da análise da figura 3.4, existem padrões de fragmentação bastante variados, sendo o fragmento de NCO^- o de maior intensidade.

3.2 Formação de NCO^- como principal fragmento em processos de transferência de electrões

Em colisões entre um átomo alcalino e uma molécula poliatômica, o TNI formado na colisão, caracteriza-se pelo seu tempo de vida que condicionará o número de canais de saída. Quando o íon molecular progenitor possui um tempo de vida suficientemente longo, parte da energia depositada por transferência electrónica pode vir a ser distribuída pelos diferentes graus de liberdade disponíveis, de tal modo que pode ocorrer redistribuição de energia intramolecular,

resultando numa competição com a dissociação directa. A forma pela qual esta energia é redistribuída dentro do anião caracteriza os processos de relaxação intramolecular, bem como o tipo de fragmentos aniónicos formados na colisão.³¹ Estudos de CED das bases pirimídicas na fase gasosa, como a timina e o uracilo, têm como fragmento dominante o anião progenitor desidrogenado, tendo os restantes fragmentos secções eficazes com uma ordem de grandeza inferior.^{11, 12} Estudos de Ptasinska *et al.*⁵ revelaram que a perda de hidrogénio ocorre preferencialmente na posição N1 (figura 3.1). No ADN, a timina está ligada ao açúcar pela ligação (N1-C). Quando essa ligação é substituída por um grupo metilo (CH₃) a perda de H fica inibida, o que também se irá aplicar quando é ligada uma molécula de açúcar. Assim, a quebra da ligação N1-H foi considerada um mecanismo de pouca importância no âmbito dos danos causados por processos de CED em sistemas biológicos. No entanto, em contraste com os estudos efectuados por CED, os estudos efectuados por TE revelaram que há um aumento da intensidade de todos os outros fragmentos formados a partir da quebra do anel, relativamente ao anião progenitor desidrogenado, sendo NCO⁻ o de maior intensidade seguido do anião progenitor desidrogenado (ver figura 3.4).

3.3 Notas finais

O estudo de transferência de electrão na base de ARN, (uracilo) efectuado no âmbito desta dissertação tem como objectivo tentar perceber que fenómenos ocorrem na molécula de uracilo, quando é sujeita à interacção com um átomo dador de electrão, simulando a interacção de espécies secundárias (ex. electrões) proveniente da acção da radiação em meio fisiológico. Como já foi referido nesta dissertação, a capacidade que os electrões de baixa energia (< 20eV) têm de induzir degradação ao nível do ADN é irrefutável.¹ Estas alterações irreversíveis causadas na dupla-hélice do ADN são iniciadas pela formação de estados electrónicos associados a um TNI^{1, 12, 32} os quais, ao se dissociarem, produzem entre outros fragmentos aniónicos, o ião NCO⁻. A degradação destes sistemas é assim efectuada a nível específico e os efeitos da acção da radiação em meio fisiológico, nos instantes posteriores à irradiação devem ser descritos a nível molecular. A formação deste anião será estudada no Capítulo 5 em função da energia de centro de massa disponível, assim como em função da velocidade relativa do projectil (K).

Capítulo 4 . Montagem Experimental

Neste capítulo é descrita a montagem experimental utilizada para efectuar os estudos de transferência de electrão entre um átomo dador (potássio) e uma molécula receptora, sendo feita uma apresentação breve dos componentes constituintes do espectrómetro de massa do tipo tempo de voo e do respectivo sistema de vácuo.

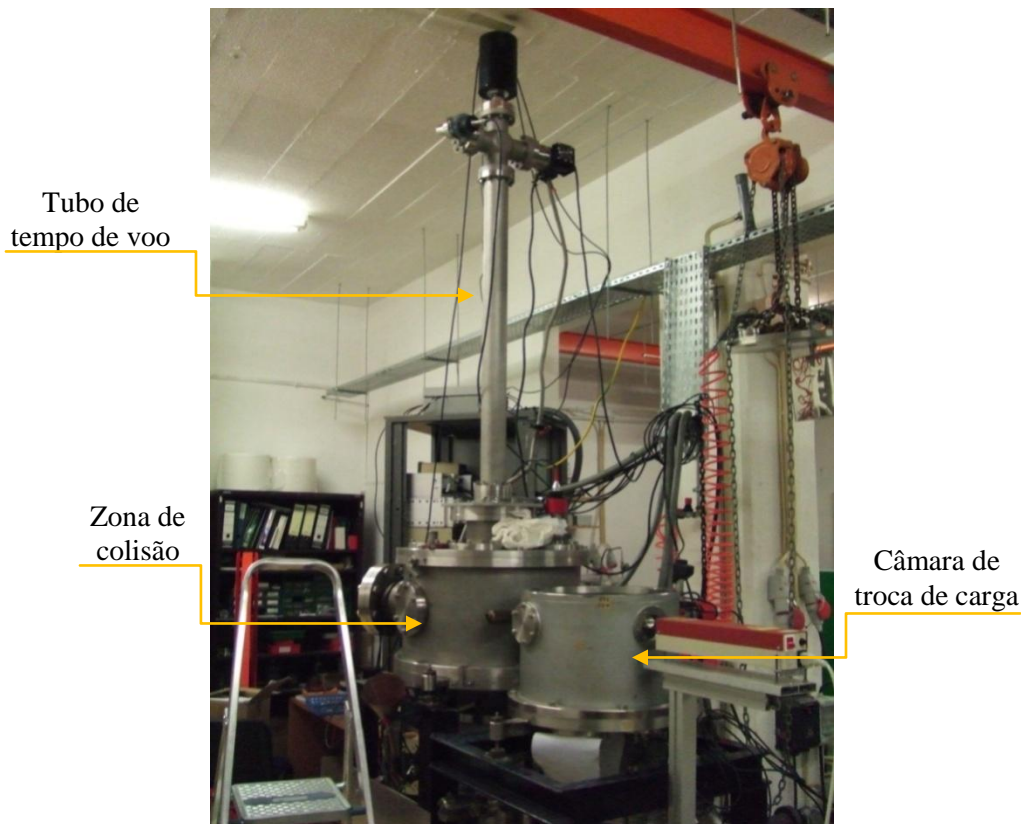


Figura 4.1– Fotografia da montagem experimental

Os espectros de massa do tipo tempo de voo (TOF) das espécies aniónicas produzidas através da interacção de potássio com uracilo, foram obtidos num aparelho de feixes moleculares cruzados. Sucintamente, o aparelho é constituído por duas câmaras de alto-vácuo, sendo este assegurado por bombas difusoras ligadas a bombas rotatórias. O sistema de bombeamento é constituído por um conjunto de condutas e tubagem, e o grau de vácuo é controlado e monitorizado em diversos locais com medidores próprios. As câmaras estão ligadas entre si por uma válvula inter-câmaras. Na primeira câmara, através de um processo de troca de carga

ressonante é criado um feixe de potássio neutro hipertérmico. O feixe alcalino hipertérmico entra na segunda câmara de alto- vácuo onde a sua intensidade é monitorizada por um detector do tipo Langmuir-Taylor. Este detector permite o controlo da intensidade do feixe, mas não interfere com a passagem do feixe para a zona de colisão.

Um feixe efusivo de uracilo é introduzido por uma fenda com 1 mm de diâmetro na zona de colisão, onde intersecta o feixe de potássio neutro hipertérmico. A zona de colisão está localizada no meio de dois pratos paralelos com 1.2 cm de afastamento. Os iões negativos formados na zona de interacção são extraídos na direcção normal ao plano do cruzamento dos dois feixes, através de um campo eléctrico, conduzidos a um sistema de lentes de Eizel e posteriormente ao interior de um tubo de tempo de voo. São posteriormente detectados no topo do tubo de voo por um detector de partículas carregadas do tipo canaltrão.

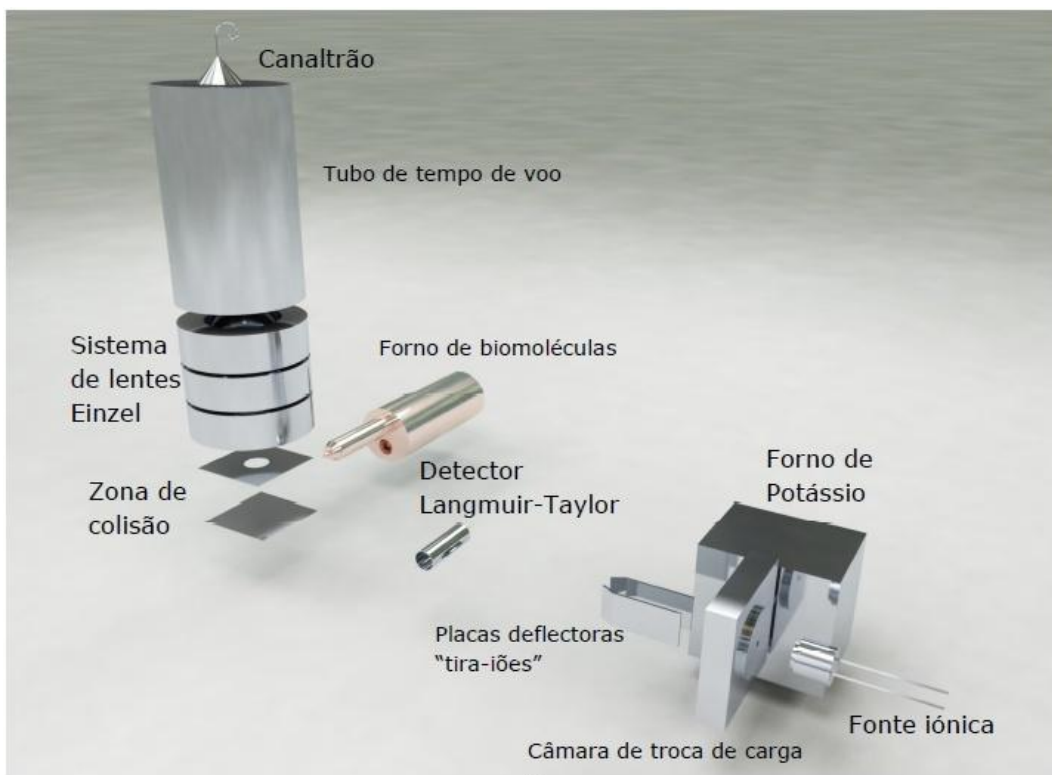


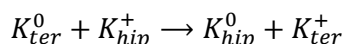
Figura 4.2 – Esquema do aparelho experimental.

4.1 Primeira Câmara–Produção de feixe de potássio neutro

4.1.1 Sistema de troca de carga⁸

Este sistema é constituído por um forno, uma câmara de troca de carga e uma fonte de iões de potássio K_{hip}^+ , produzindo por troca de carga ressonante um feixe neutro acelerado de K_{hip}^0 .

De forma a podermos acelerar o feixe de potássio através de uma diferença de potencial é necessário que o feixe possua carga, no entanto, para a formação de iões negativos torna-se necessário fazer colidir um átomo neutro com uma molécula. O sistema construído permite formar um feixe acelerado de K_{hip}^0 através do processo de troca de carga ressonante. O sistema de troca de carga possui uma fonte de iões de potássio (K_{hip}^+) que são acelerados até passarem por uma fenda circular onde interagem com átomos de potássio provenientes de um forno. O forno de potássio neutro K_{ter}^0 , é um dispositivo em aço inox com duas resistências que permitem o aquecimento do potássio sólido a uma temperatura de 420 K. Assim, os iões K_{hip}^+ ao passarem junto dos átomos de potássio neutro recebem um electrão dos átomos K_{ter}^0 obtendo-se à saída da câmara de troca de carga um feixe neutro acelerado K_{hip}^0 e um feixe iónico com energia térmica K_{ter}^+ . O processo de troca de carga pode ser expresso por:



A câmara de troca de carga, à semelhança do forno, é aquecida mas a uma temperatura de 440 K. O facto da temperatura da câmara ser superior que a do forno tem por função evitar a possível condensação da amostra no seu interior, o que impediria o fluxo de potássio para as fendas que comunicam com o exterior desta câmara. Tanto as resistências de aquecimento como o medidor de temperatura são controlados exteriormente por um controlador PID (*Proportional-Integral-Derivative*). Os orifícios são centrais e circulares com um diâmetro de 1,5 mm. Estas fendas permitem não só manter uma densidade suficiente de átomos de potássio neutros térmicos (K_{ter}^0) nesta zona, beneficiando desta forma o processo de troca de carga ressonante com os iões de potássio hipertérmicos (K_{ter}^+) provenientes da fonte iónica, como serve também de elemento de colimação do feixe.⁸

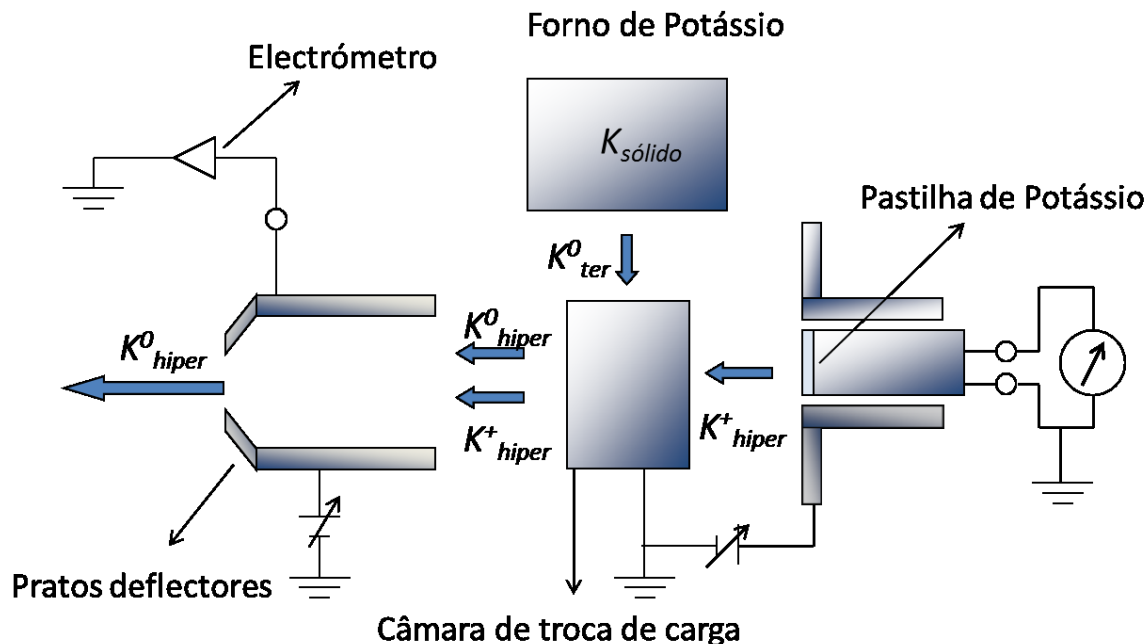


Figura 4.3 - Esquema da câmara de troca de carga e da produção de átomos de potássio neutros hipertérmicos.

4.1.2 Placas deflectoras de iões

Como referido anteriormente, apenas nos interessa obter um feixe de átomos de potássio neutro à saída da câmara de troca de carga. Nem todos os iões (hipertérmicos) produzidos pela fonte iónica sofrem troca de carga (ressonante) durante a sua passagem pela câmara de troca de carga. Estas placas de geometria rectangular permitem a sua remoção. Assim, coloca-se uma placa a um potencial positivo em relação à outra de forma a provocar a deflexão dos iões. Todos os átomos de potássio que não possuem carga não são afectados por este campo extractor. A placa colectora de iões está ligada a um electrómetro para medição da corrente iónica e desta forma permitir controlar a taxa de produção de iões K^+ .⁸

4.2 Segunda Câmara – Câmara de colisões

4.2.1 Detector de ionização do tipo Langmuir-Taylor

De modo a medir a corrente de potássio neutro que chega à zona de colisões existe um detector de ionização do tipo Langmuir-Taylor. Este detector 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 ainda, duas aberturas que permitem a passagem do feixe de potássio neutro para a zona de colisões. A corrente iónica num electrómetro é obtida à custa de aplicar ao filamento uma corrente típica de 0,630 A e uma tensão de deflexão de +60 V em relação ao colector, criando-se um campo eléctrico entre o filamento e o colector que deflecte os iões provenientes da ionização dos átomos neutros K_{hip}^0 . É então produzida uma corrente no colector, a qual é proporcional à intensidade do feixe neutro acelerado. Esta corrente no filamento permite determinar a corrente de K_{hip}^0 que entra na câmara de colisões.⁸

4.2.2 Forno de moléculas sólidas

O forno consiste numa estrutura cilíndrica em cobre. É neste forno que são colocadas as amostras sólidas. Através do seu aquecimento é possível aumentar a tensão de vapor, criando assim um feixe efusivo de moléculas neutras. Este feixe vai passar por uma fenda de colimação de 1 mm. O controlo da temperatura do forno é efectuado por um sensor de temperatura do tipo termopar com uma junção crómio-alumínio. O controlo e monitorização de temperatura é muito importante, visto que um aquecimento demasiado elevado pode levar à decomposição térmica das moléculas antes destas colidirem com o feixe neutro de potássio. O termopar do tipo K utilizado possui uma incerteza de 2,5% entre 230 K e 600 K, permitindo assim determinar a temperatura do forno.⁸

4.3 Sistema de vácuo³³

Genericamente, o sistema de vácuo consiste de um tubo do espectrómetro de massa de tempo de voo e de duas câmaras: a câmara de produção de feixe neutro e a câmara de colisões. Cada câmara tem associada uma bomba rotatória de dois estágios e uma bomba difusora de modo a ser possível a obtenção de alto-vácuo. O alto-vácuo irá permitir aumentar significativamente o

livre percurso médio. Esta grandeza é definida como a distância média percorrida por um átomo ou molécula entre duas colisões sucessivas dado por:

$$\lambda \cong \frac{7 \times 10^{-3}}{P_{\text{trabalho}}} \text{ (cm)} \quad (4.1)$$

Tendo em conta que se trabalhou a pressões na ordem de 2×10^{-6} mbar, a uma temperatura de 300 K e considerando um diâmetro médio das moléculas de 5 \AA , temos que o livre percurso médio é da ordem de 35 m. Tendo em conta que a distância entre o local de produção do feixe de potássio e o local de formação de iões é de cerca de 50 cm, o livre percurso médio obtido com tais pressões é suficiente para garantir que a colisão ente um átomo de potássio e uma biomolécula seja binária.

As bombas rotatórias que asseguram o vácuo primário, são fundamentalmente, compressores que extraem os gases do sistema lançando-os na atmosfera. Estas bombas atingem valores típicos de 10^{-2} mbar. Uma bomba de difusão é constituída por um invólucro cilíndrico, dentro do qual existe um vaporizador para o óleo da bomba e sobre este 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 de encontro às suas paredes. Como estas são arrefecidas, por circulação de água externa, dá-se uma condensação do fluido que voltará 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^{-6} mbar. A bomba difusora da câmara de produção de feixe neutro possui uma velocidade de bombeamento de 1300 l/s, enquanto que a bomba difusora da câmara de colisões possui uma velocidade de bombeamento de 1550 l/s. Para evitar a oxidação do óleo, que ocorreria com o seu aquecimento na presença do ar, as bombas difusoras são ligadas depois de se estabelecer um vácuo primário. Entre cada uma das bombas rotativas e respectivas bombas difusoras existe uma válvula electromagnética de isolamento e um condensador – trapa de zeólitos, que previne a migração do óleo da bomba rotativa para a zona de baixa pressão, ou seja, para o sistema. Este tipo de condensadores permite grandes velocidades no bombeamento do vapor de água e de vapores de óleo provenientes da bomba rotativa devido ao seu poder de absorção.

De modo a permitir manter uma das câmaras em alto-vácuo enquanto a outra pode estar aberta à pressão atmosférica, a sua ligação é feita por uma válvula inter-câmaras manual. Assim

não se torna necessário ter as duas câmaras à pressão atmosférica quando se quer abrir apenas uma.

O tubo de tempo de voo é bombeado por uma bomba turbomolecular que permite um bombeamento de base da ordem dos 10^{-5} mbar. As bombas moleculares 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. Às moléculas é comunicado movimento de modo que saiam do sistema a bombear.

O vácuo primário é controlado por um sensor do tipo pirani, e na gama de alto-vácuo por um manómetro de ionização.

4.4 Sistema de detecção de partículas

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

4.4.1 Lentes Einzel

Este sistema de lentes funciona como uma lente óptica que faz convergir as partículas carregadas, permitindo focar o feixe de partículas carregadas gerados na colisão. A quantidade de partículas iónicas detectadas pelo canaltrão é assim optimizada.

4.4.2 Detector do tipo canaltrão

Os fragmentos iónicos criados na colisão entre os átomos de potássio e a molécula alvo ao serem extraídos da zona de colisão e conduzidos ao tubo de tempo de voo, são posteriormente detectados no canaltrão. Este detector é um dispositivo multiplicador de electrões, ou seja, quando as partículas carregadas entram e embatem nas paredes do canaltrão, produzem a emissão de electrões secundários. Uma vez que se estabelece uma diferença de tensão entre a entrada do detector e o seu colector (final), estes electrões são acelerados e ao colidirem com as paredes internas produzem mais electrões num sistema de multiplicação em cascata. A diferença de potencial aplicada entre as extremidades do detector é tipicamente cerca de 2000 V. Quando é

detectada a chegada de um ião é produzido um impulso negativo de amplitude típica de -20 mV e duração aproximada de 8 ns. O impulso obtido é isolado, amplificado e discriminado. O detector usado apresenta uma forma tubular espiralada, com entrada cónica de 1 cm de diâmetro.

4.4.3 Espectrómetros de massa

4.4.3.1 Princípios de análise de massa

Os iões progenitores e fragmentos formados na captura electrónica são analisados de acordo com o seu valor de massa-carga (m/q) por espectrómetros de massa. Não só permitem identificar as diferentes espécies iónicas, como as suas abundâncias relativas.

Os analisadores de massa operam segundo o comportamento dos iões em campos eléctricos e magnéticos. Em campos estáticos, iões de diferentes valores de m/q podem ser distinguidos no espaço através das suas diferentes trajectórias (analisadores de massa estáticos), ou em tempo através dos seus diferentes tempos de voo (analisadores de massa dinâmicos). Um espectrómetro do tipo TOF rege-se pelo princípio de que ao ser fornecida a mesma energia às diferentes espécies iónicas (diferentes massas), estas terão diferentes velocidades, ou seja, as massas mais leves irão percorrer uma distância em menor tempo do que as mais pesadas, chegando com uma diferença temporal ao detector.

De modo a recordar o movimento de partículas carregadas em campos eléctricos, consideremos um campo eléctrico uniforme que se aplica entre duas placas metálicas paralelas separadas por uma distância d . O campo eléctrico é $E = \Delta V/d$, sendo ΔV a diferença de potencial entre as placas. Sabendo que a força eléctrica é dada por $F = zeE$, um ião formado em repouso será acelerado ao longo do campo eléctrico E de acordo com a 2ª lei de Newton:

$$a = \frac{F}{m} = ze \frac{E}{m} = \text{const} \quad (4.2)$$

($e = 1.6 \cdot 10^{-19} C$)

As partículas submetidas a um campo deste tipo adquirem um movimento uniformemente acelerado.

4.3.3.2 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 .

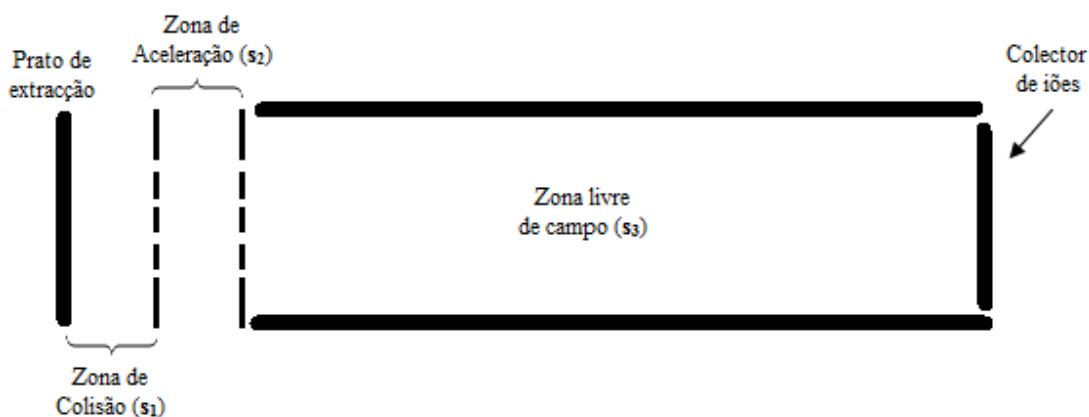


Figura 4.4– Esquema genérico de um sistema de tempo de voo de dois estágios.

Smythe e Mattauch³⁴ criaram, em 1932 os primeiros espectrómetros de massa do tipo de voo. No entanto estes espectrómetros apresentavam algumas deficiências, como é o caso da não correcta selecção das velocidades pretendidas, introduzindo picos extra nos espectros de massa, não permitindo uma análise correcta do espectro. Em 1955 Wiley e McLaren³⁵ propuseram a introdução de um segundo campo de aceleração, melhorando a resolução e potencialidade da espectrometria TOF.

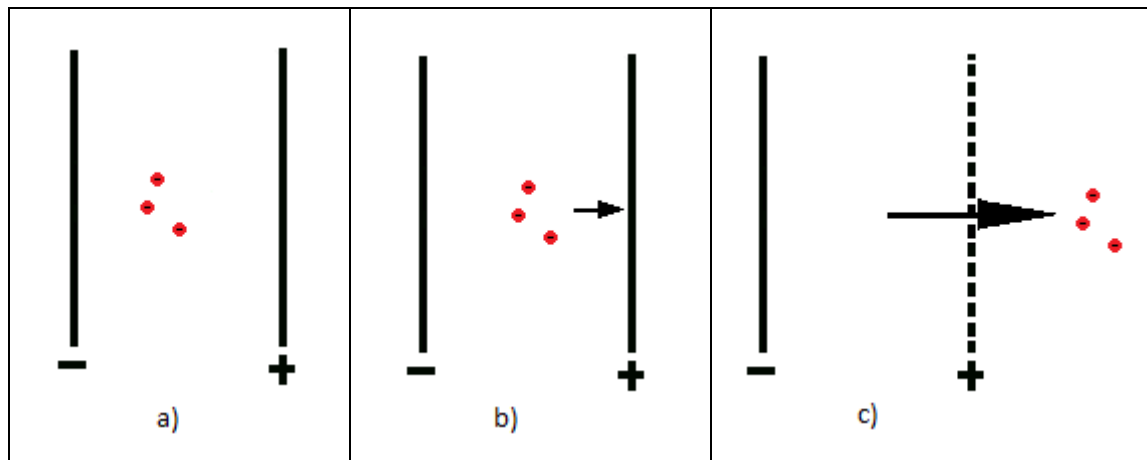


Figura 4.5 – Representação esquemática da zona de extracção. a) íon negativo numa zona sem campo extractor. b) íon negativo é acelerado na direcção do eléctrodo positivo. c) o íon passa pela grelha de extracção, entrando na zona de aceleração.

Tomemos como exemplo um íon negativo, este vai ser acelerado na direcção do eléctrodo positivo. Se o eléctrodo positivo for substituído por uma grelha, o íon 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 íon ejectado no sentido contrário ao campo aplicado será desacelerado, e o íon que é ejectado na direcção do campo é acelerado em direcção ao detector. O íon que inicialmente se movia contrariamente ao campo aplicado, passará no plano de origem com a mesma velocidade que o íon 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 4.6).

Os iões formados na zona de colisão são retirados pelo primeiro campo eléctrico E_1 , sendo em seguida acelerados pelo segundo campo E_2 antes de entrarem no tubo de voo (que não tem qualquer campo aplicado), chegando ao detector.

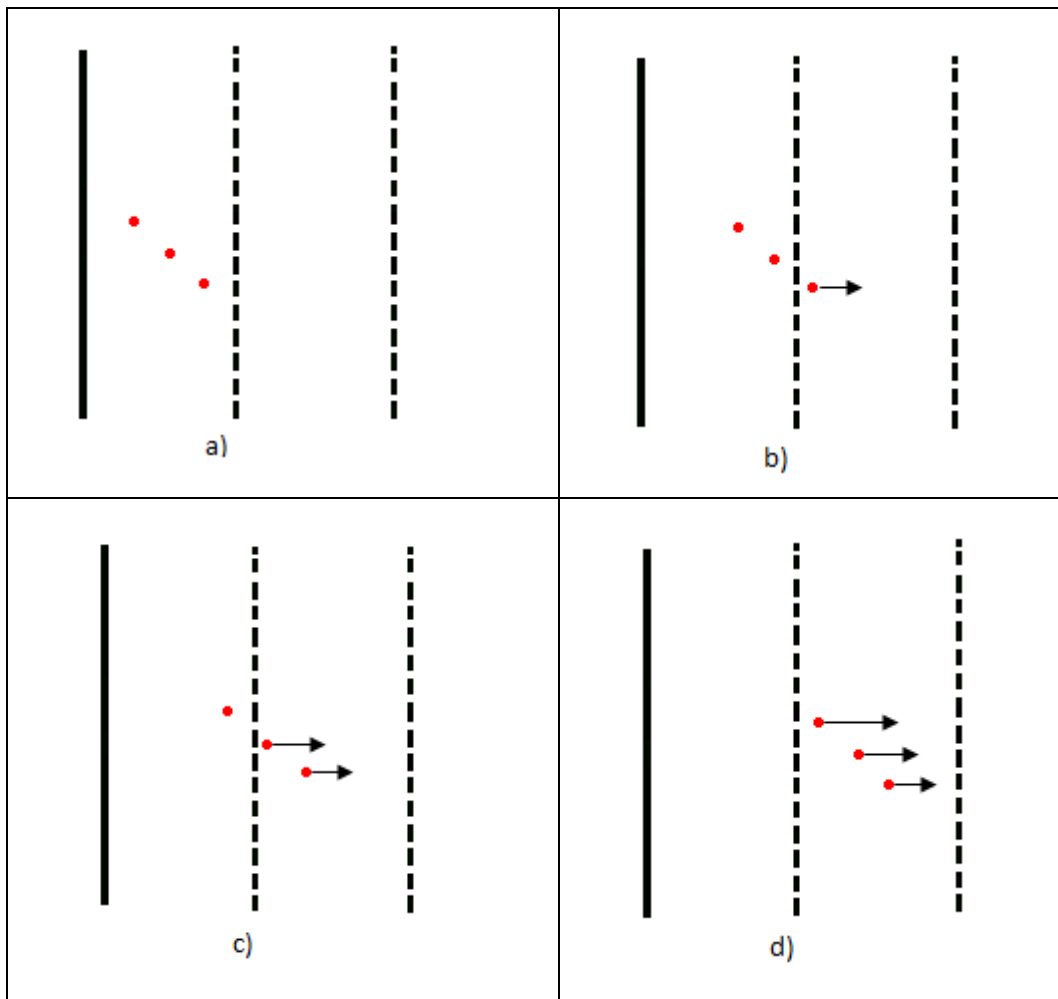


Figura 4.6 – Representação da aceleração ganha pelos iões na zona de aceleração

Tendo em conta as notações da figura 4.4, 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,

$$x = x_0 + v_0 t_{s1} + \frac{1}{2} a_1 t_{s1}^2 \quad (4.3)$$

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

$$\frac{1}{2} a_1 t_{s1}^2 + v_0 t_{s1} - s_1 = 0 \quad (4.4)$$

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

$$W_0 = \frac{1}{2}mv_0^2 \Leftrightarrow v_0 = \pm \sqrt{\frac{2W_0}{m}} \quad (4.5)$$

Onde W_0 é a energia cinética inicial de um ião (fragmento). Tanto a solução positiva como a negativa são válidas. Os sinais (-) e (+) na equação 4.5 referem-se aos componentes da velocidade inicial orientados na direcção contrária e favorável ao detector, respectivamente.

Resolvendo a expressão 4.4:

$$t_{s1} = \frac{-v_0 \pm \sqrt{v_0^2 + 2a_1 \cdot s_1}}{a_1} \quad (4.6)$$

Substituindo a_1 e v_0 pelas expressões 4.2 e 4.5, respectivamente

$$t_{s1} = \frac{\pm \sqrt{\frac{2W_0}{m}} \pm \sqrt{\frac{2W_0}{m} + \frac{2zeE_1}{m} s_1}}{\frac{zeE_1}{m}} \quad (4.7)$$

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:

$$t_{s1} = \frac{(2M)^{1/2}}{zeE_1} \left[(W_0 + zeE_1 s_1)^{1/2} \pm W_0^{1/2} \right] \quad (4.8)$$

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 :

$$a_2 = \frac{F}{m} = \frac{zeE_2}{m} \quad (4.9)$$

$$x = x_2 + v_2 t_{s2} + \frac{1}{2} a_2 t_{s2}^2 \quad (4.10)$$

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

$$\frac{1}{2} a_2 t_{s2}^2 + v_2 t_{s2} - d = 0 \quad (4.11)$$

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

$$W = W_0 + W_1 + W_2 = W_0 + zeE_1 s_1 + zeE_2 s_2 \quad (4.12)$$

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:

$$W - W_2 = W_0 + W_1 \quad (4.13)$$

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

$$W_2 = zeE_2 s_2 \quad (4.14)$$

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

$$W_0 + W_1 = \frac{1}{2} m v_2^2 \Leftrightarrow v_2 = \sqrt{\frac{2(W_0 + W_1)}{m}} \quad (4.15)$$

Apesar de serem possíveis duas soluções em (4.15), 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 (4.11) e substituindo os valores da velocidade v_2 e da aceleração a_2 obtidos nas expressões (4.15) e (4.9):

$$t_{s2} = \frac{-\sqrt{\frac{2(W_0+W_1)}{m}} \pm \sqrt{2} \cdot \sqrt{\frac{W_0+W_1}{m} + \frac{qE_2}{m} s_2}}{\frac{zeE_2}{m}} \quad (4.16)$$

Apesar de a expressão (4.16) apresentar duas soluções, apenas a positiva é fisicamente possível, visto $t_2 > 0$,

$$t_{s2} = \frac{(2m)^{1/2}}{zeE_2} [-\sqrt{(W_0 + W_1)} + \sqrt{W_0 + W_1 + qE_2 s_2}] \quad (4.17)$$

Assim, substituindo (4.12) e (4.13) na equação anterior temos a expressão que permite calcular o tempo de voo de uma partícula na zona de aceleração:

$$t_{s2} = \frac{(2m)^{1/2}}{zeE_2} [W^{1/2} - (W_0 + zeE_1 s_1)^{1/2}] \quad (4.18)$$

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 :

$$t_3 = \frac{x - x_3}{v_3} = \frac{s_3}{v_3} \quad (4.19)$$

Calculando v_3 ,

$$W = \frac{1}{2} m v_3^2 \Leftrightarrow v_3 = \pm \sqrt{\frac{2W}{m}} \quad (4.20)$$

e substituindo v_3 obtido em (4.20) em (4.19):

$$t_{s3} = \frac{(2m)^{1/2} s_3}{2W^{1/2}} \quad (4.21)$$

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

$$t_{TOF} = \sqrt{\frac{m}{2}} \times \left[\frac{s_3}{W_0 + zes_1E_1 + zes_2E_2} + \frac{2(\sqrt{W_0 + zesE_1} \pm \sqrt{W_0})}{zeE_1} + \frac{2(\sqrt{W} - \sqrt{W_0 + zes_1E_1})}{zeE_2} \right] \quad (4.22)$$

No caso ideal, onde todos os iões começam a deslocar-se no plano situado a uma distância s_j 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:

$$t_{TOF} = \left(\frac{m}{2W} \right)^{1/2} \left(2k^{1/2}s_1 + \frac{2k^{1/2}s_2}{k^{1/2} + 1} + s_3 \right) \quad (4.23)$$

sendo k uma constante definida como,

$$k = \frac{E_1s_1 + E_2s_2}{E_1s_1} \quad (4.24)$$

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:

$$\Delta T_m = t_{m+1} - t_m = \left(2k^{1/2}s_1 + \frac{2k^{1/2}s_2}{k^{1/2} + 1} + s_3 \right) \left[\frac{1}{(2W)^{1/2}} (m+1)^{1/2} - m^{1/2} \right] \quad (4.25)$$

Esta expressão pode ainda ser simplificada, visto que k é uma constante, ou seja analisando (4.24), 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 (4.25) e assumindo algumas aproximações, temos:

$$\Delta T_m = \frac{k}{(2W)^{1/2}} m^{1/2} \left[\left(m + \frac{1}{m} \right)^{1/2} - 1 \right] = t_m \left[\left(m + \frac{1}{m} \right)^{1/2} - 1 \right] \approx \frac{t_m}{2m} \quad (4.26)$$

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.

Capítulo 5 . Resultados e discussão

Sendo a molécula de uracilo uma das unidades fundamentais do ARN e sabendo também que electrões de baixa energia têm a capacidade de a degradar, efectuou-se um estudo pormenorizado da fragmentação desta molécula com especial atenção à formação do ião NCO. O estudo da molécula de uracilo ($C_4H_4N_2O_2$) em conjunto com as bases de ADN, tem sido alvo de muitos estudos principalmente de CED, no entanto, nunca antes, moléculas poliatómicas desta grandeza foram estudadas por processos de TE. Os estudos efectuados na presente dissertação centraram-se na formação do fragmento NCO^- e pretendem estabelecer correspondências entre os fenómenos que ocorrem por CED e TE a baixas energias. Foi utilizado um espectrómetro de massa que permite detectar os padrões de fragmentação do fenómeno de transferência de electrão entre um átomo dador (potássio) e uma molécula receptora (uracilo).

Os espectros de tempo de voo obtidos através do espectrómetro de massa resultam da aquisição de conjuntos de impulsos gerados pela chegada dos diversos fragmentos iónicos ao detector canaltrão formados pela colisão da molécula em estudo com átomos de potássio. São dependentes do número de contagens, em função do tempo de voo característico de cada um dos fragmentos.⁸

5.1 Condições experimentais

Os resultados experimentais foram obtidos para os parâmetros experimentais contidos na tabela 5.1, respeitantes ao aparelho de feixes moleculares cruzados do Laboratório de Colisões Atómicas e Moleculares (LCAM) do CEFITEC. As medidas correspondentes a colisões de átomos neutros de potássio hipertérmico com alvos moleculares de uracilo, foram obtidas para uma gama de energias de laboratório entre 11 e 200 eV, e posteriormente transformados para energia de colisão no referencial do centro de massa, através da relação:

$$E_{CM} = E_{Lab} \times 0.9 \times \frac{m_{alvo}}{m_{alvo} + m_{projectil}} \quad (5.1)$$

em que 0.9 é um factor de correcção que traduz um factor de aparelho.

Obtiveram-se espectros de massa de tempo de voo de iões negativos formados por transferência de electrão de acordo com:



Os iões negativos formados na zona de interacção foram extraídos por um campo eléctrico de 333 Vcm^{-1} , com uma duração de $8 \mu\text{s}$. O feixe de potássio é contínuo. Os espectros de tempo de voo foram obtidos, sempre que possível de forma a que as áreas dos picos apresentassem uma boa estatística, i.e., uma boa razão sinal/ruído. Os tempos de acumulação para obtenção de um espectro com estatística aceitável, variam com a secção eficaz e dessa forma estão também dependentes da energia de colisão.

A molécula de uracilo 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. A temperatura necessária à vaporização da amostra deve ser controlada de forma a não levar à decomposição térmica da amostra. Segundo estudos de Huels *et al.*³⁶ e Denifl *et al.*^{11, 12}, as temperaturas aconselhadas para a vaporização de moléculas de bases de ADN e ARN situam-se entre $450\text{K} - 470\text{K}$. Após alguns testes verificou-se que os espectros obtidos a 465K eram os que apresentavam melhor qualidade (melhor razão sinal-ruído, como maior estatística em menor tempo).

Tabela 5.1- Parâmetros e condições experimentais mantidos constantes ao longo da experiência

Fonte de troca de carga	Temperatura do forno	470 K
	Temperatura da câmara de troca de carga	390 K
	Pressão	9×10^{-7} mbar
Fonte do feixe alvo	Temperatura do depósito	465 K
	Pressão	2×10^{-6} mbar
Deteccção	Tensão do prato repulsor	-3900 V
	Tensão da grelha de extracção	-3500 V
	Tensão de entrada do canaltrão	0 V
	Tensão de saída do canaltrão	+2250 V

5.1.1 Corrente

O fluxo de átomos neutros hipertérmicos é proporcional ao fluxo de iões térmicos produzidos bem como ao fluxo de iões hipertérmicos iniciais e fluxo de átomos térmicos que trocam de carga. Esta proporcionalidade entre os feixes é monitorizada através de um detector do tipo Langmuir-Taylor. Desta forma é possível estimar a intensidade do feixe neutro hipertérmico. Por observação directa da figura 5.1 podemos afirmar que a dependência da intensidade do feixe hipertérmico com a energia de colisão (no referencial de laboratório) apresenta um comportamento que obedece à lei dos 3/2 ou lei de Child-Langmuir da concentração de carga espacial.^{26, 37} Apesar do declive da recta ajustada ser superior a 1,5 tal deve-se à geometria do sistema fonte de iões K^+ – a geometria dos eléctrodos não é a mesma que a considerada por Child-Langmuir (díodo).

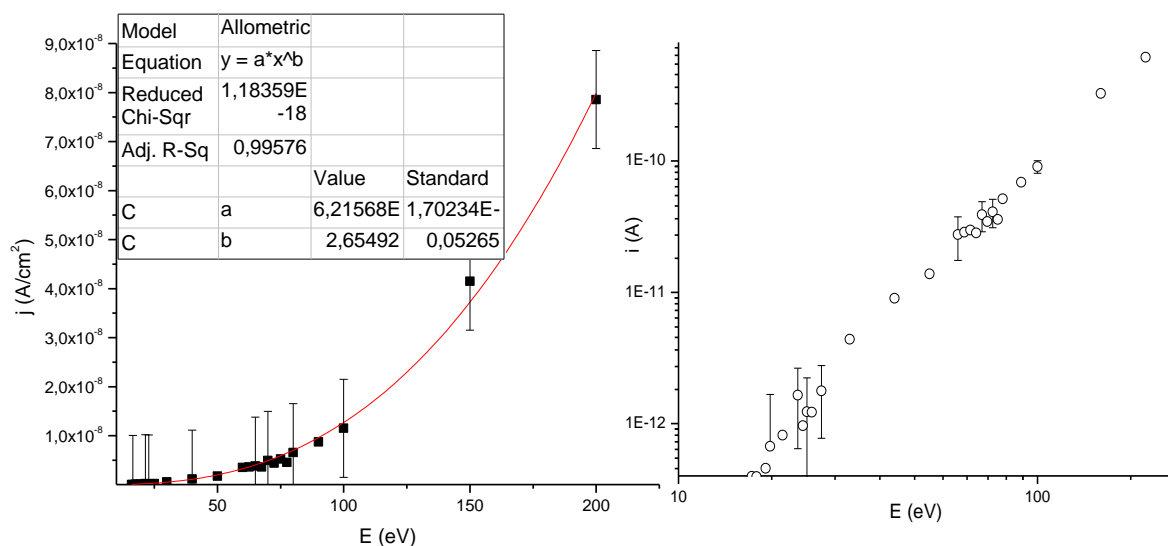


Figura 5.1 – À esquerda, densidade de corrente do feixe projectil em função da energia de laboratório e curva ajustada a esses valores de modo a determinar o parâmetro de Child. À direita, corrente do feixe projectil medida no colector do detector Langmuir-Taylor vs. energia de colisão no referencial de laboratório (em escala logarítmica).ⁱ

ⁱ Por uma questão de clareza da figura apenas se apresentam as barras de erro para algumas energias, evidenciando o seu comportamento.

5.2 Calibração de espectros

De modo a ser possível atribuir aos picos obtidos por espectrometria TOF às respectivas massas dos aniões formados, foi necessário efectuar a sua calibração. A calibração estabelece a relação entre a massa dos fragmentos, tendo em conta um valor de referência e aquele que se observa num espectro de massa obtido. O método de calibração utilizado segue os seguintes passos:

- 1) Identificar no espectro os picos referentes aos fragmentos conhecidos⁸ e registar os seus canais.

Como elementos de calibração do espectrómetro de massa TOF utilizaram-se os vários fragmentos aniónicos da própria molécula, visto já serem conhecidos os seus padrões de fragmentação e os picos relativos aos fragmentos O^- e H^- resultantes da fragmentação de moléculas de H_2O , que se encontram no gás residual da câmara de colisões. Tais contribuições podem ser utilizadas na calibração dos espectros e não interferem com o que é pretendido estudar, formação do fragmento NCO^- ;

Tabela 5.2 – Massas utilizadas na calibração dos espectros

Elemento ⁱⁱ	Massa de referência	Canal	Tempo de voo (μs)
H^-	1	302	2.424
C^-	12	854	6.832
$(CH)^-$	13	887	7.096
$(CH_2)^-$	14	918	7.344
O^-	16	975	7.800
$(OH)^-$	17	1004	8.032
$(C_2)^-$	24	1178	9.424
$(C_2H)^-$	25	1201	9.608
$(CN)^-$	26	1222	9.784
$(C_3H_3)^-$	39	1520	12.16
$(C_2O)^-/(C_2H_2N)^-$	40	1531	12.248
$(C_2H_3N)^-$	41	1542	12.336
$(NCO)^-$	42	1558	12.464
$(U-H)^-$	112	2485	19.880

ⁱⁱ $(U-H)^-$ representa o anião progenitor de uracilo desidrogenado

- 2) Ajustar uma curva não linear de calibração com base nos valores observados e de referência. A massa do fragmento irá ser ajustada a:

$$m_{\text{fragmento}} = \frac{(\text{canal} - A)^2}{B} \quad (5.3)$$

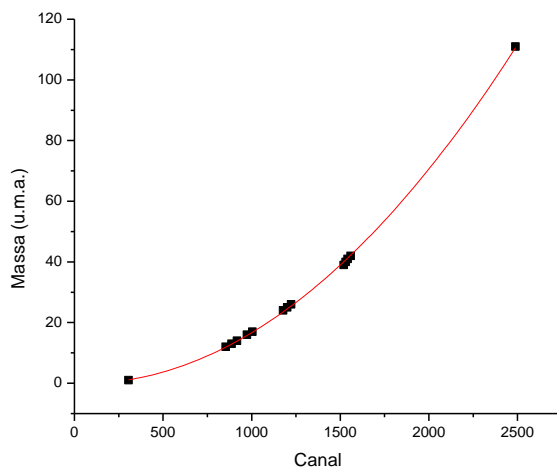


Figura 5.2 – Curva de calibração dos espectros de massa.

- 3) Aplicar os parâmetros da curva não linear de calibração aos valores observados: espectro calibrado;
- 4) A partir do espectro calibrado estamos em condições de identificar e registar em massa a posição de cada fragmento aniônico da molécula.

5.3 Porque é que existe um aumento da intensidade do fragmento NCO⁻?

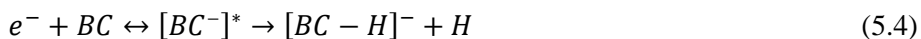
Como já foi referido no sub-capítulo 3.2, os estudos de CED das bases pirimídicas na fase gasosa, têm como fragmento dominante o anião progenitor desidrogenado, (U-H)⁻, os restantes fragmentos apresentam valores de secção eficaz uma ordem de grandeza inferiores.^{11, 12, 38} No entanto, os estudos efectuados por TE revelam que há um aumento da intensidade de todos os outros fragmentos, relativamente ao anião progenitor desidrogenado. O fragmento de maior intensidade é o NCO⁻ seguido do anião progenitor desidrogenado. Nos próximos sub-capítulos

faremos uma análise desta constatação e trataremos de apresentar uma justificação para esta observação, tendo em consideração resultados publicados por outros grupos de trabalho, nomeadamente em processos de CED.^{39, 40}

5.3.1 Etapas da quebra do anel

Denifl *et al.*³⁹ estudaram os produtos formados por CED nas bases de ADN, tanto em fase gasosa a 400K como em matriz de hélio, a temperaturas muito próximas do zero absoluto (0.37K). Estudos de CED em timina embebida em agregados de hélio demonstram que a dissipação de energia após a captura electrónica, conduzia a uma preferência de perda de apenas um átomo de hidrogénio, levando à formação exclusiva de aniões $[BC - H]^-$ (ex. BC = T, U, ...), ficando todos os outros canais de fragmentação bloqueados devido ao rápido arrefecimento evaporativo.

Seja BC uma molécula de ADN. Inicialmente a ligação de um electrão livre a uma base forma um ião transiente negativo instável $[BC^-]^\#$, com a mesma geometria que o seu precursor no estado neutro (transição vertical). Enquanto a energia potencial de $[BC^-]^\#$ for maior que a de $BC + e^-$, o electrão pode ser libertado, retendo a sua energia cinética inicial (dispersão elástica) ou com energia cinética reduzida (dispersão inelástica). Além disso, o processo de auto-libertação electrónica compete com o processo de CED até a separação internuclear entre os fragmentos aniónicos e neutros excederem a intersecção das curvas de energia potencial do sistema aniónico e neutro correspondente. O tempo que demora a chegar a este ponto de não retorno em direcção à CED depende fortemente da massa do fragmento mais leve. Um desses fragmentos é o hidrogénio. Esta pode ser uma das razões para a alta probabilidade de no processo de CED as moléculas BC formarem o anião $[BC - H]^-$.^{39, 41}



Os outros fragmentos são presumivelmente formados pela posterior dissociação de $[BC - H]^-$, de acordo com a reacção:



A energia necessária para que se dê a reacção (5.4), $\Delta E = D((BC - H) - H) - AE(BC - H)$ é baixa, uma vez que as energias de ligação, $D((BC-H)-H)$, para a remoção de átomos de hidrogénio não são geralmente muito maiores que a $AE(BC-H)$ dos radicais formados.³⁹ Isto significa que a energia em excesso pode ser depositada nos produtos da reacção (5.4) a energias relativamente baixas e, portanto, a reacção (5.6) é promovida. Assim, pode-se explicar, por exemplo, o rendimento relativamente elevado de NCO^- , que é observado na fase gasosa por CED nas moléculas de timina relativamente a baixas energias.^{11,38}

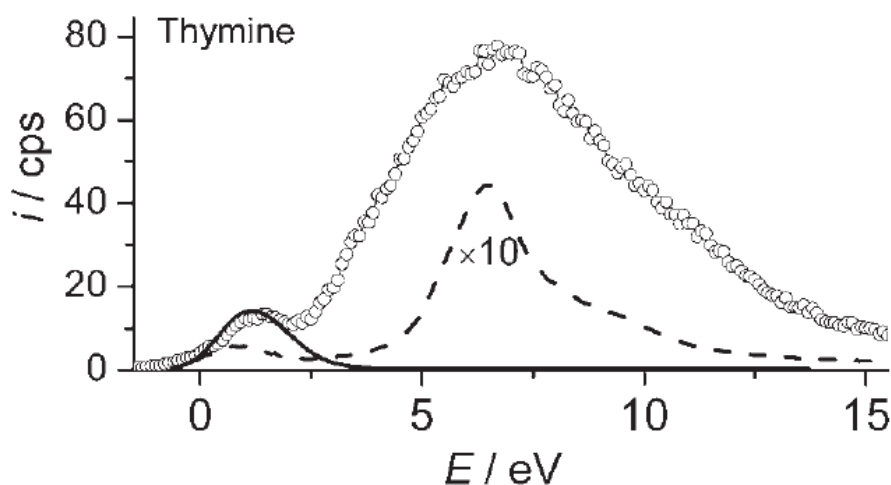


Figura 5.3 – (o) representa a intensidade de $[T - H]^-$ em função da energia dos electrões para Timina embebida em agregados de He a 0.37K. (—) representa a intensidade de $[T - H]^-$ em fase gasosa. (- - -) representa a soma das intensidades de todos os outros fragmentos observados. Dados obtidos por CED. Adaptado da ref.³⁹

Assim podemos assumir que a formação de NCO^- se dá apenas após a dissociação do primeiro átomo de hidrogénio. A formação do anião de NCO requer a quebra de duas ligações de átomos no anel e de uma ligação N-H, o que corresponde a ligações σ^* . Mas não seria de esperar que as ligações envolvidas de menor energia, e conseqüentemente onde ocorreriam as quebras de ligação, seriam as π^* ?

Gianturco *et al.*⁴⁰ efectuaram cálculos teóricos na tentativa de descrever a gama distinta de energias em que ocorrem ressonâncias, que conduzem posteriormente às diferentes quebras das ligações moleculares. As simulações foram feitas para o processo de CED do uracilo na fase gasosa. Forçando adiabaticamente a ligação seleccionada a ser maior, obtiveram a energia potencial das orbitais desejadas. O estudo centrou-se nas ligações C2–N1 e C4–N3 (ver figura 3.1). Os autores concluíram que:

1. o acesso a determinadas ressonâncias σ^* (~ 8 eV) do uracilo, poderá permitir uma redistribuição intermolecular de cerca de 4 eV, o que conduzirá à formação directa de diferentes fragmentos aniónicos;
2. o facto de as curvas de energia potencial dos TNI associados às ressonâncias σ^* cruzarem as curvas de energia correspondentes às π^* , à medida que as distâncias intermoleculares no uracilo aumentam, espera-se que a deformação da ligação leve à quebra simétrica. As ressonâncias π^* que estavam inicialmente "activas" podem transferir a sua energia para ressonâncias σ^* mais baixas, que por sua vez, induzem mais eficazmente a quebras das ligações e desta forma potenciando a formação de determinados fragmentos.

Assim, o estudo aponta em direcção da hipótese de que as principais orbitais responsáveis pela quebra do anel sejam as orbitais σ^* e não as orbitais π^* .

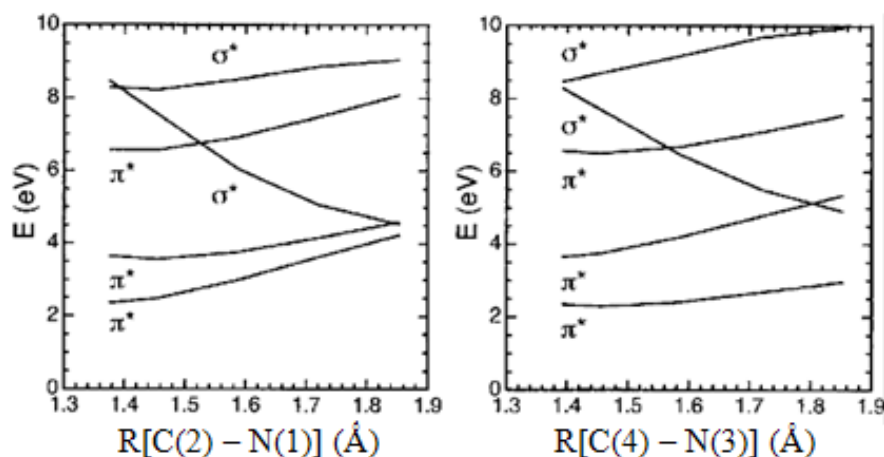


Figura 5.4 – Simulações feitas por Gianturco *et al.*⁴⁰ da energia de ressonância em função da deformação do anel de Uracilo, levando à sua quebra. A figura da esquerda diz respeito à ligação C(2)–N(1) e a da direita à C(4)–N(3).

5.4 Análise de resultados

Numa molécula poliatómica não linear há $3N-6$ modos de vibração, sendo N o número de átomos que a constitui. Na molécula de uracilo há 12 átomos, logo 30 modos de vibração são possíveis. No entanto no presente estudo apenas nos concentramos na ligação N1–H, visto

admitir-se que o fragmento (U-H)⁻ (que ocorre maioritariamente pela perda de um H na posição N1) seja o precursor de todos os outros fragmentos formados, nomeadamente de NCO⁻.

Por forma a poder avaliar o efeito da deposição de energia na molécula de uracilo após a transferência de electrão, efectuámos um estudo pormenorizado de formação de NCO⁻ em função da energia de colisão. Os resultados obtidos para este anião foram comparados com os do ião progenitor desidrogenado ((U-H)⁻), uma vez que a formação deste último é independente da gama de energias utilizadas nesta dissertação. Assim, qualquer que seja a energia de colisão, observamos sempre a formação de (U-H)⁻, a intensidades variáveis. Convém aqui referir novamente que o anião (U-H)⁻ é o precursor na formação de qualquer outro ião negativo, em especial de NCO⁻. Esta dependência é extremamente relevante no que diz respeito à forma como a energia disponível na colisão pode ser canalizada para os diversos graus de liberdade do TNI. Voltaremos a esta discussão mais abaixo.

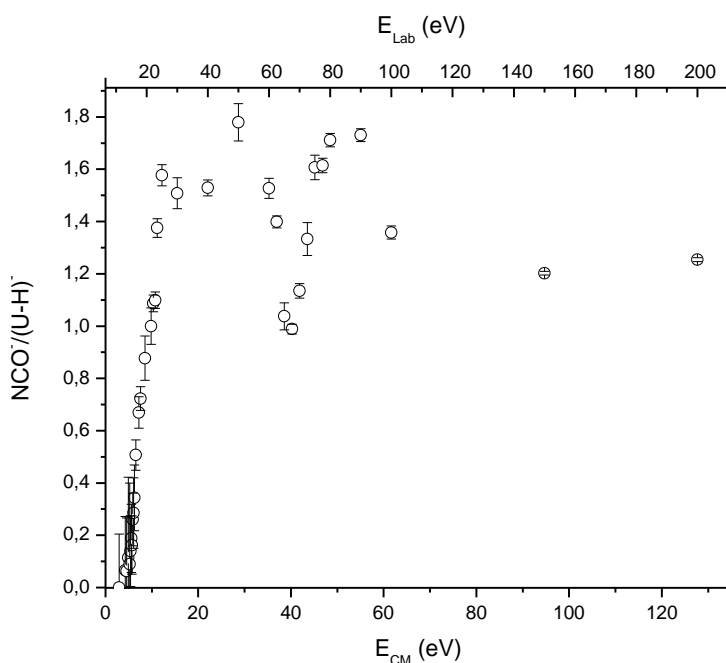


Figura 5.5 – Razão de formação de NCO⁻ relativamente a (U-H)⁻ obtido por TE em função da energia de colisão no referencial de centro de massa e da energia de laboratório

A representação gráfica da figura 5.6 corresponde à característica da figura 5.5 em escala logarítmica e em função da velocidade relativa. Todos os pontos foram obtidos a partir das áreas estimadas de cada pico dos espectros de massa de TOF, em função da energia de colisão no

referencial de centro de massa ou da velocidade relativa. As frações apresentadas referem-se assim à energia disponível pelo processo de colisão.

Tendo em conta o perfil da fração $\text{NCO}^-/(\text{U-H})^-$ (figura 5.5 e 5.6), observamos que existe um mínimo de intensidade que permite distinguir duas regiões de velocidades: baixas e altas velocidades.

Na região das baixas velocidades ($< 1.8 \times 10^4$ m/s) a colisão pode ser maioritariamente ditada pela dispersão iónica, onde se aplicarão algumas considerações do modelo da extensão da ligação, ("*bond stretching model*"), nomeadamente nas ligações do anel, o que vem reforçar as previsões teóricas de Gianturco *et al.*⁴⁰.

Na região das altas velocidades ($> 1.8 \times 10^4$ m/s), a colisão é maioritariamente ditada pela dispersão covalente, não se considerando o efeito da extensão da ligação. Nas figuras 5.5. e 5.6, optámos por representar as frações $\text{NCO}^-/(\text{U-H})^-$ normalizadas ao mínimo observado a 1.8×10^4 m/s.

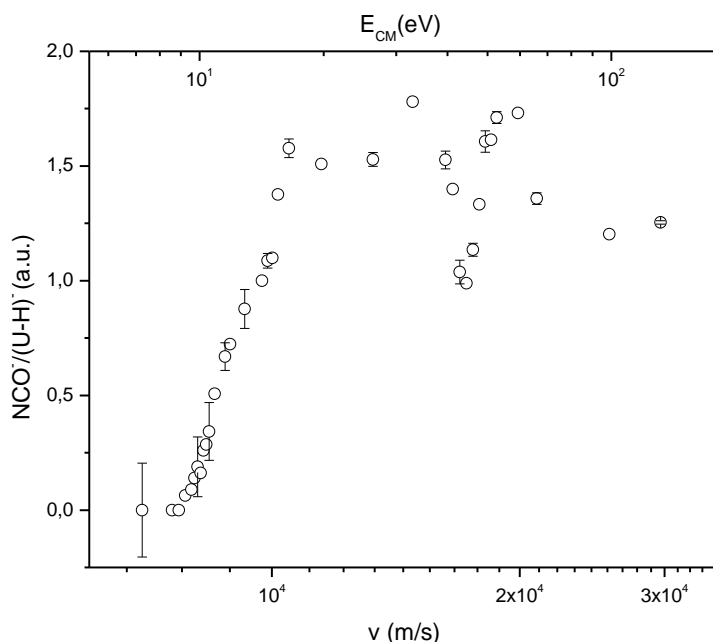


Figura 5.6 - Razão de formação de NCO^- relativamente a $(\text{U-H})^-$ obtido por TE em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial de centro de massa.ⁱⁱⁱ

ⁱⁱⁱPor uma questão de clareza da figura apenas se apresentam as barras de erro para algumas energias, evidenciando o seu comportamento. O erro associado vai diminuindo à medida que a energia aumenta.

5.4.1 Região das baixas velocidades

Esta região é onde o comportamento de formação de NCO⁻ parece estar fortemente influenciado pela dependência do movimento vibracional da molécula e do ião molecular.

Na gama das muito baixas energias ($\sim 7 \times 10^3$ m/s), a transferência de electrão é possível, estando inibida por motivos energéticos a formação de pares de iões. Ou seja, a energia disponibilizada no sistema não é suficiente para aceder aos estados que conduzem à dissociação.

A baixas energias, a dispersão iónica é dominante, ou seja a transferência de electrão dá-se ao primeiro raio de cruzamento, R_{c1} , o que implica que a maior parte das trajectórias continuarão com um comportamento ao longo da superfície iónica e, o sistema certamente manter-se-á no estado iónico depois do segundo cruzamento, R_{c2} . Temos assim, uma transição adiabática em R_{c1} , e uma transição diabática a R_{c2} . A probabilidade de transição pode ser determinada pela expressão de Landau-Zener⁴². A dependência de formação de NCO⁻ relativamente a (U-H)⁻, varia rapidamente com a energia de colisão. Assim que a energia do sistema fica disponível acima do limiar, ela é canalizada maioritariamente para a formação de NCO⁻. Tal não é de estranhar, pois NCO possui uma electroafinidade muito elevada (> 3.5 eV), o que implica que após a TE, o electrão adicional ficará tendencialmente neste pseudo-halogéneo.

É ainda importante referir que nesta região de velocidades e no que diz respeito ao limiar de formação de NCO⁻, esse valor coincide com as medidas experimentais de CED.

5.4.2 Região das altas velocidades

Com o aumento da energia de colisão, o efeito da extensão da ligação tende a diminuir e a dispersão covalente ditará o mecanismo da colisão em detrimento da dispersão iónica; consequentemente a taxa de formação de NCO⁻ tenderá a diminuir em função da energia de colisão.

Nesta região o movimento interno da molécula ou do ião molecular durante o processo de colisão e o movimento do átomo alcalino, são completamente independentes. Assim, o sistema átomo-molécula é tratado como se fosse um sistema átomo-átomo, onde a molécula é considerada como rígida durante o processo de colisão e portanto válido para energias de colisão elevadas. Admite-se a ausência de efeito da extensão da ligação (*bond-stretching*) e os únicos aspectos que devem ser considerados são, a orientação molecular, a sobreposição do integral de Franck-Condon para os dois estados da molécula e eventualmente os estados excitados.²⁶

Aqui a dispersão dominante é a covalente, ou seja a transferência de electrão dá-se maioritariamente em R_{c2} . Analisando a expressão da probabilidade de transição não-adiabática de Landau-Zenner, a probabilidade de haver troca de carga diminui com a velocidade, logo como a velocidade com que o átomo de potássio passa em R_{c1} é muito grande, a probabilidade de não se dar transferência de electrão no primeiro cruzamento é elevada. Temos assim, uma transição diabática em R_{c1} , podendo ser adiabática em R_{c2} .

5.4.3 Comparação entre os processos de CED e TE a baixas energias

No estudo efectuado por Gianturco *et al.*⁴⁰ foram calculadas as larguras das ressonâncias. Devido aos valores elevados dessas larguras⁴⁰, os canais de fragmentação que inicialmente provêm destas ressonâncias são altamente suprimidos no processo de captura de electrões, porque a auto-libertação compete fortemente com a dissociação. Ou seja, após a captura de electrão, para que haja dissociação, é necessário que o electrão permaneça numa determinada orbital tempo suficiente para que se dê a dissociação. No entanto, se é esperado que o electrão permaneça por um intervalo de tempo muito pequeno, então o mais provável é que este se auto-liberte, antes de a dissociação ter lugar, e a molécula voltará ao estado inicial neutro.

No processo de TE sabe-se que, no caso do nitrometano⁴³ a interacção coulombiana entre o potássio e a molécula, permite suprimir a auto-libertação electrónica do TNI. No caso da timina e do uracilo, é possível que um mecanismo semelhante aconteça, e é mais evidente nas orbitais que possuem tempos de vida menores, daí o aumento das intensidades relativas. Ou seja, enquanto o potássio estiver suficientemente perto do anião molecular, a interacção coulombiana não permite que o electrão saia, forçando-o a permanecer “ligado” à molécula. Assim, na técnica usada nesta dissertação, para baixas energias a auto-libertação é suprimida, estamos portanto a permitir que ocorra a dissociação. Para energias mais altas, como a velocidade do potássio é maior e assim o tempo de interacção átomo-molécula é menor, a auto-libertação vai ser um processo mais significativo e as intensidades dos fragmentos tendem a diminuir.

É proposto que o aumento da intensidade dos fragmentos, como o NCO^- , CN^- , $C_3H_2NO^-$, e outros, se deve ao facto da técnica aplicada ser capaz de suprimir a auto-libertação de electrões o tempo suficiente para que se dê a formação de fragmentos, ao contrário do que acontece com os processos de CED.

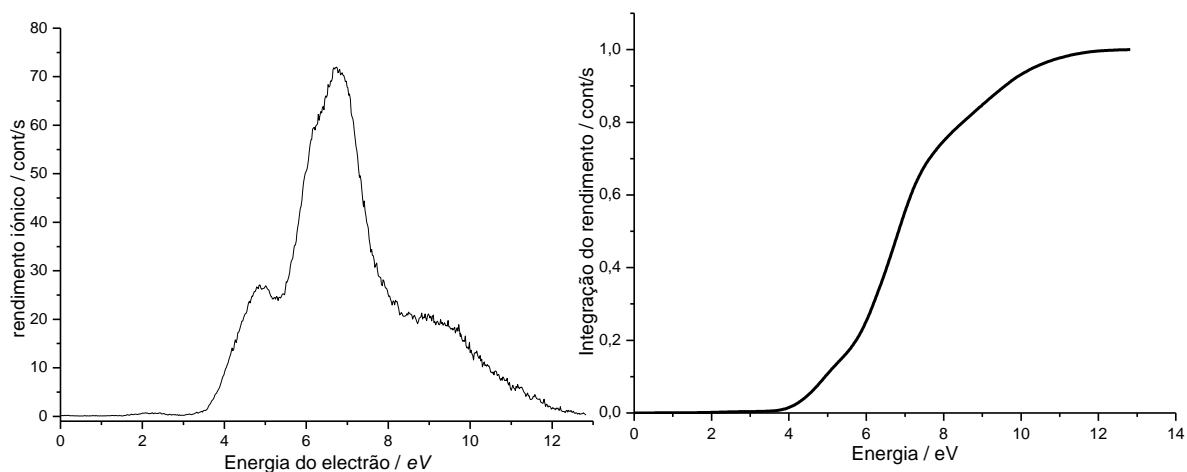


Figura 5.7 – À esquerda está representado o perfil de ressonância em função da energia para a formação de NCO⁻ obtido por Denifl *et al.*¹² através de CED. À direita encontra-se a integração do perfil de NCO⁻ normalizado.

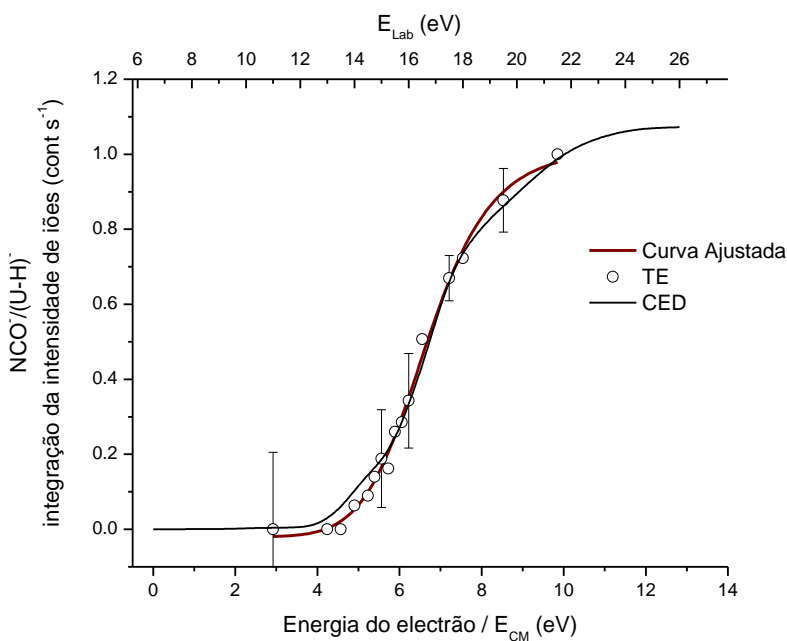


Figura 5.8 – Comparação entre os processos de CED e TE para baixas energias. A curva a preto representa o perfil do fragmento de NCO⁻ obtido através de captura electrónica dissociativa. Os círculos representam o perfil do fragmento de NCO⁻ obtido através de transferência de electrão. A curva castanha representa uma curva de ajuste aos pontos obtidos por TE.

Foi efectuado um estudo pormenorizado da formação de NCO⁻ a baixas energias, de modo a ser possível obter o perfil em função da energia disponível. Adicionalmente integrou-se o perfil de ressonância de NCO⁻ (figura 5.7) obtido por CED do uracilo na fase gasosa¹². Estamos assim, em condições de comparar os resultados de TE obtidos por colisões átomo-molécula e os de CED na zona das baixas energias. Da observação da figura 5.8, verificamos que a curva ajustada aos valores obtidos não se distancia muito dos resultados obtidos por CED. A característica parece ser a mesma.^{iv} Nesta comparação mostramos que a energia disponível por colisões átomo-molécula é canalizada para o acesso às ressonâncias de formação de NCO⁻ e que na gama de energias estudada, 3 a 10 eV, a energia disponível permite formar sempre (U-H)⁻. A formação de ião progenitor desidrogenado por CED está restrita apenas à gama de energias de 0 – 3 eV.

5.4.4 Fracções aniónicas

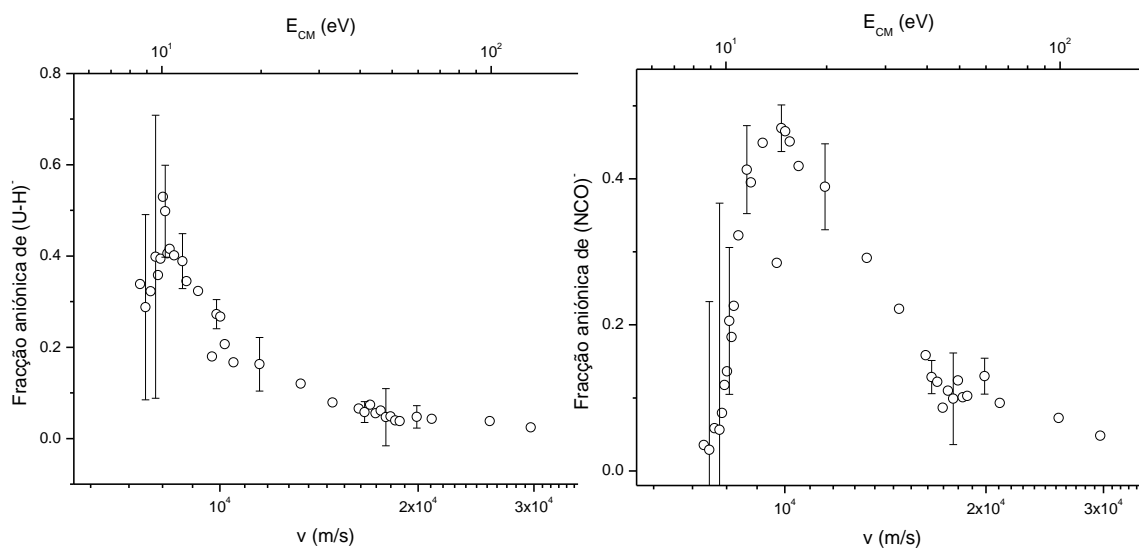


Figura 5.9 – Fracção do fragmento C₄H₃N₂O₂⁻, (U-H)⁻ (figura da esquerda) e fracção do fragmento NCO⁻ (figura da direita) da percentagem de fragmentação em colisões de K+C₄H₄N₂O₂ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa

A variação da fracção com a velocidade relativa e com a energia de colisão no referencial de centro de massa, para colisões de átomos de potássio com uracilo, pode em primeira

^{iv}De notar que os valores totais das secções eficazes não são iguais para os dois processos.

aproximação ser descrita pelo modelo da molécula rígida durante a colisão. O comportamento das curvas das figuras 5.9 e 5.10 permite afirmar que a fracção aniónica de $(U-H)^-$ e NCO^- , para velocidades próximas de 10^4 m/s decresce com o aumento da energia de colisão, apresentando um comportamento tendencial para um patamar acima de 2×10^4 m/s em especial no caso do ião progenitor desidrogenado.

No que diz respeito à fracção para NCO^- , verificamos também, que há um ligeiro acréscimo a $\sim 1.8 \times 10^4$ m/s e que não parece dever-se a uma diminuição de $(U-H)^-$. Na representação gráfica da figura 5.10 essa variação é mais significativa.

Este acréscimo provavelmente deve-se à abertura de um novo canal no processo que conduz à dissociação do TNI, favorecendo assim a formação deste anião. A energia disponível na colisão é canalizada para as ressonâncias ($E_{CM} \leq 10$ eV). Acima de 10 eV e até ~ 15 eV, há um acréscimo de $\sim 60\%$, o que se explica pela perda de 40% em $(U-H)^-$ e um ganho de 20% em NCO^- . Nesta altura é legítimo questionar se: haverá a abertura de um novo canal dissociativo? Haverá excitação electrónica? Qual o papel das ressonâncias *core-excited*? Há transferência significativa de momento do potássio para a molécula? Medidas experimentais adicionais de perda de energia de K^+ ajudariam a clarificar a natureza desta variação na fracção aniónica.

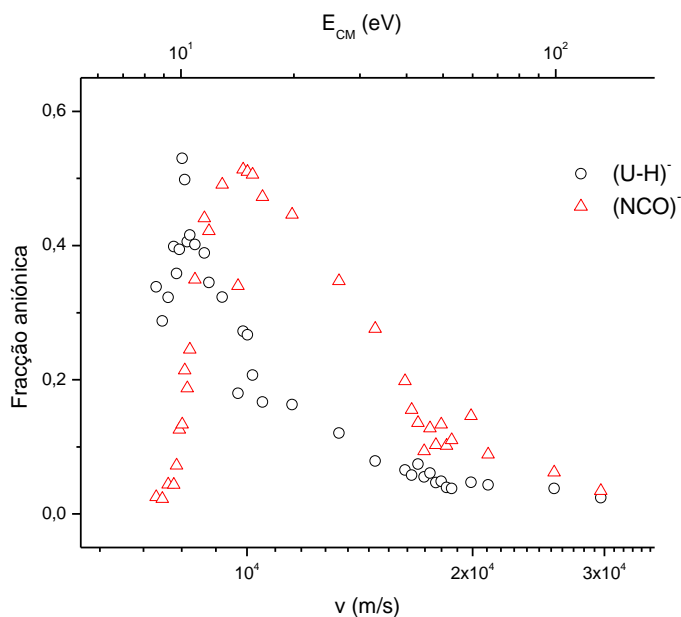


Figura 5.10 – Comparação entre a fracção do fragmento NCO^- e a fracção do fragmento $(U-H)^-$ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa.

5.4.5 Secção eficaz total relativa

A secção eficaz total relativa para a formação de iões negativos da colisão de átomos de potássio com moléculas de uracilo, encontra-se representada na figura 5.11. Foi obtida numa escala relativa, e não se encontra corrigida relativamente à densidade do feixe molecular alvo, pois esta não é conhecida no volume de colisão. Numa análise mais detalhada da figura 5.11 podemos ainda tecer algumas considerações relativamente aos efeitos do modo de extensão da ligação durante o processo de colisão.

Na região das baixas velocidades ($< 1.8 \times 10^4$ m/s) vemos claramente um máximo que resulta do efeito da extensão da ligação e que se deve maioritariamente a N1/N3-H. Não obstante a gama de medidas experimentais não ter sido estendida acima de 200 eV de energia de colisão no referencial de laboratório, não é possível determinar se haverá ou não um segundo máximo da secção eficaz de Landau-Zener para a região das velocidades mais elevadas. Para velocidades baixas a secção eficaz de colisão é devida fundamentalmente ao efeito de extensão da ligação. Para as velocidades elevadas ($> 1.8 \times 10^4$ m/s) a secção eficaz total não é dependente do efeito da extensão, mas é ditada pela contribuição idêntica da secção eficaz iónica e covalente.

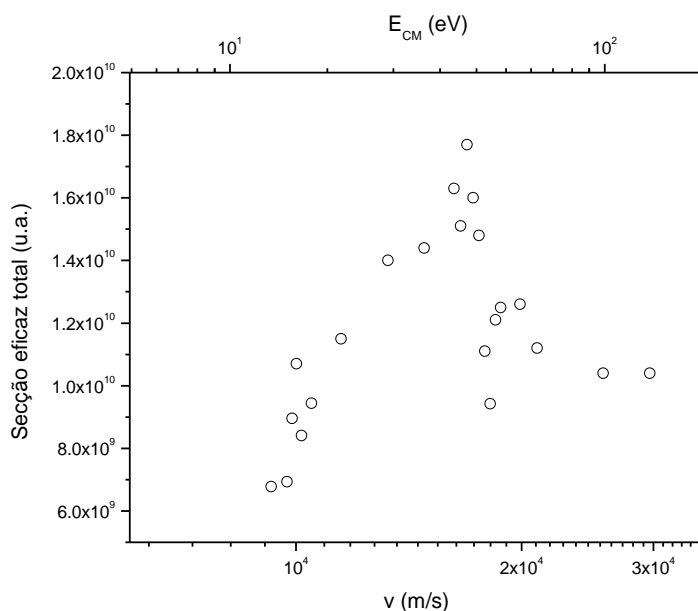


Figura 5.11 - Secção eficaz total de colisões de $K+C_4H_4N_2O_2$ em função da velocidade relativa e da energia de colisão no referencial centro de massa.

5.4.6 Tempos de colisão

A estimativa do tempo de colisão é extremamente importante quando se consideram os efeitos da excitação dos modos de vibração durante a colisão. Na dinâmica da colisão, podemos considerar a existência de três regiões de tempos distintas²⁶:

1. Região de velocidades muito baixas (região de limiares): o tempo de colisão é maior do que os tempos de vibração;
2. Região de baixas velocidades: o tempo de colisão é aproximadamente igual ao tempo de vibração. Dá-se a extensão da ligação internuclear do anião de uracilo. O raio de cruzamento na trajectória iónica sofre um acréscimo durante a colisão, o que favorece fortemente a probabilidade de transição diabática, o que se traduz na secção eficaz de formação de pares de iões.
3. Região de altas velocidades: o tempo de colisão é muito menor do que o tempo de vibração. O movimento vibracional pode ser considerado como inexistente durante a 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:

$$v_r = \sqrt{\frac{E_{CM}}{\mu}} \quad (5.7)$$

Através das expressões (2.19), (5.7) e (5.8), foram obtidos os tempos de colisão estimados para a molécula de uracilo. Na figura 5.12 está representada a variação do tempo de colisão em função da energia de centro de massa não considerando o efeito da extensão da ligação. Verificamos que 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 $R_{c1}=R_{c2}=R_c$.

$$t_{colisão} = \frac{\sqrt{2}R_c}{v_r} \quad (5.8)$$

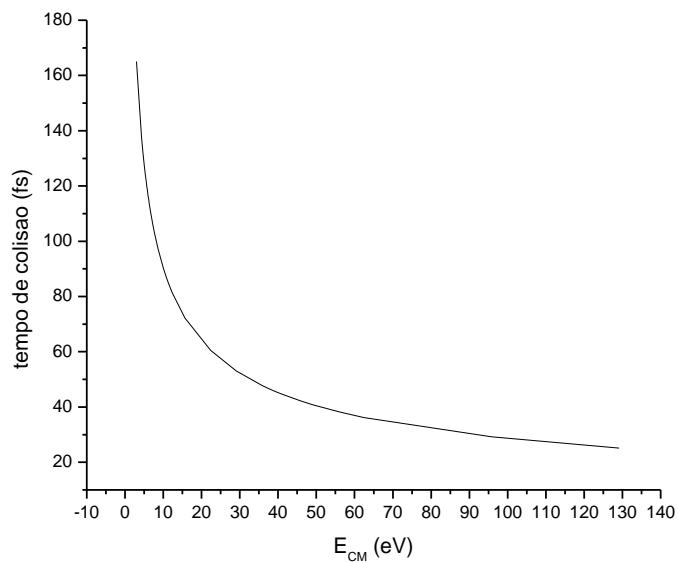


Figura 5.12 – Tempo de colisão em função da energia de colisão no referencial de centro de massa em colisões de $K+C_4H_4N_2O_2$

Capítulo 6 . Conclusão

O processo de transferência de electrões pode ser usado no estudo da formação de iões negativos em moléculas complexas como as bases de ADN/ARN. Em vez do impacto com electrões livres, este processo pode ser considerado mais adequado às características do meio fisiológico, onde a presença de um dador de electrões vai certamente ditar os canais de fragmentação. Como mostram estudos recentes²⁹ destes nucleótidos, os fragmentos obtidos a partir da quebra do anel sofrem um acréscimo, particularmente a formação de NCO⁻ com um pico significativamente maior do que o do anião progenitor desidrogenado, contrastando com o processo de CED. Tal facto deve-se ao electrão de valência do átomo de potássio ser “capturado” pela molécula de uracilo em estados aniónicos que possivelmente não são acessíveis por captura electrónica dissociativa. Acresce ainda que a presença do átomo de potássio durante a colisão permite a estabilização do TNI, isto é, a redistribuição da energia por todos os seus graus de liberdade. O fragmento NCO⁻ pode ser visto como um pseudo-halogénio, devido à sua elevada electroafinidade (~ 3.6 eV)⁴⁴, logo não é surpreendente que seja o fragmento formado com maior intensidade. Propomos que o aumento da intensidade dos fragmentos, como o NCO⁻, CN⁻, C₃H₂NO⁻, e fragmentos mais leves de menor intensidade, se deve ao facto da técnica aplicada ser capaz de suprimir a auto-libertação de electrões o tempo suficiente para que se dê a formação de fragmentos, ao contrário do que acontece com a CED. Assim, a fragmentação do anel é potenciada, o que pode ter consequências significativas quanto à integridade dos blocos de moléculas constituintes do ADN.

Referências bibliográficas

1. B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. A. Huels and L. Sanche, *Science* **287** (5458), 1658-1660 (2000).
2. A. L. Lehinger, *Biochemistry*. (Worth, New York, 1970).
3. B. D. Michael and P. A. O'Neil, *Science* **287**, 1603 (2000).
4. J. K. Wolken, E. A. Syrstad, S. Vivekananda and F. Tureček, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (24), 5804-5805 (2001).
5. S. Ptasińska, S. Denifl, V. Grill, T. D. Mark, E. Illenberger and P. Scheier, *Phys. Rev. Lett.* **95** (9) (2005).
6. L. Sanche, *Eur. Phys. J. D* **35** (2), 367-390 (2005).
7. C. von Sonntag, *The Chemical Basis for Radiation Biology*, Taylor and Francis, London (1987).
8. G. Martins, *Transferência de electrão em bases de ADN por colisões átomo-molécula*. (FCT-UNL, Lisboa, 2010).
9. A. W. Kleyne and A. M. C. Moutinho, *J Phys B-at Mol Opt* **34** (14), R1-R44 (2001).
10. P. Limão-Vieira, A. M. C. Moutinho and J. Los, *J. Chem. Phys.* **124** (5) (2006).
11. S. Denifl, S. Ptasińska, M. Probst, J. Hrusak, P. Scheier and T. D. Märk, in *J. Phys. Chem. A* (2004), Vol. 108, pp. 6562-6569.
12. S. Denifl, S. Ptasińska, G. Hanel, B. Gstir, M. Probst, P. Scheier and T. D. Märk, *J. Chem. Phys.* **120** (14), 6557-6565 (2004).
13. G. Hanel, B. Gstir, S. Denifl, P. Scheier, M. Probst, B. Farizon, M. Farizon, E. Illenberger, and T. D. Märk, *Phys. Rev. Lett.* **90** (18), 188104 (2003).
14. S. Ptasińska, S. Denifl, V. Grill, T. D. Märk, P. Scheier, S. Gohlke, M. A. Huels and E. Illenberger, *Angewandte Chemie International Edition* **44** (11), 1647-1650 (2005).
15. Y. Zheng, P. Cloutier, D. J. Hunting, J. R. Wagner and L. Sanche, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (4), 1002-1003 (2004).
16. Y. Zheng, P. Cloutier, D. J. Hunting, J. R. Wagner and L. Sanche, *The Journal of Chemical Physics* **124** (6), 064710 (2006).
17. Y. Zheng, P. Cloutier, D. J. Hunting, L. Sanche and J. R. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (47), 16592-16598 (2005).

18. J. Simons, *Accounts of Chemical Research* **39** (10), 772-779 (2006).
19. F. Martin, P. D. Burrow, Z. L. Cai, P. Cloutier, D. Hunting and L. Sanche, *Phys. Rev. Lett.* **93** (6), 068101 (2004).
20. E. Illenberger and J. Momigny, *Gaseous Molecular Ions: An Introduction to Elementary Processes Induced by Ionization*. (Springer, New York, 1992).
21. M. A. Huels, B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting and L. Sanche, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (15), 4467-4477 (2003).
22. R. L. Kelly, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **16**, 1-& (1987).
23. A. W. Kleyn, J. Los and E. A. Gislason, *Phys. Rep.-Rev. Sec. Phys. Lett.* **90** (1), 1-& (1982).
24. L. G. Christophorou, *Electron-Molecule Interactions and Their Applications*. (Academic Press, 1984).
25. J. A. Aten and J. Los, *Chem. Phys.* **25**, 47 (1977).
26. P. Limao-Vieira, *Fragmentação de iões negativos de halobenzenos induzida por colisão*. (Lisboa, 1999).
27. http://www.ias.ac.in/initiat/sci_ed/resources/chemistry/3_Com.pdf, (Junho 2011).
28. <http://www.dnasequencing.com/>, (Maio 2011).
29. D. Almeida, R. Antunes, G. Martins, S. Eden, F. Ferreira da Silva, Y. Nunes, G. Garcia and P. Limão-Vieira, *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2011) DOI: 04-2011-021340.
30. S. Denifl, S. Ptasíńska, M. Probst, J. Hrusak, P. Scheier and T. D. Mark, *J. Phys. Chem. A* **108** (31), 6562-6569 (2004).
31. R. F. M. Lobo, A. M. C. Moutinho and J. Los, *Chem. Phys.* **179** (2), 179-182 (1994).
32. C. R. Wang, J. Nguyen and Q. B. Lu, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (32), 11320-+ (2009).
33. A. M. C. Moutinho, M. E. F. Silva and M. A. Cunha, *Tecnologia de Vácuo*. (UNL, 1980).
34. W. R. Smythe and J. Mattauch, *J Phys Rev* **40**, 429 (1932).
35. W. C. Wiley and I. H. McLaren, *Rev Sci Instr* **26**, 1150 (1955).
36. M. A. Huels, I. Hahndorf, E. Illenberger and L. Sanche, *J. Chem. Phys.* **108** (4), 1309-1312 (1998).
37. J. Aten and J. Los, *J. Phys. E. Sci. Instr.* **8**, 408 (1973).

38. S. Ptasińska, S. Denifl, P. Scheier, E. Illenberger and T. D. Märk, *Angew. Chem.-Int. Edit.* **44** (42), 6941-6943 (2005).
39. S. Denifl, F. Zappa, A. Mauracher, F. Ferreira da Silva, A. Bacher, O. Echt, T. D. Märk, D. K. Bohme and P. Scheier, *ChemPhysChem* **9** (10), 1387-1389 (2008).
40. F. A. Gianturco, F. Sebastianelli, R. R. Lucchese, I. Baccarelli and N. Sanna, *J. Chem. Phys.* **128** (17) (2008).
41. S. Denifl, S. Ptasińska, M. Cingel, S. Matejcik, P. Scheier and T. D. Mark, *Chem. Phys. Lett.* **377** (1-2), 74-80 (2003).
42. L. D. Landau, *Phys. Zeitschr. Sowjetunion* **2**, 46 (1932).
43. R. Antunes, D. Almeida, G. Martins, N. J. Mason, G. Garcia, M. J. P. Maneira, Y. Nunes and P. Limão-Vieira, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **12** (39), 12513-12519 (2010).
44. S. E. Bradforth, E. H. Kim, D. W. Arnold and D. M. Neumark, *J. Chem. Phys.* **98** (2), 800-810 (1993).

Anexos

A. Exemplo de espectro calibrado

De um conjunto de 36 espectros obtidos para uma gama de energias entre 11 e 200 eV, é apresentado (a título de exemplo) o espectro de 25 eV calibrado. É possível observar-se que já para energias de 25 eV a formação de NCO^- é predominante relativamente ao ião progenitor desidrogenado, $(\text{U-H})^-$.

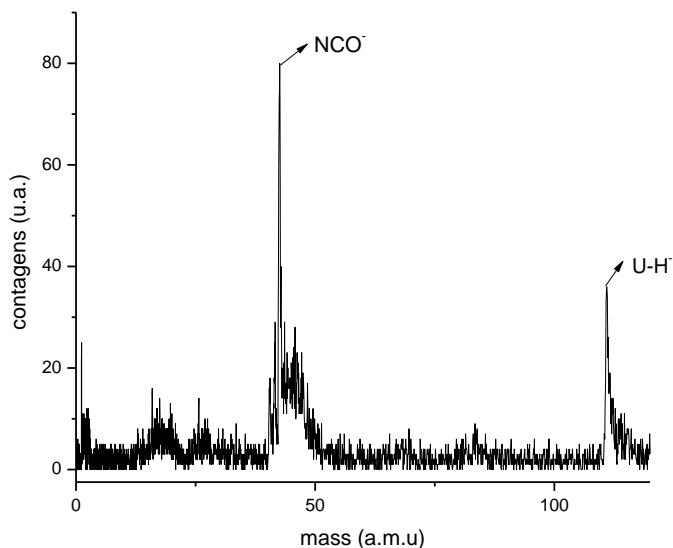
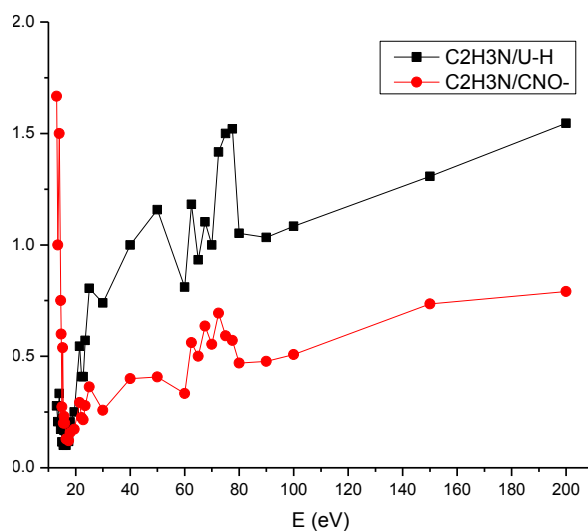
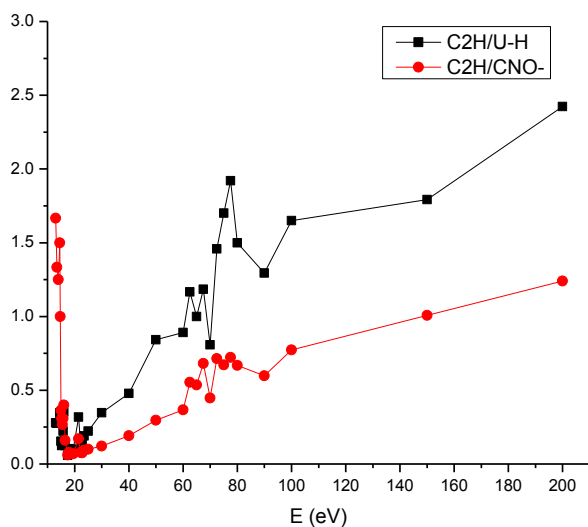
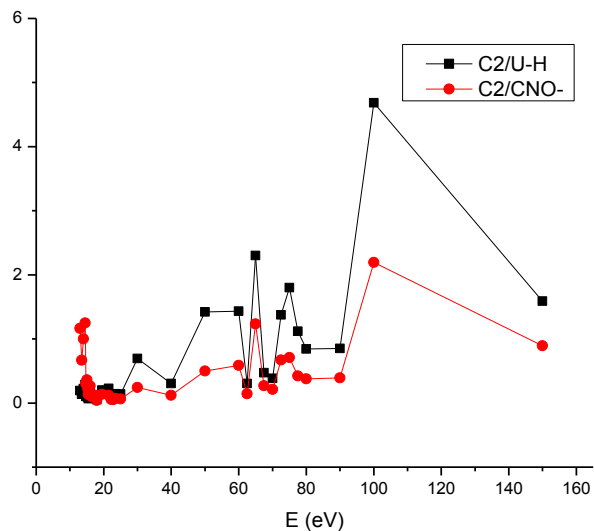
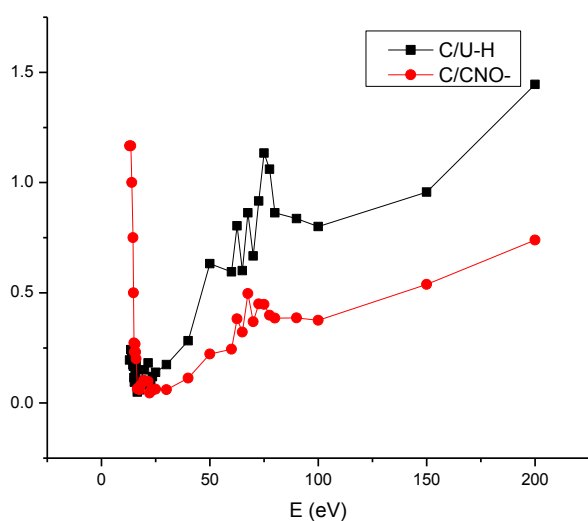
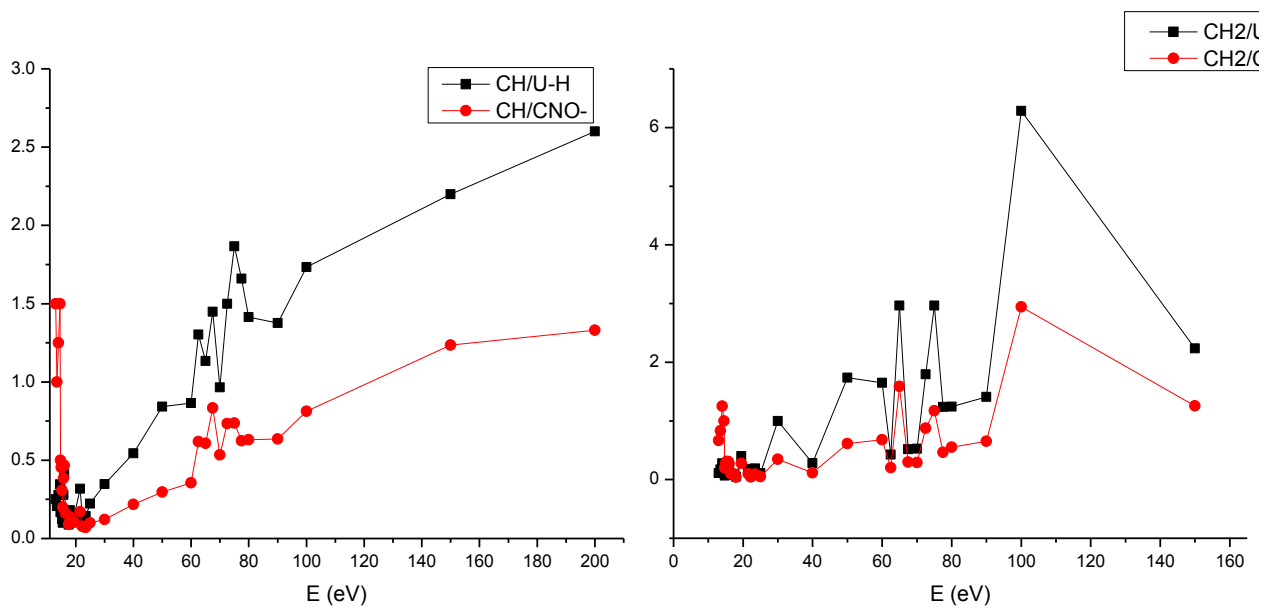
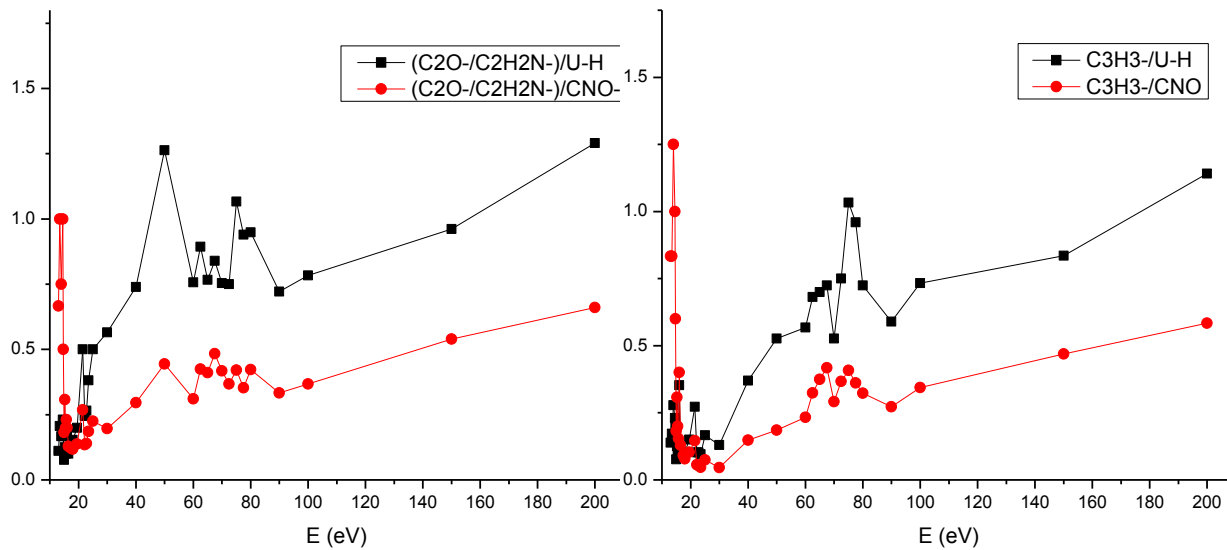


Figura 6.1 – Espectro para uma energia de colisão de 25 eV no referencial de laboratório.

B. Relação entre os principais fragmentos obtidos e NCO⁻/(U-H)⁻

Numa tentativa de explicar a descida da formação de NCO⁻ a 67.5 eV de energia de colisão, foram efectuados os gráficos que se seguem. Concluiu-se que a descida da formação de NCO⁻ não se deve ao facto de a formação de outros fragmentos ter aumentado, pois mesmo que esse aumento tenha ocorrido, não é significativo.





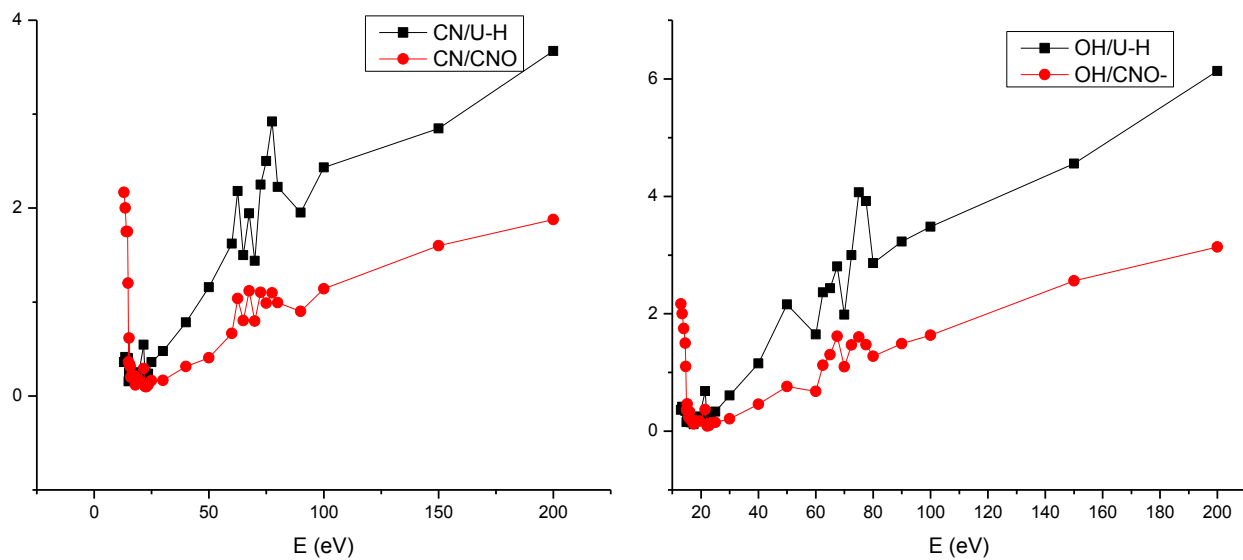


Figura 6.2 – Relações entre os principais fragmentos obtidos e a formação de $\text{NCO}^-/(\text{U-H})^-$.

C. Tabela da estimativa dos tempos de colisão

Tabela 6.1– Tempos de colisão

E (eV)	E_{cm} (eV)	v_r (m/s)	v (m/s)	Tempo de colisão (fs)
11.00	3.00	3165	6958	165
13.00	4.34	3804	7565	137
13.50	4.67	3948	7709	132
14.00	5.00	4087	7850	128
14.50	5.34	4221	7989	124
14.75	5.51	4286	8058	122
15.00	5.67	4350	8126	120
15.25	5.84	4414	8193	118
15.50	6.01	4477	8260	117
15.75	6.17	4538	8326	115
16.00	6.34	4599	8392	114
16.50	6.67	4719	8522	111
17.50	7.34	4949	8777	106
18.00	7.67	5060	8901	103
19.50	8.68	5380	9265	97
21.50	10.01	5779	9728	90
22.20	10.48	5913	9885	88
22.80	10.88	6025	10018	87
23.50	11.35	6153	10171	85
25.00	12.35	6418	10490	82
30.00	15.69	7234	11492	72
40.00	22.36	8637	13269	60
50.00	29.04	9842	14838	53
60.00	35.71	10915	16252	48
62.50	37.38	11167	16587	47
65.00	39.05	11414	16915	46
67.50	40.72	11655	17237	45
70.00	42.39	11892	17554	44
72.50	44.06	12124	17865	43
75.00	45.73	12351	18170	42
77.50	47.39	12574	18470	41
80.00	49.06	12794	18766	41
90.00	55.74	13637	19904	38
100.00	62.41	14430	20981	36
150.00	95.79	17877	25696	29
200.00	129.17	20759	29671	25

