

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE FÍSICA-IF  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ESTUDO DA CISTEÍNA COM ESPECTROSCOPIA DE MASSA POR  
TEMPO DE VOO.

OSCAR CARDOSO ARAÚJO

Brasília, 19 de Março 2015

**“Estudo da Cisteína com espectroscopia de massa por tempo de voo.”**

**Por**

**Oscar Cardoso Araújo**

Dissertação submetida ao Instituto de Física da Universidade de Brasília como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Física.

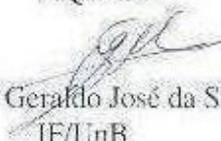
Aprovada por:



Prof. Alexandra Mocellin  
IF/UnB



Prof. João Batista Lopes Martins  
IQ/UnB



Prof. Geraldo José da Silva  
IF/UnB



Prof.<sup>a</sup> Maria Suely Pedrosa Mundim  
IF/UnB (Co-orientadora)

Prof. Dr. Fernando de Oliveira Albuquerque  
Coordenador de Pós-Graduação  
Instituto de Física

*Primeiramente a Deus, por tudo que ele tem feito na minha vida.  
A minha esposa Ivanilda, pela verdadeira amizade amor e  
compreensão.*

*A minha mãe, Ivone Gomes e a minha vó, Joana Gomes de Carvalho,  
por terem me ensinado o caminho e me acompanhado nesta longa  
caminhada .*

*E aos meus familiares que, sempre torce por mim, em especial: meus  
irmãos e minhas irmãs, Aciomar, Raimundinho, Nenê, Ivoneide, Ivonete e  
Cássia.*

*A meus filhos, Stanley, Edelaine e Elaine que eu amo tanto.*

*A minha tia, Erivam, Adelaide e a meu tio, Edvar.*

*Aos meus primos e primas, Dionísio, Francisco Antônio, Eveline,  
Liduina e os demais que eu não citei.*

*À minha orientadora Alexandra Mocellin, por todo apoio e amizade  
durante a orientação do trabalho.*

*À professora Maria Suely Pedrosa Mundim, por ter contribuído muito  
para a minha aprendizagem durante o período de mestrado.*

*Aos professores do IF-UnB que colaboraram com minha formação  
profissional, em particular: Alexandra, Suely, Pinzul, Ricardo Gargano,  
Magela, Anibal e Arsen.*

*Aos meus amigos: Edmar, Genilson, Felipe, Alexandre, Edilson,  
Renato, Felipe gordinho, e os demais pela verdadeira amizade.*

*Ao professor e amigo, Aleksandr Nikolaievich Pinzul, por contribuir  
com a minha formação.*

*Ao professor Arnaldo Naves de Brito da Unicamp, por contribuir com a  
minha formação.*

*Aos funcionários do IF, pela ajuda e colaboração por todo apoio em  
prol desse trabalho no decorrer do curso.*

*Aos colaboradores e funcionários do LNLS, pelo auxílio prestado  
durante as medidas com luz síncrotron.*

*A todos, os meus amigos os meus sinceros agradecimentos.*

## RESUMO

A cisteína ( $C_3H_7NO_2S$ ) é um dos aminoácidos que compõem as proteínas dos seres vivos e junto com a metionina são os únicos que tem enxofre em sua composição. Devido a grande importância dos aminoácidos, as suas propriedades físico-químicas se tornaram objetos de estudos, e são de interesse da bioquímica, da astroquímica, da astrofísica, biotecnologia, entre outras áreas. Neste trabalho fizemos o estudo da fragmentação da cisteína na região de valência. Utilizamos a técnica de Espectroscopia de Massa por Tempo-de-Voo (TOF) com Coincidência entre Fotoelétron-Fotoíon (PEPICO). As medidas foram realizadas na faixa de energia entre 11,2 eV a 21eV, na linha de luz TGM (*Monocromador de Grades Toroidais*), do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Campinas-Brasil, a qual possui um filtro de gás que absorve os harmônicos de ordem superior dos fótons. Na análise dos dados determinamos quantitativamente os fragmentos formados, identificamos e caracterizamos a dinâmica do processo de fragmentação em cada energia do fóton utilizada. Observamos que para energias menores que 15 eV são formados principalmente os íons: íon pai, HS-CH<sub>2</sub>-CH(NH<sub>2</sub>)-COOH, menos o radical CH<sub>2</sub>SH neutro e carregado, e o COOH, resultando nos íons C<sub>2</sub>H<sub>7-x</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup> e C<sub>2</sub>H<sub>7-x</sub>NS<sup>+</sup> e o íon H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>. Para energias maiores observamos o surgimento de outras famílias de íons como: C<sub>2</sub>H<sub>x</sub>S<sup>+</sup>, CH<sub>x</sub>S<sup>+</sup>, CO<sup>+</sup>, H<sub>x</sub>O<sup>+</sup>. Determinamos a partir dos íons formados o padrão de fragmentação da cisteína. Os nossos resultados concordam com cálculos teóricos que preveem que os seguintes fragmentos são quebrados da molécula em ordem crescente de energia: [COOH]<sup>0</sup>, [CH<sub>2</sub>SH<sub>2</sub>]<sup>0</sup>, [H]<sup>0</sup>, [CH<sub>2</sub>SH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, [NH<sub>2</sub>]<sup>0</sup>, [COOH]<sup>+</sup>, [NH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, [H]<sup>+</sup>. A molécula se quebra preferencialmente fragmentando o radical com o enxofre neutro ou carregado. Outra parte do trabalho foi o desenvolvimento de instrumentação científica que consistiu na montagem de um espectrômetro TOF dedicado a experimentos em amostras líquidas. Como líquidos são incompatíveis com vácuo e com equipamentos eletrônicos, uma série de cuidados foram tomados na confecção desse espectrômetro. O TOF foi projetado como uma sub-câmara dentro da câmara principal para que o alto vácuo pudesse ser mantido nos detectores do espectrômetro. O trabalho consistiu na confecção de diversas peças em aço-inox e teflon e a montagem do espectrômetro.

*Palavras Chave: Cisteína; Espectroscopia de Massa por Tempo-de-Voo; fragmentação de aminoácidos, TOF para líquidos, instrumentação.*

## ABSTRACT

Cysteine ( $C_3H_7NO_2S$ ) is one of the amino acids that make up proteins of living beings and with methionine are the ones that have sulfur in their composition. Due to the great importance of the amino acids, their physicochemical properties have become subject of study, and are main the interest of biochemistry, physical chemistry, astrophysics, and biotechnology, among other areas. In this work we study the fragmentation of cysteine in the valence region. We use Time-of-Flight Mass Spectroscopy (TOF) with photoelectron-photoion coincidence technique (PEPICO). The measurements were performed in the range of energy between 11.2 eV to 21eV, in TGM beam line (Toroidal Grating Monochromator), in the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS), Campinas, Brazil, which has a gas filter that absorbs the harmonics of a higher order of photons. In analyzing these data, we can quantitatively determine the fragments formed, we identified and characterized the dynamics of the fragmentation in which photon energy. We note that for energies less than 15 eV are mainly formed ions: father ion,  $HS-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ , less  $CH_2SH$  neutral and charged radical, and the  $COOH$ , resulting in  $C_2H_{7-x}NO_2^+$  and  $C_2H_{7-x}NS^+$  ions and  $H_2S^+$  ion. For more energy, we observe yielding other families of ions such as:  $C_2H_xS^+$ ,  $CH_xS^+$ ,  $CO^+$   $H_xO^+$ . We determined from the ions formed the fragmentation pattern of cysteine. Our results agree with theoretical calculations predict that the following fragments are broken from the molecule in order of increasing energy:  $[COOH]^0$ ,  $[CH_2SH_2]^0$ ,  $[H]^0$ ,  $[CH_2SH_2]^+$ ,  $[NH_2]^0$ ,  $[COOH]^+$ ,  $[NH_2]^+$ ,  $[H]^+$ . The molecule breaks preferably fragmenting the radical with neutral or charged sulfur. Another part of the work was the development of scientific instrumentation that was the assembly of a TOF spectrometer dedicated to experiments in liquid samples. As liquids are incompatible with vacuum and electronic equipment, a lot of care has been taken in the preparation of this spectrometer. The TOF was designed as a sub-chamber within the main chamber to high vacuum could be maintained in the spectrometer detectors. The work consisted of making various parts in stainless steel and Teflon and the assembly of the spectrometer.

**Keywords:** *cysteine; Time of Flight Mass Spectroscopy; amino acid fragmentation; TOF for liquid jet, instrumentation.*

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>Lista de Figuras</b> .....  | vi |
| <b>Figura 2.1.</b> Principais processos de excitação (2.2) e relaxação eletrônica (2.3): Decaimento Auger ou Autoionização (2.4 e 2.5).....  | 4  |
| <b>Figura 2.2.</b> Diagrama para moléculas diatômicas homo-nucleares .....   | 11 |
| <b>Figura 2.3.</b> De acordo com o princípio de Franck-Condon, a transição vibracional mais intensa é a do estado vibracional fundamental para o estado vibracional que está verticalmente acima dele. Transições para outros níveis vibracionais podem ocorrer, mas com menor intensidade.....  | 13 |
| <b>Figura 2.4.</b> Na versão da mecânica quântica do princípio de Franck-Condon, a molécula sofre uma transição para um estado vibracional acima cuja função de onda vibracional mais se parece com a função de onda vibracional do estado fundamental do estado eletrônico inferior. As duas funções de ondas mostradas aqui são as que tem a maior integral de superposição de todos os estados vibracionais do estado eletrônico superior e portanto são as mais similares..... | 14 |
| <b>Figura 3.1.</b> A esquerda Figura esquemática da molécula de cisteína e a direita representação em forma de esferas, sendo que a esfera amarela representa o S, a azul o N, as vermelhas os O, as pretas os C e as brancas os H.....  | 20 |
| <b>Figura 3.2.</b> Esquema molécula de um aminoácido mostrando o C $\alpha$ no central, e os radicais carboxílico, amina é característico.....   | 21 |
| <b>Figura 3.3.</b> Esquerda: Geometria otimizada da cisteína para a conformação CF <sub>2</sub> de mais baixa energia, direita: orbital HOMO dessa estrutura.....  | 21 |
| <b>Figura 3.4.</b> Geometrias otimizadas e energias relativas ( $\Delta E$ ) para as conformações de mais baixa energia da cisteína quando se remove um elétron do radical. As distâncias estão em Angstroms e as energias em kcal/mol entre parênteses .....  | 22 |
| <b>Figura 4.1.</b> Esquema do espectrômetro de massa por tempo de voo montado para medidas de coincidência entre elétrons e íons.....  | 25 |
| <b>Figura 4.2.</b> A esquerda: Detalhe do forno utilizado nas medidas deste trabalho. A direita: A agulha acoplada ao forno.....   | 27 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 4.3.</b> Esquema do processo de emissão de radiação síncrotron por elétrons relativísticos na presença de um campo magnético.....  | 29 |
| <b>Figura 4.4 .</b> Foto do Hall Experimental.....   | 30 |
| <b>Figura 4.5.</b> Esquema de configuração da linha TGM. Adaptada da referência .....  | 31 |
| <b>Figura 4.6.</b> Câmara Experimental da linha de Luz TGM: Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS).....   | 33 |
| <b>Figura 4.7</b> Esquema da câmara experimental para líquido.....   | 36 |
| <b>Figura 4.8.</b> Temos uma foto do microjato líquido que já está em funcionamento com um espectrômetro de elétrons e está montado no LNLS, ver referência [3].....   | 37 |
| <b>Figura 5.1.</b> Espectro PEPICO da cisteína, $C_3H_7NO_2S$ , na região de valência com fótons de energia de $19\text{ eV}$ .....  | 39 |
| <b>Figura 5.2:</b> Espectros PEPICO da molécula cisteína para energias de 11 (superior amarelo) a 21 eV (inferior rosa) de 2 em 2 eV. Os picos mais intensos são identificados no espectro de 21 eV.....   | 40 |
| <b>Figura 5.3.</b> Produção total de íons (TIY) da cisteína de 11,20 a 21,80 eV de energia de fóton, obtido com um passo de 0,02 eV. Espectro calibrado em energia pela absorção do gás Ne em 21,54 eV e normalizado pela corrente de fótons e pressão de gás.....   | 42 |
| <b>Figura 5.4.</b> Espectro de absorção da cisteína mostrando com pontos amarelos a medida experimental de MDS (espectroscopia de desexcitação metaestável), em preto o cálculo da densidade total de estados e as outras curvas são as densidades parciais de estados para cada grupo de orbital em função da energia de ligação no eixo de baixo (energia cinética no eixo de cima) [12].....  | 44 |
| <b>Figura 5.5.</b> Imagem do tubo de voo; 1- Tubo de voo de aço inox, 2- Parafusos de aço inox do suporte do tubo de voo, 3- Disco de teflon do suporte do (MCP), 4- Disco de teflon do tubo de voo, 5- Tampo de aço inox do tubo de voo, 6- Tampa de aço inox do tubo de voo, 7- Disco de teflon do tubo de voo e 8- Cone de aço do ânodo.....  | 50 |
| <b>Figura 5.6.</b> Imagem 1; Sub-câmara de vácuo, cone do TOF já com os as conexões para aplicar as tensões. Imagem 2; Cone do TOF mais detalhada, 1. Placa de extração de íons em aço inox, 2. Cone de entrada de íons para o tubo de voo ( <i>skimmer</i> ), furo central de 300 $\mu\text{m}$ , 3. Lente de abertura de íons , 4. Placa de entrada do tubo de drift, 5. Grade do tubo de drift, 6. Parafusos de fixação da placa de extração de elétrons. Placa de inox de aplicação de potencial, 7. Isolante de teflon , 8. Fios elétricos..... | 51 |
| <b>Figura 5.7.</b> Potenciais do TOF simulados pelo programa computacional SimIon 7 [17].....  | 52 |
| <b>Figura 5.8.</b> Desenho esquemático da montagem das MCPS e Ânodo.....   | 55 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 5.9.</b> 1. Anodo cônico, que serve de acoplamento entre o fundo das MCPs e o cabo coaxial comum. O anodo consiste de dois cones concêntricos, sendo o cone interno maciço e o cone externo somente uma casca..... | 56 |
| <b>Figura 5.10.</b> Lâmpada de Hélio.....  | 57 |
| <b>Figura 5.11.</b> Câmara Experimental.....   | 57 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Lista de tabelas</b> .....   | ix |
| <b>Tabela 1.</b> Intensidade relativa de todos os picos com área maior que 2 % para as energias de 11 a 21 eV.....  | 41 |
| <b>Tabela 2.</b> Energia interna de reação ( $\Delta U_{0K}$ ) para a decomposição unimolecular da CYS e seu radical catiônico (kcal/mol). R=CH <sub>2</sub> SH, retirada da Ref. [17]..... | 44 |
| <b>Tabela 3.</b> Potenciais aplicados nos eletrodo em (V), Energia dos íons em (eV) e Tempo em (s).....   | 53 |

## Capítulo 1

|                            |          |
|----------------------------|----------|
| <b>1 . Introdução.....</b> | <b>1</b> |
|----------------------------|----------|

## Capítulo 2

|   |          |
|---|----------|
| <b>2. Transições Eletrônicas.....</b>                           | <b>5</b> |
| 2.1. Elétron de Carço e de Valência.....                        | 5        |
| 2.2. Fotoexcitação.....   | 5        |
| 2.3. Fotoionização.....   | 5        |
| 2.4. Decaimento Auger.....                                      | 6        |
| 2.5. Decaimento Auger Ressonante.....                           | 7        |
| 2.6. Orbitais Moleculares :Aproximação de Born Oppenheimer..... | 7        |
| 2.7. Orbitais Moleculares.....                                  | 10       |
| 2.8. Aproximação LCAO-MO.....                                   | 10       |
| 2.8.1. Princípio de Franck- Condon.....                         | 12       |
| 2.9. Interação da Radiação com a Matéria.....                   | 14       |
| 2.9.1. Campo de Radiação.....                                   | 14       |

## Capítulo 3

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3.1. O Aminoácido Cisteína.....</b> | <b>19</b> |
|--|-----------|

## Capítulo 4

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. Técnicas de Espectroscopia e Descrição Experimental.....</b> | <b>23</b> |
| 4.1. Espectroscopia de Fotoelétrons.....                           | 23        |
| 4.2. Princípios Físicos.....                                       | 23        |
| 4.3. Técnica de Multicoindências.....                              | 24        |
| 4.4 A Equação de Tempo de Voo.....                                 | 26        |
| 4.5. Dispositivos de Inserção da amostra gasosa.....               | 27        |

|   |    |
|---|----|
| 4.6. Radiação Síncrotron.....                           | 28 |
| 4.7. Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)..... | 30 |
| 4.8. Linha de Luz TGM.....                              | 31 |
| 4.8.1. Filtro de Harmônicos.....                        | 32 |
| 4.8.2. Câmara Experimental.....                         | 32 |
| 4.9. Espectroscopia de Líquidos.....                    | 33 |
| 4.10. Micro-Jato para Líquidos.....                     | 36 |

## Capítulo 5

|   |           |
|---|-----------|
| <b>5.1. Resultados e Discussões.....</b>  | <b>37</b> |
| 5.1. Foto-fragmentação da Cisteína.....   | 37        |
| 5.2. Rotas de Fragmentação do Aminoácido Cisteína.....  | 47        |
| 5.2.1. $m/q = 76, 75$ e $74$ .....  | 47        |
| 5.2.2. $m/q = 59$ .....   | 47        |
| 5.2.3. $m/q = 44$ .....   | 46        |
| 5.2.4. $m/q = 43$ e $42$ .....  | 47        |
| 5.2.5. $m/q = 34, 33$ e $32$ .....  | 48        |
| 5.2.6. $m/q = 28$ .....   | 48        |
| 5.2.7. $m/q = 16, 17$ e $18$ .....  | 48        |
| 5.3. Desenvolvimento de instrumentação científica – Espectrômetro TOF para amostras líquidas..... | 48        |

## Capítulo 6

|  |           |
|--|-----------|
| <b>6. Conclusões e Perspectivas.....</b> | <b>58</b> |
|--|-----------|

## Capítulo 7

|   |           |
|---|-----------|
| <b>7. Referências Bibliográficas.....</b> | <b>61</b> |
|---|-----------|

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Apêndice I – Intensidades Relativa e Máxima para a área dos picos de PEPICO.....</b> | <b>64</b> |
|---|-----------|

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Apêndice II –O Hamiltoniano de Interação.....</b> | <b>70</b> |
|--|-----------|

## Siglas

- BO Born-Oppenheimer
- CCD Charge-coupled device
- CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- ESCA Electron Spectroscopy for Chemical Analysis
- HF Hartree-Fock
- HOMO Highest Occupied Molecular Orbital
- LNLS Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
- MCP Multi Channel Plate
- MO Molecular Orbital
- OM Orbital Molecular
- PEPICO Photoelectron-Photoion-Coincidence
- PES Photoelectron Spectroscopy
- PIY Partial Ion Yield
- PS Potenciais de Surgimento
- PPI Produção Parcial de Íons
- PTI Produção Total de Íons
- TDC Time-to-digital Converter
- TGM Toroidal Grating Monochromator
- TIY Total Ion Yield
- TOF Time-of-flight
- u.m.a. Unidade de massa atômica
- UPS Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy
- UV Ultraviolet
- VUV Vacuum Ultraviolet
- XPS X-ray Photoelectron Spectroscopy

## 1. Introdução

Os avanços tecnológicos e a disponibilidade de novas fontes de radiação, como por exemplo, as fontes de luz síncrotron têm colaborado para o grande avanço de muitas áreas de pesquisa, em especial a física atômica e molecular. Em paralelo a esse fato, a instrumentação de detectores, analisadores, fontes, etc. está sendo fortemente desenvolvida fazendo surgir novos tipos de espectroscopias, como a espectroscopia em amostras líquidas. A radiação síncrotron apresenta características como alta intensidade, alta colimação, pode ser emitida de modo pulsado e ampla faixa espectral (desde infravermelho até raios X duros), possibilitando várias técnicas espectroscópicas. O Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, localizado em Campinas, SP, possuiu uma fonte de luz com as características acima, possibilitando o estudo de aminoácidos como a cisteína.

O presente trabalho tem como objetivo principal estudar os processos de foto-fragmentação do aminoácido cisteína ionizada por radiação síncrotron usando a espectroscopia de multicoincidência por tempo de voo. Esse espectrômetro funciona a muito tempo e é dedicado a fase gasosa. Utilizamos a câmara rotativa da linha TGM do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron para realizar as nossas medidas. Tem por objetivo também o desenvolvimento de instrumentação científica ligada à construção de um espectrômetro de tempo de voo (TOF – *Time Of Flight*) para funcionar na câmara experimental dedicada ao estudo espectroscópico de gases, líquidos e sólidos. Especificamente, a montagem e a caracterização de um espectrômetro de massa para detectar íons de amostras líquidas.

Estudos espectroscópicos envolvendo elétrons e íons usando fontes convencionais de ultravioleta e raios-X assim como luz síncrotron são técnicas muito poderosas para o estudo da estrutura eletrônica de moléculas livres, superfícies e sólidos. Exemplos de tais técnicas espectroscópicas são *PhotoElectron PhotoIon PhotoIon Spectroscopy* (PEPIPICO), *X-ray Electron Spectroscopy* (XPS), *Ultra-violet Photoelectron Spectroscopy* (UPS), *X-ray Absorption Spectroscopy* (XAS) e *Resonant Auger Spectroscopy* (RAS). Todas estas técnicas requerem sistemas em vácuo tornando-as muito difíceis de serem aplicadas a líquidos dentro dos procedimentos convencionais. Contudo, desenvolvimentos recentes de técnicas de micro-jatos têm tornado estes estudos factíveis.

Embora existam centenas de aminoácidos, todas as proteínas que compõem o corpo humano são formadas por apenas 20 deles. Uma das hipóteses para a criação da vida na Terra, do ponto de vista molecular, inclui, em seu primeiro passo, a combinação de moléculas

mais simples com fontes de energia dando origem a outras moléculas mais complexas, tais como aminoácidos. Ocorre que a maioria das fontes de energia encontrada nestes processos, tais como feixes atômicos energéticos e descargas elétricas, quando utilizadas na produção de aminoácidos o fazem de tal forma que a mistura produzida é racêmica. Vale aqui lembrar o clássico experimento de Miller que através de descargas elétricas numa mistura de gases supostamente presentes na atmosfera primitiva deu origem a aminoácidos, entre outras biomoléculas, numa mistura racêmica [1]. Exceto a glicina, todos os aminoácidos apresentam duas formas de enantiômeros. Nos seres vivos apenas aminoácidos de simetria L (levogira) são encontrados. Dentre os vinte aminoácidos que compõem as proteínas somente dois tem enxofre em sua composição a Cisteína e a Metionina. A Cisteína, é a que está se mostrando mais promissora na junção de metal com moléculas orgânicas. Devido a seu grupo tiol se encontrar na ponta da molécula, ela pode se ligar a moléculas biológicas maiores, como DNA, aumentando as possibilidades de aplicações desses dispositivos. Essa junção poderá gerar o surgimento de diversos dispositivos que agregam essa interface metal/molécula orgânica, que poderão ter aplicações em eletrônica, óptica e biotecnologia.

Neste contexto, a relevância do presente estudo torna-se clara uma vez que se necessita de mais conhecimento sobre os rendimentos iônicos e foto-fragmentação de aminoácidos e sua estrutura eletrônica. De fato, muitas das propriedades químicas, de uma molécula, estão relacionada com elétrons de valência.

Neste trabalho fizemos o estudo da fragmentação da cisteína na região de valência. Utilizamos a técnica de Espectroscopia de Massa por Tempo-de-Voo (TOF) com Coincidência entre Fotoelétron-Fotoíon (PEPICO). As medidas foram realizadas na faixa de energia entre 11,2 eV a 21eV, na linha de luz TGM (*Monocromador de Grades Toroidais*), do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Campinas-Brasil. Determinamos quantitativamente os fragmentos formados, identificamos e caracterizamos a dinâmica do processo de fragmentação em cada energia do fóton utilizada.

Fizemos também o desenvolvimento de instrumentação científica com a confecção e montagem de um espectrômetro TOF para medidas em amostras líquidas. A espectroscopia de amostras líquidas é uma espectroscopia bastante recente que surgiu a partir do desenvolvimento da técnica de micro-jatos [2]. Onde a amostra líquida é introduzida na câmara experimental com um jato de aproximadamente 15  $\mu\text{m}$  a alta velocidade que é congelado logo após interagir com a luz. Isso faz com que o vácuo na câmara experimental

não seja tão ruim. Paralelo a isso, é necessário colocar os espectrômetros em sub-câmaras da câmara principal permitindo um alto vácuo na região de detecção. Isso permite que possamos medir espectros de elétrons e íons de amostras líquidas [3].

Outros trabalhos foram realizados durante o Mestrado que não serão descritos nessa dissertação, como:

1) Fizemos medidas da seção de choque do ozônio na região de valência. Essas medidas também foram realizadas na linha TGM no LNLS. Aprendemos a produzir o ozônio e a medir espectros de seção de choque usando uma câmara de absorção. A análise dos espectros é complexa e ainda não tá concluída por isso não será apresentada aqui.

2) Participamos de medidas de XPS em amostras líquidas na linha de luz PGM do LNLS. Nesse tempo de luz além do contato direto com as técnicas XPS e de micro-jato, também houve um grande aprendizado sobre elas. Usando a linha de luz PGM e a câmara dedicada a amostras líquidas e o espectrômetro de elétrons Scienta que opera a altas pressões, executamos o projeto intitulado “Variações inesperadas na estequiometria das intensidades de fotoelétrons de camada interna pode afetar moléculas presentes em soluções aquosas?”.

Esta dissertação está dividida em 7 capítulos. O capítulo 1 é a Introdução. O capítulo 2 - Transições Eletrônicas descreve a parte teórica da interação da radiação com a matéria e os processos de relaxação da molécula. No capítulo 3 – O Aminoácido Cisteína descrevemos a molécula e suas características. No capítulo 4 – Técnicas de Espectroscopia e Descrição Experimental, descrevemos todos as técnicas experimentais que utilizamos para o estudo da foto-fragmentação da Cisteína e no desenvolvimento do espectrômetro TOF para amostras líquidas. No capítulo 5 – Resultados e Discussões, apresentamos os espectros medidos para a Cisteína, fazemos a análise dos resultados e comparamos com cálculos teóricos da literatura e discutimos os processos de fragmentação dessa molécula. No capítulo 6 – Conclusões e Perspectivas, reunimos os principais resultados obtidos e apresentamos a continuação do trabalho. E o capítulo 7 são as referências bibliográficas.

## Capítulo 2

### 2. As Transições Eletrônicas

#### 2.1 Elétron de Carço e de Valência

A estrutura eletrônica de átomos ou moléculas pode ser dividida em elétrons de orbitais de valência (orbitais mais externos) e orbitais de carço (orbitais mais internos). Os elétrons dos orbitais de valência são aqueles que ficam nas camadas mais externas dos átomos ou moléculas e são eles responsáveis pelas ligações químicas, devido as interações entre dois ou mais átomos, que podem ocorrer por doação ou compartilhamento de elétrons.

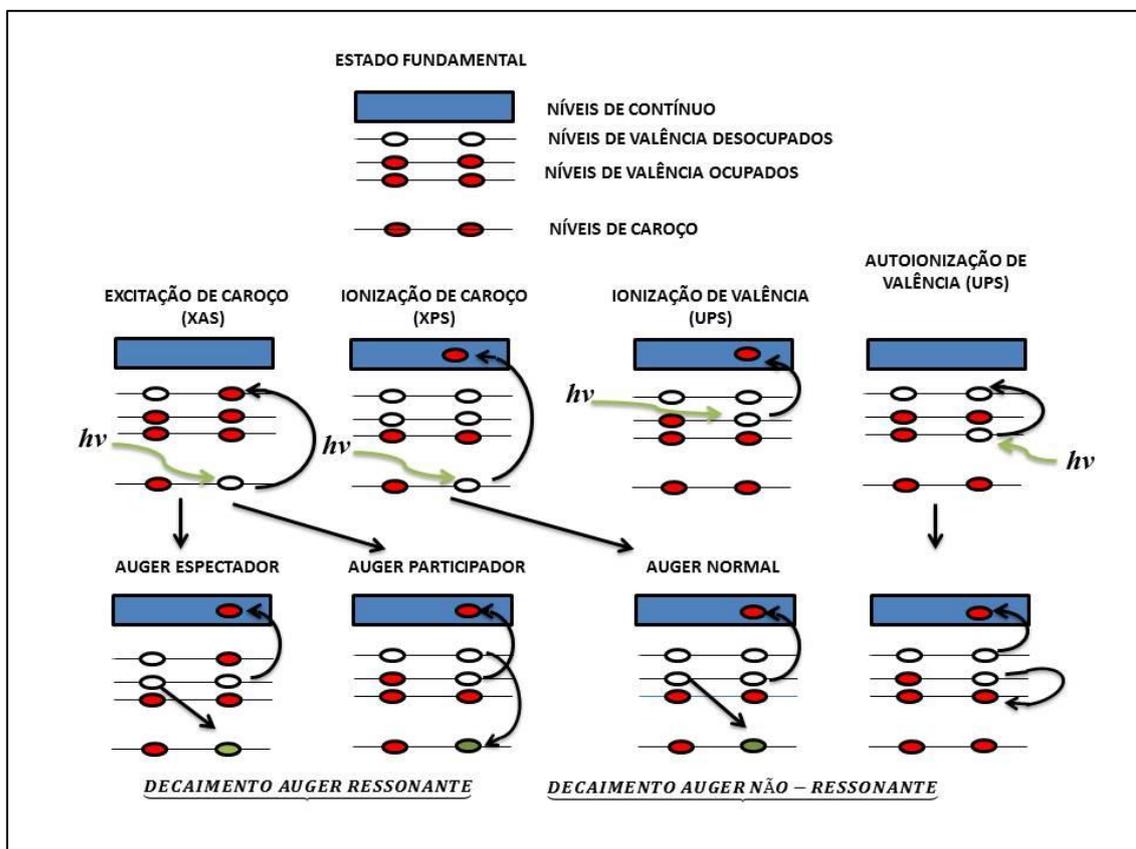


Figura 2.1: Principais processos de excitação (2.2) e relaxação eletrônica (2.3): Decaimento Auger ou Autoionização (2.4 e 2.5).

No texto abaixo explicaremos cada um dos processos de fotoabsorção e relaxação representados na Figura 2.1, assim, proporcionando um melhor entendimento ao leitor.

## 2.2 Fotoexcitação

Se durante um processo de fotoabsorção a energia do fóton for suficiente para promover a excitação de um elétron de um orbital ocupado para um desocupado ou parcialmente desocupado, o sistema B ficará em um estado excitado. Pode ser representado pela expressão:

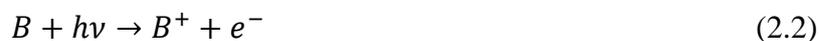


o símbolo (\*) representa que o estado está excitado.

Após este processo, é emitido um fóton de energia igual a transição realizada, ou convertendo o excesso de energia em energia cinética de um elétron arrancado, devido a relaxação da molécula.

## 2.3 Fotoionização

Quando um fóton interage com um átomo ou molécula, pode ocorrer a ionização dos mesmos, caso a energia do fóton seja maior ou igual à energia de ligação do elétron no átomo ou molécula, um elétron será ejetado e ocorrerá a relaxação do sistema. Podemos escrever esse processo da seguinte forma:



Na Figura 2.1 podemos ver que pode ocorrer a ionização tanto de elétrons dos níveis de caroço quanto dos níveis de valência, pelo processo de fotoionização. A ionização dos elétrons de orbitais de valência ocorrem em menores energias, por possuírem menor energia de ligação e por estarem mais afastados dos núcleos dos átomos ou moléculas. Já os elétrons de caroço tem maior energia de ligação, por eles estarem mais próximos dos núcleos dos

átomos ou moléculas. Portanto, se encontram mais fortemente ligados então é necessário uma energia do fóton maior.

## 2.4 Decaimento Auger

No processo de ionização ou excitação de elétrons de camadas internas o sistema vai se encontrar num estado eletrônico altamente excitado. Assim ocorrerá um rearranjo eletrônico que chamamos de decaimento Auger. Neste processo o estado intermediário é uma vacância de um orbital de camada interna.

Na Figura 2.1 podemos ver que o processo de decaimento, acontece da seguinte forma; a vacância deixada pelo elétron de caroço é preenchida pelo decaimento de um elétron de valência. O excesso de energia devido ao processo de decaimento é liberada por emissão de fótons com a energia característica da transição ( fluorescência) ou em um decaimento não radiativo na emissão de elétron Auger de uma camada de valência. Com o decaimento Auger o sistema ficará num estado de dupla ou de simples ionização, isso vai depender se o sistema foi inicialmente ionizado ou excitado, respectivamente.

Após o processo de fotoionização ocorrerá o decaimento de um elétron Auger normal conhecido como Não-Ressonante, esse elétron irá preencher a vacância de camada interna deixada pelo elétron que foi ionizado. Se olharmos a Figura 2.1 iremos entender melhor o que ocorre. Explicaremos aqui então, após a ionização do elétron, um outro elétron decai do sistema para preencher a vacância deixada pelo elétron que foi ionizado, em seguida um segundo elétron é emitido deixando o sistema num estado de dupla ionização com duas vacâncias, o excesso de energia na forma de energia cinética, é levada pelo elétron Auger no contínuo, ver Figura 2.1. Dado a equação :



a energia cinética do elétron Auger é dada pela diferença de energia do estado ionizado no caroço com uma vacância e o estado final com duas vacância de valência.

## 2.5 Decaimento Auger Ressonante

No processo de excitação de caroço temos o decaimento Auger ressonante que pode ser descrito a partir da equação (2.1):



onde a energia cinética do elétron Auger ressonante é a diferença de energia entre o estado excitado de caroço e o estado final simplesmente ionizado.

No decaimento Auger Participador, o elétron que foi excitado tem participação direta no processo de relaxação preenchendo a vacância do estado excitado e deixando o sistema num estado final de um buraco. Já, no processo Auger Espectador, o decaimento ocorre via outro elétron de valência e o elétron inicialmente excitado permanece no mesmo orbital, resultando em um estado final de duas vacâncias de valência. Ambos os processos estão esquematizados na Figura 2.1.

## 2.6 Orbitais Moleculares: Aproximação de Born-Oppenheimer

A equação de Schrodinger não tem solução analítica para sistemas moleculares grandes. Porém, se usarmos a aproximação de Born-Oppenheimer para descrever as transições eletrônicas que ocorrem entre orbitais moleculares [4, 5] é possível encontrar uma solução aproximada para equação de Schrodinger, sendo que ela só pode ser resolvida analiticamente para sistemas como; o hidrogênio e o hélio ionizado. A equação de Schrodinger é dada por:

$$H\Phi(r; R) = \varepsilon\Phi(r; R) \quad (2.4)$$

o  $H$  é o operador Hamiltoniano que representa as energias de interação para sistemas de núcleos e elétrons, e  $\Phi(r; R)$  é a função de onda que satisfaz a equação (2.4). Onde  $R$

representa as coordenadas nucleares  $R = (R_1, R_2, \dots, R_n)$  e  $r$  representa as coordenadas eletrônicas  $r = (r_1, r_2, \dots, r_n)$ .

A aproximação Born-Oppenheimer divide o hamiltoniano do sistema em movimento nuclear e movimento eletrônico. Esta aproximação nos diz que os núcleos, são muito mais pesados do que os elétrons, e que o seu movimento é muito mais lento do que o dos elétrons, portanto esses elétrons se adaptam quase que instantaneamente a qualquer disposição nuclear. Desse modo, resolvemos a equação de Schrodinger primeiramente para a parte eletrônica para cada posição fixa dos núcleos e depois resolvemos para a parte nuclear.

O hamiltoniano  $H$  representa as interações do sistema, tais como: a energia cinética do elétrons e núcleos, a atração Coulombiana entre os elétrons e os núcleos, a repulsão entre elétrons e a repulsão entre os núcleos.

$$H = T_N + T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee} \quad (2.5)$$

o índice  $N$  representa os núcleos, já o índice  $e$  representa os elétrons. Sendo que cada termo do sistema, representa uma das interações da hamiltoniana.

Podemos numa primeira aproximação fazer a separação da função de onda  $\Phi(r, R)$ , e escrevê-la na forma do produto.

$$\Phi(r, R) = \Phi_e(r; R)\Phi_N(R) \quad (2.6)$$

onde a  $\Phi_e(r; R)$  é uma função de quadrado integrável que descreve o movimentos dos elétrons e que depende praticamente das coordenadas nucleares e  $\Phi_N(R)$  é uma função que descreve o movimento dos núcleos.

Fazendo a substituição na equação de Schrodinger (2.4) da expressão (2.6) e substituindo o operador hamiltoniano  $H$ , temos:

$$(T_N + T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee})\Phi_e(r; R)\Phi_N(R) = \varepsilon\Phi_e(r; R)\Phi_N(R) \quad (2.7)$$

Em uma segunda aproximação adiabática que estabelece que:

$$T_N\Phi_e(r; R)\Phi_N(R) \cong \Phi_e(r; R)T_N\Phi_N(R) \quad (2.8)$$

Isto é, o operador de energia cinética dos núcleos não atua na função de onda eletrônica. Por os núcleos serem mais pesados do que os elétrons, eles se movem lentamente de forma adiabática.

Agora reorganizamos os termos da equação (2.8):

$$\Phi_N T_N \Phi_e + \Phi_N T_e \Phi_e + (V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee})\Phi_e \Phi_N = \varepsilon \Phi_e \Phi_N \quad (2.9)$$

e dando continuidade no método de separação de variáveis temos

$$\frac{1}{\Phi_N} T_N \Phi_N + \frac{1}{\Phi_e} T_e \Phi_e + (V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee}) - \varepsilon = 0 \quad (2.10)$$

$$\frac{1}{\Phi_e} T_e \Phi_e + (V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee}) = \varepsilon - \frac{1}{\Phi_N} T_N \Phi_N = \varepsilon(R) \quad (2.11)$$

Portanto, temos as equações desacopladas para elétrons:

$$(T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee})\Phi_e(r; R) = H_{el}\Phi_{el}(r; R) = E(R)\Phi_{el}(r; R) \quad (2.12)$$

e núcleos,

$$[T_N + E(R)]\Phi_N(R) = H_N\Phi_N(R) = \varepsilon\Phi_N(R). \quad (2.13)$$

As equações 2.12 e 2.13 resolvem a equação de Schrodinger para sistemas de muitos elétrons. Precisamos então definir os orbitais moleculares que descrevem as funções de onda para a resolução destas equações.

## 2.7 Orbitais Moleculares

Orbital molecular (OM) é uma função matemática que descreve o comportamento de um elétron numa molécula. Esta função pode ser usada para calcular as propriedades químicas e físicas de determinado material, tais como a probabilidade de encontrar um elétron em uma região específica. Os orbitais moleculares são normalmente formados através da combinação de orbitais atômicos a partir de cada átomo da molécula, ou outros orbitais moleculares a partir de grupos de átomos. Eles podem ser quantitativamente calculados utilizando o método Hartree-Fock.

Podemos utilizar o orbital molecular para representar as regiões de uma molécula com a maior probabilidade de se encontrar um elétron. Através dele podemos especificar a configuração eletrônica de uma molécula, a distribuição espacial e a energia de um elétron ou mesmo de um par de elétrons. O orbital molecular descreve o comportamento de um elétron no campo elétrico gerado pelos núcleos atômicos e uma distribuição média dos outros elétrons. Orbitais moleculares são formados pela sobreposição de dois orbitais atômicos, estas sobreposições surgem de interações permitidas entre os orbitais atômicos, sendo que somente são formados se apresentarem simetrias permitidas, sendo estas simetrias determinadas a partir da teoria de grupos. Finalmente, o número de orbitais moleculares formados deve ser igual ao número de orbitais nos átomos que foram combinados para formar a molécula.

## 2.8 Aproximação LCAO-MO

Orbitais moleculares podem ser representados por meio de combinações lineares dos orbitais atômicos que constituem o material [6]. A aproximação LCAO-MO (*Linear Combination of Atomic Orbitals – Molecular Orbitals*) é baseada no teorema variacional, e descreve as funções de onda dos orbitais moleculares com base na sobreposição dos orbitais atômicos,  $\chi_\mu$ , assim temos:

$$\Phi_i = \sum_{\mu} C_{\mu i} \chi_{\mu}, \quad (2.14)$$

onde  $C_{\mu i}$  é um coeficiente relacionado aos orbitais atômicos ocupados ou desocupados.

Pela aproximação LCAO-MO, orbitais atômicos se combinam para formar orbitais moleculares a partir da sobreposição dos mesmos, isto acontece apenas se eles forem similares em energia. Se, ao serem formados, contribuem para a redução da energia da molécula, mantendo-as mais ligadas, são ligantes. Por outro lado, se, após sua formação os orbitais moleculares aumentam a energia da molécula, aproximando da energia relativa a átomos separados, são denominados orbitais antiligantes e indicados pelo símbolo \*. Orbitais moleculares do tipo  $\sigma$  e  $\pi$  são usados para descrever a estrutura eletrônica de moléculas simples de dois átomos, na Figura 2.2 as linhas no meio são uma indicação das energias dos orbitais moleculares, que podem ser formados por sobreposição de orbitais atômicos [6].

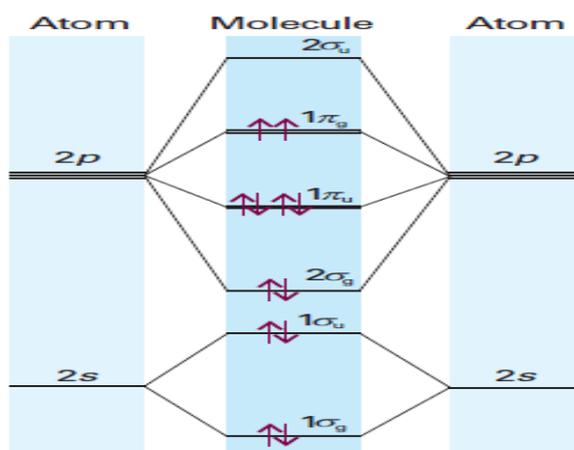


Figura 2.2: Diagrama para moléculas diatômicas homo-nucleares [6].

A ordem de ocupação de orbitais moleculares no diagrama de nível de energia de um sistema molecular segue o princípio da estruturação ou princípio de Aufbau e as regras de Hund. O objetivo do princípio de Aufbau é encontrar uma ordem de ocupação dos orbitais que leve à configuração de estado fundamental do átomo neutro. A regra principal ao preencher os orbitais é o respeito ao princípio de exclusão de Pauli, que diz que certo orbital só pode estar ocupado por no máximo dois elétrons com spins opostos. As regras de Hund podem ser descritas da seguinte forma:

- Os estados são ordenados conforme o valor da multiplicidade de spin  $S$ , estados com  $S$  máximo são os mais estáveis e a estabilidade decresce com  $S$ . Portanto, o estado fundamental tem a multiplicidade de spin máxima;
- Mantido o mesmo valor de  $S$  entre dois estados, o mais estável será aquele que tiver o maior valor de momento angular orbital total  $L$ ;
- Para estados de valores de  $S$  e  $L$  idênticos, o mais estável será o que tem o momento angular total  $J$  ( $J=S+L$ ): mínimo, se os orbitais desocupados forem maioria, ou seja, se prevalecerem subcamadas abertas; e máximo se os orbitais ocupados forem maioria.

### 2.8.1 Princípio de Franck- Condon

Em um átomo ou molécula em um estado fundamental os núcleos estão em equilíbrio, isto é, eles não experimentam nenhuma força resultante dos elétrons e de outros núcleos na molécula. Após ocorrer a transição eletrônica a molécula começa a vibrar, devido a ação de forças nos núcleos.

Para entendermos os níveis vibracionais do espectro eletrônico de moléculas aplicamos o princípio de Franck-Condon: Sendo que os núcleos são mais pesados do que os elétrons, o processo de transição eletrônica acontece muito rápido sem que os núcleos possam responder. Há uma densidade de elétrons em novas regiões da molécula devido a essa transição. Os núcleos inicialmente estacionários são submetidos a forças, a qual eles passam a vibrar em termos clássico, isto é, balança para trás e para a frente. A separação de equilíbrio estacionário dos núcleos no estado eletrônico inicial, portanto, torna-se um ponto de curva estacionária no estado eletrônico final (Figura 2.3).

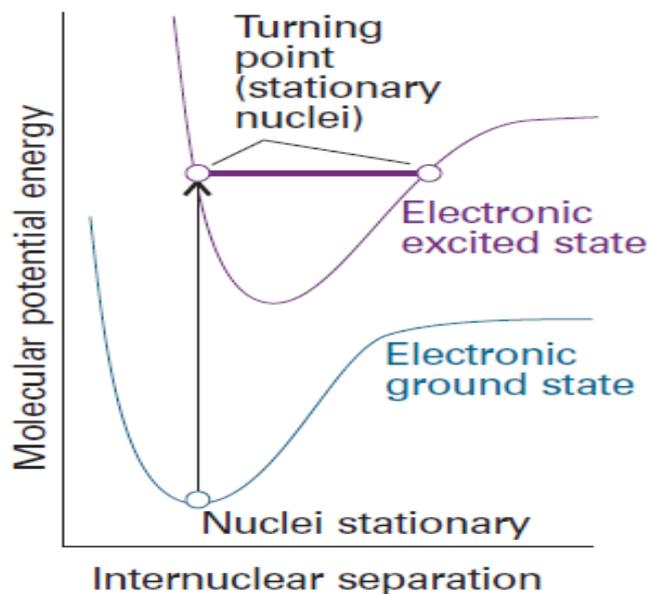


Figura 2.3: De acordo com o princípio de Franck-Condon, a transição vibracional mais intensa é a do estado vibracional fundamental para o estado vibracional que está verticalmente acima dele. Transições para outros níveis vibracionais podem ocorrer, mas com menor intensidade[6].

Na Figura 2.3, a linha vertical representa a transição eletrônica que ocorre sem mudar a geometria nuclear. Os vários níveis vibracionais do estado eletrônico superior, é atravessado pela transição vertical. Na separação internuclear de equilíbrio,  $R_e$ , há uma simetria entre os núcleos, nível marcado com \*, lá a função de onda vibracional tem máxima amplitude, sendo este estado o mais provável de haver a transição. No entanto, ele não é o único estado vibracional acessível, porque vários estados vizinhos têm uma probabilidade apreciável dos núcleos estar na separação  $R_e$ .

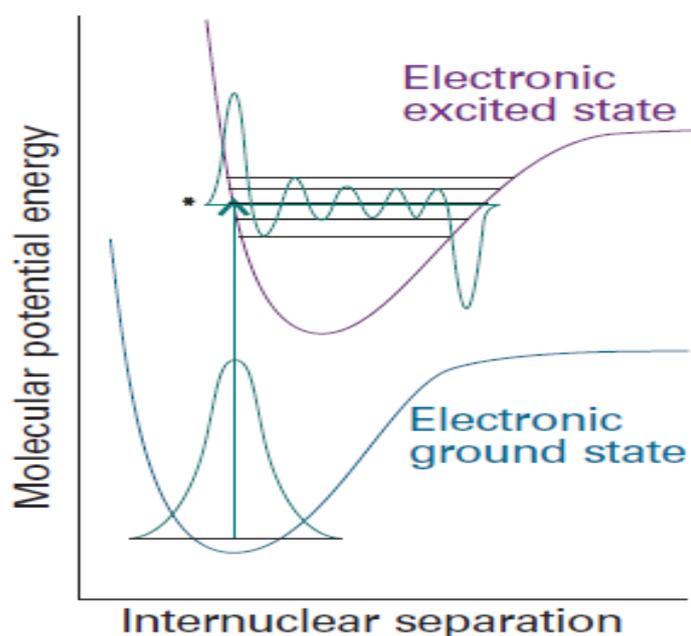


Figura 2.4: Na versão da mecânica quântica do princípio de Franck-Condon, a molécula sofre uma transição para um estado vibracional acima cuja função de onda vibracional mais se parece com a função de onda vibracional do estado fundamental do estado eletrônico inferior. As duas funções de ondas mostradas aqui são aquelas que têm a maior integral de superposição de todos os estados vibracionais do estado eletrônico superior e portanto são as mais similares [6].

Podemos ver na Figura 2.4 que antes de ocorrer a absorção, a molécula se encontra no estado vibracional mais baixo, e no estado eletrônico fundamental, e o local mais provável dos núcleos é a sua separação de equilíbrio,  $R_e$ . A transição eletrônica é mais provável de ocorrer quando os núcleos têm essa separação. Quando ocorre a transição, a molécula vai para o estado representado pela curva superior. De acordo com o princípio de Franck-Condon, a separação nuclear permanece constante durante esta excitação, de modo que podemos imaginar a transição como sendo a linha vertical na Figura 2.4.

## 2.9 Interação da Radiação com a Matéria

### 2.9.1 Campo de Radiação

Em nosso trabalho é essencial o estudo da interação da radiação com a matéria, sendo que esta interação acontece quando a radiação eletromagnética é absorvida por átomos ou moléculas nos processos de foto-fragmentação ou fotoionização molecular. Aqui, será dado um tratamento semi-clássico para essa interação, este procedimento é válido porque os

campos macroscópicos correspondem a grandes números de ocupação em um formalismo de segunda quantização, e pelo princípio da correspondência o sistema apresenta um comportamento essencialmente clássico. Nesta seção descreveremos o campo eletromagnético em termo do potencial vetor, já o Hamiltoniano de interação entre o campo eletromagnético e o sistema molecular descrito pela mecânica quântica está explicado no Apêndice II.

A inclusão adequada de potenciais escalares e vetoriais facilitam a solução das equações de Maxwell para o caso geral em que são dadas as densidades de cargas  $\rho(\vec{r}, t)$  e de correntes  $\vec{j}(\vec{r}, t)$  dependentes do tempo. Assim, obteremos os potenciais e campos produzidos por essas distribuições de cargas [7].

As equações de Maxwell na forma diferencial descrevem os campos elétricos  $\vec{E}(\vec{r}, t)$  e magnéticos  $\vec{B}(\vec{r}, t)$ , no sistema de unidades de gaussianas, e essas equações são dadas por:

$$\nabla \cdot \vec{E} = 4\pi\rho \quad (2.9.1)$$

$$\nabla \cdot \vec{B} = 0 \quad (2.9.2)$$

$$\nabla \times \vec{E} + \frac{1}{c} \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} = 0 \quad (2.9.3)$$

$$\nabla \times \vec{B} - \frac{1}{c} \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} = \frac{4\pi}{c} \vec{j} \quad (2.9.4)$$

Fazendo a verificação em relação aos potenciais, a equação (2.9.2) combina com a relação matemática:

$$\nabla \cdot (\nabla \times \vec{A}) = 0 \quad (2.9.5)$$

indica que o campo magnético  $\vec{B}$  pode ser descrito em termos do potencial vetor magnético:

$$\vec{B} = \nabla \times \vec{A} \quad (2.9.6)$$

Sabendo que  $\vec{A} = \vec{A}(\vec{r}, t)$ . Temos uma relação direta entre  $\vec{B}$  e  $\vec{A}$  é, porém no caso do campo elétrico  $\vec{E}$  e do potencial elétrico  $\phi$ , há uma pequena modificação a ser feita. Sendo que os campos dependem do tempo agora, pela equação de Maxwell (2.9.3), assim o campo elétrico não pode ser escrito simplesmente como  $\vec{E} = -\nabla\phi$ , que é válida somente no caso estático, quando  $\nabla \times \vec{E} = 0$  [7]. Se utilizarmos o potencial vetor magnético, podemos escrever a Lei de Faraday com:

$$\nabla \times \vec{E} + \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} (\nabla \times \vec{A}) = 0 \quad (2.9.7)$$

Utilizamos a identidade matemática (2.9.5) para os termos entre os colchetes e definir um potencial escalar, ou seja:

$$\vec{E} = -\nabla\phi - \frac{1}{c} \frac{\partial \vec{A}}{\partial t} \quad \dots(2.9.8)$$

Podemos simplificar as equações (2.9.6) e (2.9.8) em certas condições, mediante as transformações de calibre, sendo que elas não definem univocamente um potencial escalar  $\phi(\vec{r}, t)$  e um potencial vetorial  $\vec{A}(\vec{r}, t)$  [7]. Para fazer essa verificação partiremos da equação (2.9.6):

$$\vec{B} = \nabla \times \vec{A}$$

para qualquer função escalar  $\Lambda$ , vale:

$$\nabla \times \nabla\Lambda = 0 \dots \quad (2.9.9)$$

Se assumirmos que:

$$\vec{A}' = \vec{A} + \nabla\Lambda \quad (2.9.10)$$

$$\phi' = \phi - \frac{\partial\Lambda}{\partial t} \quad (2.9.11)$$

Devido a invariância dos campos eletromagnéticos pelas transformações de calibre. Podemos assim, escolher uma transformação adequada par uma função arbitrária  $\Lambda(\vec{r}, t)$  para solução de nosso problema. Portanto, utilizaremos uma transformação de calibre que satisfaça a essa condição [7].

$$\nabla \cdot \vec{A} = 0 \quad (2.9.12)$$

esta condição é chamada de calibre de Coulomb ou calibre de radiação.

Utilizamos as equações (2.9.2) e (2.9.3) para obter as equações (2.9.6) e (2.9.8). Depois de obtermos essas duas equações, fizemos a substituição das mesmas nas equações (2.9.1) e (2.9.4) para obter o potencial vetor e potencial escalar.

$$\nabla^2\phi = 4\pi\rho \quad (2.6.14)$$

$$\nabla^2\vec{A} - \frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}\vec{A} = 0 \quad (2.6.15)$$

A equação (2.6.14) é conhecida como a equação de Laplace, para meios isotrópicos, e na ausência de fontes, possui como solução uma constante que pode ser escolhida como zero. Ou seja:

$$\phi = 0 \quad (2.9.16)$$

Assim, a equação (2.6.15) se torna:

$$\nabla^2 \vec{A} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \vec{A} = 0 \quad (2.9.17)$$

A equação (2.9.17) admite soluções na forma de ondas planas, pois é a equação de onda para o potencial vetor.

## Capítulo 3

### 3. O AMINOÁCIDO CISTEÍNA

Embora existam centenas de aminoácidos encontrados no meio interestelar [1], todas as proteínas que compõem o corpo humano são formadas por apenas 20 deles. Uma das hipóteses para a criação da vida na Terra, do ponto de vista molecular, inclui, em seu primeiro passo, a combinação de moléculas mais simples com fontes de energia dando origem a outras moléculas mais complexas, tais como aminoácidos, dentre eles a cisteína. Ela é um dos aminoácidos presente no código genético, assim, um dos componentes das proteínas dos seres vivos. Devido a grande importância dos aminoácidos, as suas propriedades físico-químicas se tornaram objeto de estudos, e são de interesse da bioquímica, astroquímica e astrofísica [5].

As propriedades físicas e químicas de moléculas biológicas são fundamental para muitos campos de pesquisa: não somente para a biologia, mas também em aplicações tecnológicas, como sensores biológicos e eletrônica molecular, e em astrobiologia e astroquímica. Para entender a origem da vida é necessário entender a química e a física destas moléculas relativamente pequenas em ambientes sujeitos a incidência de radiação [8]. Por isso, nos últimos anos, as propriedades de diferentes aminoácidos tem atraído considerável atenção, tanto de experimentais quanto de teóricos.

De todos os 20 aminoácidos que são encontrados nas proteínas no nosso corpo humano somente dois possuem enxofre, S, em sua composição, a cisteína e a metionina. A Metionina é encontrada em ovos, carnes e peixes. Uma dieta pobre em metionina pode causar deficiências de cisteína, pois a metionina faz parte como um composto intermediário na síntese da Cisteína. A Cisteína tem seu grupo tiol (-SH) na ponta do radical enquanto na metionina o enxofre se encontra no meio do radical, isso faz com que as propriedades destes dois aminoácidos sejam bem diferentes. A cisteína funciona como uma grande estruturadora das proteínas, podendo fazer ligações do tipo dissulfeto (-S-S-), formando o aminoácido cistina via oxidação do grupo tiol. Devido a posição do enxofre na molécula a cisteína é considerada polar (hidrofílica), enquanto a Metionina é considerada apolar (hidrofóbica). A cisteína (particularmente a L-cisteína) é usada não só em pesquisas laboratoriais, mas também como suplemento alimentar, em produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal. Pesquisas apontam que ela reduz os efeitos tóxicos do álcool no nosso organismo, como diminui os danos no fígado e os sintomas da ressaca. Uma das maiores aplicações é a produção de aromas. Por exemplo, a reação de cisteína com açúcares resulta num produto com gosto de

carne. Em pesquisas laboratoriais, a cisteína é utilizada como marcador biomolecular (*labeling*) para investigar aspectos estruturais e funcionais de proteínas que contêm este aminoácido. Também devido ao seu grupo tiol (SH) na terminação do aminoácido, ela se liga facilmente com outras moléculas biológicas, fazendo com que a Cisteína tenha um uso promissor em biosensores.

A cisteína [CYS, C, HS-CH<sub>2</sub>-CH(NH<sub>2</sub>)-COOH] [9,10] é um aminoácido fundamental que tem um papel importante como ligante entre biomoléculas e metais. A interação entre cisteína e ouro é importante na área de biosensores, por isso muito dos estudos experimentais que encontramos na literatura é sobre a deposição da cisteína sobre superfícies metálicas, como o ouro [9, 11, 12, 13]. E muitos dos trabalhos na literatura são de cálculos teóricos de orbitais e energias de ionização e reação dos aminoácidos [14, 15, 16, 17, 18]. Na literatura, existem artigos sobre a fotoionização e fragmentação de diversos aminoácidos, mas não foram encontramos nenhum sobre a cisteína [19, 20, 21, 22]. Também não encontramos um espectro de fotoelétrons na região de valência da cisteína.

A cisteína tem fórmula molecular, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S, e pode ser representada fórmula estrutural, como na Figura 3.1.

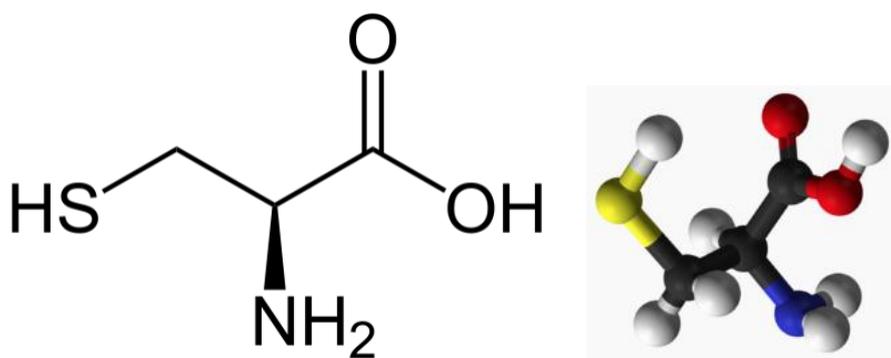


Figura 3.1: A esquerda Figura esquemática da molécula de cisteína e a direita representação em forma de esferas, sendo que a esfera amarela representa o S, a azul o N, as vermelhas os O, as pretas os C e as brancas os H.

A cisteína contém três átomos de carbono não equivalentes, cada um deles é ligado a um grupo funcional diferente (-SH, -COOH e -NH<sub>2</sub>). Portanto, possui três sítios diferentes ionizáveis. Como todo aminoácido, ela tem o C<sub>α</sub>, o carbono quiral, ligado a um radical

carboxílico (-COOH), a um radical amina (-NH<sub>2</sub>) e ao radical característico, R, do aminoácido, no caso da cisteína o (-CH<sub>2</sub>SH), como pode ser visto na Figura 3.2.

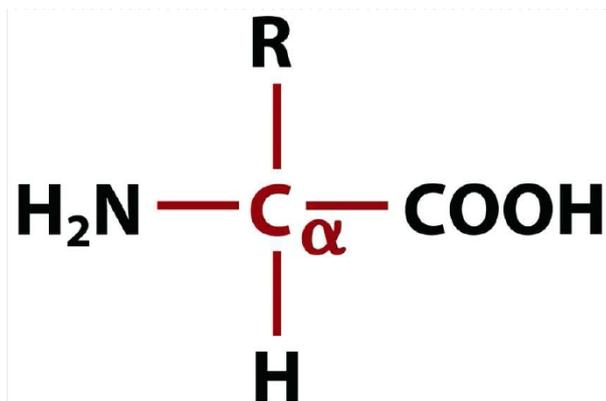


Figura 3.2: Esquema molecular de um aminoácido mostrando o C<sub>α</sub> no central, e os radicais carboxílico, amina e característico.

A cisteína tem massa molar de 121,16 g/mol e é um pó branco com pequenos cristais, e tem um ponto de fusão de 240 °C em condições ambientes de temperatura e pressão.

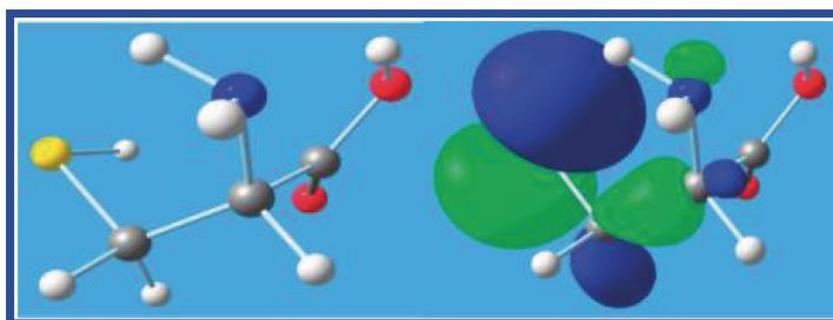


Figura 3.3: Esquerda: Geometria otimizada da cisteína para a conformação CF<sub>2</sub> de mais baixa energia, direita: orbital HOMO dessa estrutura [16].

Aminoácidos normalmente apresentam ligações de hidrogênio intra-moleculares, as quais são cruciais no entendimento da sua estrutura e reatividade. Entretanto, essas ligações de hidrogênio ou pontes de hidrogênio podem ser fortemente modificadas após a ionização da molécula. Essas ligações intra-moleculares entre os grupos funcionais dão origem a inúmeras

estruturas conformacionais possíveis. Essas interações são importantes, pois elas afetam a forma, as interações e as funções biológicas das proteínas. Na Figura 3.3 mostramos a conformação CF2 calculada por Close et al. [16], e está de acordo com Maul et al. [40], como sendo a de menor energia. O orbital HOMO calculado está localizado no orbital *lone pair*  $\pi$  do S. Na Figura 3.4 são apresentadas as geometrias otimizadas e conformações de mais baixa energia para a molécula de cisteína ionizada, Figura retirada da Ref. [14]. Essas conformações mais estáveis na CYS apresentam interação entre dois-centros/ três-elétrons entre os grupos  $-\text{NH}_2$  e  $-\text{SH}$  da cadeia lateral. Análise da população natural indica que a densidade de spin é delocalizada entre estes dois grupos interagentes. No caso da Cisteína a densidade de spin é 0,60 para o radical com o enxofre e 0.40 para o  $\text{NH}_2$  [14].

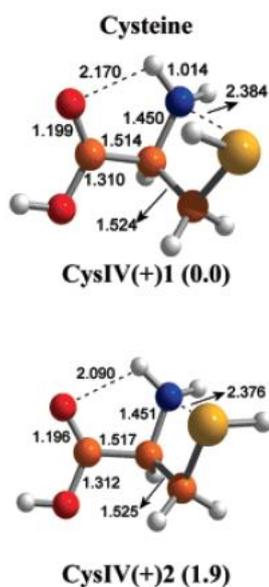


Figura 3.4: Geometrias otimizadas e energias relativas ( $\Delta E$ ) para as conformações de mais baixa energia da cisteína quando se remove um elétron do radical. As distâncias estão em Angstroms e as energias em kcal/mol entre parênteses [14].

## Capítulo 4

### 4. Técnicas Espectroscópicas e Descrição Experimental

#### 4.1 Espectroscopia de Fotoelétrons

A (PES) Espectroscopia de fotoemissão (PhotoEmission Spectroscopy), também conhecido como espectroscopia de Fotoelétrons [23], são usadas para medir a energia cinética de elétrons ejetados a partir de sólidos, líquidos ou gases, e assim, determinar as energias de ligação dos elétrons em uma substância. A técnica de PES tem outros nomes como, XPS (Espectroscopia de Fotoemissão de Raios X) e UPS (Espectroscopia de Fotoemissão de Ultra Violeta) dependendo da energia do fóton utilizada na ionização do sistema. A espectroscopia de fotoelétrons analisa os elétrons ejetados da superfície da amostra estudada.

Kai Siegbahn em 1957 [23, 24] desenvolveu a Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios-X (XPS) usada para estudar os níveis de energia dos elétrons mais internos, principalmente em sólidos. Ele chamou esta técnica (ESCA) *Electron Spectroscopy for Chemical Analysis*, espectroscopia de elétrons para análise química, que permite a determinação da estrutura química do material, devido aos pequenos desvios químicos da vizinhança do átomo ionizado.

A Espectroscopia de Fotoelétrons por Ultravioleta (UPS) é usada para estudar os níveis de energia de valência e ligação química, especialmente os orbitais moleculares.

#### 4.2 Princípios Físicos

Para qualquer tipo de radiação eletromagnética a energia de um fóton é dada pela seguinte equação :

$$E = h\nu \quad (4.1)$$

onde  $h$  é a constante de Planck ( $6,62 \cdot 10^{-34} J \cdot s$ ) e  $\nu$  a frequência em ( Hz) da radiação.

Na técnica de espectroscopia de fotoelétrons usam-se fontes monocromáticas. Tanto a técnica XPS quanto UPS tem como base o efeito fotoelétrico, que pode ser escrito por:

$$E_K = h\nu - W \quad (4.2)$$

onde  $E_K$  é a energia cinética do fotoelétron emitido e  $W$  é a função trabalho. Podemos fazer uma abordagem do efeito fotoelétrico para átomos e moléculas, basta apenas introduzirmos a energia de ligação para expressão:

$$h\nu = E_B + E_K \quad (4.3)$$

Neste caso assume-se que a energia total do fóton foi absorvida pelo átomo ou molécula no processo de fotoionização. Os fotoelétrons só serão produzidos caso  $h\nu \geq E_B$ . Essa expressão nos diz também que o excesso de energia será carregado pelo fotoelétron ejetado na forma de energia cinética e que esse excesso de energia é dado pela diferença entre a energia do fóton e a energia de ligação desse elétron no sistema.

### 4.3 Técnica de Multicoincidência

A técnica de multicoincidência nos permite correlacionar os fragmentos produzidos no evento de ionização. Com a técnica de espectroscopia de massas convencional, só conseguiríamos descrever os produtos da dissociação, sem entretanto, correlacionar estes eventos. Um espectro de massa simples ou PEPICO (*Photoelectron-Photoion-Coincidence*) relaciona a intensidade de cada íon gerado com seu respectivo tempo de voo em determinada energia do fóton. Esta técnica foi utilizada em nosso trabalho. Tem outras técnicas de coincidência como: Photoelectron-PhotoIon-PhotoIon-Coincidence – PEPIPICO ou PE2PICO [25] correlaciona coincidências entre um elétron e dois íons, PIPICO - Photoion-Photoion- Coincidence [26].

Nosso ponto de partida para uso da técnica PEPICO, é o espectro de tempo de voo - *Time of Flight* - (TOF). O mais simples analisador de massa por tempo de voo, consiste de uma região de extração, uma região de aceleração, o tubo de voo e um detector. Na região de extração, o campo elétrico é usualmente definido por uma voltagem que extrai os íons e elétrons após a ionização. Os íons são conduzidos a uma região em que são acelerados por um potencial. Por fim, entram no tubo voo, que tem campo elétrico  $\mathbf{E} = 0$ , atingindo, ao final

do seu percurso, o coletor de íons. De maneira oposta, os elétrons são dirigidos pelo campo de extração ao coletor de elétrons.

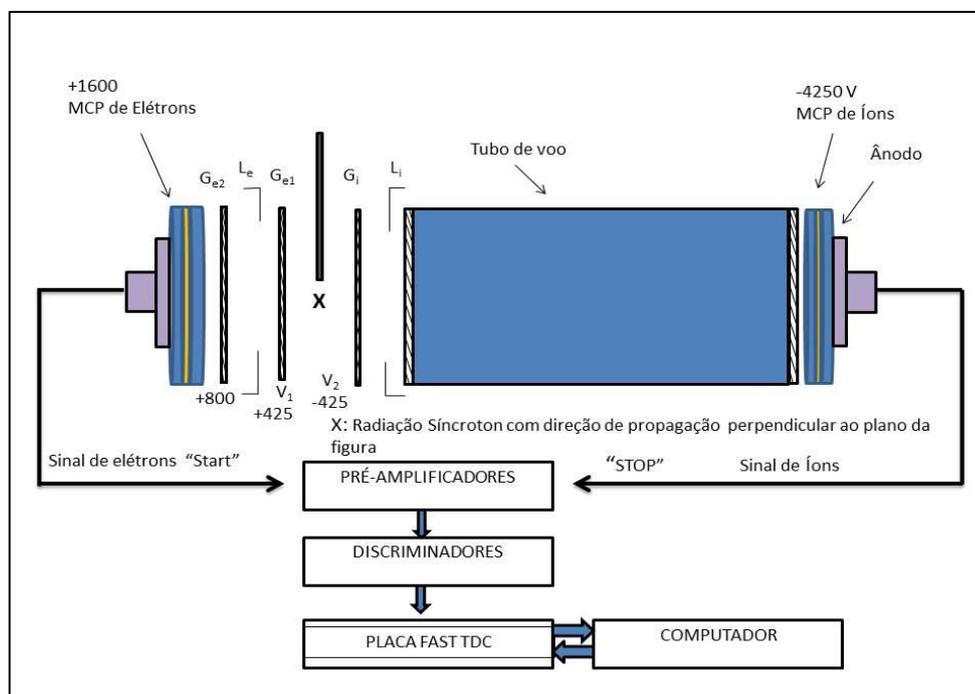


Figura 4.1: Esquema do espectrômetro de massa por tempo de voo montado para medidas de coincidência entre elétrons e íons.

Na Figura 4.1 temos duas grades de sinais oposto  $G_{e1}$  e  $G_i$ . Na grade  $G_{e1}$  são atraídos elétrons, já na grade  $G_i$  são atraído íons, entre essas duas grades fica a região de ionização, já o "X" que fica entre as duas placas indica a radiação síncrotron com direção de propagação perpendicular ao plano da Figura 4.1. Os íons e os elétrons são focalizados pelas lentes,  $L_i$  e  $L_e$ , respectivamente. Nesta mesma figura temos uma terceira grade  $G_{e2}$  que acelera os elétrons na região de aceleração. O elétron ao ser ejetado da molécula ele é atraído por um potencial elétrico positivo até o detector (*Multi Channel Plate*) MCP de elétrons localizado no mesmo plano do tubo de voo, mas em sentido oposto a ele. Todo elétron detectado na MCP de elétrons dispara um contador de tempo (Start). Quando um íon correspondente a este elétron é detectado no MCP de íons, o contador de tempo é parado ( Stop). Assim, é obtido o tempo de voo do íon [27, 36].

#### 4.4 A Equação de Tempo de Voo

Os íons podem ser formados na fase gasosa devido impacto de elétrons ou fótons. Independentemente do método de ionização, a carga  $q$  de um íon de massa  $m_i$  é igual a um número inteiro  $z$  de cargas elétricas  $e$ . A energia adquirida por este íon  $E_{el}$ , quando acelerado por uma voltagem  $U$  é dada por:

$$E_{el} = qU = eZU \quad (4.9)$$

Além disso, a energia potencial armazenada por íon num campo elétrico convertida em energia cinética  $E_c$ , isto é, num movimento translacional:

$$E_{el} = qU = \frac{1}{2}m_i v^2 = E_c \quad (4.10)$$

Assumindo que o íon estava inicialmente em repouso, o que é razoável em primeira aproximação, a equação 4.9 pode ser rearranjada de modo a obter-se:

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}} \quad (4.11)$$

isto é,  $v$  é inversamente proporcional a raiz quadrada da massa.

A partir da equação 4.10 podemos calcular o tempo de voo  $t_v$  de um íon ao passar por uma região de campo livre e distância  $s$ ,

$$t_v = \frac{s}{\sqrt{\frac{2ezU}{m_i}}} = \frac{s}{\sqrt{2U}} \sqrt{\frac{m_i}{q}} \quad (4.12)$$

Esta equação define uma relação unívoca do tempo de voo  $t_v$  com a razão  $\frac{m_i}{q}$ , bem como, mostra o tempo que o íon leva para atravessar o tubo de voo de distância  $s$ .

Para um espectrômetro que obedece as condições de Wiley-McLaren [28], a equação do tempo de voo total é dado por:

$$T_{m/q} = \alpha \sqrt{\frac{m}{q}} + \beta \quad (4.13)$$

A constante  $\alpha$  está ligada aos valores das distâncias e potenciais elétricos aplicados e  $\beta$  ao retardo temporal utilizado pela eletrônica envolvida na detecção. Para calibração de um espectrômetro tomam-se as razões  $m/q$  e tempos de voo  $T_{m/q}$  de um espectro conhecido, ajustando-se assim os valores das constantes  $\alpha$  e  $\beta$  [29].

#### 4.5 Dispositivo de Inserção da Amostra Gasosa

Para volatilizar a nossa amostra de cisteína que se encontrava em um estado sólido, utilizamos um forno. Adaptamos ele a câmara experimental. O forno é feito de um pequeno cano de aço inoxidável no qual a amostra sólida é colocada dentro. Nele é enrolado um fio resistivo que se aquece quando uma corrente é passada nele. Para evitar o contato elétrico entre o cano de aço inox e a resistência fizemos o seu isolamento com tubos cerâmicos que podem ser vistos na Figura 4.6. Em uma das extremidades do forno colocamos uma agulha de cobre, através dela é feita a inserção da amostra gasosa na câmara experimental. Fizemos a escolha do cobre para a agulha, por ele ser um bom condutor de calor, assim, o gás irá manter-se a mesma temperatura durante o seu trajeto. A temperatura do forno é medida por um termopar compatível com vácuo e que fica fixado na parte externa do forno.

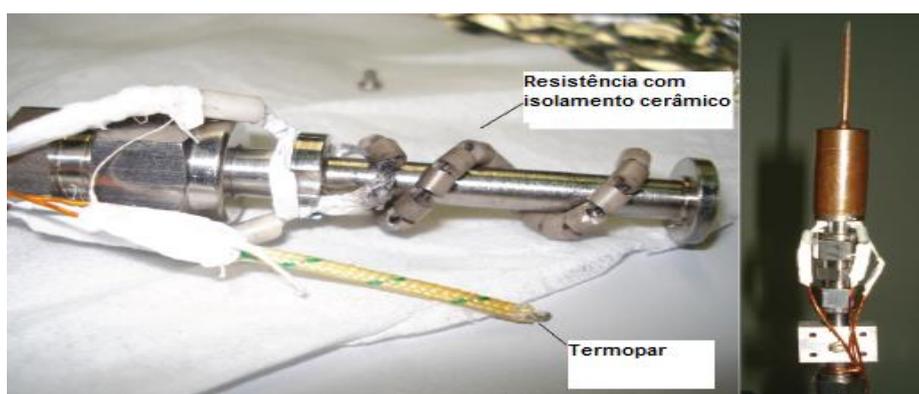


Figura 4.2.:A esquerda: Detalhe do forno utilizado nas medidas deste trabalho. A direita: A agulha acoplada ao forno.

## 4.6 Radiação Síncrotron

A luz síncrotron foi observada pela primeira vez de um feixe de luz proveniente do anel de armazenamento em um laboratório da General Electric em 1947 [30]. Após esse período, surgiram muitas pesquisas e avanços tecnológicos que destacaram a radiação síncrotron como uma ferramenta eficaz para as diversas áreas do conhecimento. Devido a sua grande importância, foram criados laboratórios exclusivos entre as décadas de 1960 e 1970. Estes laboratórios tinham como base ímãs de dipolo para produção de luz síncrotron, chamados de segunda geração. Já os laboratórios mais modernos, isto é, os de terceira geração, utilizam dispositivos de inserção mais modernos, tais como onduladores e wigglers, com esses dispositivos o feixe de elétrons fica altamente colimado e tem alto brilho.

A radiação síncrotron é produzida a partir da aceleração de partículas carregadas, tais como elétrons e outras partículas em orbitas circulares. Esses elétrons viajam com velocidades próximas a da luz ( $v/c \leq 1$ ). Estas partículas tem a sua trajetória curvada devido a presença de ímãs de dipolo, durante essa curvatura, elas emitem radiação eletromagnética, ver Figura 4.7. A radiação emitida está entre a faixa do infravermelho e de raios-X.

O formato do feixe é de um cone muito estreito na direção de propagação dos elétrons. Sendo que seu ângulo de abertura é de aproximadamente  $2\gamma^{-1}$  onde:

$$\gamma = \frac{E}{m_0 c^2} \quad (4.20)$$

o termo  $E$  representa energia total e o termo  $m_0 c^2$  a energia da massa de repouso dos elétrons. Na prática, pacotes de elétrons viajam pelo anel de armazenamento, assim, podemos escrever a potência total radiada como sendo:

$$P_{tot}[kW] = 8.85 \cdot 10^{-2} \frac{E^4[GeV]}{R[m]} \cdot I[mA] \quad (4.21)$$

esta não é a potência total emitida em uma energia por comprimento de onda, e sim, a espalhada por todo espectro emitido.

A partir das equações da eletrodinâmica clássica podemos obter as equações que caracterizam a radiação síncrotron, relacionado a partículas carregadas em movimento relativístico circular. A potência total radiada ( $P_{tot}$ ) é um importante parâmetro do anel de

armazenamento. Podemos assumir que para  $N$  elétrons a intensidade de radiação é igual a  $N$  vezes a de um único elétron. Temos que, a potência total radiada de cada elétron, quando desviado por um campo magnético  $\mathbf{B}$ , é dada por:

$$P = \frac{2e^2}{3R^2} (\beta\gamma)^4 \quad (4.22)$$

o termo  $e$  representa a carga do elétron,  $c$  a velocidade da luz e  $R$  o raio de curvatura do magneto de dipolo, já o termo  $\beta$ , é igual a  $(v/c)$  onde  $v$  representa a velocidade do elétron e  $c$  a velocidade da luz, que é aproximadamente 1.

Chamamos de radiação síncrotron a energia eletromagnética emitida por partículas carregadas com velocidades relativísticas. As principais características da radiação síncrotron são:

- sua alta intensidade e a ampla faixa espectral de energia, indo do infravermelho até os raios-X duros;
- a radiação síncrotron é extremamente colimada, linearmente polarizada no plano da órbita e elipticamente polarizada abaixo e acima do plano;
- pode ser emitida de modo pulsado (estrutura temporal formada por pulsos bem curtos com intervalos da ordem de aproximadamente 311 ns) a partir da aceleração periódica de pacotes de elétrons.

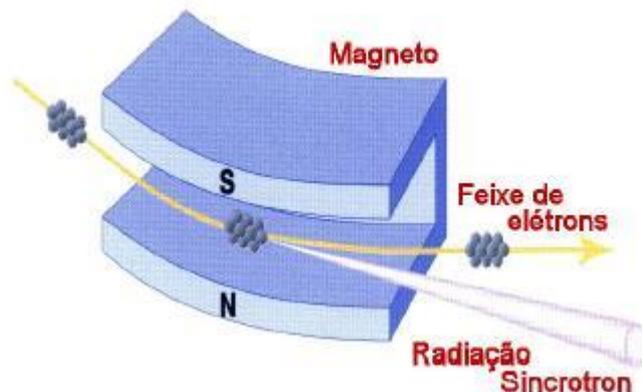


Figura 4.3 : Esquema do processo de emissão de radiação síncrotron por elétrons relativísticos na presença de um campo magnético.

## 4.7 Laboratório Nacional de Luz Síncrotron

O Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), inaugurado em 1997, é considerado um laboratório de segunda geração. Este laboratório é aberto a usuários do Brasil e do exterior. A boa infraestrutura dá condições aos cientistas realizarem pesquisas com alto nível de competitividade internacional. O laboratório é mantido por recursos federais. O LNLS possui 16 linhas de luz com estações experimentais instaladas na fonte de luz síncrotron. As instalações ficam no hall experimental, onde são realizados os experimentos, que contribuem para o conhecimento em Física, Química, Biologia e Engenharia de Materiais, etc [31].



Figura 4.4 : Foto do Hall Experimental.

O Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), fica em Campinas, suas linhas de luz são utilizadas por diversos pesquisadores brasileiros e estrangeiros em busca de novos conhecimentos sobre átomos e moléculas [31].

O LNLS possui um canhão de elétrons, estes são injetados em um acelerador linear (LINAC) com 18 m comprimento, até uma energia de 120 MeV. Depois de acelerados pelo LINAC, eles são injetados em um acelerador circular (BOOSTER), com 34 m de perímetro, até atingirem 500 MeV, após atingir essa energia eles são injetados no anel de armazenamento (Storage Ring). No anel de armazenamento os elétrons são novamente acelerados, até atingir a energia de operação 1,37 GeV, quando passam a orbitar pelo anel. A corrente nominal dos elétrons, atingida após a injeção, é de aproximadamente 200 mA. Para este valor de corrente, a perda de energia por ciclo nos dipolos é de 114 KeV, e a potência

total irradiada nos dipolos é 11,4 KW. O tempo de vida do feixe é de aproximadamente 15 horas. O anel de armazenamento possui três possíveis modos de operações: os modos de emissão alto, normal e baixo. Os parâmetros listados são característicos do modo normal de operação.

O anel de armazenamento de elétrons tem 29,7 m de diâmetro e 93,2 m de comprimento. Este anel possui: uma câmara de vácuo, onde os elétrons circulam, mantida entre  $10^{-9}$  e  $10^{-11}$  mbar; 6 seções retas, ligadas entre si através de eletroímãs, responsáveis por curvar a trajetória do feixe no acelerador, fazendo com que a radiação seja gerada; uma cavidade de radiofrequência que pode acelerar ou repor a energia perdida pelos elétrons na forma de radiação. Além dos dipolos responsáveis por curvar a trajetória do feixe, outros dipolos, quadropolos e sêxtuplos são usados com o intuito de ajustar e focalizar a posição do feixe no anel e manter o feixe em órbita.

#### 4.8 Linha TGM

A radiação síncrotron tem um amplo intervalo espectral o permite a seleção de uma determinada faixa do espectro emitido. Isso só é possível, devido ao conjunto de instrumentos óticos, tais como: monocromadores, espelhos e grades de difração que compõem a linha de luz. Estes instrumentos além de selecionar a energia dos fótons, eles filtram e focalizam uma faixa de energia de fótons desejada.

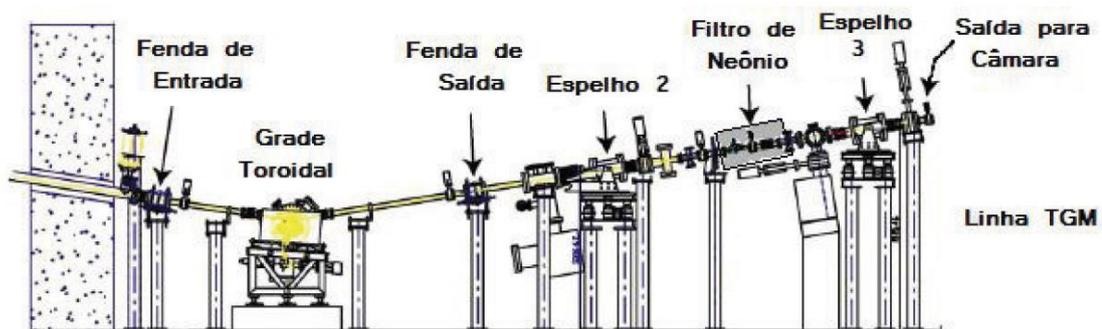


Figura 4.5 : Esquema de configuração da linha TGM. Adaptada da referência [32].

No Laboratório Nacional Luz Síncrotron (LNLS) a linha de luz TGM foi a primeira a ser colocada em operação. Essa linha de luz opera na faixa do ultravioleta aos raios X moles. Ela fornece fótons com energia variando de 7,4 a 310 eV (os valores atualizados no período da redação do presente texto, nas medidas realizadas a energia mínima era de 10,8 eV).

A linha TGM, fig. 4.9, possui espelhos toroidais, utilizados para focalizar o feixe, e um monocromador composto de três grades de difração toroidais, que tornam possível selecionar três faixas distintas de energia. Dois espelhos E2 e E3 que focalizam o feixe no centro da câmara experimental. Nessa linha de luz se construiu um filtro de harmônicos entre os espelhos E2 e E3. Na próxima seção falaremos com mais detalhes sobre o filtro de harmônicos.

#### 4.8.1 Filtro de Harmônicos

A radiação síncrotron tem vários comprimentos de ondas. Quando um feixe de luz com diversos comprimentos de onda atravessa uma grade de difração, esse feixe pode emergir em alguns ângulos com energias  $h\nu$ ,  $2h\nu$ ,  $3h\nu$  e assim por diante. A linha de luz TGM possui um filtro de gás, que consiste de uma seção reta preenchida de gás e separada das outras partes da linha de luz por bombeamento diferencial. Assim que a radiação passa pelo filtro, fótons de energias superiores 21,54 eV são absorvidos, já os que possuem energias mais baixas que essa atravessam o filtro e chega a estação experimental. Essa energia de 21,54 eV corresponde a borda de absorção do gás Ne. Com esse filtro, obtemos medidas mais confiáveis, pois não existem os harmônicos superiores.

#### 4.8.2 Câmara Experimental

Para obtenção de nossas medidas utilizamos a técnica experimental de Espectroscopia de Massa por Tempo-de-Voo (*Time of Flight-TOF*) com Coincidência Fotoelétron-Fotoíon (PEPICO), a câmara rotativa da Figura 4.8. Na câmara rotativa tem um espectrômetro do tipo TOF. o espectrômetro foi mantido no ângulo de 54.7.

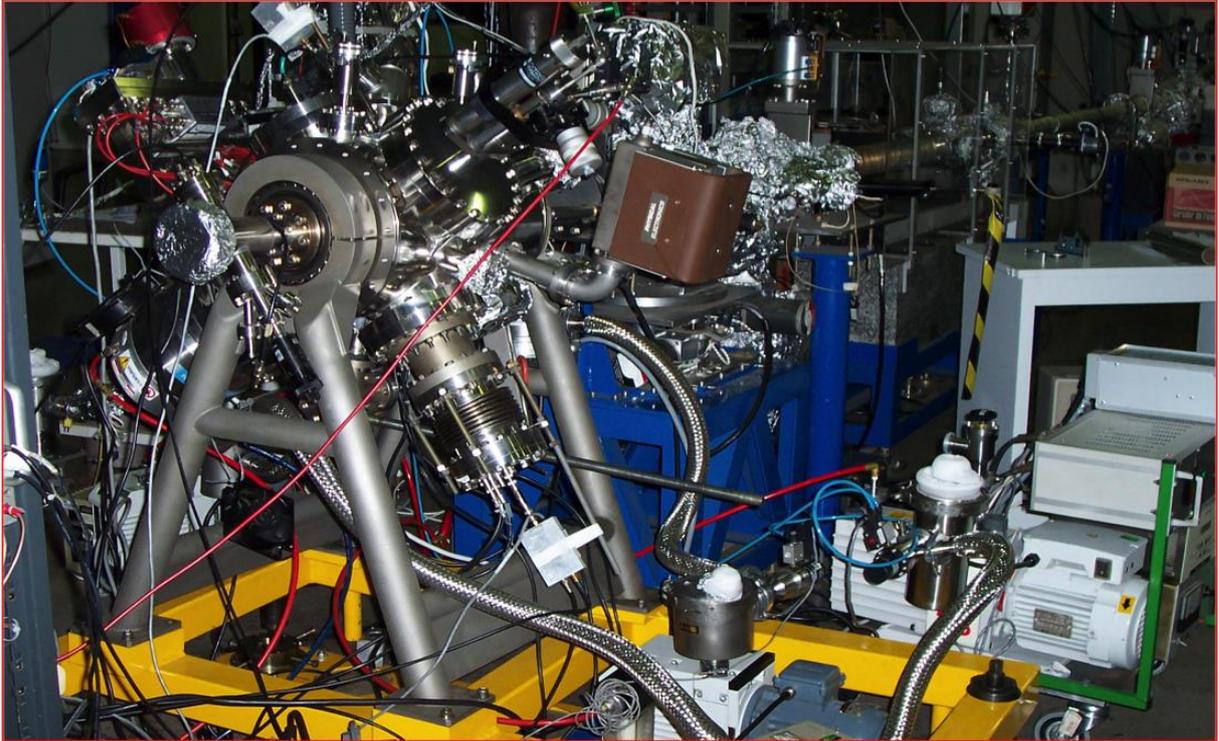


Figura 4.6: Câmara Experimental da linha de Luz TGM: Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS).

## 4.9 Espectroscopia de Líquidos

Compreender a natureza das reações químicas que ocorrem em superfícies líquidas constitui uma área de pesquisa que desperta interesse em diversos campos, incluindo geologia, química atmosférica, catálise, e biologia. Para a compreensão da química de superfície de um líquido é necessário um conhecimento detalhado da própria superfície deste líquido. No entanto, apesar da enorme quantidade de dados termodinâmicos acumulados para superfícies líquidas de solventes puros e soluções binárias, uma descrição microscópica abrangente de interfaces líquido/vapor permanece indefinida [33].

Uma condição muito importante que deve ser satisfeita para que a espectroscopia de líquidos seja possível é que para que os fotoelétrons consigam sair da superfície e alcançar o espectrômetro o produto da pressão de vapor  $P$  pela espessura da camada de vapor  $d$ , deve satisfazer a seguinte equação:

$$Pd = \int_{R_{jato}}^{R_{espec}} P(r)dr = P_0 R_{jato} (\ln R_{espec} - \ln R_{jato}), \quad (4.23)$$

onde  $R_{jato}$  é o raio do jato,  $R_{espec}$  é a posição radial da entrada do espectrômetro medido do centro do jato, e  $P_0$  é a pressão de vapor de equilíbrio local correspondente na superfície do jato. Para evitar o espelhamento inelástico no vapor em medidas de espectroscopia UPS, a espessura efetiva da camada de vapor é igual a  $P \cdot d \leq 0,10$  Torr mm ( $1,3 \times 10^1$  Pa mm). Isso corresponde a  $R_{espec} < 1$  mm e  $R_{jato} < 5$   $\mu$ m. Estes valores equivalem a limitar a pressão de vapor da superfície do líquido a  $P_0 \leq 0,30$  Torr ( $4,0 \times 10^1$  Pa), o que é muito menor que o valor de pressão de vapor da água, por exemplo, que é igual a 4,6 Torr ( $6,1 \times 10^2$  Pa) a 273K.

Para amostras livres de colisão em superfícies líquidas o diâmetro do jato  $d_{jato}$  deve ser menor que o livre caminho médio  $\lambda_{gas}$  das moléculas de gás no equilíbrio térmico correspondente:

$$d_{jato} < \lambda_{gas} \quad (4.24)$$

Jatos de líquido da ordem de poucos microns de diâmetro são necessários para conseguir manter a pressão de trabalho da ordem de  $1 \times 10^{-6}$  mbar ( $1 \times 10^{-3}$  Pa), fazendo com que uma área relativamente pequena do líquido esteja exposta ao vácuo. Jatos muito pequenos (10  $\mu$ m) permitem ter uma quantidade de vapor de líquido pequena dentro da câmara experimental e então ser possível fazer vácuo. A vazão ou quantidade de água por segundo colocada no vácuo,  $V_{liq}$ , é dada pelo produto da velocidade pela área [34]:

$$V_{liq} = v \cdot A = v \pi r^2 \quad (4.25)$$

Pelo princípio de Bernoulli, a velocidade de um líquido escoando em fluxo contínuo é dada por:

$$v = \sqrt{\frac{2p}{\rho}} \quad (4.26)$$

A quantidade de vapor saindo do micro-jato com o tempo,  $V_{evap}$ , pode ser estimada considerando-se a quantidade de calor transferida na mudança de fase de água para vapor,  $Q_{evap}$ :

$$Q_{evap} = \alpha V_{evap}, \quad (4.27)$$

onde  $\alpha$  é o calor de vaporização.

O calor total retirado do líquido, ao esfriá-lo,  $Q_{liq}$ , é dado por:

$$Q_{liq} = c_p V_{liq} (T_f - T_i), \quad (4.28)$$

onde  $c_p$  é a capacidade térmica. Como as quantidades de calor são iguais,  $Q_{evap} = Q_{liq}$ , podemos escrever a partir das expressões do calor, para uma variação de 20 K na temperatura da água, e usando os valores tabelados de  $\alpha$  e  $c_p$  da água,  $V_{evap}/V_{liq} = 4\%$ .

Podemos usar as expressões 4.25 e 4.26 para estimar a quantidade de água colocada no vácuo por tempo. Para um jato de água ( $\rho = 1,00 \times 10^3 \text{ Kg/m}^3$ ) de 10  $\mu\text{m}$  pressurizado a 725 psi (5,00 MPa), obtém-se  $v = 100 \text{ m/s}$  e a quantidade de água colocada no vácuo será  $V_{liq} = 28,3 \text{ cm}^3/\text{h}$  (28,3 ml/h). Então a quantidade de vapor saindo do micro-jato com o tempo,  $V_{evap} = 1,13 \text{ cm}^3/\text{h}$  (1,13 ml/h), que é uma quantidade mínima tornando possível a espectroscopia de amostras líquidas.

A pressão alta de injeção do líquido, da ordem de mega Pa, e o diâmetro muito pequeno do capilar são necessários para se ter um espaço para medidas, depois que o líquido sai do capilar, da ordem de 1 mm, depois disso o líquido forma gotículas e se esfria muito devido à baixa pressão. Também, é necessário para que a quantidade de vapor ao redor do jato de líquido seja pequena para que se possa fazer espectroscopia sem interferência do vapor, ou seja, para que o elétron não sofra espalhamento inelástico.

O estudo em superfícies na fase líquida ainda é muito recente. Para se estudar estas superfícies foi necessário a implementação de um novo aparato experimental. A câmara experimental foi projetada pela equipe do Laboratório de Espectroscopia Eletrônica da UnB, conforme esquema da Figura 4.7. Ela é equipada com um espectrômetro TOF, e preparada para líquidos e assim possibilitando fazer medidas em vácuo. Pode-se observar no esquema

da Figura 4.7 a armadilha de N<sub>2</sub> líquido fica oposta a flange para a conexão do bico de micro-jato. Nela o líquido congelado será armazenado. Dentro da câmara se trabalha a uma baixa pressão que é alcançada por bombas turbo. O espectrômetro TOF é posicionado no ângulo de 54,7° com o feixe de luz incidente.

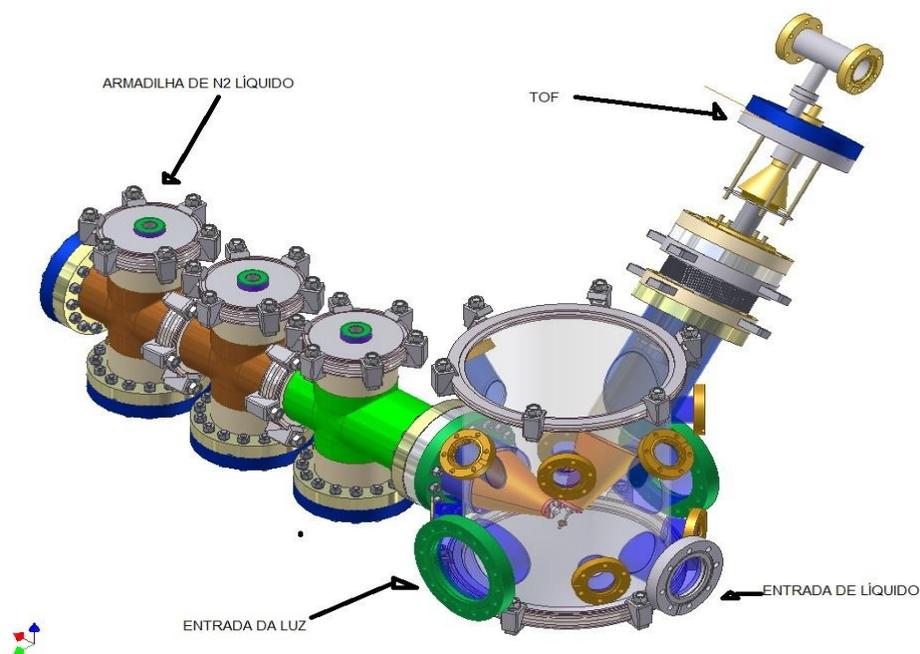


Figura 4.7: Esquema da câmara experimental para líquido.

#### 4.10. Micro-Jato para Líquidos

Todas as técnicas espectroscópicas descritas neste capítulo requerem sistemas em vácuo tornando-as muito difíceis de serem aplicadas a líquidos dentro dos procedimentos convencionais. Contudo, desenvolvimentos recentes de técnicas de micro-jatos têm tornado estes estudos factíveis. Na técnica de micro-jatos o líquido é pressurizado (pressões de aproximadamente 50 bar) e direcionado por um bico de quartzo com diâmetro interno da ordem de poucos microns, que o injeta no interior de uma câmara de vácuo. O líquido é expelido a uma velocidade muito alta, permitindo que as medidas sejam feitas em fase líquida próximas a saída do bico. A alta pressão é dada por uma bomba de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography* - Cromatografia Líquida de Alta Precisão), com pressões da ordem de 0 a 6.000 psi (0 a 41,37 MPa). A bomba HPLC utilizada é o modelo Waters 510 da marca Millipore. Um pouco mais distante do bico, o jato se separa em pequenas gotas que são

congeladas devido ao resfriamento por evaporação, possibilitando estudos em misturas congeladas.



Figura 4.8: Foto do micro-jato líquido que já está em funcionamento com um espectrômetro de elétrons e está montado no LNLS, ver referência [3]

## Capítulo 5 Resultados e Discussão

### 5.1. Foto-fragmentação da Cisteína

Nesta secção discutiremos a foto-dissociação do aminoácido Cisteína na região de valência medida com a técnica de multico incidência, no caso, PEPICO que é a coincidência entre o elétron e íon gerados no mesmo evento, usando-se a espectroscopia de massa por tempo de voo. Apresentaremos os espectros de TIY ( produção total de íons) e PEPICO-TOF.

Poucos estudos foram realizados na região de valência da cisteína recentemente. Por outro lado, inúmeros trabalhos são encontrados na literatura recente na região de RX, ou seja, para os orbitais mais internos da cisteína. A cisteína, dentre todos os 20 aminoácidos, é a que está se mostrando mais promissora na junção de metal com moléculas orgânicas. Essa junção poderá gerar o surgimento de diversos dispositivos que agregam essa interface metal/molécula orgânica, que poderão ter aplicações em eletrônica, óptica e biotecnologia. A Cisteína, devido a seu grupo tiol pode se ligar a moléculas biológicas maiores, como DNA, aumentando as possibilidades de aplicações desses dispositivos.

Como a amostra é em pó e a espectroscopia é realizada em fase gasosa, utilizamos um forno, descrito previamente na seção 4.6. A amostra de cisteína foi comprada da companhia Sigma-Aldrich com 97% de pureza. A amostra foi aquecida lentamente até a temperatura por volta de 100 °C, tomando-se os cuidados necessários para não degradá-la [45]. As medidas foram realizadas com a câmara rotativa acoplada à linha de luz TGM do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, ambas, descritas em detalhe no capítulo 4, seções 4.2 e 4.3. A pressão de fundo da câmara rotativa era de aproximadamente  $10^{-8}$  mbar, e a pressão de trabalho de  $10^{-6}$  mbar durante todo o experimento. Obtivemos diversos espectros de tempo de voo na região de 11,20 até 21,54 eV, em 11, 13, 15, 17, 19 e 21 eV. Começamos todas as medidas com a energia mínima de 11,20 eV, que é o limite inferior de energia da linha TGM, então devido ao filtro de harmônico com gás de Neônio da linha TGM, o primeiro harmônico surge apenas em 22,40 eV. Toda contaminação de harmônicos superiores é absorvido pelo Neônio para a radiação acima de 21,54 eV. Os sinais medidos são registrados pelo sistema de aquisição de dados por uma placa conversora tempo-digital com ultra resolução de 1 ns entre os íons que chegam, fabricada pela FASTComTec, modelo P7886s [33, 38]. Eles são mostrados no computador em forma de espectros de simples coincidência, PEPICO, ou de massa e espectros de produção parcial e total de íons, PIY e

TIY. Vários conjuntos de dados são coletados para possibilitar o tratamento e a análise de resultados. Os espectros são obtidos e analisados com o programa gráfico Igor Pro produzido pela Wavemetrics [39].

Um espectro de massa ou PEPICO relaciona a intensidade de cada íon gerado com seu respectivo tempo de voo em determinada energia do fóton. A área relativa dos picos reflete a abundância relativa de cada íon e a largura é proporcional à energia cinética liberada ( $KER - Kinetic Energy Released$ ) na quebra da molécula. O íon molecular ou íon pai, como é chamado, não tem energia cinética liberada porque não se fragmenta. Então, a largura deste pico reflete a resolução instrumental e o alargamento Doppler, que é devido ao movimento térmico das moléculas. Após a conversão do tempo de voo, a abscissa do espectro é dada normalmente pela razão de massa por carga,  $m/q$ , dos íons criados. Na Figura 5.1 podemos ver o espectro PEPICO da cisteína na energia de 19 eV. Nesse espectro o eixo x é dado na razão massa/carga do íon em unidades de massa atômica (u.m.a.) que nos permite identificar o íon formado, e o eixo y nos dá a intensidade, ou seja, a abundância com que o respectivo íon é produzido. No espectro identificamos os picos mais abundantes e os descreveremos em mais detalhes no decorrer deste capítulo.

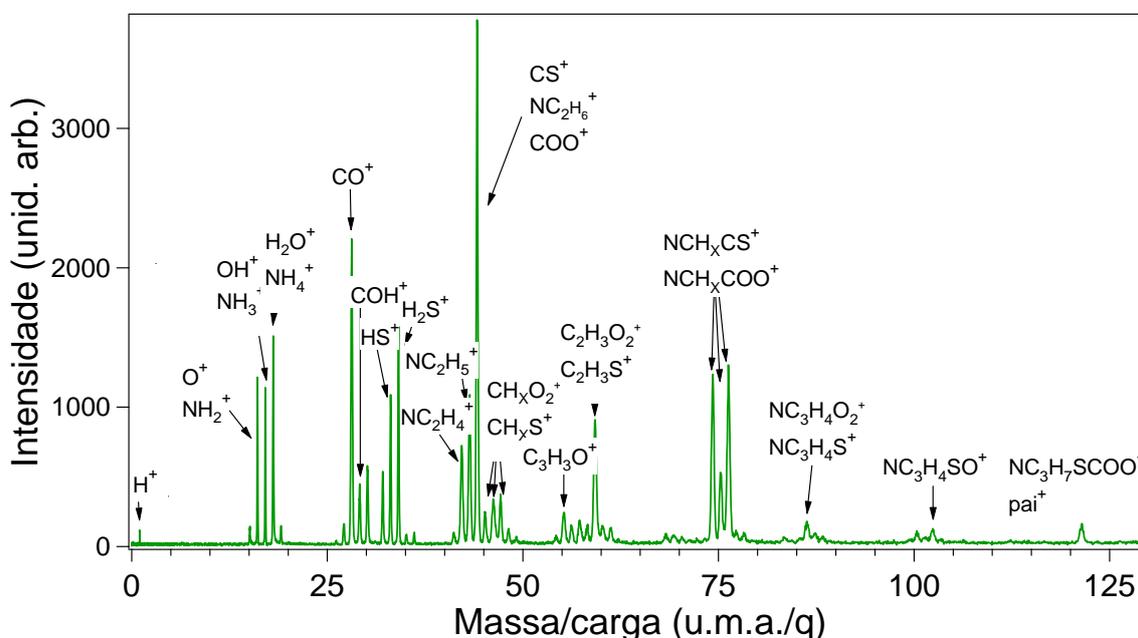


Figura 5.1: Espectro PEPICO da cisteína,  $C_3H_7NO_2S$ , na região de valência com fótons de energia de 19 eV.

Na Figura 5.2 colocamos os espectros PEPICO da cisteína para todas as energias estudadas para uma melhor comparação de como os fragmentos se formam em função da energia do fóton. O primeiro espectro em amarelo na parte superior da Figura corresponde a energia de 11 eV e vai decrescendo de 2 em 2 eV até chegar em 21 eV que é o último espectro em rosa na parte inferior da figura. Os espectros foram truncados na massa/carga de 80 u.m.a para ficar melhor a visualização dos espectros. Podemos observar que há um padrão muito semelhante entre 11, 13 e 15 eV e que muda para energias maiores, que também mantêm um padrão de fragmentação muito parecido para as energias de 17, 19 e 21 eV. Para as energias menores os fragmentos 76, 75 e 74 ( $C_2H_xNO_2^+$ ,  $C_2H_xNS^+$ ), 34 ( $H_2S^+$ ), 17 ( $NH_3^+$ ) e 18 ( $H_2O^+$ ,  $NH_4^+$ ) são os que aparecem com mais intensidade. Para as energias maiores que 17 eV todos os outros fragmentos são formados.

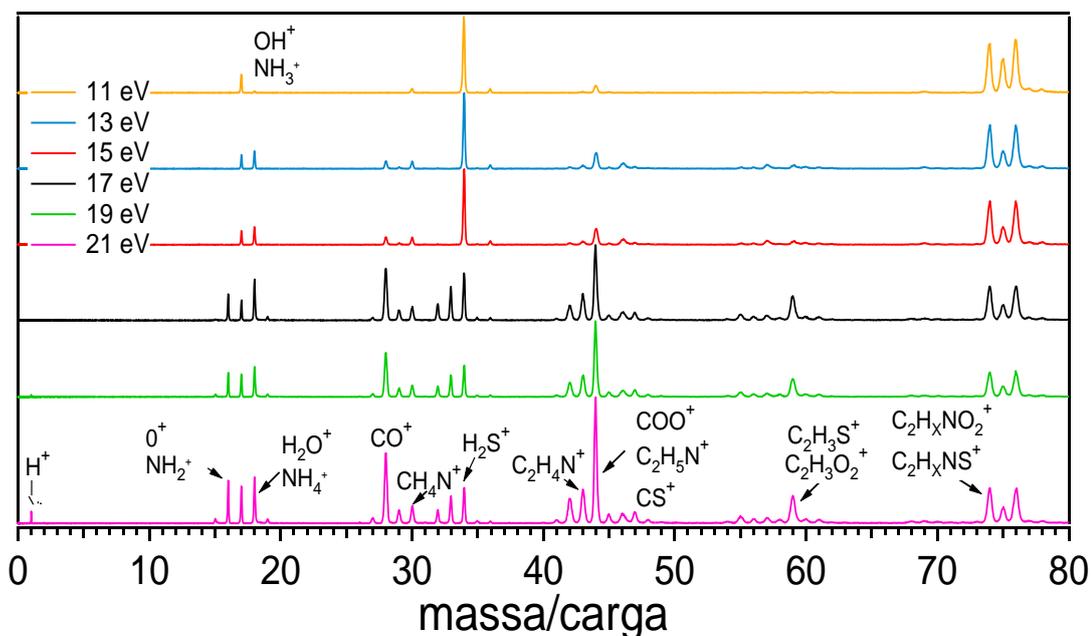


Figura 5.2: Espectros PEPICO da molécula cisteína para energias de 11 (superior amarelo) a 21 eV (inferior rosa) de 2 em 2 eV. Os picos mais intensos são identificados no espectro de 21 eV.

Para cada pico do espectro de PEPICO calculamos as intensidades relativas e máximas. As áreas foram obtidas fitando-se uma Gaussiana para cada pico com o procedimento *Multi-peak fitting* do programa computacional Igor. Os erros foram obtidos do *fitting* das áreas de cada pico e propagados no cálculo das intensidades relativas e máximas. A intensidade relativa é definida como  $I_{rel} = (A_{pico}/A_{total}) * 100$ , sendo que  $A_{pico}$  representa a área sob o pico correspondente e  $A_{total}$  a soma das áreas de todos os picos considerados no cálculo. A intensidade máxima é definida como  $I_{max} = (A_{pico}/A_{pico\ max}) *$

100, sendo que  $A_{pico}$  representa a área sob o pico correspondente e  $A_{pico\ max}$  a área do pico com maior área. As tabelas com as intensidades relativas e máximas e seus respectivos erros para todos os picos com área maior que 1% estão listadas no Apêndice 1. Aqui, para facilitar a discussão e a visualização dos resultados apresentamos apenas a Tabela 1 que mostra a intensidade relativa de todos os picos com área maior que 2 % para todas as energias estudadas. Essa tabela será discutida ao longo desse capítulo.

Tabela1: Intensidade relativa de todos os picos com área maior que 2 % para as energias de 11 a 21 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |   |       |       |       |       |       |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|
|   | 11 eV                                     | 13 eV | 15 eV | 17 eV | 19 eV | 21 eV |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas (%)</i> |       |       |       |       |       |
| 16  | -   | -     | -     | 2,7   | 3,2   | 3,5   |
| 17  | 4,2                                       | 2,6   | 2,7   | 2,2   | 3,1   | 3,2   |
| 18  | -   | 3,9   | 4,1   | 5,6   | 4,9   | 4,7   |
| 28  | -   | 2,4   | 2,5   | 11,9  | 10,9  | 10,9  |
| 29  | -   | -     | -     | 2,1   | -     | -     |
| 30  |   |       | 2     | 2,6   | 2,5   | 2,4   |
| 32  | -   | -     | -     | 2,7   | -     | 8,9   |
| 33  | -   | -     | -     | 4,8   | 3,5   | 2,9   |
| 34  | 20,9                                      | 18,3  | 18,9  | 6,9   | 4,9   | 3,6   |
| 42  | -   | 0     | -     | 3,9   | 4,2   | 4,7   |
| 43  | -   | 0     | -     | 6,2   | 5,9   | 5,7   |
| 44  | 2,8                                       | 6,2   | 6,5   | 14,8  | 15,3  | 15,8  |
| 46  | -   | 2,9   | 3     | 2,8   | 2,4   | -     |
| 59  | -   | 0     | -     | 6,3   | 5,6   | 5,2   |
| 74  | 18,5                                      | 15,7  | 16,1  | 7,7   | 6,1   | 5,6   |
| 75  | 12,5                                      | 7,1   | 7,2   | 3,4   | 2,6   | 2,5   |
| 76  | 20,3                                      | 16,9  | 17,4  | 8,6   | 6,6   | 6,1   |
| 121   | 5,6                                       | -     | -     | -     | -     | -     |

A Figura 5.3 abaixo mostra o espectro de produção total de íons – TIY resultante da ionização e fragmentação da cisteína. Espectros TIY representam a soma das contribuições

de todos os íons em função da energia do fóton. Ou seja, eles mostram a soma das intensidades registradas nos espectros de massa para todos os íons que foram relacionados no início da aquisição da medida TIY. Devido à utilização do filtro de Ne a intensidade de absorção sofre uma queda brusca na energia de absorção do Ne em 21,54 eV que pode ser visualizada na Figura 5.3. Esses espectros foram normalizados pelo tempo de aquisição, pela pressão da amostra e pela corrente do fotodiodo, que é proporcional a intensidade da luz. Eles foram calibrados pela energia de absorção do Neônio (Ne), que é de 21,54 eV, responsável por filtrar os harmônicos superiores da linha de luz TGM.

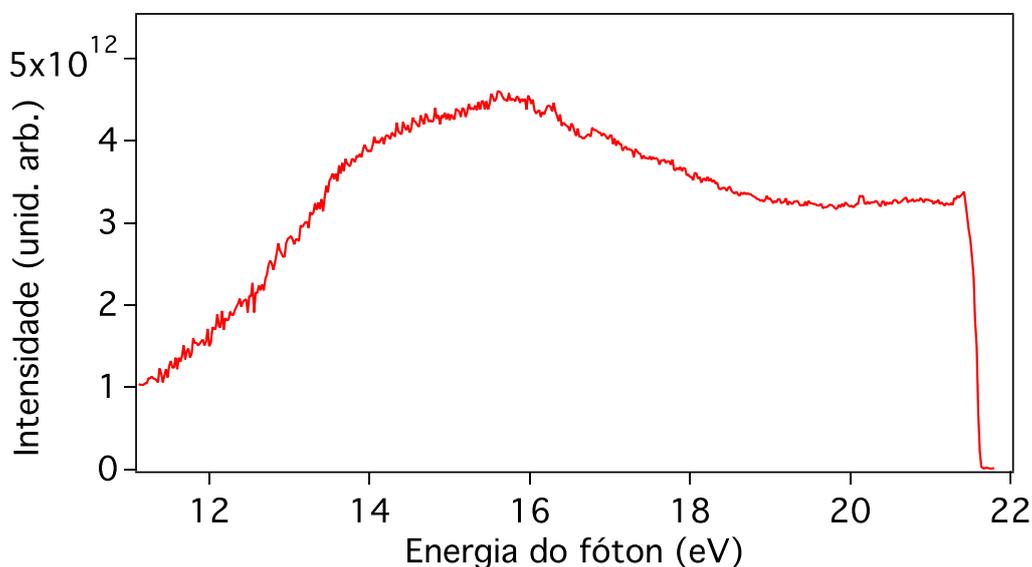


Figura 5.3: Produção total de íons (TIY) da cisteína de 11,20 a 21,80 eV de energia de fóton, obtido com um passo de 0,02 eV. Espectro calibrado em energia pela absorção do gás Ne em 21,54 eV e normalizado pela corrente de fótons, pela pressão de gás e pelo tempo de aquisição.

Podemos observar que o espectro de absorção não apresenta estruturas finas, somente uma estrutura larga que cresce com a energia do fóton até por volta de 16 eV e depois decresce lentamente até aproximadamente 19 eV e acima disso se estabiliza. Nos espectros de PEPICO da Figura 5.2 observamos que para energias menores que 17 eV a molécula se fragmenta menos do que para energias maiores, concordando com o comportamento da curva de TIY da Figura 5.3. Isso é uma indicação que para energias menores que 16 eV os estados eletrônicos ionizados são menos repulsivos ou pré-dissociativos que os para maiores energias. Como a primeira energia vertical de ionização, é

de 9,06 eV para a conformação mais estável da cisteína [40], está abaixo do início de nosso espectro, não podemos determiná-la aqui.

Usando um modelo, o mais simples possível, pode-se esperar um aumento na produção de íons cada vez que um novo estado iônico é alcançado. Portanto, quando o primeiro estado iônico é atingido, o íon pai começa a ser produzido. A produção dos outros íons podem ou não coincidir exatamente com a energia de ionização de outros estados, identificados no espectro de PES. Se o estado iônico tem um canal de dissociação levando diretamente a produção dos íons observados, então haverá uma coincidência. Nos estados ligados, entretanto, excitações para estados vibracionais mais baixos dentro da região de Franck-Condon levarão a produção do pico do íon molecular inicialmente. Aumentando-se a energia do fóton pode-se alcançar estados vibracionais mais altos, os quais podem dissociar ou pré-dissociar, levando a formação dos outros fragmentos menores. Estas mudanças no padrão de fragmentação irão influenciar o espectro de PIY, mas não o de TIY. Portanto, no espectro de TIY, um degrau maior ou menor será observado cada vez que um novo estado iônico é alcançado. O tamanho do degrau dependerá da seção de choque do estado. Do espectro de fotoelétrons (PES) pode-se determinar a posição em energia de cada estado iônico e também sua denominação. Pela presença de progressões vibracionais no espectro PES é possível determinar quais estados são ligados dentro da região de Franck-Condon. Também, se um certo modo vibracional é excitado predominantemente, pode-se inferir que produtos podem ser mais ou menos produzidos. Procuramos espectros de PES da valência da Cisteína e não encontramos nenhum. Encontramos muitos cálculos da cisteína e de outros aminoácidos, basearemos nossa análise nestes cálculos [11, 14, 15, 41]. Para facilitar o estudo, os dados apresentados na Fig. 5.4 serão utilizados, e foram retirados da Ref. [11]. Na Figura 5.4 podemos observar que o orbital HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) é o orbital SH e o segundo pico é formado por orbitais referentes ao COOH e ao NH<sub>2</sub>. Podemos observar também que o COOH domina em todo o espectro com exceção do primeiro pico onde a dominância é do orbital SH.

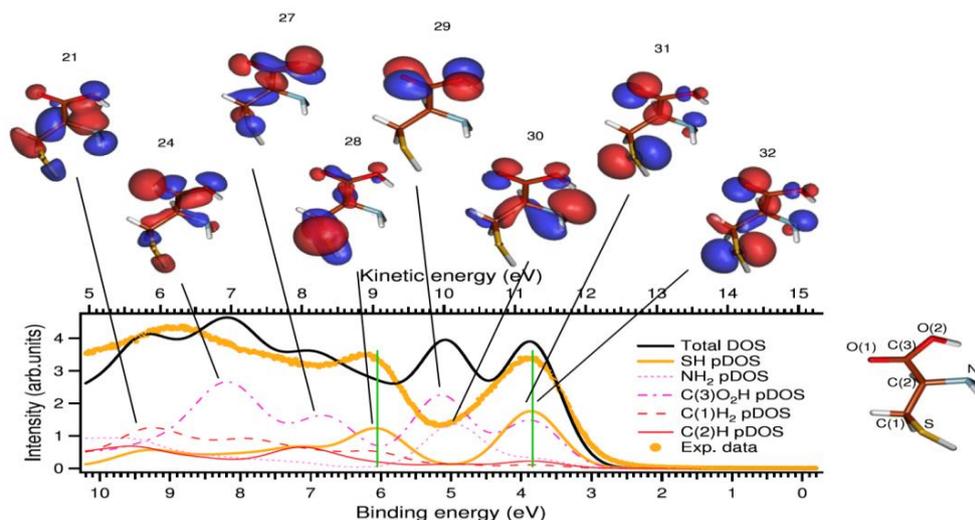


Figura 5.4: Espectro de absorção da cisteína mostrando com pontos amarelos a medida experimental de MDS (espectroscopia de desexcitação metaestável), em preto o cálculo da densidade total de estados e as outras curvas são as densidades parciais de estados para cada grupo de orbital em função da energia de ligação no eixo de baixo (energia cinética no eixo de cima) [11].

S. Simon et al. [15] calcularam a fragmentação e a estrutura da glicina, alanina, serina e cisteína. Para todos os sistemas a perda do COOH é o processo mais favorável. E encontraram também que quando o radical cresce em tamanho a quebra em R neutro (HSCH<sub>2</sub>) e R<sup>+</sup> torna-se um canal de fragmentação competitivo ao COOH. Este resultado é confirmado no trabalho teórico de Zhao et al. [18]. Eles calcularam que a perda de um radical neutro é o que acontece com menor energia em comparação a perda de um íon [18]. E a perda mais favorável (mais baixa em energia) é do radical COOH resultando no íon H<sub>2</sub>NCHCH<sub>2</sub>SH<sup>+</sup> que tem m/z 76 e é um dos mais abundantes no nosso espectro de massa. O segundo mais favorável é a perda do HSCH<sub>2</sub> gerando o H<sub>2</sub>NCHCOOH<sup>+</sup> com m/z 74, tendo um pico de intensidade comparável ao do 76. O que está de acordo com orbitais calculados na Figura 5.4 [11].

Tabela 2: Energia interna de reação ( $\Delta U_{0K}$ ) para a decomposição unimolecular da CYS e seu radical catiônico (kcal/mol). R=CH<sub>2</sub>SH, retirada da Ref. [14].

|     | $GX^{0+} \rightarrow G^+ + X^0$  | CYS  |
|-----|--|------|
| (1) | $[\text{NH}_2\text{CHRCOOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CHR}]^+ + \text{COOH}^0$ | 22.4 |
| (2) | $[\text{NH}_2\text{CHRCOOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CHCOOH}]^+ + \text{R}^0$ | 29.9 |

|  |  |       |
|--|--|-------|
| (3)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CR}\text{COOH}]^+ + \text{H}^0$ | 31.8  |
| (4)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{CHR}\text{COOH}]^+ + [\text{NH}_2]^0$      | 45.6  |
| $\text{GX}^{0+} \rightarrow \text{G}^0 + \text{X}^+$ |  | CYS   |
| (5)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CH}\text{COOH}]^0 + \text{R}^+$ | 40.8  |
| (6)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CHR}]^0 + \text{COOH}^+$        | 76.7  |
| (7)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{CHR}\text{COOH}]^0 + [\text{NH}_2]^+$      | 172.1 |
| (8)  | $[\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}]^{0+} \rightarrow [\text{NH}_2\text{CR}\text{COOH}]^0 + \text{H}^+$ | 189.7 |

A Tabela 2 foi adaptada do artigo de A. Gil *et al.* [14] e mostra a energia interna de reação ( $\Delta U_{0K}$ ) correspondente a diferentes processos de fragmentação para a cisteína. Eles consideraram quatro quebras diferentes de ligação :  $\text{C}_\alpha\text{-COOH}$ ,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$ ,  $\text{C}_\alpha\text{-NH}_2$ , e  $\text{C}_\alpha\text{-R}$ . Essas quebras podem ser produzidas de duas formas diferentes, pela perda de um fragmento neutro ( $\text{COOH}^0$ ,  $\text{H}^0$ ,  $\text{NH}_2^0$ ,  $\text{R}^0$ ) ou pela perda de um cátion ( $\text{COOH}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{NH}_2^+$ ,  $\text{R}^+$ ). Com isso, eles consideraram oito reações diferentes e computaram suas energias de reação que estão apresentadas na Tabela 2.

A baixa intensidade do pico pai,  $\text{H}_2\text{NCHCOOHCH}_2\text{SH}^+$ ,  $m/z$  121, que pode ser visto na Tabela 1 e nas Figuras 1 e 2, indica a rápida fragmentação desse cátion. O pico pai tem 6% da intensidade total em 11 eV e cai para 2% a 1% para as outras energias maiores.

Os picos mais intensos no espectro de massa de 11, 13 e 15 eV são o 76 (20 %), 75 (12 %), 74 (18 %) e 34 (21 %), veja Tabela 1. Os picos 76 ( $\text{H}_2\text{NCHCH}_2\text{SH}^+$ ), 75 ( $\text{HNCHCH}_2\text{SH}^+$ ) e 74 ( $\text{HNCHCH}_2\text{S}^+$ ) são gerados a partir da perda do radical neutro COOH e mais H no caso do 75 e 74. O pico 74 ( $\text{H}_2\text{NCHCOOH}^+$ ) também pode ser gerado a partir da perda do radical  $\text{HSCH}_2$ . Esses dois processos levando a criação do íon 74 são igualmente prováveis, segundo cálculos teóricos [15, 18]. O pico 34 ( $\text{SH}_2^+$ ) surge provavelmente da quebra sequencial do radical  $\text{HSCH}_2^+$ , em  $\text{H}_2\text{S}^+ + \text{CH}$ . O interessante deste pico, além de ser bem intenso, é o fato de ele ligar um hidrogênio a mais. Intuitivamente, pensaríamos que se formaria o  $\text{SH}^+$  da quebra da molécula, mas o que se observa é que a migração de um H para o radical  $\text{SH}^+$  nessa fragmentação. Os cálculos teóricos [15] mostram que a formação do

radical  $R^+$  é bastante favorável para a cisteína, da mesma ordem de formação dos canais descritos acima dos picos 76, 75 e 74. Por outro lado, a formação do íon  $COO^+$  (44 u.m.a.) vindo do  $COOH^+$  tem intensidade bem baixa para essas energias de 11, 13 e 15 eV. Este fato está de acordo com os cálculos de Simon et al. que prediz que a perda do fragmento neutro  $COOH$  é o mais favorável e a perda do  $COOH^+$  um dos menos favoráveis [14, 15].

No espectro de 11 eV vemos a presença do pico 17 u.m.a. ( $OH^+$ ), esse pico certamente surge da fragmentação da cisteína, visto que 11 eV não tem energia suficiente para ionizar a água. A primeira energia de ionização da água é 12.6 eV, e a formação do  $OH^+$  a partir da água acontece em torno de 18 eV, então podemos afirmar que esse pico não vem de contaminação com água da amostra ou da câmara de medidas. Para as energias maiores que 11 eV podemos ver o surgimento do pico em 18 u.m.a., esse pode surgir tanto da cisteína quanto de contaminação. Esse pico 17 poderia também ser atribuído ao  $NH_3^+$ , mas segundo os cálculos teóricos [15] a formação desse fragmento custaria uma energia muito maior que a formação do  $OH^+$  a partir do  $COOH^+$ , ver Tabela 2.

Podemos observar na Figura 5.2 que na energia de 17 eV surgem todos os outros fragmentos que estão presentes também nos espectros de 19 e 21 eV, mudando apenas as intensidades. O mais notável é a forte intensidade dos picos 44 e 28. O pico 44 ( $COO^+$ ,  $NH_2CHCH_3^+$ ,  $CS^+$ ) e o 28 ( $CO^+$ ,  $NHCH^+$ ) são mais intensos que o pico 34 ( $SH_2^+$ ) que dominava os espectros com energias menores, ver Tabela 1. Começam a surgir fragmentos ligados a perda do radical amina da cisteína. Como o pico 59 u.m.a., que surge a partir dos picos 76, 75 e 74 com a perda de  $NH_2$  ou  $NH$ . Surgem também os picos 16, 17 e 18 u.m.a. ( $NH_2^+$  e  $O^+$ ,  $NH_3^+$  e  $OH^+$  e,  $NH_4^+$  e  $H_2O^+$ , respectivamente). Em 43 e 42 u.m.a. surgem os picos ( $NH_2CHCH_2^+$  e  $NHCHCH_2^+$ ) que têm origem na perda dos fragmentos neutros  $COOH$  e  $SH$ . Ao lado do pico  $H_2S^+$  (34) surgem os picos do  $HS^+$  (33) e  $S^+$  (32).

O pico 44 pode ser  $COO^+$  e/ou  $NH_2CHCH_3^+$  e/ou  $CS^+$ . Podemos observar na Tabela 2 linhas 1, 2 e 5, que a perda do  $COOH$  e do  $CHSH$  neutro ou positivo tem energias muito próximas tornando os fragmentos  $NH_2CHCH_3^+$  e/ou  $CS^+$  mais prováveis do que o  $COO^+$ , linha 6 da Tabela 2. A mesma explicação vale para o pico 28 onde o mais provável seja a formação do fragmento  $NHCH^+$  do que o  $CO^+$ .

Os picos 16, 17 e 18 u.m.a. ( $H_xO^+$ ,  $NH_x^+$ ) surgem no espectro de 17 eV (2.7, 3.1 e 5.6 % são as contribuições das áreas relativas dos picos mencionados respectivamente). Outra observação muito interessante que podemos fazer é o surgimento do íon  $H^+$  somente

em 21 eV. Pesquisando em artigos de outros aminoácidos observamos que o íon  $H^+$  tem esse comportamento [19, 20]. Não é produzido a menores energias, como tinha previsto também os cálculos de Simon et al. e Gil et al. , ver linha 8 da Tabela 2 [15, 14].

## 5.2 Rotas de Fragmentação do Aminoácido Cisteína

Apresentamos nessa seção as rotas mais prováveis de fragmentação da molécula de cisteína baseado nas discussões da seção acima. Os fragmentos estão apresentados dos maiores para os menores e as rotas das mais prováveis para as menos prováveis. Os fragmentos que diferem somente por hidrogênios são descritos da mesma forma.

### 5.2.1 $m/q = 76, 75$ e $74$



### 5.2.2 $m/q = 59$



### 5.2.3 $m/q = 44$



### 5.2.4 $m/q = 43$ e $42$



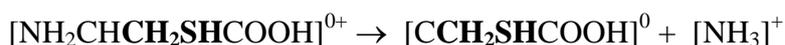
### 5.2.5 $m/q= 34, 33$ e $32$



### 5.2.6 $m/q= 28$



### 5.2.7 $m/q=16, 17$ e $18$



Analisamos os espectros de PEPICO nas energias 11, 13, 15, 19 e 21 eV para a molécula cisteína. Observamos que para energias menores que 15 eV são formados principalmente os íons; íon molecular menos o radical  $\text{CH}_x\text{S}$  ou  $\text{COOH}$ , resultando no íon  $\text{C}_2\text{H}_{7-x}\text{NO}_2^+$  ou  $\text{C}_2\text{H}_{7-x}\text{NS}^+$  e o íon  $\text{H}_2\text{S}^+$ . Para as energias maiores, ou seja, quanto a maior energia depositada na molécula observamos uma fragmentação maior. Podemos ver o surgimento de outras famílias de íons como;  $\text{C}_2\text{H}_x\text{S}^+$ ,  $\text{CH}_x\text{S}^+$ ,  $\text{CO}^+$ ,  $\text{H}_x\text{O}^+$  e  $\text{NH}_x^+$ . Determinamos a partir dos íons formados o padrão de fragmentação da cisteína. Os nossos resultados concordam com cálculos teóricos que preveem que os seguintes fragmentos são quebrados da molécula em ordem crescente de energia:  $[\text{COOH}]^0$ ,  $[\text{CH}_2\text{SH}_2]^0$ ,  $[\text{H}]^0$ ,  $[\text{CH}_2\text{SH}_2]^+$ ,  $[\text{NH}_2]^0$ ,  $[\text{COOH}]^+$ ,  $[\text{NH}_2]^+$ ,  $[\text{H}]^+$ .

## 5.3 Desenvolvimento de instrumentação científica – Espectrômetro TOF para amostras líquidas

O espectrômetro TOF para líquidos tem o mesmo princípio de funcionamento do que já foi explicado anteriormente no capítulo 4 seções 4.3 e 4.4. No caso do espectrômetro para líquidos optamos por não utilizar o detector de elétrons como start do tempo devido a fatores geométricos e a complexidade do sistema. O *start* no tempo de voo não será dado pelo elétron, mas será utilizado um potencial pulsado que dará o início da contagem de tempo. Dentro de uma janela de tempo pré-definida os íons serão detectados, sendo que cada íon que

chega no detector marca um *stop* no contador de tempo, a chegada de um segundo íon dentro da mesma janela de tempo também será gravada. A placa de detecção é do tipo *multi-stops* ou seja, consegue armazenar múltiplos sinais de parada do tempo. Os eventos correlacionados terão maior intensidade e formarão os picos no espectro de massa/carga dos íons; e os não-correlacionados aparecerão no *background*, ou sinal de fundo.

Na parte de desenvolvimento de instrumentação fizemos a montagem de um espectrômetro de massa TOF, dedicado a exploração da fase líquida. A montagem do espectrômetro TOF está quase pronta, faltam apenas alguns ajustes no cone e no tubo de voo que fazem parte do TOF. Depois que fizermos os ajustes no espectrômetro de massa, podemos então acoplá-lo a câmara experimental. Após sua conexão com a câmara, ligaremos toda sua parte elétrica e eletrônica necessária para o seu funcionamento, então, iniciaremos a fase de testes.

No início da montagem do TOF fizemos a confecção de algumas peças que servem de suporte para os detectores do tipo MCP (*micro channel plate detector*). Todas as peças foram feitas na oficina mecânica do Instituto de Física da UnB. Pegamos todos os desenhos das peças no projeto do TOF. Usamos as peças por etapas. Na Figura 5.5 podemos ver em detalhes o tubo de voo e o anodo.

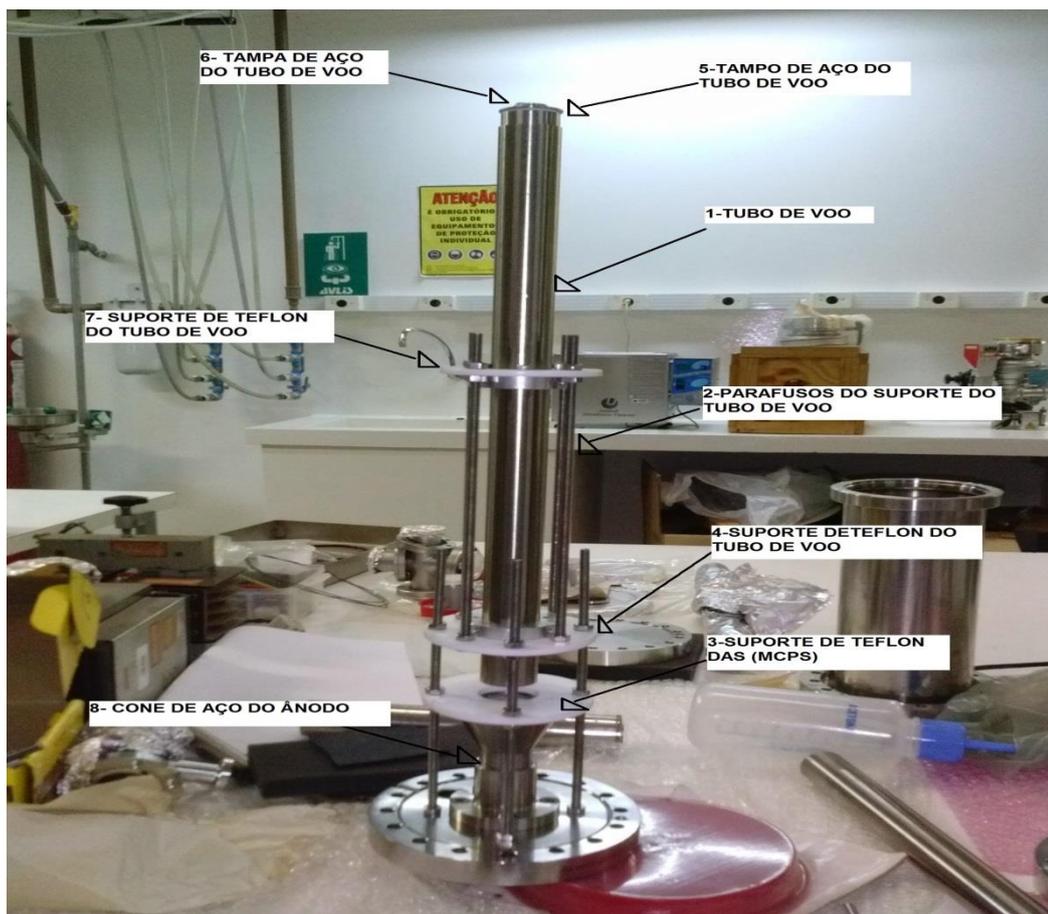


Figura 5.5: Imagem do tubo de voo; 1- Tubo de voo de aço inox, 2- Parafusos de aço inox do suporte do tubo de voo, 3- Disco de teflon do suporte do (MCP), 4- Disco de teflon do tubo de voo, 5- Tampa de aço inox do tubo de voo, 6- Tampa de aço inox do tubo de voo, 7- Disco de teflon do tubo de voo e 8- Cone de aço do ânodo.

Para fixarmos o tubo de voo aos discos de teflon, usamos dois anéis de alumínio que são parafusados aos discos de teflon presos ao tubo. Para um melhor entendimento ver Figura 5.5.

No processo de usinagem de algumas peças da Figura 5.5 deixamos ela com as seguintes medidas :

- Tubo de voo: 440,3 mm de comprimento, 29 mm de diâmetro interno e 32 mm de diâmetro externo.
- Os discos de teflon : 85 mm de diâmetro externo, 33 mm de diâmetro interno e com 2 mm de espessura.
- Os discos de alumínio: 50 mm de diâmetro externo, 32,5 mm diâmetro interno e 15 mm de espessura.

- O disco do suporte dos (MCP) com: 94 mm de diâmetro externo, 33 mm de diâmetro interno e 2 mm de espessura.



Figura 5.6: Imagem 1; Subcâmara de vácuo, cone do TOF já com os as conexões para aplicar as tensões. Imagem 2; Cone do TOF mais detalhada, 1. Placa de extração de íons em aço inox, 2. Cone de entrada de íons para o tubo de voo (*skimmer*), furo central de 300  $\mu\text{m}$ , 3. Lente de abertura de íons , 4. Placa de entrada do tubo de drift (tubo de voo), 5. Grade do tubo de drift, 6. Parafusos de fixação da placa de extração de elétrons. Placa de inox de aplicação de potencial, 7. Isolante de teflon , 8. Fios elétricos.

Na Figura 5.6 a imagem 1 é de uma subcâmara de vácuo, que serve para separar a região com o jato líquido onde a pressão é da ordem de  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$  mbar da região dos detectores que deve estar com pressão da ordem de  $10^{-6}$  mbar. O seu bombeamento é feito por uma bomba turbo para manter a pressão baixa. Na imagem 2 da Figura 5.6 a distância entre a placa de extração de íons e o bico do *skimmer* é de 1,2 mm, sendo que no bico do *skimmer* é

a entrada de íons para o tubo de voo pelo orifício de 300  $\mu\text{m}$ . Os potenciais aplicados em cada uma das placas da Figura 5.5 e 5.6 podem ser detalhados da seguinte forma:

- 1. Placa de extração de íons – (+425 V) Eletrodo 1,
- 2. Skimmer – (-1200 V) Eletrodo 2,
- 3. Lente de abertura de íons – (-2000 V) Eletrodo 3,
- 4. Placa de entrada do tubo de drift – (-2200 V) Eletrodo 4,
- 5. Grade do tubo de drift (tela de ouro) - (aterrada) Eletrodo 5,
- 6.  $V_4$  Detector - MCP (íons) – (- 2000 V) Eletrodo 6.

Esses potenciais serão fornecidos por fontes de tensão contínua estabilizadas da Ortec com exceção do potencial no *skimmer* que será pulsado e fixo em -1200 V. O pulsador que será usado é um pulsador de alta voltagem (até 750 V) e com tempos de subida de 1 a 5 ns, com uma largura de pulso de 0.1  $\mu\text{s}$  a 100  $\mu\text{s}$ . A frequência máxima de repetição do pulso é de 1 kHz.

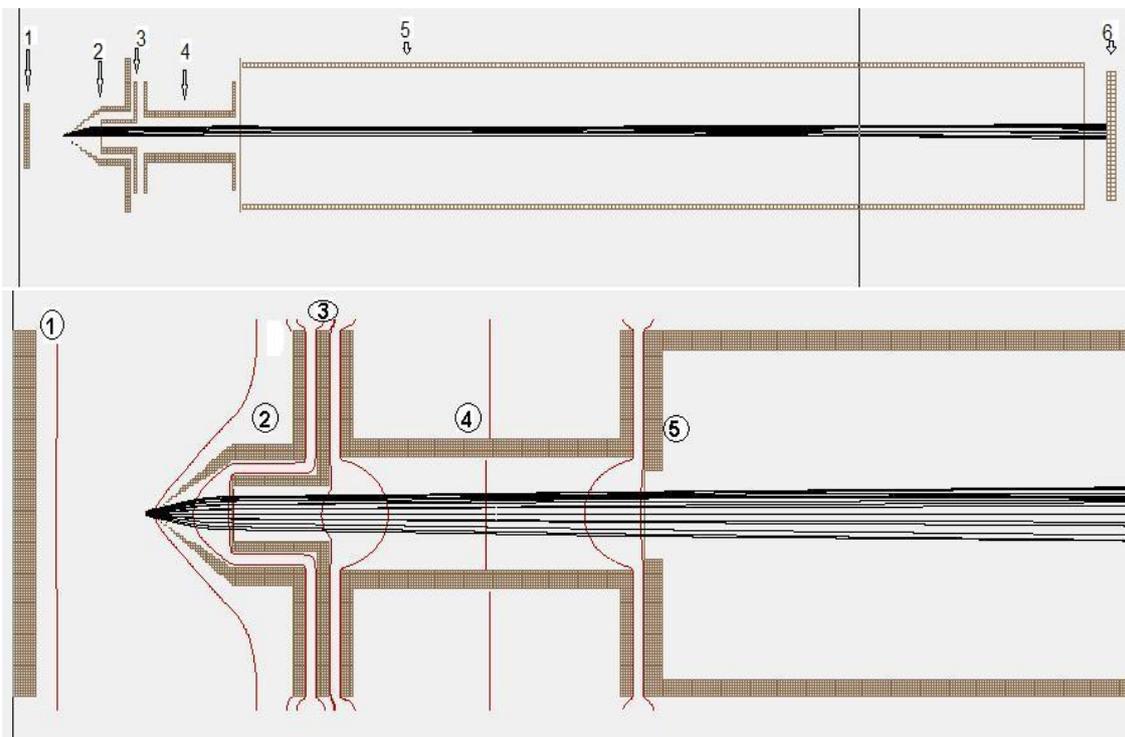


Figura 5.7: Potenciais do TOF simulados pelo programa computacional SimIon 7 [42].

Se olharmos as Figuras 5.6 e 5.7 veremos que a imagem 2 da Figura 5.6 fica bem esquematizada pela Figura 5.7 e assim, proporcionando um melhor entendimento ao leitor. Com essa configuração podemos focalizar os íons no detector que está no fim de um tubo de

voo de 440,3 mm com grande precisão, isto é, dado que o detector usado tem um diâmetro de 40 mm conseguimos focalizar os íons dentro de uma circunferência com 7 mm de diâmetro. Esse nível de focalização pode ser obtido colocando os eletrodos com os potenciais dados na Tabela 3.

Tabela 3: Potenciais aplicados nos eletrodo em (V), Energia dos íons em (eV) e Tempo em (s)

| <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>E</b> | <b>T1</b> | <b>T2</b> |
|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| 200 V    | -1200 V  | -2000 V  | -2200 V  | 15,0 eV  | 25 – 30   | 92 – 97   |
| 400 V    | -1200 V  | -2100 V  | -2300 V  | 17,5 eV  | 24 – 30   | 87 – 91   |
| 600 V    | -1200 V  | -2200 V  | -2400 V  | 19,5 eV  | 22 – 27   | 83 – 87   |
| 800 V    | -1200 V  | -2300 V  | -2500 V  | 22,0 eV  | 21 – 25   | 79 – 83   |
| 1000 V   | -1200 V  | -2400 V  | -2600 V  | 24,0 eV  | 20 – 24   | 75 – 79   |
| 2000 V   | -1200 V  | -3000 V  | -3200 V  | 35,0 eV  | 17 – 20   | 62 – 66   |
| 3000 V   | -1200 V  | -3700 V  | -3900 V  | 45,0 eV  | 14 – 17   | 54 – 57   |

Na Tabela 3 podemos ver os melhores potenciais, as quatro primeiras colunas, que foram simulados para diferentes energias dos íons. Na quinta coluna está a energia máxima que o íon de 1 u.m.a. deve ter para que seja coletado com eficiência máxima, 100%, nessa combinação de potenciais. Por fim, nas duas últimas colunas estão listados os tempos T1 e T2 numa escala de  $10^{-5}$  s. O tempo T1, é tempo mínimo e máximo respectivamente, que o íon leva para passar pela primeira grade localizada no início do eletrodo 2, e o tempo T2 é o tempo mínimo e máximo respectivamente que o íon leva para passar pela segunda grade localizada no início do tubo de drift, ou eletrodo 4.

Na saída do TOF é acoplado o sistema de detecção dos íons que é composto pelo conjunto de duas mcps e um anodo cônico. Os dois serão explicados em detalhes abaixo.

Para se fazer medidas de TOF, precisamos de um detector de *start*, e a MCP será o detector de *stop*. O tempo de voo é obtido diretamente; ele é simplesmente a diferença entre o tempo de *stop* menos o tempo de *start* do experimento. A resolução temporal depende das características de ambos os detectores e da amplitude do sinal, indo de centenas de picosegundos ( para detectores ultra-rápidos no tempo com as MCP) a poucos nanosegundos.

Habitualmente detectores baseado em placas de microcanaís (MCPs) são usados para detectar uma vasta gama de radiação incluindo ultravioleta, raios-x, fótons, partículas carregada como elétrons, íons e espécies neutros energéticos, devido a sua extrema versatilidade e eficiência. Muitas variáveis influenciam a eficiência de detecção dos

detectores (MCP), incluindo as espécies de partículas impactantes, energia cinética, ângulo de impacto, e fluxo. As MCPs são matrizes com pequenos microcanais multiplicadores de elétrons orientados paralelamente um em relação ao outro, ver Figura 5.9. Esses microcanais podem ser retos ou ter um pequeno ângulo. As placas são feitas de vidro de chumbo e cada uma delas é composta de um conjunto de  $10^4$ - $10^7$  canais. Cada microcanal é revestido com um material semicondutor para evitar o carregamento das paredes e para maximizar a emissão de elétrons secundários. Um filme metálico é depositado na superfície de cima e na de baixo do MCP que servem como eletrodos e também conectam os canais eletricamente entre si. A resistência total entre os eletrodos é da ordem de  $10^9 \Omega$ . Essas placas de microcanais tem fator de multiplicação de elétrons da ordem de  $10^4$ - $10^7$ , com uma ultra alta resolução temporal ( $< 100$  ps) e uma resolução espacial determinada pelas dimensões e espaçamento dos canais.

Na Figura 5.8 podemos ver em detalhes as MCPs e um pequeno anel de cobre entre as duas MCPs, sendo a espessura do anel de  $10 \mu m$ , ele faz o contato entre as duas. As MCP foram montadas no arranjo Chevron [43] onde a mcp frontal é girada de  $180^\circ$  com relação a MCP de trás formando um canal na forma de V. O ângulo entre os canais diminui o retorno dos íons que são produzidos quando os elétrons que saem da mcp interagem com o gás residual ou ainda íons que são produzidos por material adsorvido nas paredes dos canais. Esse tipo de configuração com os canais em ângulo apresenta um ganho maior com relação as mcp de canais retos. Os elétrons que saem da primeira placa formam uma cascata de elétrons na segunda placa. Deixando um pequeno espaço entre as duas placas permite que a carga de um canal simples da mcp1 se espalhe entre vários canais da mcp2. A superfície frontal da primeira MCP inicialmente estará a uma tensão de  $-2000$  V, já o fundo da segunda MCP estará  $-400$  V, fazendo com que haja uma diferença de potencial de  $1600$  V entre as duas placas. Esse potenciais aceleram os íons que chegam na primeira MCP que passam pelos microcanais, assim, multiplicando o número de elétrons gerados.

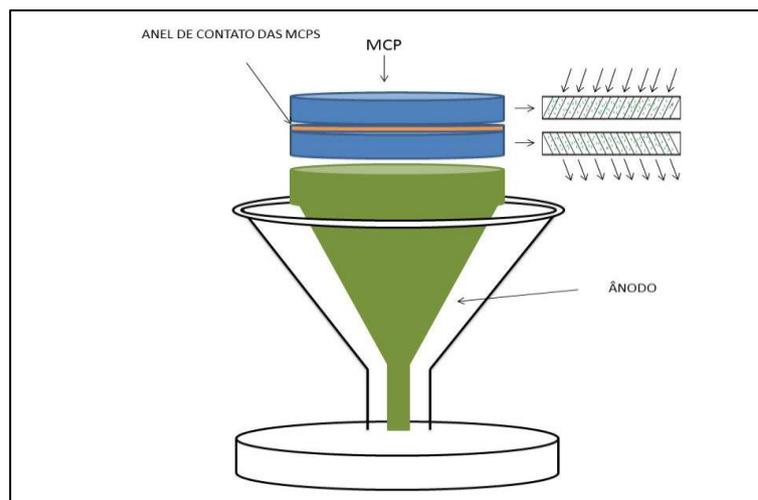


Figura 5.8: Desenho esquemático da montagem das MCPs e Anodo.

O sistema de detecção para os íons, Figura 5.8 e 5.9, possui um acoplamento que tem a finalidade de casar a impedância do anodo com o cabo coaxial, cuja impedância é de 50 Ohms. Basicamente, o anodo tem a forma de um cone que permite que a alta impedância do anodo possa ser reduzida gradualmente. Com isso problemas com reflexões são minimizados. Usamos uma linha cônica composta de dois cones concêntricos, sendo que o cone interno é maciço e o externo é somente uma casca, com uma ponta em comum [43]. Com os cones, descontinuidades só serão introduzidas no final da linha de transmissão onde o cone se torna uma linha reta. Estas descontinuidades podem ser minimizadas usando cones com pequenos ângulos de abertura. A impedância de uma linha de transmissão é dada a menos de uma constante pelo inverso da constante dielétrica do meio vezes a razão  $(D/d)$ , onde  $D$  é igual ao diâmetro externo e  $d$  é o diâmetro interno da linha coaxial. No início do anodo o cone interno tem um diâmetro de 27 mm (mesmo tamanho do MCP) e o diâmetro externo é calculado pela expressão da impedância descrita acima. A partir daí é só manter a razão entre os diâmetros levando em consideração o meio dielétrico.

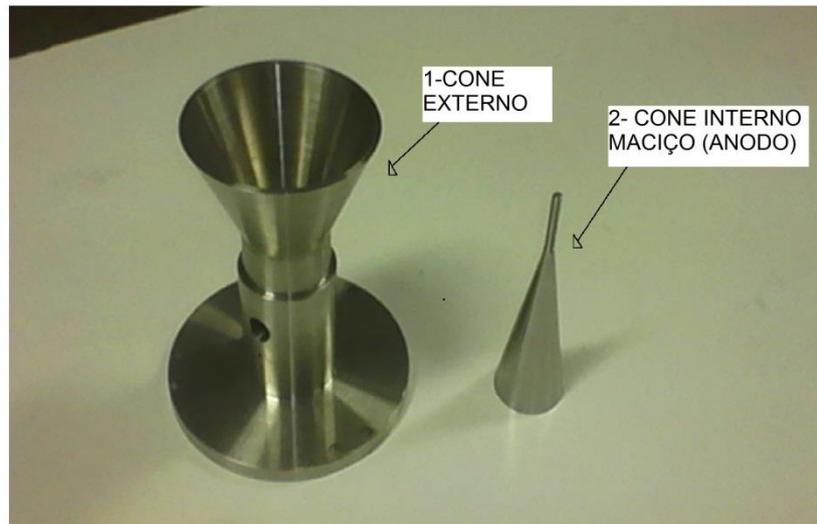


Figura 5.9: 1. Anodo cônico, que serve de acoplamento entre o fundo das MCPs e o cabo coaxial comum. O anodo consiste de dois cones concêntricos, sendo o cone interno maciço e o cone externo somente uma casca.

O meio dielétrico muda de vácuo no início da linha de transmissão para teflon no final onde é feita a ligação com o cabo padrão de  $50 \Omega$ . O teflon além de garantir o isolamento elétrico serve como sustentação do cone interno. Na região preenchida com teflon a razão entre os diâmetros é modificada para levar em consideração este novo meio dielétrico. Na Figura 5.9 mostramos os cones externo e interno montados na flange e na 5.8 apresentamos um desenho esquemático com a montagem dos MCPs e os cones. Toda a montagem foi acoplada a um flange padrão CF40, com um conector BNC conectando a parte interna da câmara em vácuo com a parte externa na pressão ambiente. O sinal do detector depois de coletado passa por um pré-amplificador comercial.

A fonte ionizante que usamos em nossa câmara experimental é uma lâmpada de He.

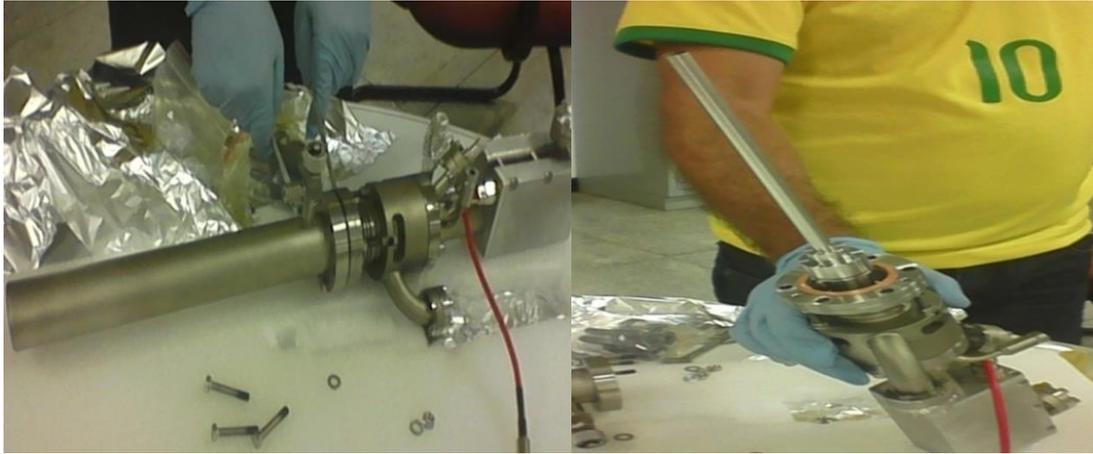


Figura 5.10: Lâmpada de Hélio.

Esta lâmpada de descarga de hélio é usada como uma fonte de fótons, que emite um comprimento de onda de 58,4 nm (o que corresponde a uma energia de 21,2 eV) na região do ultravioleta de vácuo. Seu princípio de operação é baseado em descarga de capilar de cátodo frio. A sua corrente de descarga é estabilizada eletronicamente e seu arrefecimento é feito com água, assim, permitindo altas correntes de descargas de até 300 mA.



Figura 5.11: Câmara Experimental.

A câmara experimental em sua fase final está em espera para testes sendo que no momento encontra-se montada como mostra a Figura 5.11, dependendo apenas do ajuste do cone do TOF para respeitar a distância em relação à fonte ionizante. Após conseguir vencer os desafios técnicos será testada a parte eletrônica e depois faremos experimentos de espectroscopia de massa por tempo de voo.

## Capítulo 6

### 6. Conclusões e perspectivas

Neste trabalho estudamos a fragmentação do aminoácido cisteína ionizado na banda de valência. Usamos a espectroscopia de massa por tempo de voo com a técnica de coincidência PEPICO. Gravamos espectros de 2 em 2 eV de 11 a 21 eV. Analisamos os resultados comparando-os com cálculos teóricos disponíveis na literatura.

Observamos que a cisteína para as energias de 11, 13 e 15 eV se fragmenta pouco, produzindo principalmente os picos com a razão massa/carga de 76, 75, 74 e 34 u.m.a.. Os picos 76, 75 e 74 surgem da fragmentação da molécula com a perda de radicais neutros COOH e CH<sub>2</sub>SH. O pico 34 surge quando a molécula perde o radical carregado CH<sub>2</sub>SH<sup>+</sup> e se fragmenta em SH<sub>2</sub><sup>+</sup> tendo a recombinação de um H. Observamos que para energias menores que 15 eV são formados principalmente os íons; íon molecular menos o radical CH<sub>x</sub>S ou COOH, resultando no íon C<sub>2</sub>H<sub>7-x</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup> ou C<sub>2</sub>H<sub>7-x</sub>NS<sup>+</sup>; e o íon H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>. A presença desses íons para 11 eV onde principalmente o orbital ionizado tem carácter do enxofre *lone pair* indica que o orbital não é totalmente localizado, mas tem um peso importante em outros sítios da molécula. Cálculos mostram que a conformação mais estável tem uma densidade de spin 0,60 no S e 0,40 no N, confirmando nossos resultados. A perda do COOH é atribuída a estabilização ressonante da carga no átomo de nitrogênio, mas é menos provável de ocorrer quando a carga é localizada no S. Como a carga no caso da cisteína para as energias menores está distribuída entre o S e o N, isso explica a fragmentação da molécula com a perda do COOH encontrada nos nossos resultados.

Para as energias maiores, 17, 19 e 21 eV, temos uma maior energia depositada na molécula e com isso observamos uma fragmentação maior. Podemos ver o surgimento de outras famílias de íons como; C<sub>2</sub>H<sub>x</sub>S<sup>+</sup>, CH<sub>x</sub>S<sup>+</sup>, CO<sup>+</sup>, H<sub>x</sub>O<sup>+</sup> e NH<sub>x</sub><sup>+</sup>. O mais notável é a forte intensidade dos picos 44 e 28. O pico 44 (COO<sup>+</sup>, NH<sub>2</sub>CHCH<sub>3</sub><sup>+</sup>, CS<sup>+</sup>) e o 28 (CO<sup>+</sup>, NHCH<sup>+</sup>) são mais intensos que o pico 34 (SH<sub>2</sub><sup>+</sup>) que dominava os espectros com energias menores. Começam a surgir fragmentos ligados a perda do radical amina da Cisteína. Como, o pico 59 u.m.a., que surge a partir dos picos 76, 75 e 74 com a perda de NH<sub>2</sub> ou NH. Surgem também os picos 16, 17 e 18 u.m.a. (NH<sub>2</sub><sup>+</sup> e O<sup>+</sup>, NH<sub>3</sub><sup>+</sup> e OH<sup>+</sup> e, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e H<sub>2</sub>O<sup>+</sup>, respectivamente). Em 43 e 42 u.m.a. surgem os picos (NH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub><sup>+</sup> e NHCHCH<sub>2</sub><sup>+</sup>) que têm origem na perda dos fragmentos neutros COOH e SH. Ao lado do pico H<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (34) surgem os picos do HS<sup>+</sup> (33) e S<sup>+</sup>

(32). Observamos também que o íon  $H^+$  aparece somente em 21 eV o que está de acordo com outros aminoácidos estudados.

Determinamos a partir dos íons formados o padrão de fragmentação da cisteína. Os seguintes fragmentos são quebrados da molécula em ordem crescente de energia:  $[COOH]^0$ ,  $[CH_2SH_2]^0$ ,  $[H]^0$ ,  $[CH_2SH_2]^+$ ,  $[NH_2]^0$ ,  $[COOH]^+$ ,  $[NH_2]^+$ ,  $[H]^+$ . Para todos os aminoácidos a perda do COOH é o processo mais favorável, mas quando o radical cresce em tamanho a quebra em R neutro ( $HSC H_2$ ) e o radical carregado,  $R^+$ , torna-se um canal de fragmentação competitivo o que está de acordo com os nossos resultados.

A sequência desse trabalho é medir os mesmos espectros para energias menores e também medir os espectros de produção parcial de íons (PIY). Com essas medidas conseguiremos determinar com precisão o primeiro potencial de ionização da molécula e a energia de formação de cada íon.

Nesse trabalho desenvolvemos também um espectrômetro TOF para a medida de amostras líquidas. Esse espectrômetro representa um desafio, pois é o primeiro espectrômetro dedicado a medir íons originados em amostras líquidas. Esse espectrômetro está montado em uma câmara experimental que tem uma fonte de ultravioleta, especificamente uma lâmpada de He, uma armadilha de nitrogênio líquido para armazenar o líquido após a interação com a luz e um sistema de admissão de amostras gasosas e líquidas. O TOF juntamente com a lâmpada de He criam a possibilidade de estudo de moléculas simples na região de valência, como um exemplo a cisteína, que como vimos se apresenta como um tema em desenvolvimento e ao mesmo tempo importante para as diversas áreas do conhecimento. Essas moléculas biológicas em líquidos, como a água, abre um leque enorme de possibilidade de estudos e descobertas, melhorando nosso entendimento de como as moléculas interagem com o meio líquido, entre elas e como esse meio influencia em suas propriedades.

O próximo passo em relação ao TOF é fazer os testes experimentais para ajustar os potenciais adequados a sua melhor performance, tanto em resolução quanto em contagem de íons.

## 7. Referências Bibliográficas

- [1] S. L. Miller, Science, **117**, 528 (1953).
- [2] M. Faubel, B. Steiner and J. P. Toennies, J. Chem. Phys. **106**, 9013 (1997) 9013; J. Elec. Spec. Rel. Phen. **95**, 159 (1998) .
- [3] A. M. da Silva, A. Mocellin, S. Monti, C. Li, R. R. T. Marinho, A. Medina, H. Agren, V. Carravetta, and A. N. de Brito, J. Phys. Chem. Lett. **6**, 807-811( 2015).
- [4] A. Szabo, N. S. Ostlund, Modern Quantum Chemistry, New York: Dover Publications, Inc. (1996).
- [ 5] R. Hell, Planta **202** ,138-148 (1997).
- [6] P. W. Atkins, Physical Chemistry, 4<sup>a</sup> ed, New York: Oxford University Press (1990).
- [7] J. D. Jackson, Classical Electrodynamics, John Wiley & Sons, INC., (1998).
- [8] G. M. M. Caro, U. J. Meierhenrich, W. A. Schutte, B. Barbier, A. A. Segovia, H. Rosenbauer, W. H.-P. Thiemann, A. Brack and J. M. Greenberg, Letters to Nature. **416**, 403 (2002).
- [9] G.J. Leggett, C.J. Roberta, P.M. Williams, M.C. Davies , D.E. Jackson and S.J.B. Tandler, Langmuir .**92356** (1993).
- [10] E.A. Smith , M.J. Wanat, Y. Cheng, S.V.P. Barreira, R.M. Frutos end A .G. Corn, Langmuir. **17 2502** (2001).
- [11] M. Canepa, L. Lavagnino, L. Pasquali, R. Moroni, F Bisio, V. De Renzi, S. Terreni and L. Mattera, J. Phys.: Condens. Matter, **21**, 264005 (2009).
- [12] J.S. Lee, P.A. Ulmann, M.S. Han and C.A. Mirkin, Nano Lett. **8529** ( 2008).
- [13] M. M. Beerbom, R. Gargagliano, and R. Schlaf, Langmuir. **21**, 3551-3558 (2005).
- [14] A. Gil, S. Simon, L. R. Santiago, J. Bertrán, and M. Sodupe, J. Chem. Theory Comput. **3**, 2210-2220 (2007).
- [15] S. Simon, A. Gil, M. Sodupe, J. Bertrán, Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, **727**, 191–197 (2005).

- [16] D. M. Close, *J. Phys. Chem.* **A115**, 2900–2912 (2011).
- [17] I. Powis, E. E. Rennie, U. Hergenbahn, O. Kugeler, and R. Bussy-Socrate, *J. Phys. Chem. A* **107**, 25-34( 2003).
- [18] J. Zhao, K.W.M. Siu, A.C. Hopkinson, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 281 (2008)
- [19] H. Jochims, M. Schwell, J. Chotin, M. Clemino, F. Dulieu, H. Baumgärtel, S. Leach, *Chemical Physics*. **298**, 279–29 (2004).
- [20] O. Plekan, V. Feyer, R. Richter, M. Coreno, M. de Simone, K.C. Prince, *Chemical Physics*. **334**, 53-63 (2007).
- [21] S. Leach, H. Jochims, and H. Baumgärtel, *J. Phys. Chem.* **114**, 4847–48 (A 2010).
- [22] M. Schwella, H. Jochims, H. Baumgärtel, F. Dulieuc, S. Leach, *Planetary and Space Science*. **54**, 1073–1085 (2006).
- [23] C. Nordling, E. Sokolowski, and K. Siegbahn, *Phys. Rev.* **105**, 1676 (1957).
- [24] E. Sokolowski, C. Nordling and K. Siegbahn, *Ark. Fysik.* **12**, 301 (1957).
- [25] G. Dujardin, S. Leach, O. Dutuit, P. Guyon, M. Richard-Viard, *Chem. Phys.* **88**, 339 (1984).
- [26] Vacuum Ultraviolet Photoionization and Photodissociation of Molecules and Clusters. Chapter 6 - Coincidence Studies Of Multiionized Molecules, by J.H. D. Eland. World Scientific, 1991.
- [27] P. Hakansson, An Introduction to the Time-of-Flight Technique, *Brazilian Journal of Physics*. **29** , 422 (1999).
- [28] W.C. Wiley, I. H. McLaren, *Time of Flight Mass Spectrometer with improved resolution*, *Rev. Sci. Instrum.* **26**, 1150 (1995).
- [29] M. S. P. Mundim, *Espectroscopia de Multicoincidência Aplicada ao Estudo da Fotofragmentação de Moléculas Poliatômicas - Tese de Doutorado*, Instituto de Física, Instituto de Física, Universidade de Brasília (2007).
- [30] F. R. Elder, A. M. Gurewitsch, R. V. Langmuir, H. C. Pollock. *Phys. Rev.* **71**, 829830 (1947).
- [31] <http://www.inls.br/inls/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=60>
- [32] R. L. C. Filho, M. G. P. Homem, R. Landers, A. N. de Brito, *J. Elec. Spec. Relat. Phenom.*, **144-147**, 1125-1127 (2005).
- [33] K. R. Wilson *et. al.* *Review Of Scientific Instruments*, **75**, 725 (2004).

- [34] D. Halliday, R. Resnick, J. Walker, Fundamentos de Física 2, 4<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: LTC (1996).
- [35] [www.fastcomtec.com](http://www.fastcomtec.com)
- [36] F. Burmeister, et al., J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom. **180**, 6-13 (2010).
- [37] [www.wavemetrics.com](http://www.wavemetrics.com)
- [38] K. R. Wilson, B. S. Rude, T. Catalano, R. D. Schaller, J. G. Tobin, D. T. Co, R. J. Saykally, J. Phys. Chem. B **105**, 3346 (2001).
- [39] S. Schlemmer, M. Faubel, J. P. Toennies, Z. Phys. D **10**, 269 (1988).
- [40] R. Maul, M. Preuss, F. Ortmann, K. Hannewald, and F. Bechstedt, J. Phys. Chem. **111**, 4370-4377 (A 2007).
- [41] N. F. Bras, M. A. S. Perez, P. A. Fernandes, P. J. Silva, and M. J. Ramos, J. Chem. Theory Comput. , **7**, 3898–3908 (2011).
- [42] SimIon<sup>®</sup> [simion.com](http://simion.com)
- [43] J. L. Wiza, Nucl. Instrum. Meth. **162**, 587 (1979).
- [44] J. I. Steinfeld, Molecules and Radiation, An Introduction to Modern Molecular Spectroscopy, Dover Publications, INC, (2005).
- [45] A. M. da Silva, A. Mocellin, H. Farrokhpour, M.S.P. Mundim, A. N. de Brito, Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena. **189S**,56-60 (2013).

## Apêndice I

### INTENSIDADES RELATIVA E MÁXIMA DAS ÁREAS DOS PICOS

Neste apêndice colocamos as Tabelas das intensidades relativas e máximas calculadas dos espectros de PEPICO para todos os picos com área maior que 1% e seus respectivos erros calculados. As áreas foram obtidas fitando-se uma Gaussiana para cada pico com o procedimento *Multi-peak fitting* do programa computacional Igor. Os erros foram obtidos do *fitting* das áreas de cada pico e propagados no cálculo das áreas relativas e máximas. A intensidade relativa é definida como  $I_{rel} = (A_{pico}/A_{total}) * 100$ , sendo que  $A_{pico}$  representa a área sob o pico correspondente e  $A_{total}$  a soma da área de todos os picos considerados no cálculo. A intensidade máxima é definida como  $I_{max} = (A_{pico}/A_{picomax}) * 100$ , sendo que  $A_{pico}$  representa a área sob o pico correspondente e  $A_{picomax}$  a área do pico com maior área. As tabelas são listadas abaixo com ordem crescente de energia.

Tabela 1: A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 11 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                           |                |
|---|---------------------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|
| <i>Energia 11 eV</i>  |                                       |                 |                           |                |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima</i> |                |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área(%)</i>            | <i>Erro(%)</i> |
| 17  | 4,0                                   | 0,1             | 20,0                      | 0,2            |
| 34  | 21,0                                  | 0,4             | 100,0                     | 0,4            |
| 44  | 3,0                                   | 0,1             | 13,0                      | 0,3            |
| 74  | 19,0                                  | 0,3             | 89,0                      | 0,2            |
| 75  | 13,0                                  | 0,3             | 60,0                      | 0,5            |
| 76  | 20,0                                  | 0,4             | 97,0                      | 0,5            |
| 121   | 6,0                                   | 0,1             | 27,0                      | 0,3            |

Tabela 2: A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 13 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                                     |                 |
|---|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------|
| <i>Energia 13 eV</i>  |                                       |                 |                                     |                 |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima das Áreas</i> |                 |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área (%)</i>                     | <i>Erro (%)</i> |
| 17  | 3,0                                   | 0,1             | 14,2                                | 0,2             |
| 18  | 4,0                                   | 0,1             | 21,4                                | 0,2             |
| 28  | 2,0                                   | 0,1             | 13,3                                | 0,2             |
| 30  | 2,0                                   | 0,1             | 10,9                                | 0,2             |
| 34  | 18,0                                  | 0,4             | 100,0                               | 0,4             |
| 44  | 6,0                                   | 0,2             | 34,1                                | 0,3             |
| 46  | 3,0                                   | 0,1             | 16,0                                | 0,4             |
| 57  | 2,0                                   | 0,1             | 9,6                                 | 0,3             |
| 59  | 2,0                                   | 0,1             | 8,5                                 | 0,3             |
| 74  | 16,0                                  | 0,4             | 86,0                                | 0,7             |
| 75  | 7,0                                   | 0,3             | 38,7                                | 0,7             |
| 76  | 17,0                                  | 0,5             | 92,5                                | 0,9             |
| 121   | 2,0                                   | 0,1             | 9,0                                 | 0,3             |

Tabela 3: A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 15 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                                     |                 |
|---|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------|
| <i>Energia 15 eV</i>  |                                       |                 |                                     |                 |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima das Áreas</i> |                 |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área (%)</i>                     | <i>Erro (%)</i> |
| 17  | 3,0                                   | 0,1             | 14,2                                | 0,2             |
| 18  | 4,0                                   | 0,1             | 21,4                                | 0,2             |
| 28  | 3,0                                   | 0,1             | 13,3                                | 0,2             |
| 30  | 2,0                                   | 0,1             | 10,9                                | 0,2             |
| 34  | 19,0                                  | 0,4             | 100,0                               | 0,4             |
| 44  | 6,0                                   | 0,2             | 34,1                                | 0,3             |
| 46  | 3,0                                   | 0,1             | 16,0                                | 0,4             |
| 57  | 2,0                                   | 0,1             | 9,3                                 | 0,3             |
| 74  | 16,0                                  | 0,5             | 85,1                                | 0,8             |
| 75  | 7,0                                   | 0,3             | 37,8                                | 0,8             |
| 76  | 17,0                                  | 0,5             | 92,1                                | 0,9             |
| 121   | 2,0                                   | 0,1             | 9,0                                 | 0,3             |

Tabela 4: A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 17 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                                     |                |
|---|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------------|
| <i>Energia de 17 eV</i>   |                                       |                 |                                     |                |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima das Áreas</i> |                |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área (%)</i>                     | <i>Erro(%)</i> |
| 16  | 2,6                                   | 0,1             | 20,6                                | 0,3            |
| 17  | 1,9                                   | 0,1             | 15,0                                | 0,3            |
| 18  | 5,1                                   | 0,1             | 40,0                                | 0,4            |
| 28  | 10,3                                  | 0,2             | 80,7                                | 0,3            |
| 29  | 1,8                                   | 0,1             | 14,3                                | 0,3            |
| 30  | 2,3                                   | 0,1             | 17,9                                | 0,6            |
| 32  | 2,3                                   | 0,1             | 18,2                                | 0,3            |
| 33  | 4,2                                   | 0,1             | 32,7                                | 0,4            |
| 34  | 6,0                                   | 0,1             | 47,2                                | 0,3            |
| 42  | 3,4                                   | 0,1             | 26,4                                | 0,4            |
| 43  | 5,4                                   | 0,1             | 41,9                                | 0,4            |
| 44  | 12,8                                  | 0,3             | 100,0                               | 0,4            |
| 46  | 2,4                                   | 0,1             | 19,1                                | 0,7            |
| 59  | 5,4                                   | 0,2             | 42,4                                | 0,4            |
| 74  | 6,6                                   | 0,2             | 51,8                                | 0,4            |
| 75  | 3,0                                   | 0,1             | 23,2                                | 0,4            |
| 76  | 7,5                                   | 0,2             | 58,2                                | 0,6            |

Tabela 5 A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 19 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                                     |                |
|---|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------------|
| <i>Energia de 19 eV</i>   |                                       |                 |                                     |                |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima das Áreas</i> |                |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área (%)</i>                     | <i>Erro(%)</i> |
| 16  | 3,0                                   | 0,1             | 21,1                                | 0,2            |
| 17  | 3,0                                   | 0,1             | 20,7                                | 0,2            |
| 18  | 5,0                                   | 0,1             | 32,0                                | 0,3            |
| 28  | 11,0                                  | 0,2             | 71,7                                | 0,4            |
| 29  | 2,0                                   | 0,1             | 13,0                                | 0,3            |
| 30  | 2,0                                   | 0,1             | 16,2                                | 0,3            |
| 32  | 2,0                                   | 0,1             | 12,3                                | 0,2            |
| 33  | 4,0                                   | 0,1             | 22,9                                | 0,2            |
| 34  | 5,0                                   | 0,1             | 31,9                                | 0,2            |
| 42  | 4,0                                   | 0,1             | 27,4                                | 0,3            |
| 43  | 6,0                                   | 0,1             | 38,7                                | 0,3            |
| 44  | 15,0                                  | 0,3             | 100,0                               | 0,4            |
| 46  | 2,0                                   | 0,1             | 15,5                                | 0,3            |
| 47  | 2,0                                   | 0,1             | 11,7                                | 0,3            |
| 55  | 2,0                                   | 0,1             | 10,0                                | 0,2            |
| 59  | 6,0                                   | 0,1             | 36,3                                | 0,3            |
| 74  | 6,0                                   | 0,2             | 39,7                                | 0,4            |
| 75  | 3,0                                   | 0,1             | 17,0                                | 0,4            |
| 76  | 7,0                                   | 0,2             | 42,8                                | 0,5            |

Tabela 6: A contribuição das intensidades relativa e máxima das áreas dos picos de TOF, juntamente com seus erros relativo e máximo para a energia de fótons de 21 eV.

| <i>Aminoácido Cisteína: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S</i> |                                       |                 |                                     |                 |
|---|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------|
| <i>Energia 21 eV</i>  |                                       |                 |                                     |                 |
| <i>m/q</i>  | <i>Intensidade Relativa das Áreas</i> |                 | <i>Intensidade Máxima das Áreas</i> |                 |
| <i>(a.m.u)</i>  | <i>Área (%)</i>                       | <i>Erro (%)</i> | <i>Área (%)</i>                     | <i>Erro (%)</i> |
| 16  | 4,0                                   | 0,1             | 22,5                                | 0,4             |
| 17  | 3,0                                   | 0,1             | 20,4                                | 0,4             |
| 18  | 5,0                                   | 0,2             | 30,0                                | 0,5             |
| 28  | 11,0                                  | 0,3             | 69,4                                | 0,7             |
| 29  | 2,0                                   | 0,1             | 12,2                                | 0,5             |
| 30  | 2,0                                   | 0,1             | 15,5                                | 0,5             |
| 33  | 3,0                                   | 0,1             | 17,6                                | 0,2             |
| 34  | 4,0                                   | 0,1             | 23,0                                | 0,2             |
| 42  | 5,0                                   | 0,2             | 29,4                                | 0,7             |
| 43  | 6,0                                   | 0,2             | 35,9                                | 0,7             |
| 44  | 16,0                                  | 0,4             | 100,0                               | 0,9             |
| 46  | 2,0                                   | 0,1             | 11,6                                | 0,7             |
| 47  | 2,0                                   | 0,1             | 10,2                                | 0,6             |
| 59  | 5,0                                   | 0,1             | 32,9                                | 0,3             |
| 74  | 6,0                                   | 0,1             | 35,5                                | 0,4             |

## Apêndice II

### O HAMILTONIANO DA INTERAÇÃO

Para uma compreensão fundamental entre a interação de uma partícula com o campo eletromagnético precisamos saber a energia total do sistema constituído por partículas e campo [44]. Para isso iniciaremos pela equação de Schrodinger é dada por:

$$H_M \Psi^0(r, R; t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi^0(r, R; t) \quad (\text{II.1})$$

Para um sistema molecular está sujeito à ação de um campo de radiação, então este sistema pode ser representado pelo seguinte Hamiltoniano:

$$H = \sum_{j=1}^N \left\{ \frac{[P_j + \frac{e}{c} A(r_j, t)]^2}{2m_e} - e\phi(r_j) \right\} + \sum_{L=1}^M \left\{ \frac{[P_L + \frac{eZ_L}{c} A(\mathbf{R}_L, t)]^2}{2M_L} - eZ_L \phi(\mathbf{R}_L) \right\} + V(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \quad (\text{II.2})$$

sendo  $p_j$  e  $P_L$  os momentos conjugados,  $-e$  e  $eZ_L$  suas respectivas cargas,  $m_e$  é a massa do elétron,  $M_L$  a massa do L-ésimo núcleo,  $r_j$  e  $R_L$  os vetores posição,  $V(r, R)$  representa o potencial de interação de Coulomb, e  $A$  e  $\phi$  são os potenciais vetor e escalar, associados ao campo eletromagnético e medidos na posição das cargas. Sendo que a interação magnética entre as partículas que formam o sistema não é levado em conta por este Hamiltoniano, em geral, ela é menor do que a interação magnética destas com o campo de radiação.

Fazendo o desenvolvimento dos termos quadráticos da Eq. (II.2), assim, o Hamiltoniano pode ser dividido o em dois termos. O primeiro termo refere-se ao molecular:

$$H_M = \sum_{j=1}^N \frac{p_j^2}{2m_e} + \sum_{L=1}^M \frac{P_L^2}{2M_L} + V(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \quad (\text{II.3})$$

Sendo que este é o análogo clássico do Hamiltoniano quântico definido por:

$$H_M = -\sum_{j=1}^N \frac{\hbar^2}{2me} \nabla_j^2 - \sum_{L=1}^M \frac{\hbar^2}{2M_L} \nabla_L^2 - \sum_{j=1}^N \sum_{L=1}^M \frac{e^2 Z_L}{r_{jL}} + \sum_{j=1}^N \sum_{j>k}^N \frac{e^2}{r_{jk}} + \sum_{L=1}^M \sum_{L>A}^M \frac{e^2 Z_L Z_A}{R_{LA}} \sum_{L=1}^M \sum_{L>A}^M \frac{e^2 Z_L Z_A}{R_{LA}} \quad (\text{II.4})$$

no Hamiltoniano molecular estão descritos a soma dos potenciais atrativos e repulsivos representados por  $V(\mathbf{r}, \mathbf{R})$ . A segunda parte refere-se ao termo do Hamiltoniano total associado a interação da radiação com a matéria:

$$H'(t) = -\sum_{L=1}^M \left\{ \frac{eZ_L}{2cM_L} \left[ P_L \cdot A(R_L, t) \cdot P_L - \frac{eZ_L}{c} |A(R_L, t)|^2 \right] - eZ_L \phi \right\} + \sum_{j=1}^N \left\{ \frac{e}{2m_e c} \left[ p_j \cdot A(r_j, t) + A(r_j, t) \cdot p_j + \frac{e}{c} |A(r_j, t)|^2 \right] - e\phi \right\} \quad (\text{II.5})$$

Descrevemos o campo de radiação usando apenas o potencial vetor, devido ao uso do calibre de radiação ou seja, o potencial escalar é nulo. Se considerarmos que o campo de radiação possui baixa intensidade (aproximação do campo fraco [44]), e levando em conta que o potencial vetor é muito pequeno, assim, assumiremos que o seu módulo ao quadrado possa ser desprezado quando comparado com o termo linear. A partir dessa análise, são desconsiderados os dois últimos termos de cada expressão que compõem o Hamiltoniano de interação da radiação com a matéria. Considerando o Hamiltoniano resultante como um termo perturbativo do Hamiltoniano total.

Usando o princípio da correspondência, podemos então converter o Hamiltoniano perturbativo clássico em quântico. Para isso, substituímos o momento conjugado de cada partícula  $p_j$  ou  $(P_L)$  pelo operador momento  $-i\hbar \nabla_j$  (ou  $-i\hbar \nabla_L$ ), de forma que obtemos:

$$H'(t) = i\hbar \sum_{L=1}^M \left\{ \frac{eZ_L}{2cM_L} [\nabla_L \cdot A(R_L, t) + A(R_L, t) \cdot \nabla_L] \right\} \quad (\text{II.6})$$

$$-i\hbar \sum_{j=1}^N \left\{ \frac{e}{2m_e c} [\nabla_j \cdot A(r_j, t) + A(r_j, t) \cdot \nabla_j] \right\}$$

os divergentes são calculados nas coordenadas eletrônicas e nucleares como indicados pelos índices  $j$  e  $L$  dos operadores  $\nabla$ .

Se calcularmos o divergente do potencial vetor em uma função escalar  $\psi(r, R)$ , sabemos que o potencial vetor satisfaz ao calibre de radiação, demonstrados nos itens anteriores ou seja, o seu divergente é nulo Eq. (2.9.12), obtemos

$$\begin{aligned} \nabla_k \cdot A\psi &= A \cdot (\nabla_k \psi) + \psi \nabla_k \cdot A \\ &= A \cdot (\nabla_k \psi) \end{aligned} \quad (\text{II.7})$$

considerando os índices  $k = j$  e  $k = L$ , assim, tanto os elétrons quanto os núcleos, serão representados pelo índice  $k$ . Substituindo esse resultado na Eq. (II.5), o termo perturbativo é escrito como:

$$H'(t) = i\hbar \sum_{L=1}^M \left[ \frac{eZ_L}{cM_L} A(R_L, t) \cdot \nabla_L \right] - i\hbar \sum_{j=1}^N \left[ \frac{e}{m_e c} A(r_j, t) \cdot \nabla_j \right] \quad (\text{II.8})$$

ou seja:

$$\begin{aligned} H'(t) &= i\hbar \sum_{L=1}^M \left[ \frac{eZ_L}{cM_L} A_0 \cos(\mathbf{k} \cdot R_L - \omega t) \hat{\varepsilon} \cdot \nabla_L \right] \\ &\quad - i\hbar \sum_{j=1}^N \left[ \frac{eZ_L}{m_e c} A_0 \cos(\mathbf{k} \cdot r_j - \omega t) \hat{\varepsilon} \cdot \nabla_j \right] \end{aligned} \quad (\text{II.9})$$

Podemos ainda escrever o Hamiltoniano de interação da seguinte maneira:

$$\begin{aligned}
 H'(t) = i\hbar \sum_{L=1}^M \left\{ \frac{eZ_L}{2cM_L} A_0 [e^{i\mathbf{k}\cdot R_L} e^{-i\omega t} + e^{-i\mathbf{k}\cdot R_L} e^{i\omega t}] \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_L \right\} \\
 - i\hbar \sum_{j=1}^N \left\{ \frac{e}{m_e c} A_0 [e^{i\mathbf{k}\cdot \mathbf{r}_j} e^{-i\omega t} + e^{-i\mathbf{k}\cdot \mathbf{r}_j} e^{i\omega t}] \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_j \right\}
 \end{aligned} \tag{II.10}$$

Podemos expandir os termos  $e^{\pm i\mathbf{k}\cdot \mathbf{r}} = e^{\pm i\mathbf{k}\cdot \mathbf{z}}$  em uma série de Taylor:

$$e^{\pm i\mathbf{k}\cdot \mathbf{z}} = 1 \pm i\mathbf{k}\cdot \mathbf{z} \mp \frac{k^2}{2} z^2 \pm \dots \tag{II.11}$$

Se a radiação eletromagnética tiver comprimento de onda tão grande o quanto comparado com as dimensões moleculares (aproximação de comprimento de onda longo [45]), podemos assumirmos que  $kz = \frac{2\pi z}{\lambda} \ll 1$ , assim, substituímos  $e^{i\mathbf{k}\cdot \mathbf{z}}$  apenas pelo primeiro termo da expansão. Com a substituição, podemos o termo perturbativo fica:

$$H'(t) = \frac{i\hbar A_0}{c} \left\{ \sum_{L=1}^M \left[ \frac{eZ_L}{M_L} \cos(\omega t) \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_L \right] - \sum_{j=1}^N \left[ \frac{e}{m_e c} \cos(\omega t) \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_j \right] \right\} \tag{II.12}$$

$$\begin{aligned}
 H'(t) = \frac{i\hbar A_0}{2c} \left\{ \sum_{L=1}^M \left[ \frac{eZ_L}{M_L} (e^{-i\omega t} + e^{i\omega t}) \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_L \right] - \right. \\
 \left. - \frac{i\hbar A_0}{2c} \sum_{j=1}^N \left[ \frac{e}{m_e c} (e^{-i\omega t} + e^{i\omega t}) \hat{\boldsymbol{\varepsilon}} \cdot \nabla_j \right] \right\}
 \end{aligned} \tag{II.13}$$

o Hamiltoniano da interação entre o sistema molecular e a radiação é representado pelas equações (II.12) e (II.13).

