

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

LAURA BEZERRA PORTUGAL AROUCA

RADIÓLISE DA PROLINA INDUZIDA POR ELÉTRONS ANALISADA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

SALVADOR-BAHIA

2020

RADIÓLISE DA PROLINA INDUZIDA POR ELÉTRONS ANALISADA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

LAURA BEZERRA PORTUGAL AROUCA

**ORIENTADOR:** PROF. DR. RICARDO DOS REIS TEIXEIRA MARINHO

Dissertação apresentada ao Instituto de Física da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Física.

SALVADOR-BA

2020

RADIÓLISE DA PROLINA INDUZIDA POR ELÉTRONS ANALISADA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

LAURA BEZERRA PORTUGAL AROUCA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Física e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ricardo Dos Reis Teixeira Marinho  
Instituto de Física - UnB

Prof. Dr. Frederico Vasconcelos Prudente  
Instituto de Física – UFBA

Prof. Dr. Manoel Gustavo Petrucelli Homem  
Departamento de Química - UFSCar

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo financiamento da pesquisa – Código de Financiamento 001, e aos laboratórios LCM (IFBA), LAMUME, LabMat e LaPO, pela utilização do MEV e pela colaboração de materiais.

Aos professores Ricardo, pela grande paciência e dedicação na orientação deste trabalho; Luiz, pelos muitos ensinamentos; e Frederico, pela gentileza e inteligência com que me tirava as dúvidas.

Aos meus queridos amigos do LEMFF Jerry, George e Leonardo, pela amizade e auxílio nas tarefas no laboratório, e, em especial, a Rafael e Lucas, por serem tão generosos comigo e me ensinarem tudo, da Física à vida.

Ao meu noivo, por sempre me incentivar e me inspirar com seu exemplo.

À minha mãe e minha irmã, por todo amor e entrega. E ao meu pai, em memória, por sua dedicação a mim.

A Jesus Cristo, meu Senhor, por sustentar as minhas atividades, aumentar o sentido e a beleza de todas elas e por permitir que eu, em meio às dificuldades, estivesse com as pessoas incríveis com as quais convivi nesse período.

## RESUMO

Estudos têm identificado a fotólise e radiólise de mantos gelados de grãos de poeira interestelar como uma possível fonte de aminoácidos, sugerindo, junto à descoberta de compostos orgânicos complexos em meteoritos e cometas, que moléculas prebióticas possam ter sido trazidas à Terra primitiva pelo impacto desses corpos celestes. Aminoácidos têm sido estudados, juntamente com seus precursores, com o propósito de compreender os processos físico-químicos decorridos da sua exposição aos agentes ionizantes (elétrons, fótons, raios cósmicos, etc) nos ambientes astrofísicos. Este trabalho tem como objetivo estudar a interação do aminoácido L-prolina ( $C_5H_9NO_2$ ) com elétrons de energia da ordem de 2 keV. Mais especificamente, analisar, por espectroscopia no infravermelho, a radiólise ocorrida e obter valores de seção de choque. Para isso, filmes de prolina depositados por sublimação sobre janelas de ZnSe foram irradiados por um feixe de elétrons em uma câmara experimental a alto vácuo e à temperatura ambiente. Um dos filmes foi previamente aquecido a 120°C para analisar a influência do *annealing* no comportamento da amostra durante a degradação. Os resultados obtidos mostraram que a radiólise da prolina induzida por elétrons pôde ser caracterizada utilizando o modelo de análogos de gelos astrofísicos irradiados por um feixe de íons rápidos. Foram observados e comparados valores de seção de choque de rearranjo e destruição para os dois filmes analisados, concluindo-se que o *annealing* realizado não provocou alterações significativas no processo de rearranjo da amostra, mas modificou a forma como ocorreu a destruição causada pelos elétrons.

Palavras-chave: Prolina – Radiólise – Elétrons – Espectroscopia infravermelha — Annealing – Aminoácidos

## ABSTRACT

Studies have identified the photolysis and radiolysis of icy mantles of interstellar dust grains as a possible source of amino acids, suggesting, along with the discovery of complex organic compounds in meteorites and comets, that prebiotic molecules may have been brought to the primitive Earth by the impact of these celestial bodies. Amino acids and their precursors have been studied with the purpose of understanding physicochemical processes induced by ionizing radiation, like electrons, photons and cosmic rays, in astrophysical environment. This present study aims to study the interaction between the L-Proline ( $C_5H_9NO_2$ ), sublimated on an ZnSe substrate, and 2 keV electrons beam in an experimental chamber under high vacuum at room temperature. And more specifically, our goal is to analyse, by infrared spectroscopy, the radiolysis and obtain cross section values. One of the films was previously heated at 120°C to analyse the influence of annealing during the sample degradation.

The results obtained showed that electron-induced proline radiolysis can be characterized using the astrophysical ice analogues model irradiated by swift ion beam. Rearrangement and destruction cross section values were determined and compared for the two films prepared with and without annealing, concluding that the sample heating did not promote significant changes in the sample rearrangement process although it has modified the rate of destruction by the impact of electrons.

Key-words: Proline – Radiolysis – Electron – Infrared Spectroscopy – Annealing – Amino acids

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Referencial Teórico.....</b>	<b>14</b>
	<b>2.1 Interação da radiação com a matéria.....</b>	<b>14</b>
	2.1.1 Os espectros eletromagnético e molecular .....	14
	2.1.2 Modos normais de vibração e o processo de absorção de radiação infravermelha.....	16
	<b>2.2 Espectroscopia no infravermelho.....</b>	<b>18</b>
	<b>2.3 Degradação de aminoácidos por impacto de elétrons.....</b>	<b>22</b>
	2.3.1 Radiólise de aminoácidos e gelos astrofísicos.....	23
	2.3.3 Seção de choque e curvas de degradação.....	25
<b>3</b>	<b>Técnica Experimental.....</b>	<b>28</b>
	<b>3.1 Produção de Amostras.....</b>	<b>28</b>
	<b>3.2 Aparato e procedimento experimentais.....</b>	<b>32</b>
	3.2.1 Irradiação da amostra por elétrons em vácuo.....	32
	3.2.2 Tratamento térmico de amostras.....	37
<b>4</b>	<b>Resultados e discussões.....</b>	<b>38</b>
	<b>4.1 Preparação de amostras.....</b>	<b>38</b>
	4.1.1 Testes de produção.....	39
	4.1.2 Análise de amostras via Microscopia Eletrônica de Varredura.....	41
	<b>4.2 Tratamento térmico em amostras de prolina.....</b>	<b>46</b>
	<b>4.3 Radiólise da prolina induzida por elétrons.....</b>	<b>48</b>
	4.3.1 Radiólise da amostra não tratada termicamente.....	48
	4.3.2 Radiólise da amostra tratada termicamente.....	51
<b>5</b>	<b>Conclusões e perspectivas .....</b>	<b>54</b>

<b>5.1 Conclusões.....</b>	<b>54</b>
<b>5.2 Considerações gerais sobre o trabalho.....</b>	<b>55</b>
<b>5.3 Perspectivas.....</b>	<b>56</b>
<b>Referências.....</b>	<b>57</b>



## 1 Introdução

A presença de matéria orgânica tem sido reconhecida há muitos anos em cometas [1,2] e em meteoritos do tipo condrito carbonáceo, fragmentos de antigos asteroides [3,4,5]. Aminoácidos, em particular, têm sido encontrados de forma expressiva nesses corpos. Somente nos meteoritos Murray (EUA, 1950) e Murchison (Austrália, 1969), foram encontrados numerosos tipos de aminoácidos [6,7] com características que sugerem serem esses não contaminantes terrestres, mas de origem exógena [8,9] (tabela 1).

Tabela 1 - Aminoácidos identificados nos meteoritos Murray e Murchinson, adaptado de [10].

<b>Aminoácidos encontrados em Murray e Murchison</b>		
Isovalina (DL)	Ácido $\alpha$ -aminobutírico	D-Prolina
L- $\alpha$ -Alanina	Ácido $\gamma$ -aminobutírico	L-Prolina
D-Valina	Ácido $\beta$ -amino-n-butírico (DL)	N-Metilglicina
L-Valina	Ácido D-Pipecólico	Ácido D-Aspártico
Glicina	Ácido L-Pipecólico	Ácido L-Aspártico
D- $\alpha$ -Alanina	Ácido D- $\alpha$ -amino-n-butírico	Ácido D-Glutâmico
$\beta$ -Alanina	Ácido L- $\alpha$ -amino-n-butírico	Ácido L-Glutâmico

Os aminoácidos são componentes moleculares essenciais aos organismos vivos na Terra, mas os mecanismos propostos para sua geração espontânea não foram capazes de explicar sua presença na história da Terra primitiva [11]. Estudos identificam hoje a fotólise e radiólise de mantos gelados de grãos de poeira interestelar como uma possível fonte de aminoácidos e sugerem que essas moléculas prebióticas possam ter sido trazidas à Terra primitiva por poeira de cometas, meteoritos ou partículas de poeira interplanetária [12, 13]. Em modelos teóricos e experimentais [14-17], os resultados apontam para a produção de moléculas com uma maior complexidade química, tais como os aminoácidos, a partir da irradiação por ultravioleta de vácuo de gelos astrofísicos contendo H<sub>2</sub>O, CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>4</sub> e NH<sub>3</sub>.

Os fatos acima citados, combinados com inúmeros outros resultados não comentados nesse texto, são apontados como elementos chave para uma questão de grande relevância para a ciência: a origem da vida. E, diante desse cenário, muitos trabalhos têm sido realizados a fim de compreender a formação e a sobrevivência de moléculas orgânicas complexas nos meios circunstelar e interestelar. Assim, tem-se estudado experimentalmente os mecanismos e condições de sua interação com agentes ionizantes típicos desses ambientes [18].

De modo particular, existe atualmente um grande interesse em radiólise na superfície de gelos astrofísicos, cometas, satélites naturais ou asteroides, devido ao fato de que compostos prebióticos foram descobertos nesses corpos [19], os quais estão expostos permanentemente a fótons, elétrons e íons de fontes como, por exemplo, raios cósmicos e ventos solares (e mesmo estelares) [20,21].

Por isso, análogos de gelos astrofísicos têm sido produzidos e submetidos em laboratórios à radiação ionizante [22–24] para simular as condições das interações ocorridas no meio interestelar e verificar a ocorrência de síntese ou degradação de aminoácidos e de seus precursores naturais. O modelo de interação utilizado para a dinâmica de gelos astrofísicos irradiados em vácuo tem sido também utilizado nos últimos anos em estudos de radiólise de aminoácidos a baixíssimas temperaturas e, da mesma forma, à temperatura ambiente [19].

Os experimentos de radiólise induzida por íons têm sido feitos com aminoácidos como a valina [25], glicina [26,27], fenilalanina [26] e alanina [18,26] e induzida por elétrons também com a glicina [19,28-30] e a alanina [31]. De modo geral, tem-se utilizado a espectroscopia no infravermelho como técnica de análise e obtido resultados em termos de seção de choque de formação ou dissociação para os compostos investigados. Os valores de seção de choque podem ser utilizados para traçar rotas de fragmentação e caminhos de reação em estudos da cinética química de moléculas em ambientes astrofísicos.

Dentre os compostos prebióticos descobertos nos meteoritos Murray e Murchison (tabela 1) está a Prolina (Pro), um dos 20  $\alpha$ -aminoácidos proteinogênicos encontrados no código genético dos seres vivos. Por ser um composto quiral, apresenta atividade óptica, existindo como um par de enantiômeros, L-Prolina ou D-Prolina. Os enantiômeros são estereoisômeros cujas moléculas são imagens especulares não superponíveis. No caso dos aminoácidos, os que formam proteínas são sempre os levógiros (L).

A L-Prolina é classificada como não-essencial por ser sintetizada pelo organismo a partir do ácido glutâmico. Sua fórmula geral é  $C_5H_9NO_2$  e sua estrutura molecular está ilustrada na figura 1.1.

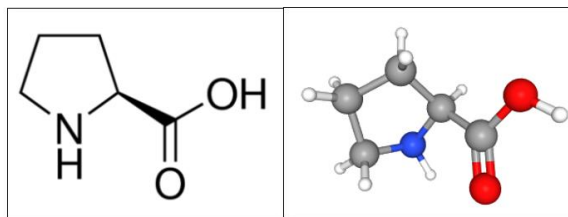


Figura 1.1: Estrutura molecular de L-Prolina [32].

Efetivamente, a prolina não é um típico aminoácido, mas um iminoácido. Isso porque ela contém, no lugar de um característico grupo amina ( $>C-NH_2$ ), um grupo imina ( $>C=NH$ ), além do grupo carboxílico ( $-COOH$ ). Ademais, possui um anel heterocíclico com 5 membros, entre os quais está o átomo de nitrogênio. É a única ocorrência natural de aminoácido que possui uma cadeia lateral cíclica com um grupo amina (imina) secundário (fig. 1.2). Dessa forma, a prolina tem uma notável rigidez conformacional comparada aos outros aminoácidos [33].

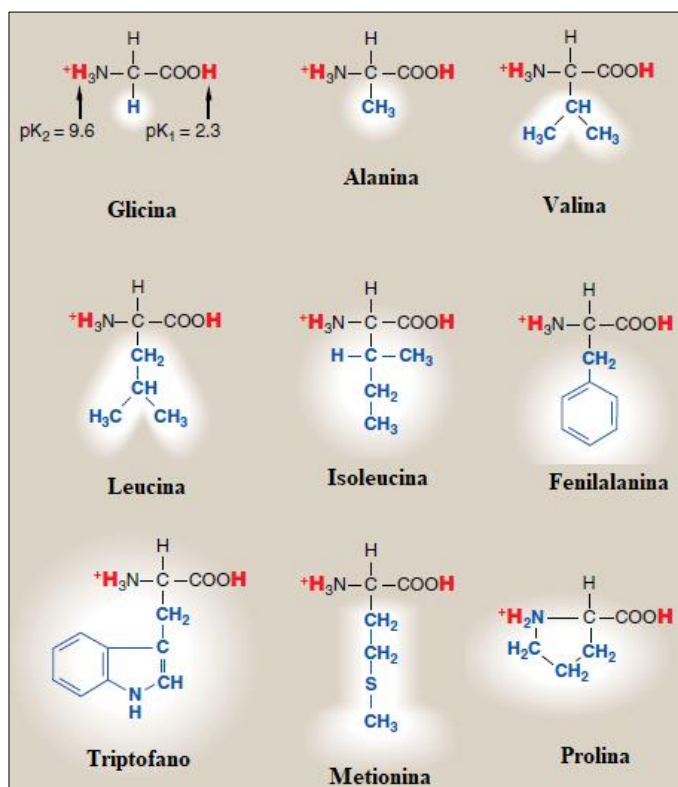


Figura 1.2: Alguns aminoácidos encontrados em proteínas, sendo cada um deles apresentado simultaneamente em suas possíveis formas canônica e protonada, com os dissociáveis íons de hidrogênio representados em negrito. Destaque em branco para as cadeiras laterais. Adaptado de [34].

O ponto de fusão da prolina é 205°C. No estado sólido, está naturalmente presente em sua forma zwitteriônica [35]. Um *zwitterion* é um composto com carga elétrica resultante nula, mas com partes separadas com carga positiva e negativa. Assim, o fragmento N-H toma a forma protonada, gerando um grupo  $\text{NH}_2^+$ , enquanto o grupo ácido toma a forma aniônica  $\text{COO}^-$  (fig. 1.3).

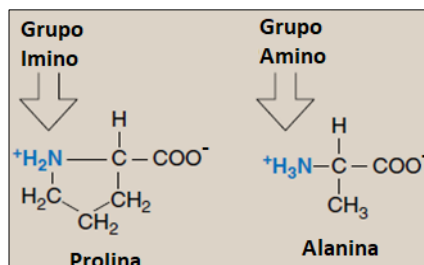


Figura 1.3: Comparação entre os aminoácidos prolina e alanina nas suas formas zwitteriônicas, adaptado de [34].

A L-prolina é um dos principais responsáveis pela estrutura helicoidal tripla do colágeno, as proteínas mais abundantes em mamíferos, que compõem pele, tendões, ossos e tecido conjuntivo. Além de desempenhar papéis estruturais únicos nas proteínas, a L-prolina protege os organismos contra vários estresses. As plantas, por exemplo, acumulam prolina sob estresse osmótico induzido pela seca, alta salinidade e congelamento [33]. Nesse contexto, acredita-se que esse aminoácido aja como um osmólito, preservando a integridade das proteínas, enzimas e membranas celulares, sendo, portanto, muito utilizado na biotecnologia.

Entre os diversos trabalhos desenvolvidos sobre a prolina nos últimos anos, estão os estudos sobre a sua estrutura molecular [36-38], a sua interação com os diferentes tipos de radiação [33,39,40] e a sua interação com diferentes compostos [35,41,42]. Há também trabalhos envolvendo a identificação das suas bandas vibracionais na espectroscopia no infravermelho e Raman [35, 43-49].

O objetivo principal deste trabalho é estudar, via espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), a interação, à temperatura ambiente, do aminoácido prolina com elétrons de energia da ordem de 2 keV. Especificamente, o objetivo compreende a caracterização do processo de radiólise por meio das seções de choque e fluência de meia-vida.

Para realizar o estudo, foram executados experimentos no Laboratório de Espectroscopia Molecular e Filmes Finos (LEMFF) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) que envolveram:

- A caracterização da produção de amostras, onde foi investigado, via FT-IR e MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura), um método eficiente para produzir filmes de prolina finos e sem umidade;
- A investigação via FT-IR da influência do aquecimento na estrutura da amostra;
- A irradiação de filmes de prolina por um feixe de elétrons, em vácuo e à temperatura ambiente, e a caracterização, por meio do modelo da dinâmica de gelos astrofísicos, da consequente radiólise ocorrida.

A estrutura deste trabalho, então, foi disposta do seguinte modo:

No capítulo 2, é abordada a teoria referente aos experimentos realizados, desde o princípio físico-químico que os fundamenta até o funcionamento do seu aparato instrumental.

No capítulo 3, são descritos os procedimentos realizados durante os experimentos, desde a produção de amostras até a degradação dos filmes de prolina e obtenção dos dados a partir dos espectros.

No capítulo 4, são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos testes de preparação de amostras, nos experimentos envolvendo tratamentos térmicos e nos experimentos de radiólise do aminoácido induzida por elétrons.

No capítulo 5, são expostas as conclusões sobre o trabalho e consideradas as suas devidas perspectivas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo, abordaremos a teoria relativa aos experimentos realizados, desde o princípio físico-químico que os fundamenta até o funcionamento do seu aparato instrumental.

### 2.1 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA

#### 2.1.1 Espectros eletromagnético e molecular

A radiação eletromagnética inclui, além do que comumente chamamos de ‘luz’, radiação de longos e curtos comprimentos de onda [50]. Estende-se, em ordem crescente de energia, das ondas de rádio até os raios X e gama. Todas essas formas compõem, juntas, o espectro eletromagnético (fig. 2.1).

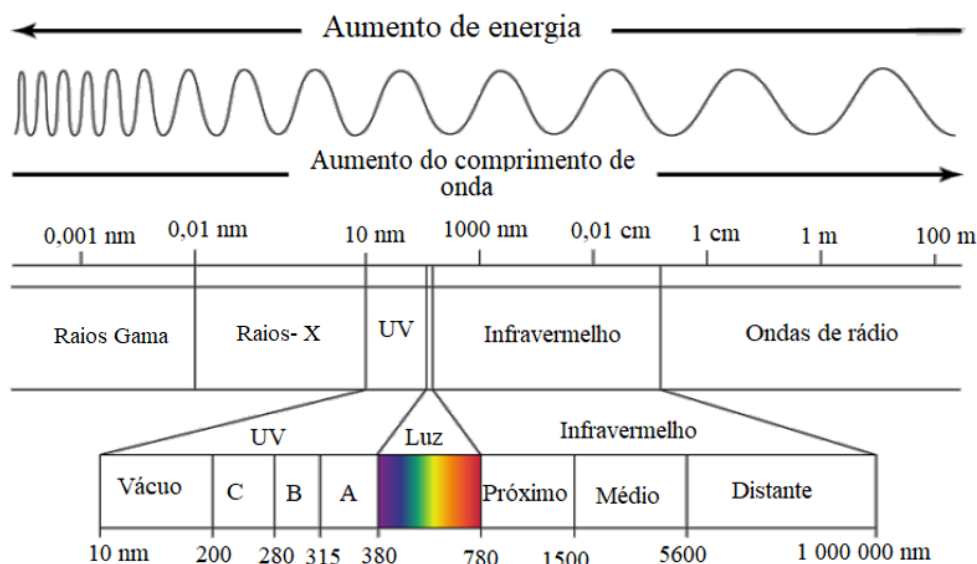


Figura 2.1- Espectro eletromagnético

Segundo a teoria ondulatória, a radiação eletromagnética pode ser compreendida como ondas que se propagam no espaço com um dado comprimento de onda  $\lambda$  e uma frequência  $\nu$ . Sob a perspectiva corpuscular, a descrição da radiação eletromagnética apresenta-a como um fluxo de partículas chamadas fótons, que são como pacotes de energia. A energia  $E$  de cada fóton está relacionada com a frequência  $\nu$  da radiação por meio da equação  $E = h\nu$ , onde  $h$  é a constante de Planck, cujo valor é  $6,62606876 \cdot 10^{-34}$  Js [50].

Ademais, a frequência  $\nu$  da radiação relaciona-se com o seu comprimento de onda por meio da sua velocidade  $v$ . No vácuo,  $v$  é escrita como  $c$ , cujo valor é, aproximadamente,  $3,0 \cdot 10^8$  m/s. Assim,  $\lambda = c/\nu$  [50].

Em vários tipos de espectroscopia, usa-se  $E$ ,  $\nu$  ou  $\lambda$  para caracterizar a radiação emitida ou absorvida em particular. Uma grandeza adicional, proporcional à energia, é frequentemente usada. É o número de onda  $\bar{\nu}$ , ou recíproco do comprimento de onda, dada por  $\bar{\nu} = 1/\lambda$ . Sua unidade usual é  $\text{cm}^{-1}$ .

Apesar de ser contínuo, o espectro eletromagnético é ordinariamente dividido em faixas de frequências, sendo cada uma delas associada a diferentes efeitos. O valor da energia de determinada radiação que incide sobre a matéria estabelece quais fenômenos espectroscópicos podem ocorrer. Raios X, por exemplo, têm energia suficiente para fazer com que os elétrons se desprendam de átomos e moléculas, causando ionização; radiações de outras regiões do espectro eletromagnético (ultravioleta próximo, infravermelho, micro-ondas, etc.) não são ionizantes, mas promovem transições entre estados energéticos.

Pode-se compreender os processos ocorridos às moléculas quando da sua exposição à radiação não-ionizante por meio dos níveis de energia a elas associados.

A energia total de uma molécula, sem levar em conta seus movimentos translacionais e considerando apenas estados ligados, está vinculada aos seus estados nos níveis eletrônico, vibracional e rotacional. Para cada estado eletrônico de energia  $E_e$  existem vários estados vibracionais ligados de energia  $E_v$ , e para cada estado vibracional existem vários estados rotacionais ligados de energia  $E_r$ . De forma geral, escreve-se a energia total  $E$  como

$$E = E_e + E_v + E_r \quad \text{Eq. (1)}$$

Quando a molécula é exposta à radiação, absorverá a sua energia se essa tiver o mesmo valor (Eq. 2) da diferença de energia  $\Delta E$  entre dois estados quânticos eletrônico, vibracional ou rotacional.

$$\Delta E = h\nu \quad \text{Eq. (2)}$$

Dessa maneira, a absorção de energia está vinculada às transições entre os níveis energéticos da molécula e cada região do espectro eletromagnético está relacionada a um tipo de transição do espectro molecular. Usualmente, a região do visível ao ultravioleta corresponde às transições eletrônicas, a região do micro-ondas corresponde às transições

rotacionais e a região do infravermelho, às vibracionais. O primeiro caso refere-se à passagem de um elétron de um estado de menor energia para um estado de maior energia, e os dois últimos referem-se à mudança da posição relativa dos átomos na molécula e à mudança no seu momento angular, relacionada às suas vibrações e rotações, respectivamente.

A figura 2.2 apresenta a variação da energia potencial  $V(r)$  de uma molécula diatômica como uma função da distância entre seus átomos,  $r$ , durante uma vibração. A linha tracejada refere-se ao caso do oscilador harmônico, modo no qual os átomos vibram com movimento harmônico simples (ou seja, obedecendo à lei de Hooke) e a variação real da energia potencial é mostrada como uma linha contínua, sendo uma função potencial anarmônica (tipo Morse). As linhas horizontais referem-se aos estados vibracionais que, como se nota, são quantizados. [51]

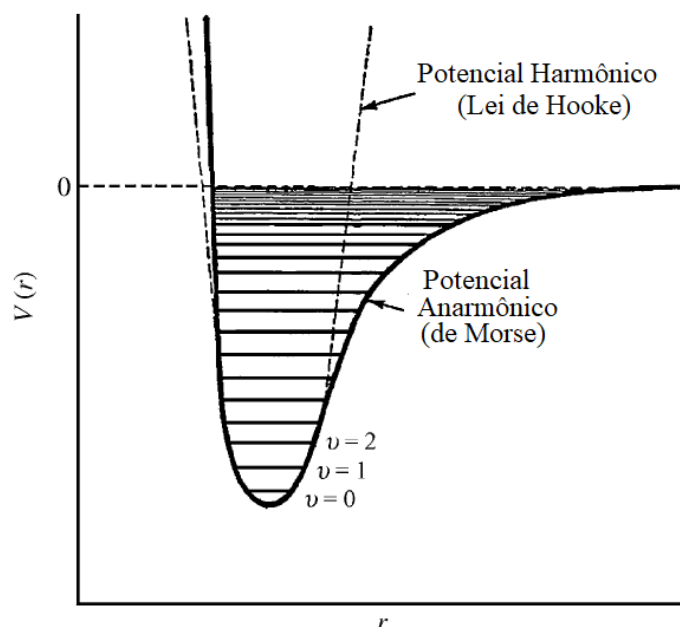


Figura 2.2: Energia potencial de uma molécula diatômica em função do deslocamento atômico durante uma vibração para um oscilador harmônico (linha tracejada) e um oscilador anarmônico (linha sólida). [51].

### 2.1.2 Modos normais de vibração e o processo de absorção de radiação infravermelha

Em um modelo simples, uma molécula pode ser vista como um sistema de massas unidas por ligações com propriedades semelhantes às de molas [52]. Assim sendo, as vibrações moleculares se estabelecem em função da distância dessas ligações – aproximadamente como uma oscilação harmônica simples da mola em torno da sua



posição de equilíbrio – e da alteração dos ângulos específicos formados pelos átomos, podendo variar desde o simples movimento acoplado de dois átomos em uma molécula diatômica a um movimento muito mais complexo em uma grande molécula com vários grupos funcionais [53].

Em termos de mobilidade, uma molécula de  $N$  átomos possui  $3N$  graus de liberdade, dentre os quais estão três relacionados à translação do seu centro de massa e outros três relacionados à rotação em torno de três eixos perpendiculares. Moléculas lineares se diferenciam por terem apenas dois graus de liberdade rotacional, visto que não há rotação em torno do seu eixo internuclear.

Desse modo, pode-se saber quantos graus de liberdade vibracional tem uma molécula poliatômica utilizando a expressão  $3N-6$  para as não-lineares e  $3N-5$  para as lineares. Esses graus correspondem aos chamados modos normais de vibração, movimentos síncronos e independentes de átomos ou grupo de átomos, com alguns exemplos ilustrados na figura 2.3.

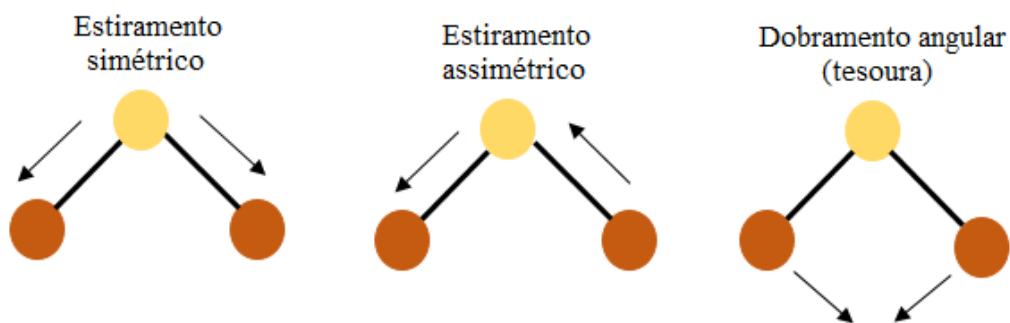


Figura 2.3 – Exemplos de modos normais de vibração para uma molécula triatômica

Os modos normais envolvem basicamente dois tipos de movimento:

I) Deformações lineares, ou elongações axiais, que consistem em variações das distâncias internucleares. São os estiramentos simétricos e assimétricos, comumente chamados na literatura de *stretching*;

II) Deformações angulares, que consistem em flexões dos ângulos entre as ligações. Podem ser no plano molecular (dobramento no plano – *in-plane bending*; balanço – *rocking* e tesoura – *scissoring*) ou fora do plano (dobramento fora do plano – *out-of-plane bending*; oscilação – *wagging* e torção – *twisting*).

Cada um dos modos, então, configura uma vibração molecular e é definido por uma frequência única. Essa frequência (eq. 3), denotada por  $\nu$ , depende de dois fatores.

Esses fatores são as massas dos átomos ligados, ou massa efetiva  $\mu$ , e a rigidez relativa da ligação, medida pela constante de força  $k$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{Eq. (3)}$$

Usualmente, o número de onda é utilizado no lugar da frequência para caracterizar alguma vibração.

Como mencionado anteriormente, a radiação infravermelha, cuja faixa vai de  $14000 \text{ cm}^{-1}$  a  $10 \text{ cm}^{-1}$ , está associada às transições entre os níveis energéticos vibracionais moleculares. Para um composto absorver radiação, essa deve ser de frequência coincidente com a frequência natural de um dos modos de vibração das suas moléculas. Esse processo, portanto, pode ser descrito em termos de uma condição de ressonância.

Quando a absorção ocorre, a energia da radiação promove as suas moléculas a um estado quântico vibracional excitado e aumenta a amplitude dos movimentos de vibração dos seus átomos ou grupos de átomos.

Entretanto, nem todas as ligações em uma molécula são capazes de absorver energia na referida faixa espectral, ainda que a frequência da radiação incidente satisfaça a condição acima citada. A regra de seleção para absorção de radiação por uma vibração molecular é a de que o momento de dipolo elétrico da molécula deve se alterar quando os átomos forem deslocados uns em relação aos outros. Essas vibrações são ditas ativas no infravermelho. Isso implica, por exemplo, em moléculas diatômicas homonucleares tais como  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$  e  $\text{O}_2$ , cujas vibrações não afetam os seus momentos de dipolo (que são nulos), não interajam com a radiação e não exibem transições espectrais no infravermelho [54].

## 2.2 Espectroscopia no Infravermelho

Os primeiros espectrômetros utilizados na espectroscopia no infravermelho foram os dispersivos. Como o nome sugere, possuem elementos dispersivos em sua composição, como redes de difração e prismas. A sua fonte produz um feixe de radiação infravermelha que é dividido, por meio de espelhos, em dois: um incide sobre a amostra e o outro é usado como referência. Esses feixes, então, passam alternadamente pelo monocromador, onde ocorre a dispersão. O elemento dispersivo faz variar a frequência da radiação que chega ao detector, para que esse reconheça quais frequências da radiação incidente foram

absorvidas pela amostra por meio da razão entre as intensidades dos feixes citados. É obtido, assim, o espectro de absorção da amostra.

Nos últimos anos, no entanto, o espectrômetro dispersivo foi sendo substituído pelo espectrômetro no infravermelho por Transformada de Fourier, FTIR – do inglês *Fourier-Transform InfraRed* –, que apresenta algumas vantagens em relação ao anterior, dentre as quais estão uma maior sensibilidade e maior velocidade na obtenção dos espectros<sup>1</sup>.

Em geral, esse tipo de espectrômetro emprega um interferômetro de Michelson e baseia-se na ideia da interferência entre dois feixes de radiação para a construção de um interferograma, convertido posteriormente no espectro desejado por meio da Transformada de Fourier.

A figura 2.4 apresenta um modelo do interferômetro de Michelson em um espectrômetro FT-IR. Esse dispositivo é constituído por uma fonte, um divisor de feixes e dois espelhos planos e perpendiculares entre si, sendo um fixo e o outro móvel.

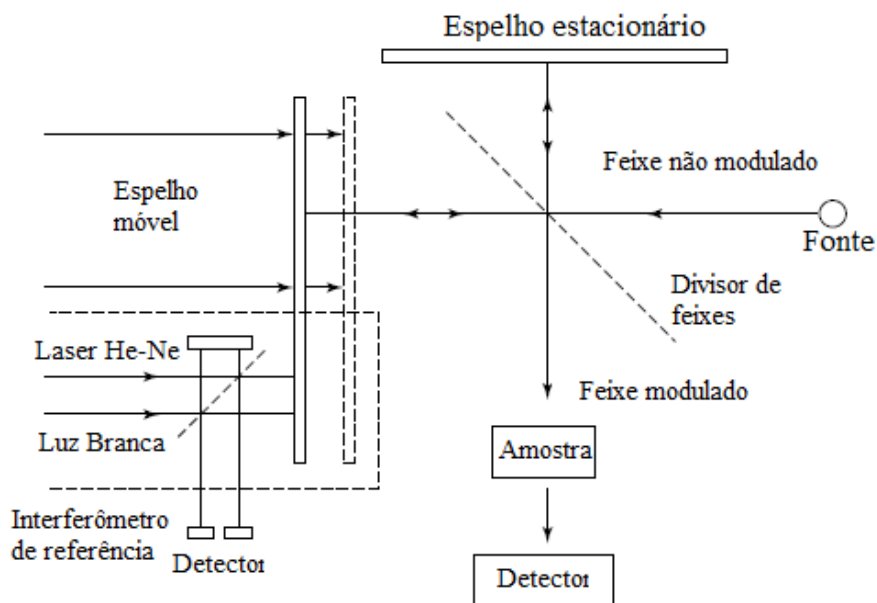


Figura 2.4 – Esquema de um interferômetro de Michelson, adaptado de [52].

A fonte de luz produz um feixe de radiação que é colimado e direcionado ao divisor de feixes. Nele, metade da radiação é transmitida para o espelho móvel, ao passo que a outra metade é refletida para o espelho fixo. Tal elemento semi-refletor, portanto,

<sup>1</sup> O espectrômetro do tipo FT-IR apresenta poucos elementos ópticos se comparado ao tipo dispersivo. Nele, todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente, fazendo com que as varreduras sejam rápidas.

divide o feixe inicial em dois, onde cada um viaja separadamente para os braços do interferômetro [53]. Ao chegar aos espelhos planos, os feixes são refletidos e voltam para o divisor, onde se encontram e se recombinam. Essa interferência ocorre porque o movimento do espelho móvel faz com que um feixe tenha percorrido uma trajetória distinta em relação ao outro, com diferentes números de onda. Assim, a diferença de caminho óptico introduzida nessa etapa produz padrões de interferência, dando origem ao interferograma.

O feixe recombinado que emerge do interferômetro é focalizado então para a amostra, atravessando-a. Quando o faz, há absorção simultânea de todas as frequências na faixa do infravermelho que são encontradas em seu espectro molecular. Desse modo, o detector recebe a radiação transmitida contendo informações sobre a quantidade de energia que foi absorvida em cada frequência.

É realizada, então, uma comparação entre o interferograma padrão produzido pelo feixe de referência e aquele que sofreu modificações ao atravessar a amostra. O resultado obtido é um gráfico da intensidade da radiação em função do tempo.

A Transformada de Fourier é o método matemático pelo qual o software utilizado no espectrômetro converterá o interferograma construído do domínio temporal para o domínio da frequência, fornecendo, desse modo, o espectro desejado.

O espectro infravermelho (fig. 2.5) é um gráfico da medida da intensidade da luz absorvida ou transmitida pela amostra versus o número de onda associado à absorção ou transmissão. Ele costuma aparecer como uma série de bandas, linhas muito próximas, sendo cada uma delas correspondente a um modo normal de vibração da molécula.

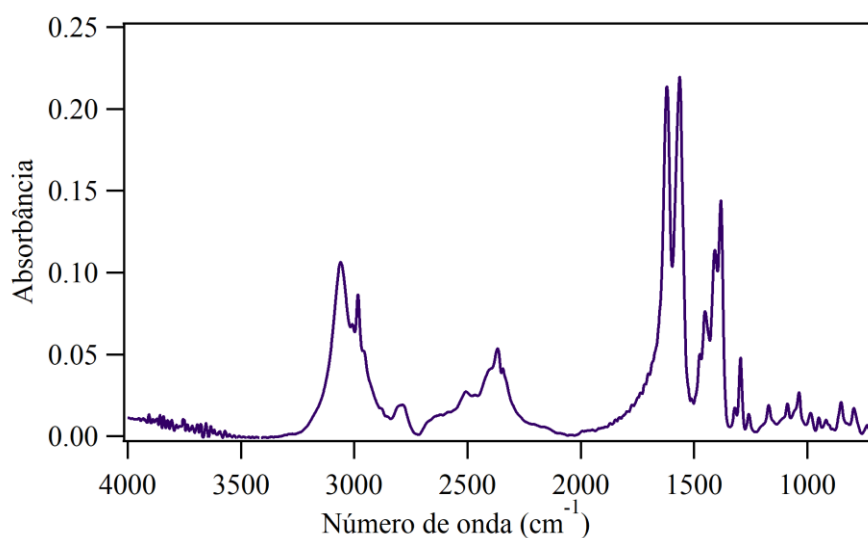


Figura 2.5: Espectro infravermelho de L-prolina no modo de absorbância.

A posição, a intensidade e a largura das bandas são características do espectro vinculadas às propriedades específicas da amostra.

A posição em que as bandas se manifestam depende da frequência em que a luz é absorvida. A frequência, por sua vez, depende dos fatores massa efetiva  $\mu$  e constante de força  $k$ , descritos na equação 3. Desse modo, vibrações de átomos mais pesados (com uma alta massa efetiva) absorvem radiação infravermelha em baixas frequências e vibrações cuja ligação dos átomos é forte ou rígida absorvem radiação infravermelha em altas frequências.

Há fatores tais como temperatura e pressão que alteram as interações químicas e afetam a constante da força de ligação, influenciando, conseqüentemente, a posição das bandas.

A intensidade das bandas é medida a partir da sua altura ou área, e corresponde à absorvância ou à transmitância. A transmitância  $T$  está associada à quantidade de radiação que atravessou a amostra sem ser absorvida. Ela é definida como

$$T = I/I_0 \quad \text{Eq. (4)}$$

onde  $I_0$  é a intensidade da luz incidente e  $I$  intensidade da luz que é transmitida pela amostra [54]. A Lei de Beer-Lambert (eq. 5) mostra que a intensidade  $I$  decresce exponencialmente à medida que a absorvidade  $\varepsilon$ , a concentração  $c$  e o caminho óptico ou espessura  $l$  da amostra crescem.

$$I = I_0 e^{-\varepsilon lc} \quad \text{Eq. (5)}$$

A absorvância  $A$  mede a quantidade de radiação absorvida por uma amostra em um dado número de onda e pode ser definida por

$$A = \log(I_0/I) \quad \text{Eq. (6)}$$

Logo, a absorvância pode ser também escrita como [55]

$$A = \varepsilon lc / \ln 10 \quad \text{Eq. (7)}$$

A absorvidade  $\varepsilon$ , ou coeficiente de absorção molar, é uma propriedade física fundamental da molécula. É a medida absoluta da intensidade de sua absorvância a um

número de onda específico [56]. Muitas vezes denotada por  $\sigma$ , é, fundamentalmente, a seção de choque de fotoabsorção da interação entre o feixe de radiação e o material.

É possível escrever a absorvância integrada sobre toda a largura da banda,  $S$ , utilizando:

$$S = \int_{\nu_i}^{\nu_f} A(\nu) d\nu \quad \text{Eq. (8)}$$

A Lei de Beer-Lambert é, portanto, a base para uma análise quantitativa dos espectros. Tem, no entanto, suas limitações. Existe um limite de linearidade que representa a concentração máxima para qual essa lei ainda é válida, e não devem estar presentes na mesma solução mais de uma substância absorvente para análise. Assim, ela é absolutamente apropriada somente quando uma única espécie dá origem à absorção observada.

E, por fim, a largura das bandas de amostras sólidas e líquidas está associada ao número de ambientes químicos nelas contido, e tem relação com a força das interações intermoleculares. Quando uma ligação de hidrogênio está presente, por exemplo, o número de ambientes químicos é grande e bandas largas são observadas. Quando as interações moleculares são fracas, esse número é pequeno, e bandas estreitas são observadas [56].

Diferentes grupos funcionais dão origem a bandas com diferentes larguras, intensidades e posições, e, por isso, as moléculas de uma amostra podem ser frequentemente identificadas analisando-se o espectro infravermelho com o auxílio de uma tabela de frequências como o exemplo a seguir.

Tabela 2: Bandas da água no espectro infravermelho

Número de Onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição/Assinatura
3490	Estiramento Antissimétrico O-H
3280	Estiramento Simétrico O-H
1645	Dobramento H-O-H

Desse modo, a água, uma molécula triatômica não-linear, possui 3 modos normais de vibração ( $3(3) - 6 = 3$ ), dois estiramentos e um dobramento, que podem ser identificados no espectro infravermelho a partir das frequências de suas bandas correspondentes.

Assim, a observação de características espectrais em uma determinada região do espectro é frequentemente indicativa de um grupo químico funcional específico na

molécula. Em algumas bandas, a frequência varia de uma molécula para outra contendo o grupo funcional específico. Esses modos são úteis para distinguir uma molécula de outra que contém grupos funcionais semelhantes e, portanto, são frequentemente conhecidos como faixas de impressão digital, ou região de *fingerprint*, entre 1450 - 500  $\text{cm}^{-1}$  do espectro eletromagnético. [51]

## 2.3 DEGRADAÇÃO DE AMINOÁCIDOS POR IMPACTO DE ELÉTRONS

Além da identificação de compostos químicos e investigação da sua estrutura molecular, a espectroscopia no infravermelho permite também monitorar os processos que ocorrem às moléculas de uma amostra quando essas são expostas a um feixe de partículas energéticas, como íons e elétrons. É, por isso, bastante utilizada como técnica de análise em experimentos de radiólise.

Como citado no capítulo 1, o estudo da radiólise de aminoácidos e análogos de gelos astrofísicos induzida por íons e elétrons vem sendo realizado nos últimos anos para compreender os processos físico-químicos que ocorrem a esses compostos nos seus ambientes espaciais. No entanto, os modelos de interação utilizados nesse estudo ainda estão em desenvolvimento. Trabalhos como os de MEJÍA et al. [22,23], MATÉ et al. [29], de BARROS et al. [58], de ANDRADE et al. [59], PEREIRA et al. [60], PILLING et al. [61,62], por exemplo, têm trazido contribuições para a consolidação da sua estrutura.

Os primeiros trabalhos [22,23,57-61] trazem um modelo inicialmente elaborado para impacto de íons em gelos astrofísicos, cuja aplicabilidade tem sido estendida para impacto de íons e elétrons em aminoácidos a baixas temperaturas e à temperatura ambiente [19, 25, 27, 29, 30, 41, 62]. SOUZA-CORREA et al. apresentam, em seu trabalho [19], resultados semelhantes para experimentos de radiólise do aminoácido glicina induzida por elétrons realizados a 40, 80 e 300 K.

### 2.3.1 Radiólise de aminoácidos e gelos astrofísicos

Um determinado material, ao ser exposto à radiação ionizante, está sujeito à ocorrência de uma série de processos físico-químicos. Quando essa radiação consiste em feixes de íons ou elétrons, os processos induzidos são frequentemente chamados de radiólise, enquanto a fotólise, normalmente, refere-se ao efeito dos fótons [63]. Assim, a radiólise (fragmentação) ocorre devido à ionização das moléculas, ao passo que podem

ocorrer ao material mudanças estruturais, dessorção, pulverização (*sputtering*) e possível formação de novos radicais/moléculas [64].

No caso em que o feixe ionizante é constituído por elétrons ou fótons, outros efeitos característicos podem resultar da interação com o material: aquecimento do alvo, emissão de fótons ou elétrons (elétrons Auger, elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X), dentre outros. Os fatores que determinam quais processos podem ocorrer são a energia do feixe e a natureza do alvo (constituição da amostra).

As interações ocorridas nas colisões entre um feixe de elétrons e uma amostra tal como análogos de gelos astrofísicos ou aminoácidos provocam modificações no seu espectro infravermelho. Em geral, as modificações mais expressivas que podem aparecer são o surgimento<sup>2</sup>, o desvio ou redução das bandas. Essa última, a diminuição das áreas integradas das bandas de absorção (absorbância integrada), ocorre à medida que a fluência do feixe aumenta, como é possível verificar na figura 2.6. A fluência pode ser compreendida como o número de projéteis que colidem com a amostra por unidade de área até o instante da aquisição do seu espectro.

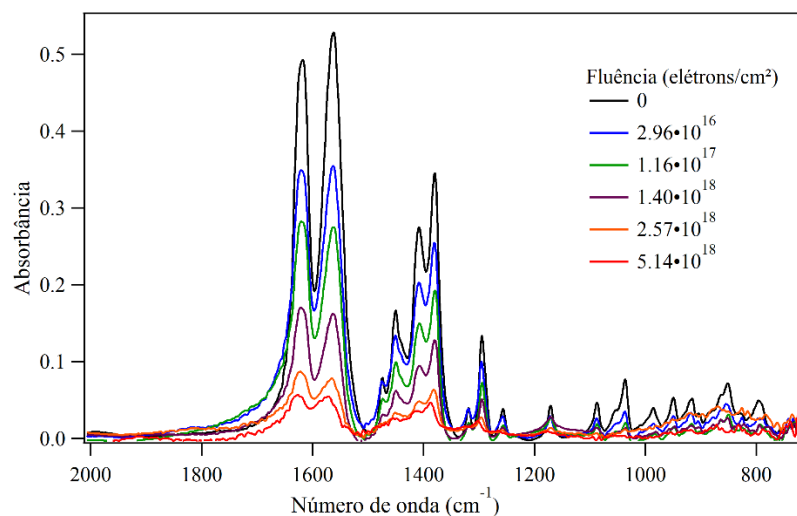


Figura 2.6 – Espectros de prolina obtidos para diferentes fluências de elétrons.

Assim, nesse experimento ocorrem interações de dois tipos de feixe com a matéria: o feixe infravermelho e o feixe de elétrons. No primeiro caso, a intensidade da radiação infravermelha que incide sobre a amostra e é transmitida é medida diretamente

<sup>2</sup> O surgimento de outras bandas está relacionado com formação de novas moléculas, conhecidas na literatura como “moléculas filhas” [19], o que não foi detectado neste trabalho pela técnica de análise (FT-IR). Por conta disso, optou-se por tratar nessa subsecção somente da dinâmica de destruição do aminoácido.



pelo espectrômetro, fornecendo desse modo o valor da absorvância. No segundo caso, o feixe de elétrons incide sobre o material, mas não é possível quantificá-lo depois do impacto. Por isso, é realizada a medida indireta por meio da absorvância na região infravermelha.

Além da absorvância integrada, uma outra grandeza pode caracterizar a amostra no seu processo de degradação por impacto de elétrons: a densidade de coluna  $N$ . Ela é definida como o número de moléculas dentro de uma coluna da amostra com área transversal unitária. Para uma amostra virgem, temos que a densidade de coluna inicial  $N_0$  é dada por

$$N_0 = \frac{\rho N_A}{M} l \quad \text{Eq. (9)}$$

onde  $N_A$  é o número de Avogadro,  $\rho$  é a massa específica do material,  $M$  é a massa molar e  $l$  é a espessura da amostra. Assim, a densidade de coluna pode também ser entendida como a concentração  $c$  da amostra integrada por toda a sua espessura  $l$ .

Tem-se, portanto, que a absorvância da amostra está diretamente relacionada com a densidade de coluna, visto que ambas estão associadas à quantidade de material no caminho óptico da radiação, quantidade essa que é alterada com o aumento da fluência. A relação entre  $S$  e  $N$  pode ser expressa a partir de uma adaptação da Lei de Beer-Lambert (eq. 7), onde se escreve [22]:

$$N(F) = (\ln 10) S(F) / A_v(F) \quad \text{Eq. (10)}$$

O termo que aqui aparece,  $A_v(F)$ , é chamado força da banda, ou valor de A (*A-value*). É uma propriedade óptica que depende da banda vibracional da molécula e do meio químico/cristalino em que essa se encontra na amostra [25]. Uma vez determinados os valores desse parâmetro para as bandas vibracionais de um composto, é possível utilizar a equação 10 e obter a densidade de coluna – grandeza de interesse astrofísico – de qualquer uma de suas amostras a partir da absorvância integrada.

### 2.3.2 Seção de choque e curvas de degradação

Os resultados do processo de colisão entre elétrons e uma amostra podem ser expressos em termos de seção de choque, grandeza que quantifica o número de eventos bem sucedidos por partícula-alvo e por fluência. A seção de choque pode ser definida como a área que mede a probabilidade de que uma colisão entre um feixe de partículas e

um alvo ocorra [65]. Assim, a seção de choque  $\sigma$  está associada à taxa de aparecimento/desaparecimento de espécies moleculares  $dN$  na amostra para uma dada variação de fluência  $dF$ . No modelo da dinâmica para gelos astrofísicos irradiados, a taxa  $dN/dF$  depende de três contribuições [25]:

- i) moléculas precursoras que se fragmentam, formando ou não outras moléculas;
- ii) moléculas precursoras que são ejetadas da amostra em um processo denominado pulverização (*sputtering*).
- iii) moléculas “filhas” que se recombinaem formando novas moléculas;

No caso particular de um processo onde não haja formação de novas moléculas, a taxa  $dN/dF$  é expressa por:

$$dN/dF = -(\sigma_d^{ap})N \quad \text{Eq. (11)}$$

Logo, essa taxa é proporcional ao número total de moléculas na coluna e o coeficiente de proporcionalidade é a seção de choque de destruição aparente,  $\sigma_d^{ap}$ . A solução da equação diferencial 11 é dada por:

$$N(F) = \exp(-\sigma_d^{ap} F) \quad \text{Eq. (12)}$$

onde

$$\sigma_d^{ap} = \sigma_d + Y_0/N_0 \quad \text{Eq. (13)}$$

As grandezas  $Y_0$  e  $N_0$  se referem ao número de moléculas ejetadas por impacto, chamado rendimento de *sputtering* (*sputtering yield*), e à densidade de coluna inicial, respectivamente. Portanto, a seção de choque de destruição aparente (eq. 13) abrange o efeito associado à fragmentação (radiólise), medido por  $\sigma_d$ , e o efeito associado ao processo de *sputtering*, medido por  $Y_0/N_0$ .

A partir das equações 10 e 12, pode-se escrever também a evolução da absorvância  $S$  em função da fluência  $F$  como uma função exponencial. No entanto, os últimos trabalhos [19,23,24] têm escrito essa função por meio de duas exponenciais, ajustando-a desse modo quando a sua curva apresenta duas regiões de comportamentos distintos<sup>3</sup>. À primeira região do gráfico, de decréscimo mais acentuado, atribui-se, além do efeito da destruição citado anteriormente – que ocorre em todo o processo –, o efeito de rearranjo ou compactação da estrutura molecular da amostra. Dessa forma, escreve-se:

---

<sup>3</sup> Uma terceira região, quando observada, é atribuída predominantemente ao efeito de *sputtering*.

$$S(F) = -S_0\zeta \exp[-(\sigma_r + \sigma_d^{ap})] F + S_0 \exp(-\sigma_d^{ap} F) \quad \text{Eq. (14)}$$

onde  $\zeta (\zeta = S_0 - S_p/S_0)$  é a porosidade relativa e  $\sigma_r$  é denominada seção de choque de rearranjo.

Antes do processo de irradiação, a área medida de um dado pico de um espectro de amostra porosa virgem é definido como  $S_p$ . Uma vez iniciada a irradiação, a área da banda diminui rapidamente; após uma certa fluência, diminui lenta e exponencialmente. Assim,  $S_0$  corresponde a uma amostra virgem rearranjada/compactada. Portanto, a diferença  $S_0 - S_p$  é causada pela porosidade do amostra e tende a desaparecer quando a essa é irradiada [22].

Dessa forma, a eq.14 descreve, por meio da variação da absorbância, os processos ocorridos ao material irradiado. Nela, o termo  $\sigma_d^{ap}$  está associado aos processos sofridos de destruição por radiólise e remoção por pulverização, enquanto o termo  $\sigma_r$  descreve o rearranjo da estrutura morfológica do material devido aos impactos do feixe, que podem ocasionar mudanças na porosidade da superfície atingida. [66]

Portanto, os valores de seção de choque expressam quão eficiente é o processo de degradação de uma amostra, podendo ser utilizados para calcular a fluência de meia-vida ou fluência de meia intensidade, dada pela equação [29, 66]:

$$F_{1/2} = \ln(2) / \sigma_d^{ap} \quad \text{Eq. (15)}$$

Essa quantidade advém da ideia de tempo de meia vida e é uma estimativa da fluência necessária para a destruição da metade da concentração molecular de um condensado.

### 3 TÉCNICA EXPERIMENTAL

Neste capítulo, serão descritos os procedimentos realizados durante os experimentos, desde a produção de amostras até a degradação dos filmes de prolina e obtenção dos dados a partir dos espectros.

#### 3.1 PRODUÇÃO DE AMOSTRAS

A produção de amostras sólidas para a espectroscopia no infravermelho pode ser realizada por meio de diferentes técnicas, sendo as mais comuns o pastilhamento, a deposição por spray e a sublimação. No pastilhamento, a amostra sólida é misturada com uma outra substância em pó – um sal de haleto transparente à radiação infravermelha, geralmente o Brometo de Potássio (KBr) – e, depois de macerada, é compactada em uma prensa, formando uma pastilha translúcida. Na deposição por spray, ou *Wet Powder Spraying* (WPS), a amostra é pulverizada na forma de solução aquosa por um aerógrafo sobre a superfície de um substrato aquecido. Na sublimação, a amostra sólida é aquecida a alta temperatura em um forno ou célula de efusão para que, sublimando, vá ao encontro do substrato e forme um filme.

Em função do objetivo de produzir filmes finos para possibilitar a maior penetração possível do feixe de elétrons nos experimentos de radiólise, o pastilhamento foi descartado. Assim, neste trabalho, optou-se por realizar testes de produção pelos métodos WPS e sublimação. Para o primeiro, o aerógrafo utilizado foi um aparelho como o da figura 3.1, pressurizado por nitrogênio a 0,5 bar. A solução saturada de prolina e água destilada correspondia a uma mistura de 0,5g de soluto para 10 ml de solvente e a janela, após a deposição, era aquecida por cerca de 2 minutos, a 120° C, para que ocorresse a secagem, assim como realizado em [41].



Figura 3.1: Aerógrafo, fabricação WebKits, modelo AB132s. [41]

Nos dois métodos, o substrato utilizado foi uma janela de transmissão óptica de Seleneto de Zinco (ZnSe), transparente à radiação infravermelha, e o aminoácido L-

Prolina foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich, com pureza superior a 99 %, na forma de pó.

Para a sublimação, foi montado um sistema no laboratório, em que constam:

- Célula efusora (fig. 3.2a), modelo Oled-40-5-WK-SHM, e unidade controladora, modelo CU-2604-S1-DC-320-10A. Ambos fabricados pela CreaTec;
- Sistema de vácuo: bomba mecânica, modelo Rotary Vane Pump Duo 10M; bomba turbomolecular (fig. 3.2b), modelo Drag Pumps TMU261-P, e medidor de vácuo do tipo catodo frio (fig. 3.2c). Todos fabricados pela Pfeiffer Vacuum;

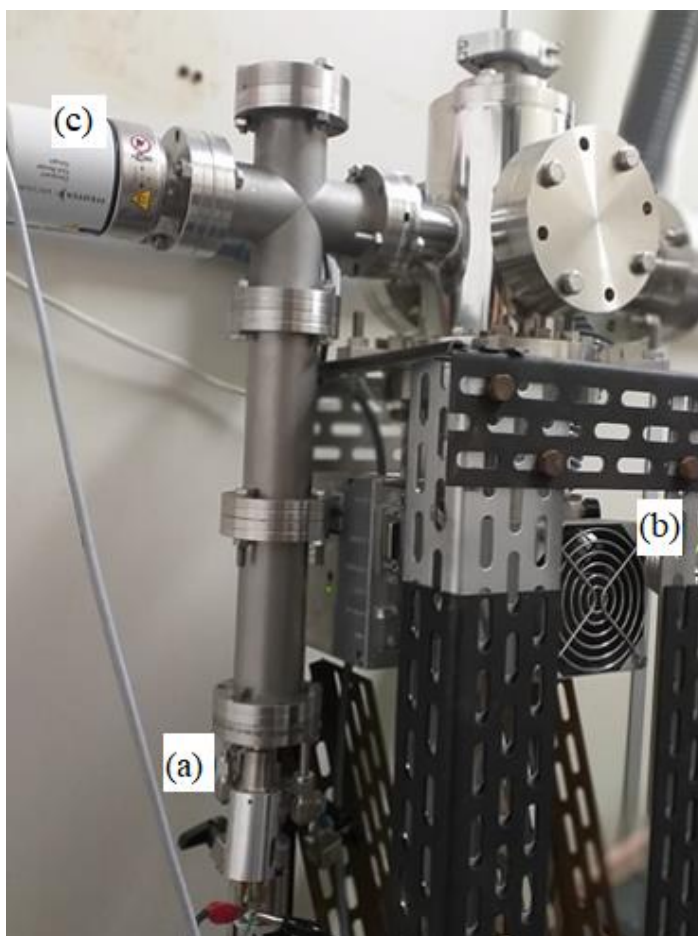


Figura 3.2 – Sistema para produção de amostras por sublimação: (a) célula efusora; (b) bomba turbomolecular; (c) medidor de vácuo

As células efusoras (fig. 3.3) são utilizadas em sistemas de sublimação com alto vácuo ou ultra alto vácuo para gerar feixes moleculares e atômicos ultrapuros a partir de uma grande variedade de elementos e compostos. As células do tipo OLED são projetadas para a evaporação de compostos moleculares orgânicos com alta pressão de vapor numa

faixa entre 30°C a 800°C. Seu sistema de aquecimento consiste de um filamento de tungstênio submetido a uma determinada tensão elétrica e anéis de nitreto de boro pirolítico (PBN) para isolamento elétrico. [67]



Figura 3.3: Célula efusora, modelo Oled-40-5-WK-SHM, Createc [67].

O procedimento para a produção dos filmes por deposição a vácuo consistiu em:

- Adicionar uma determinada quantidade de prolina sólida no cadinho da célula efusora;
- Inserir, na parte superior do interior do sistema, a janela de ZnSe presa a um suporte;
- Com o sistema fechado, ligar as bombas de vácuo e aguardar a pressão alcançar  $10^{-6}$  mbar;
- Ligar a fonte de tensão e controlar o aquecimento gradual desde a temperatura ambiente até 120° C;
- Monitorar a sublimação em um intervalo de tempo específico e, após isso, aguardar o arrefecimento por cerca 1 hora, para tornar possível a quebra do vácuo e remoção do substrato com o filme formado.

Por ter higroscopicidade acentuada [68], a prolina forma um filme que absorve água facilmente. Nos nossos testes, a amostra teve um bom comportamento em ambientes com umidade relativa abaixo de 40%.

Os resultados da comparação entre os métodos de produção são discutidos na seção 4.1.1. A partir deles, começou-se a realizar testes variando o parâmetro de tempo de deposição dos filmes para sublimação. Esses testes visavam dois objetivos: medir a espessura dos filmes formados para traçar uma curva de espessura versus absorvância – o que permitiria posteriormente saber quão espesso é um filme a partir do seu espectro IR– e verificar as condições sob as quais fosse possível obter a melhor configuração dos filmes fabricados, aquela em que esses tivessem a menor espessura e a maior uniformidade em sua superfície.

Em vista disso, nesses testes, além da janela de ZnSe, foram presos fragmentos de lâmina de vidro (para microscopia) ao suporte (fig. 3.4). Com a janela foi possível obter o espectro infravermelho da amostra produzida e, com as lâminas, as imagens da superfície dos filmes por meio de um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).



Figura 3.4: Filmes de prolina em janela de Seleneto de Zinco e em lâminas de vidro para microscopia produzidos em testes

A Microscopia Eletrônica de Varredura é uma técnica que fornece rapidamente informações sobre a morfologia de uma amostra sólida. Seu princípio de funcionamento consiste em utilizar um fino feixe de elétrons para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas, e transmitir os sinais obtidos a partir da interação elétrons-amostra a uma tela catódica. A imagem, portanto, é o resultado da amplificação desses sinais [69].

Neste trabalho, foram utilizados os microscópios do Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal da Bahia (UFBA), fabricante JEOL, modelo JSM-6610LV, e do Laboratório de Caracterização de Materiais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA), fabricante Tescan, modelo Vega 3 LMU. Com os equipamentos, foi possível realizar o mapeamento das superfícies de diversas amostras de prolina testadas e obter as suas espessuras. Esses dados são discutidos na seção 4.1.2.

## 3.2 APARATO E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 3.2.1 Irradiação da amostra por elétrons em vácuo

Após ser estabelecida a melhor rotina para preparação de amostras, partiu-se, então, para a realização dos experimentos analisados por espectroscopia infravermelha, os testes para avaliar o efeito de um tratamento térmico na estrutura dos filmes e a degradação da prolina por impacto de elétrons.

Para a degradação dos filmes, foi utilizado um sistema composto por: bombas de vácuo, câmara experimental, canhão de elétrons e o espectrômetro no infravermelho, o FT-IR, responsável pelas análises. O funcionamento desses equipamentos e as etapas do experimento são descritos a seguir.

Uma vez produzido o filme, a janela de ZnSe é fixada ao porta-amostras e imediatamente inserida na câmara experimental (fig 3.5). Foi utilizada entre as placas do porta-amostra uma chapa de cobre com janelas circulares, a fim de adequar a área exposta da amostra ao feixe de elétrons à área analisada pelo espectrômetro, correspondente a um diâmetro de 5 mm. Assim, era garantido que as áreas expostas à degradação e análise estavam iguais.

É, então, realizado o alinhamento entre a posição da amostra e as dos feixes de elétrons e de radiação infravermelha. Um manipulador rotativo (fig.3.6b) permite posicionar a amostra tanto de modo frontal ao canhão de elétrons, quanto ao espectrômetro, que são perpendiculares entre si.

Após isso, para efeito de verificação, é obtido um espectro da amostra por meio do FT-IR (fig.3.6c) seguindo um procedimento padrão. É manipulada, com um manipulador do tipo *Push-Pull* (fig.3.6a), a posição vertical do porta-amostras para que primeiro seja adquirido um espectro de fundo/ambiente (background) e depois adquirido um espectro da amostra no ambiente. O espectro final, o desejado, é o resultado da divisão entre os dois.



O funcionamento do espectrômetro de infravermelho por Transformada de Fourier está descrito na seção 2.2.2. Neste trabalho, foi utilizado um aparelho da Jasco, modelo 4100, na faixa do infravermelho médio ( $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ). Os parâmetros utilizados na obtenção dos espectros foram: resolução de  $2\text{ cm}^{-1}$ , velocidade de escaneamento de  $2\text{ mm/s}$  e número de varreduras igual a  $100$ .

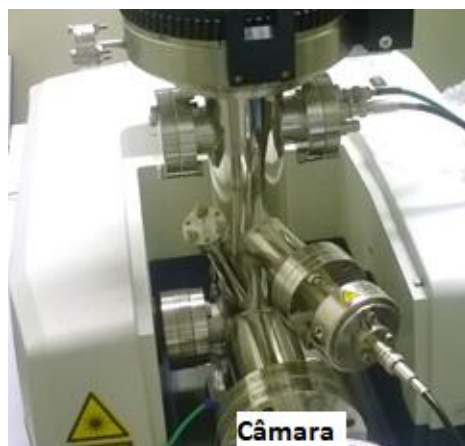


Figura 3.5 – Câmara experimental junto ao espectrômetro

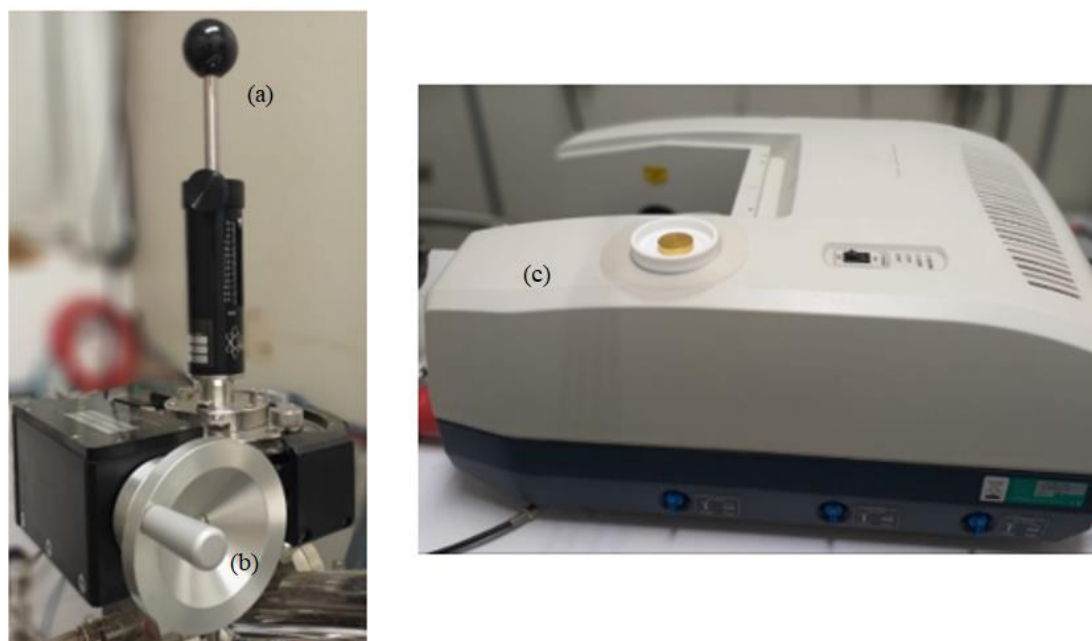


Figura 3.6: Manipuladores do tipo *Push-Pull* (a) e do tipo rotativo (b) e espectrômetro infravermelho por Transformada de Fourier, Jasco, modelo 4100 (c).

Após reconhecer o espectro obtido como adequado segundo os parâmetros estabelecidos (cf. seção 4.1), segue-se, então, para a produção de alto vácuo na câmara experimental. Essa é uma etapa fundamental para o experimento e há duas razões principais para isso. A primeira é o regime de trabalho do canhão de elétrons, que opera

somente a baixíssimas pressões ( $\sim 10^{-7}$  mbar). A segunda é o fato de que o fenômeno analisado deve estar tão isolado quanto possível, para que não haja interferência das moléculas diferentes das que se pretende estudar. O alto vácuo, portanto, tem a função de minimizar efeitos perturbadores que o ar do ambiente poderia causar e também oferecer as condições de operação adequadas aos equipamentos.

Para atingir a pressão desejada, foi utilizado um sistema de bombeamento em série composto de uma bomba mecânica rotativa, modelo Rotary Vane Pump Duo 10M, e de uma bomba turbomolecular, modelo Drag Pump TMU261-P, além de dois medidores de vácuo. Todos fabricados pela Pfeiffer Vacuum.

Depois de alcançar o alto vácuo, o canhão de elétrons (fig. 3.7) é ligado e é aguardado o intervalo de tempo de sua estabilização, que dura de 24 a 48 horas. Uma vez estável, o feixe pode ser configurado.



Figura 3.7: Canhão de elétrons, modelo ELG-2 [69].

Os principais componentes do canhão (fig. 3.8) são o filamento (catodo), a grade de controle e o anodo duplo. A produção de elétrons nesse sistema ocorre por efeito termiônico: é aplicada uma determinada tensão sobre o filamento de tântalo e esse, ao aquecer, faz com que o catodo emita elétrons da sua superfície. Essa nuvem de elétrons formada é acelerada pelo campo elétrico referente à diferença de potencial entre o catodo e grade de controle, a um potencial negativo, e o anodo, a um potencial positivo. A grade de controle (grid) situa-se entre o catodo e o anodo e age como uma lente eletrostática, controlando a corrente de elétrons, podendo zerá-la ou até mesmo pulsá-la quando requerido.

Um copo de Faraday acoplado à saída do canhão pode interromper a saída do feixe e também determinar a intensidade da sua corrente inicial. Um segundo copo de Faraday acoplado ao porta-amostras (fig. 3.9) determina a intensidade da corrente que impactará a amostra, permitindo, dessa forma, identificar a relação entre a produção e a chegada de

elétrons. Essa relação é maximizada quando se tem um feixe bem colimado e focalizado no alvo e, por isso, é feito o alinhamento do feixe de elétrons após a sua estabilização.

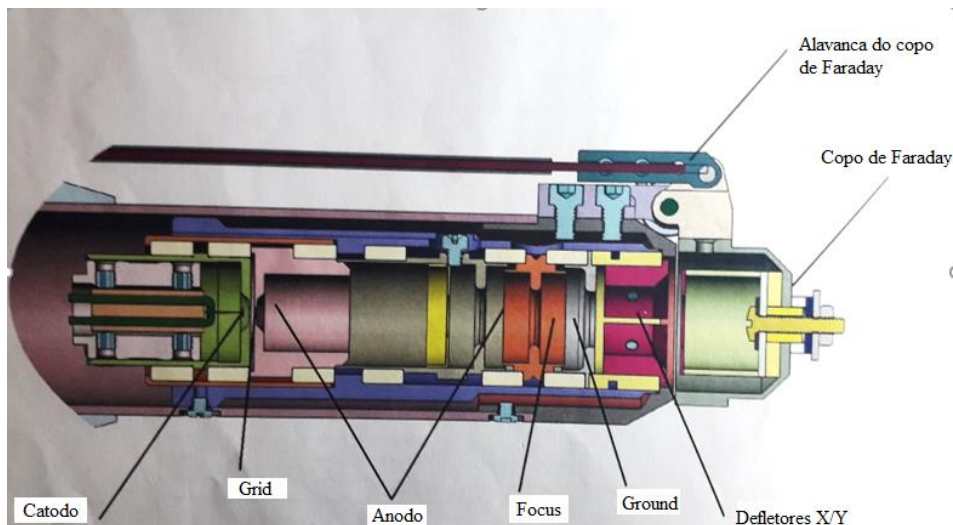


Figura 3.8 – Ilustração do interior do canhão de elétrons [70]

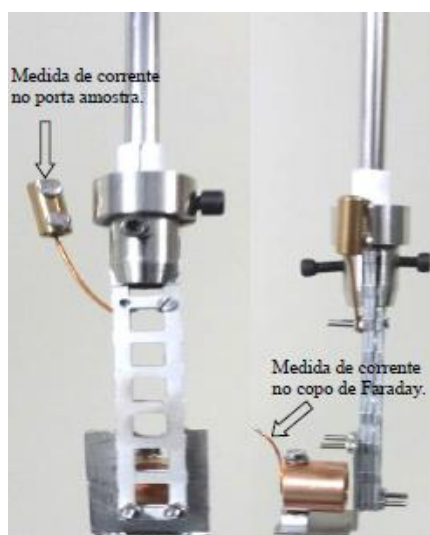


Figura 3.9: Porta-amostras com copo de Faraday. [31]

Para alinhar o feixe ao alvo, são configurados os parâmetros da sua produção a partir da unidade controladora do canhão, modelo EGPS-1022, Kimball Physics. Tais parâmetros são a energia dos elétrons, que pode ser selecionada entre 1 e 2000 eV para obter uma corrente de emissão entre 1 nA e 20  $\mu$ A, os valores de deflexão nos eixos X e Y e os valores de potencial do Grid, Focus e 1º anodo. A tabela 3 apresenta os valores utilizados na configuração do canhão para os experimentos realizados.

Tabela 3: Parâmetros ajustados no canhão de elétrons para a realização dos experimentos

Parâmetros de configuração	Valores
Energia	1960 eV
Intensidade de corrente no segundo copo de Faraday ( $\mu\text{A}$ )	0,6 $\mu\text{A}$
Grid	1 V
Primeiro anodo	1901, V
Focus	650,4 eV
Deflexão em X	-8,12 V
Deflexão em Y	-23,87 V

O experimento de degradação foi realizado duas vezes, uma para a amostra que não passou por tratamento térmico (*annealing*) e a outra que passou por esse. O procedimento do *annealing* é descrito ao final desta subseção. Nos dois casos, o canhão de elétrons estava a uma distância de 5 cm do porta-amostras.

O processo de degradação se inicia, então, após o alinhamento do feixe, seguindo as etapas:

- Interromper a corrente e obter um espectro do background;
- Posicionar a amostra no centro do feixe infravermelho e obter seu espectro “zero”, aquele que é utilizado como referência, correspondente à fluência nula;
- Posicionar a amostra de modo frontal ao canhão de elétrons e abrir o primeiro copo de Faraday para expor o filme ao feixe por intervalos de tempo pré-determinados e obter espectros após cada irradiação<sup>4</sup>.
- Encerrar o experimento quando as bandas mais representativas da prolina no espectro se extinguirem.

A figura 3.10 apresenta um esquema que ilustra de que modo o canhão de elétrons e o FT-IR estão dispostos dentro da câmara experimental. Como estão posicionados perpendicularmente, era necessário girar o porta-amostras em 90° após cada irradiação para a obtenção dos espectros.

<sup>4</sup> Em função do habitual uso feito pelos grupos de pesquisa do termo irradiação para referir-se à propagação do feixe de elétrons, optou-se por também utilizá-lo aqui. Pode-se considerar que o termo tem sentido se levada em consideração a natureza dual do elétron.

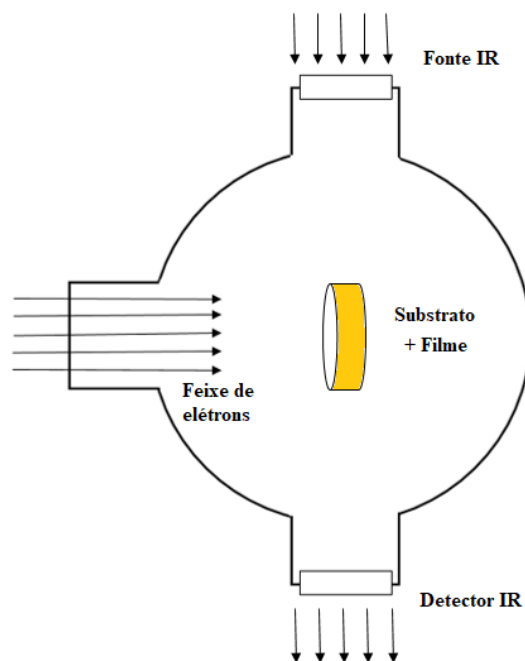


Figura 3.10: Ilustração do interior da câmara experimental

### 3.2.2 Tratamento térmico de amostras

Sendo o estudo do efeito do aquecimento nos filmes de prolina uma das etapas deste trabalho, foram feitos tratamentos térmicos em amostras em diferentes situações. Esses tratamentos (*annealing*) consistiram em aquecer os filmes em uma chapa quente e foram realizados em dois contextos:

i) Em 4 amostras, para observação direta do efeito do aquecimento no seu espectro IR. Nesse caso, não houve irradiação por elétrons. O *annealing* na primeira amostra teve duração de 2 horas; na segunda, terceira e quarta, 4, 8 e 12 horas, respectivamente. Foram obtidos espectros antes e imediatamente após o tratamento. Também foram adquiridos espectros quando a amostra retornava à temperatura ambiente. Em todos os 4 casos, o aquecimento foi feito a 90°C. Testes futuros poderão ser feitos para uma faixa de temperatura acima dessa e inferior à temperatura de fusão da prolina (205°C).

ii) Em uma amostra irradiada posteriormente por elétrons e analisada via FT-IR, para verificar se um aquecimento prévio alteraria o seu comportamento durante a irradiação. Se o fizesse, e as curvas de absorvância normalizada versus fluência pudessem ser ajustadas por uma exponencial, então um dos possíveis efeitos causados pelo impacto do feixe, o rearranjo molecular, poderia ser confirmado. Nesse caso, o *annealing* foi feito por 2h a 120°C, temperatura empregada no trabalho [25].

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos nos testes de preparação de amostras, nos experimentos envolvendo tratamento térmico e nos experimentos de radiólise do aminoácido por impacto de elétrons.

### 4.1 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Para o assinalamento das bandas no espectro do filme de prolina, foram utilizadas as referências [35], [43], [44] e [45]. Na figura 4.4, há a indicação de 10 bandas, no intervalo de 750 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , faixa que abrange a região de impressão digital da molécula (fingerprint). As atribuições vibracionais estão descritas na tabela 4.1.

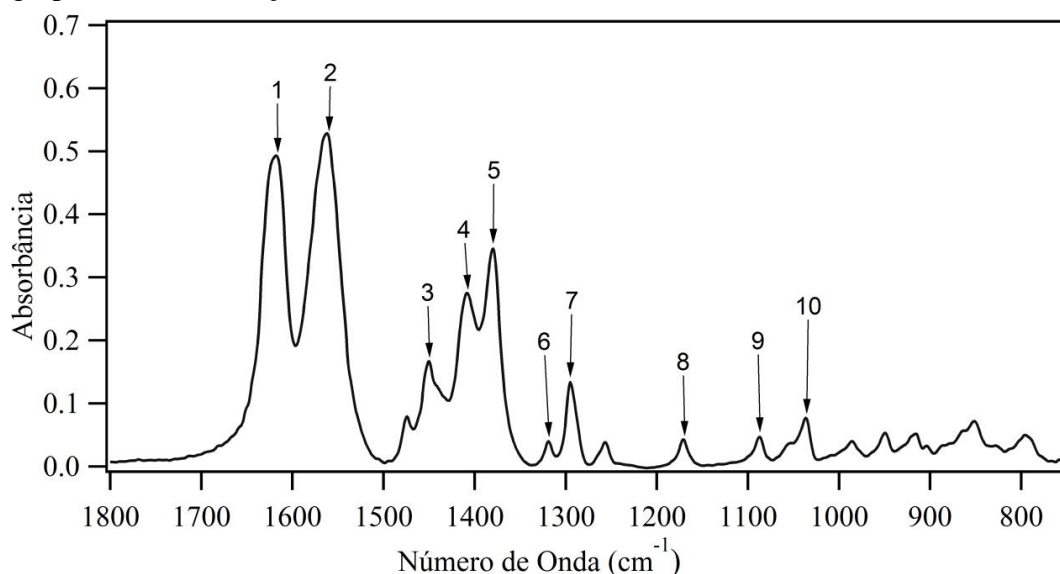


Figura 4.4: Espectro de L-Prolina, obtido via espectrômetro FT-IR (LEMFF/UFBA), com linha de base corrigida.

Tabela 4.1: Assinalamento de bandas para o espectro de L-Prolina

Banda	Número de onda medido ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição <sup>5</sup>
1	1618	$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$ [28,37,38]
2	1562	$\delta\text{NH}_2^+$ [28,37]
3	1450	$\delta\text{CH}_2$ [28,36-38]
4	1408	$\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$ [28,37,38]
5	1380	$\tau\text{NH}_2^+$ [37,38]
6	1320	$\tau\text{CH}_2$ [28,36-38]
7	1294	$\delta\text{CH}$ [36,38]
8	1170	$\tau\text{CH}_2$ [28,36,38]
9	1086	$\nu\text{Anel}$ [36], $\rho\text{CH}_2$ [28,38]
10	1035	$\nu\text{Anel}$ [36], $\omega\text{CH}_2$ [38]

<sup>5</sup>  $\nu$ , stretching;  $\delta$ , in-plane bending;  $\tau$ , twisting;  $\rho$ , rocking; as, assimétrico; s, simétrico.

É possível observar, a partir da tabela 4.1, que as atribuições contidas nas referências trazem as bandas da prolina  $\text{COO}^-$  e  $\text{NH}_2^+$ , referentes à forma zwitteriônica, em lugar das bandas  $\text{NH}$  e  $\text{C=O}$ , referentes à forma neutra. Na forma não zwitteriônica, então, não há a presença das bandas  $\tau\text{NH}_2^+$  e  $\nu_s\text{COO}^-$ , enquanto as bandas  $\delta\text{NH}$  e  $\nu_{\text{as}}\text{CO}$  estão situadas em  $1544\text{cm}^{-1}$  e  $1645\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Há também, nesse caso, o aparecimento da banda  $\delta\text{OH}$  em  $1375\text{cm}^{-1}$ . Dessa forma, pode-se dizer que a estrutura química das moléculas de prolina nos filmes produzidos por sublimação está, provavelmente, na forma zwitteriônica, concordando com os estudos que apontam para a formação de zwitterions em aminoácidos no estado sólido [36,71].

#### 4.1.1 Testes de produção

Nos testes de preparação de amostras, foram analisadas duas técnicas de produção: deposição por spray e deposição a vácuo (sublimação). Os espectros que alcançaram menor absorvância – e, conseqüentemente, menor espessura –, com uma boa relação entre sinal e background, foram aqueles referentes aos filmes produzidos por sublimação. Para os estudos de radiólise, filmes mais finos são requeridos e, em razão disso, esse último método foi escolhido como padrão.

Além da espessura dos filmes, apresentadas na tabela 4.2, outro fator importante na escolha do método foram os vestígios de água nas amostras produzidas por WPS, cuja causa está provavelmente relacionada à sua não remoção total durante o aquecimento da janela de  $\text{ZnSe}$ . É possível observar a diferença nos espectros de filmes produzidos pelos dois métodos testados neste trabalho no intervalo entre  $3100$  a  $3600\text{cm}^{-1}$  da figura 4.1. A banda da água em  $1650\text{cm}^{-1}$  não apresentou mudanças significativas.

Quanto à estrutura das bandas características de L-Prolina nos espectros das amostras produzidas por WPS e por sublimação, verifica-se que há alterações significativas em 3 bandas na faixa entre  $1400$ - $1700\text{cm}^{-1}$ , conforme se vê na figura 4.2.

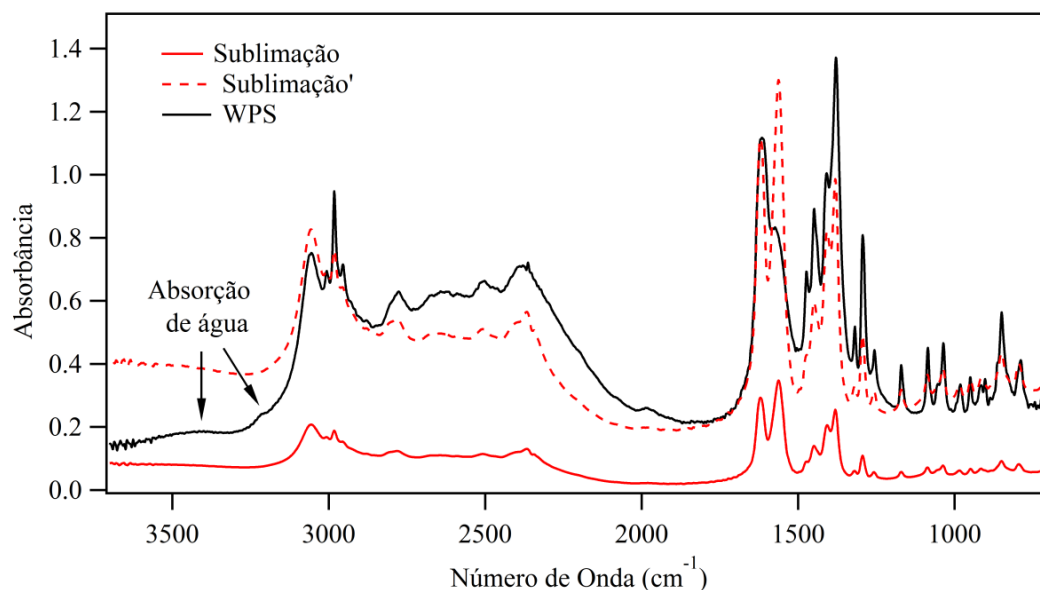


Figura 4.1: Espectros de filmes de L-Prolina produzidos por deposição por spray/WPS (superior, em preto) e por sublimação (inferior, linha cheia em vermelho). O espectro tracejado é o mesmo do inferior multiplicado por um fator de aproximadamente 3,4, para melhor visualização.

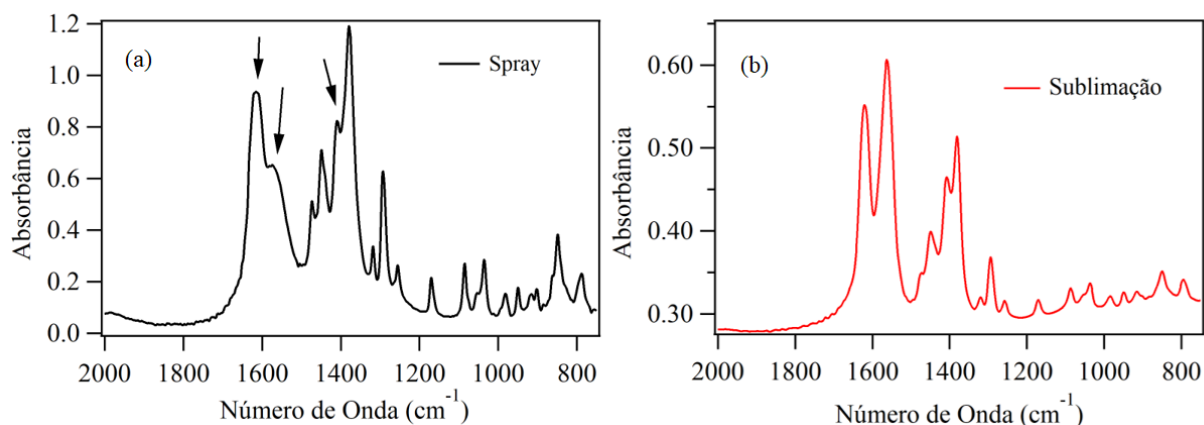


Figura 4.2: Espectros de filmes de L-Prolina produzidos por deposição por spray/WPS (a) e por sublimação (b). Zoom na faixa entre 2000 e 750  $\text{cm}^{-1}$ . Destaque para as 3 bandas discrepantes em (a).

As alterações reportadas acima também estiveram presentes nos filmes expostos a ambientes cuja umidade do ar era superior a 40%. É possível visualizar as 3 bandas de água e as outras bandas modificadas em destaque nos espectros da figura 4.3.

A partir das figuras 4.1, 4.2 e 4.3, verifica-se, portanto, que os efeitos mais significativos da presença de água nos filmes de L-Prolina manifestos nos seus espectros IR são:



- Crescimento de bandas referentes à água, na faixa entre 3100 a 3600  $\text{cm}^{-1}$ ;
- Diminuição relativa das áreas das bandas sinalizadas, correspondentes às vibrações  $\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$ ,  $\delta\text{NH}_2^+$  e  $\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$ , cuja causa está provavelmente ligada à alteração do ambiente químico das moléculas, uma vez que a maioria das frequências dos grupos  $\text{COO}^-$  e  $\text{NH}_2^+$  é modulada por ligações de hidrogênio e, portanto, sensível às suas mudanças [45,48].

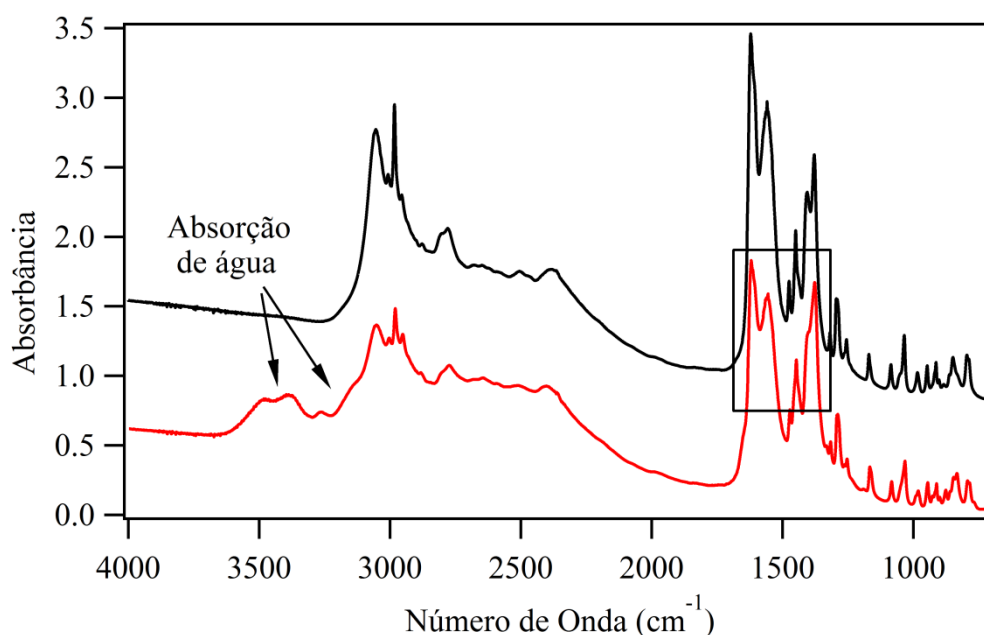


Figura 4.3: Espectros de L-Prolina antes (superior, em preto) e após o filme ter sido exposto à umidade (inferior, em vermelho). Os espectros estão deslocados verticalmente para melhor visualização. Destaque para as bandas de água e região das 3 bandas que sofreram alterações.

#### 4.1.2 Análise de amostras via Microscopia Eletrônica de Varredura

Em uma simulação computacional no software CASINO<sup>6</sup>, pôde-se verificar que a penetração de um feixe de  $2,0 \cdot 10^5$  elétrons de 2 keV de energia em uma amostra de prolina de densidade  $1,35 \text{ g/cm}^3$  é de, aproximadamente, 100 nm. Portanto, a busca pela produção de filmes finos ocorreu para que, nos experimentos de radiólise, não houvesse somente efeitos na superfície da amostra, tendo em vista que a técnica utilizada para análise, FT-IR, é uma chamada técnica de bulk, porque analisa a estrutura interna do material.

Desse modo, ainda nos testes de produção, as amostras preparadas por sublimação foram examinadas à procura de filmes que fossem o mais uniforme e fino possível, cujos

<sup>6</sup> Este código é baseado em simulações de Monte Carlo de trajetórias de elétrons considerando processos de perda de energia dentro de um sólido. [29]

espectros tivesse boa relação entre sinal e background. Assim, junto à técnica FT-IR, foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), obtidas imagens das amostras e também medidas suas espessuras.

Nessas imagens, foi possível observar amostras de diferentes espessuras, desde o início de sua deposição, como na figura 4.5, onde não havia filme formado, apenas ilhas depositadas, até filmes espessos, como os exemplos da figura 4.6.

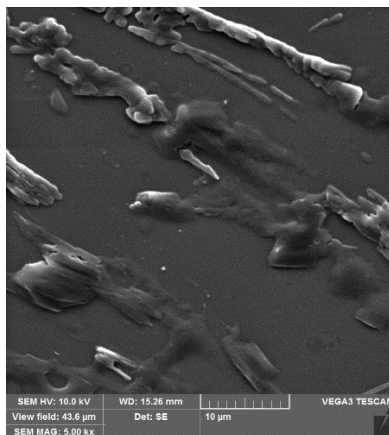


Figura 4.5: Filme de prolina em formação. Ampliação de 5000 x em MEV

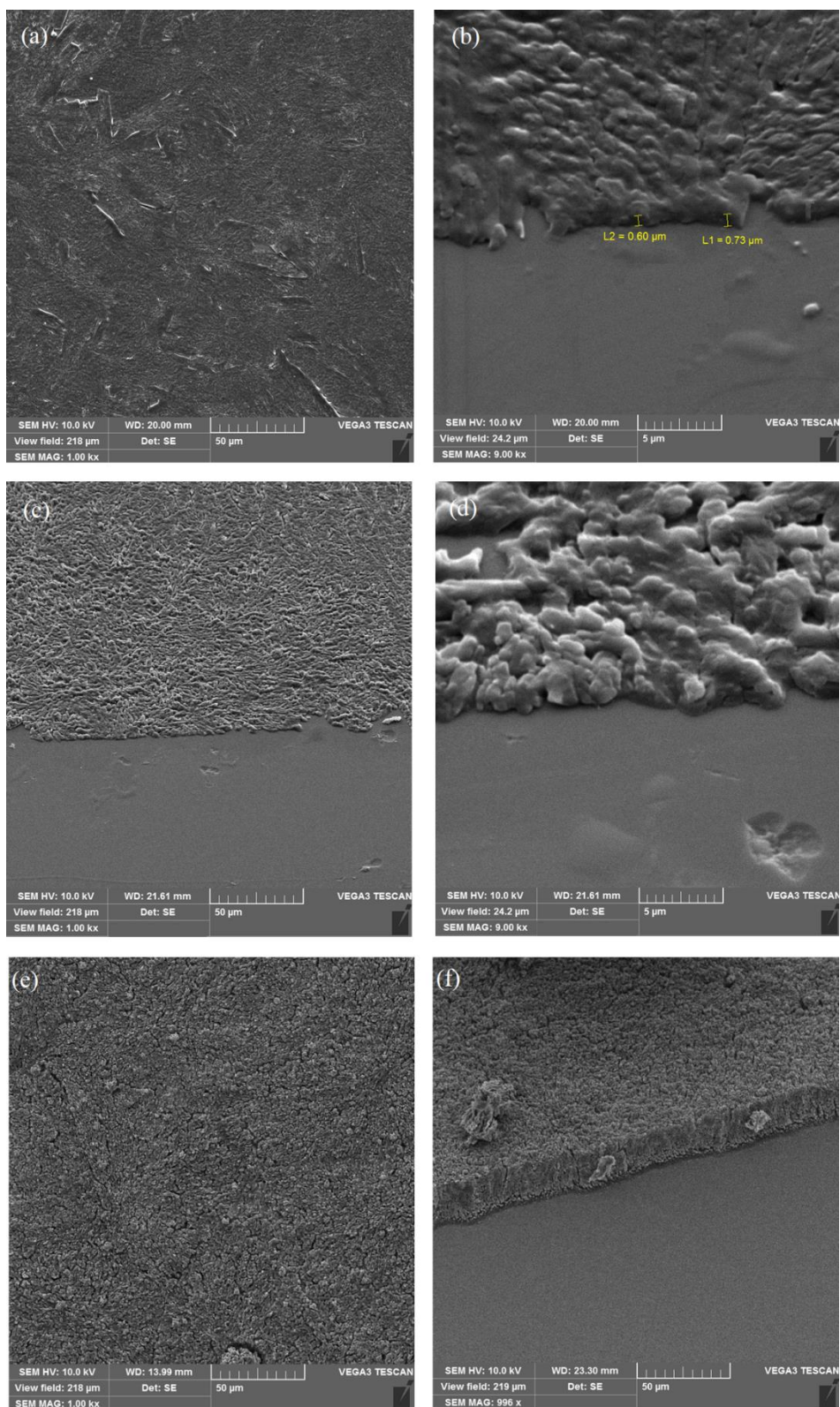


Figura 4.6: Diferentes amostras de prolina observadas por MEV. Filmes com espessuras de aproximadamente: 0,67  $\mu\text{m}$ , ampliados (a) 1000 x e (b) 9000 x; 2  $\mu\text{m}$ , ampliados (c) 1000 x e (d) 9000 x; 20  $\mu\text{m}$ , ampliados (e) e (f) 1000 x

Observando as figuras 4.6 e 4.7, verifica-se que os filmes mais espessos apresentam uma estrutura de superfície mais irregular em relação aos mais finos. Logo, as imagens sugerem que a forma dos filmes é mais compacta e plana no início da sua formação, e, à medida que a deposição ocorre e a espessura aumenta, se torna mais rugosa, com desníveis e pequenas aglomerações.

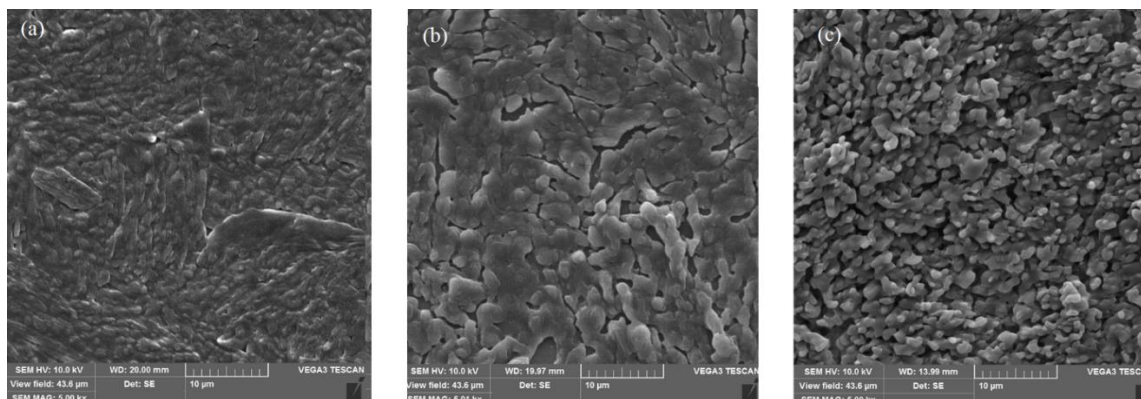


Figura 4.7: Diferentes amostras de prolina ampliadas 5000 x em Microscópio Eletrônico de Varredura: filmes com espessuras de aproximadamente (a)  $0,67 \pm 0,07 \mu\text{m}$  (b)  $2,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$  e (c)  $19 \pm 1 \mu\text{m}$

Após o exame de todas as amostras testadas, concluiu-se que os filmes que apresentaram boas características de espessura, uniformidade e relação entre sinal e background nos espectros IR corresponderam a uma faixa de absorbância máxima entre 0,15 e 0,4<sup>7</sup>, equivalente a espessuras de aproximadamente 0,67 a 2,0  $\mu\text{m}$ . É preciso destacar que, para a mesma rotina de produção de amostras, havia pequenas diferenças de espessura entre os filmes. Considerando que o intervalo de tempo de deposição a 120°C era sempre o mesmo em determinada rotina, pode-se dizer que isso se deve, provavelmente, às temperaturas intermediárias no aquecimento e resfriamento graduais. Desse modo, para os experimentos de radiólise, a referida faixa de absorbância foi estabelecida como padrão.

As medidas das espessuras<sup>8</sup> feitas para cada filme nos permitiram traçar a curva da figura 4.9. A finalidade dessa curva é a de ter a capacidade de obter a espessura aproximada de um determinado filme produzido a partir do seu espectro IR, somente com o valor da absorbância de uma banda, sem a necessidade de recorrer às imagens microscópicas. Para isso, em todos os espectros, utilizamos a banda 8 como referência,

<sup>7</sup> Alguns trabalhos utilizam unidades arbitrárias (u.a.), mas neste trabalho optamos por escrevê-la sem unidade.

<sup>8</sup> As espessuras foram medidas na borda de cada filme e calculada, em seguida, uma média entre elas.

em  $1170\text{ cm}^{-1}$ , por essa ser isolada das demais. Essa banda não foi utilizada na análise de degradação, em função das suas curvas terem apresentado muito ruído, mas foi escolhida aqui por ser um processo diferente, com a amostra virgem.

A tabela 4.2 apresenta os valores utilizados para traçar a referida curva, ajustada por um ajuste linear, concordando com a Lei de Beer-Lambert em relação à dependência entre absorvância e espessura (eq. 7).

Tabela 4.2: Valores de espessura de filmes de prolina em função da absorvância da banda  $1170\text{ cm}^{-1}$ .

Amostra	Espessura média ( $\mu\text{m}$ )	Absorvância
1	0,67	0,1159
2	2,00	0,3854
3	3,66	0,6963

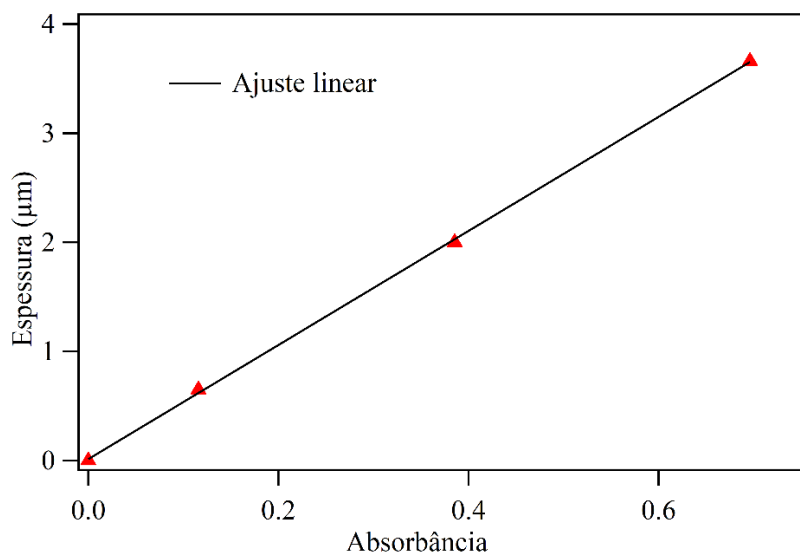


Figura 4.9: Espessura de diferentes amostras em função da absorvância da banda  $1170\text{ cm}^{-1}$  nos seus respectivos espectros. O ponto (0,0) foi adicionado, pois, naturalmente, a absorção é nula quando não se tem amostra.

Com o valor das espessuras, foi também possível calcular a densidade de coluna inicial  $N_0$  (eq. 9) das amostras, onde:  $\rho$ , a massa específica da prolina, é  $1,35\text{ g/cm}^3$ ;  $M$ , a sua massa molar, é  $115,13\text{ g/mol}$  [72] e  $N_A = 6,0221409 \cdot 10^{23}$  moléculas/mol. Após isso, foi calculado o *A-Value* da banda 8 usando a equação 10 para fluência nula, e obtidos os valores apresentados na tabela 4.3.

Tabela 4.3: Valores de densidade de coluna inicial e A-value da banda 1170  $\text{cm}^{-1}$  para filmes de prolina

Amostra	Densidade de coluna inicial (moléculas/ $\text{cm}^2$ )	A-value <sub>(1170)</sub> (cm/molécula)
1	$4,7 \cdot 10^{17}$	$5,6 \cdot 10^{-19}$
2	$1,4 \cdot 10^{18}$	$6,3 \cdot 10^{-19}$
3	$2,6 \cdot 10^{18}$	$6,2 \cdot 10^{-19}$
Média	-	$(6,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-19}$

A partir dos valores acima, pode-se considerar o A-value da banda 8 como  $A_{v(1170)} = (6,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-19} \text{ cm/molécula}$ , sendo possível também encontrar a magnitude do A-value para outras bandas utilizando o mesmo procedimento.

## 4.2 TRATAMENTO TÉRMICO EM AMOSTRAS DE PROLINA

Para estudar, via FT-IR, o efeito da temperatura na estrutura dos filmes de prolina, foram feitos tratamentos térmicos com diferentes amostras a  $90^\circ\text{C}$ .

O tratamento foi feito em quatro amostras diferentes, onde cada uma foi aquecida durante 2h, 4h, 8h e 12h, respectivamente. Nos estudos, foram obtidos espectros em momentos distintos: antes e imediatamente após o tratamento e ainda alguns durante o arrefecimento, quando a amostra retornava à temperatura ambiente.

As figuras de 4.10 a 4.14 apresentam as faixas espectrais onde houve alterações mais significativas. Em todas essas figuras, os espectros foram deslocados verticalmente, estando o da amostra virgem (superior) em preto; o que foi imediatamente obtido após o tratamento térmico (inferior), em vermelho, e, à temperatura ambiente (intermediário), em azul.

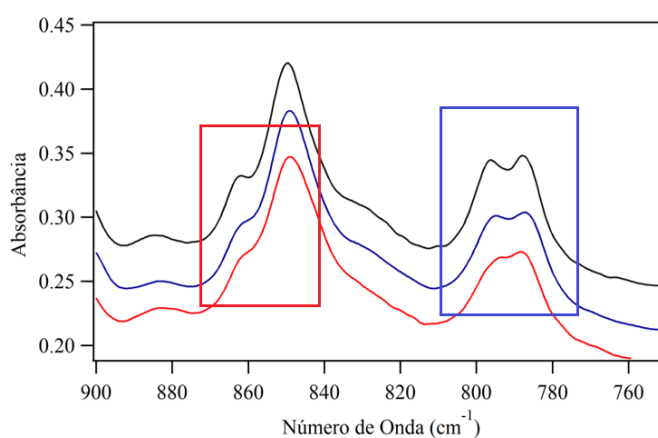


Figura 4.10: Espectros da amostra tratada termicamente por 2h. Zoom entre 900 e 750  $\text{cm}^{-1}$ .



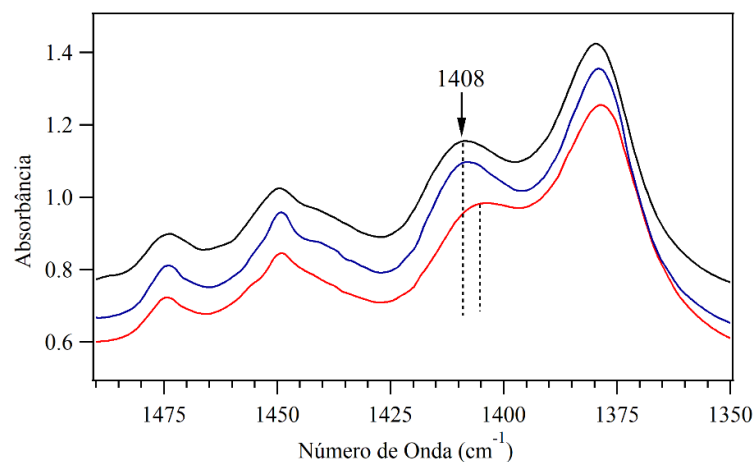


Figura 4.11: Espectros da amostra tratada termicamente por 2h. Zoom entre 1490 e 1350  $\text{cm}^{-1}$

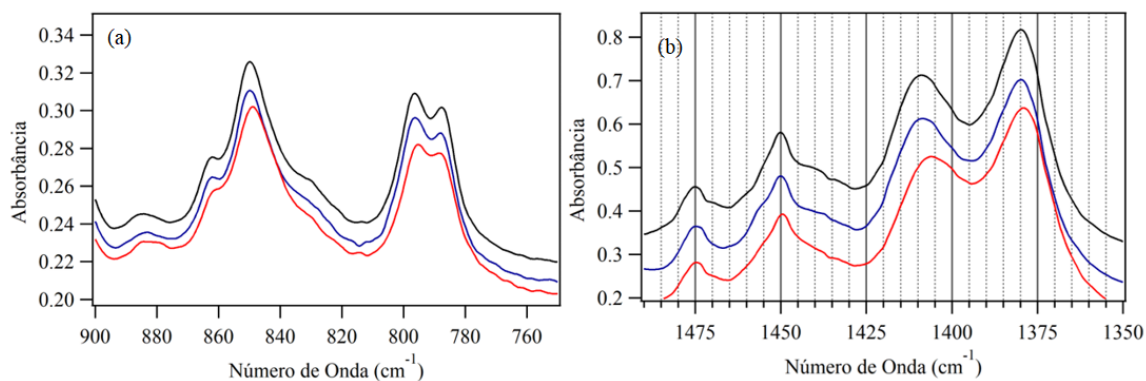


Figura 4.12 Espectros da amostra tratada termicamente a  $90^{\circ}\text{C}$  por 4h.

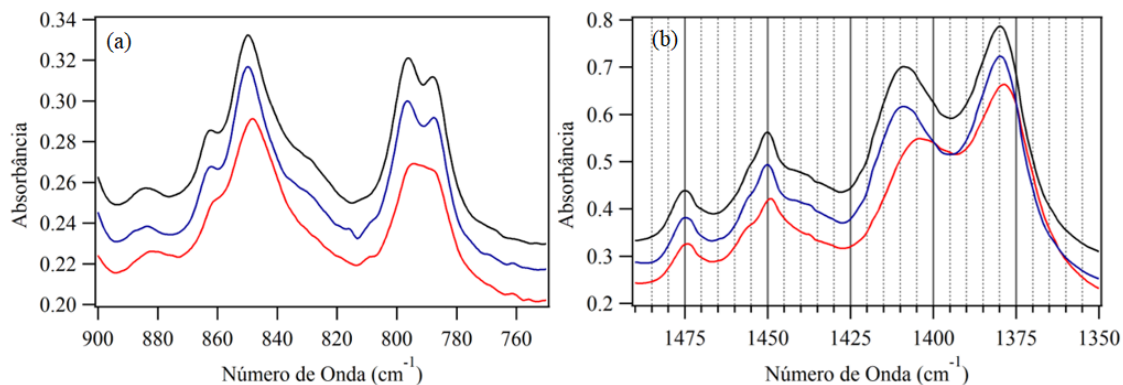


Figura 4.13: Espectros da amostra tratada termicamente a  $90^{\circ}\text{C}$  por 8h.

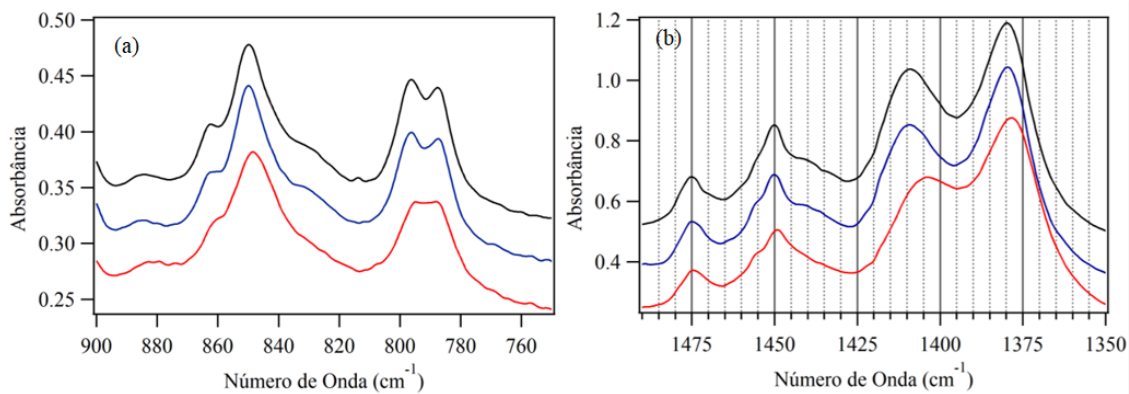


Figura 4.14: Espectros da amostra tratada termicamente a  $90^{\circ}\text{C}$  por 12h.

Nas figuras 4.10, 4.12a, 4.13a, 4.14a, observa-se uma diminuição do ombro da banda  $862\text{ cm}^{-1}$ , e uma mudança na estrutura da banda  $792\text{ cm}^{-1}$ . Temperaturas mais altas podem favorecer o povoamento de estados mais excitados da molécula e, como a absorção de radiação infravermelha corresponde às transições vibracionais do espectro molecular, a absorbância pode então ser afetada.

Nas figura 4.11, 4.12b, 4.13b, 4,14b, observa-se um desvio da banda 4 ( $\nu_s\text{COO}^-$ ) para números de onda menores, ou seja, um desvio para o vermelho. Esse efeito pode ser compreendido por meio da interação entre os átomos e entre as moléculas: o aumento da temperatura faz as distâncias interatômicas e intermoleculares crescerem e, por consequência, a constante de força das ligações diminuam. Assim, a frequência de algumas bandas pode ser afetada, conforme equação 3.

Quando a temperatura da amostra diminui, em uma tendência a alcançar o equilíbrio térmico com o ambiente, as modificações observadas nos espectros são revertidas. Conclui-se, portanto, que essas alterações são efeitos transientes da temperatura e que o tratamento térmico a  $90^\circ\text{C}$ , com duração de 2 a 12 horas, não provoca mudanças permanentes na estrutura da amostra que possam ser observadas via FT-IR.

Esses resultados concordam com a afirmação dos trabalhos [25] e [71] em relação aos efeitos transientes da temperatura na amostra: espectros adquiridos em temperaturas iguais são praticamente idênticos. É importante salientar, ainda, que as modificações citadas não aparecem nos espectros dos experimentos de radiólise, conforme é possível verificar na próxima subseção.

### **4.3 RADIÓLISE DA PROLINA POR IMPACTO DE ELÉTRONS**

O experimento de radiólise induzida por elétrons de energia de  $1960\text{ keV}$  à temperatura ambiente foi realizado em duas amostras produzidas pelo mesmo método, sendo uma delas submetida ao tratamento térmico descrito na seção 3.2.2. A espessura de ambas foi estimada por meio da função ‘Espessura x Absorbância’ (fig. 4.9).

#### **4.3.1 Radiólise da amostra não tratada termicamente**

A primeira amostra, não tratada termicamente, tinha espessura aproximada de  $2,29\text{ }\mu\text{m}$ . A figura 4.15 apresenta a evolução dos espectros dessa amostra para diferentes fluências. Nela, observa-se a diminuição das áreas das bandas ao longo da irradiação. Não há surgimento de outras bandas, nem o aparecimento de desvios, o que sugere, segundo seção 4.2, que não houve aquecimento significativo da amostra.



Para altas fluências, a redução das áreas se torna cada vez menor. Assim, foi adotado como critério de término do experimento a diminuição expressiva dos picos relativos às bandas do anel (9 e 10, em 1086 e 1035  $\text{cm}^{-1}$ ), devido à possibilidade de ainda haver, mesmo com o processo de destruição, vibração de fragmentos da molécula que impossibilite a diminuição significativa das outras bandas.

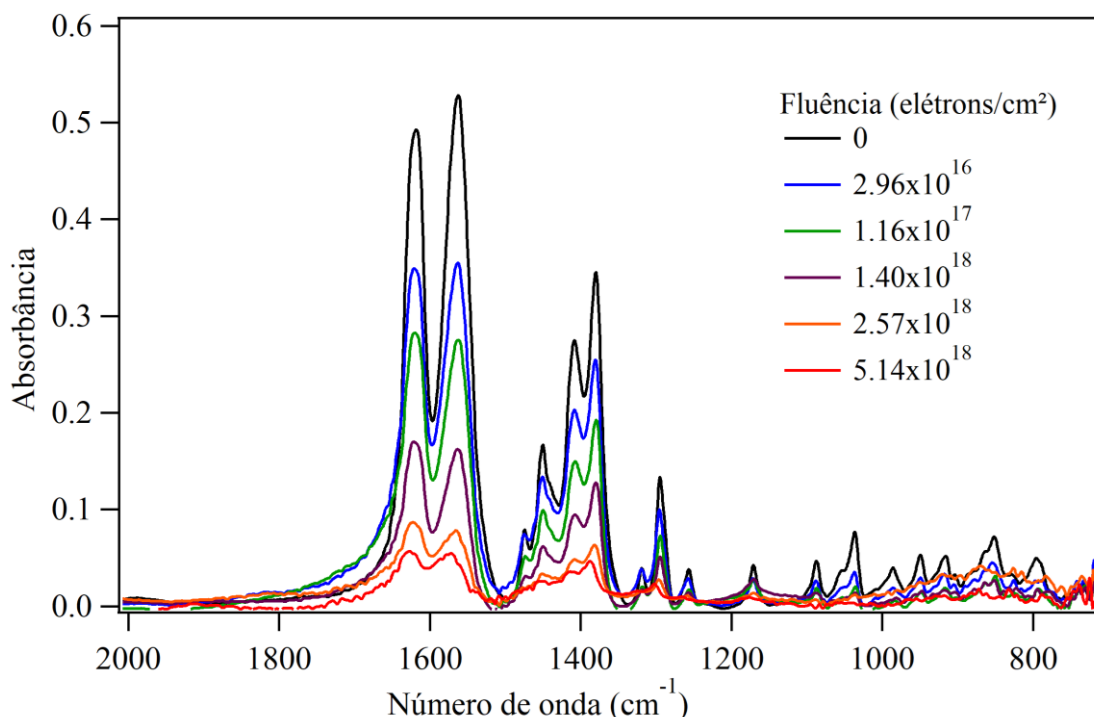


Figura 4.15: Evolução dos espectros da prolina em função da fluência de elétrons com 1960 eV de energia. O espectro preto corresponde à amostra virgem e o vermelho, à amostra ao final da irradiação.

A partir desses espectros, foram obtidos os valores de absorvância integrada para as bandas. Esses valores são calculados pelo software do espectrômetro: é traçada uma reta entre dois pontos do início ao fim da banda e é integrada toda a área sobre essa base. Para obter as áreas de bandas não isoladas como as de 1 a 5, foi necessário executar uma deconvolução dos seus picos.

As bandas analisadas nesse experimento foram as 1, 2, 3, 4, 5, 9 e 10. Elas têm uma representatividade significativa em relação à estrutura total do aminoácido, mas, como se pode verificar adiante, quaisquer outras bandas da prolina poderiam ser escolhidas.

Com os dados de absorvância integrada, foram traçadas as curvas de absorvância normalizada em função da fluência para cada banda e apresentadas em um mesmo gráfico (fig. 4.16). A normalização foi feita a partir do ponto em que ocorre a notável mudança de inclinação das curvas, de uma diminuição da absorvância mais intensa para outra mais

suave. Ela é realizada para que as curvas se sobreponham nas duas regiões, permitindo visualizar de modo mais eficiente os seus comportamentos.

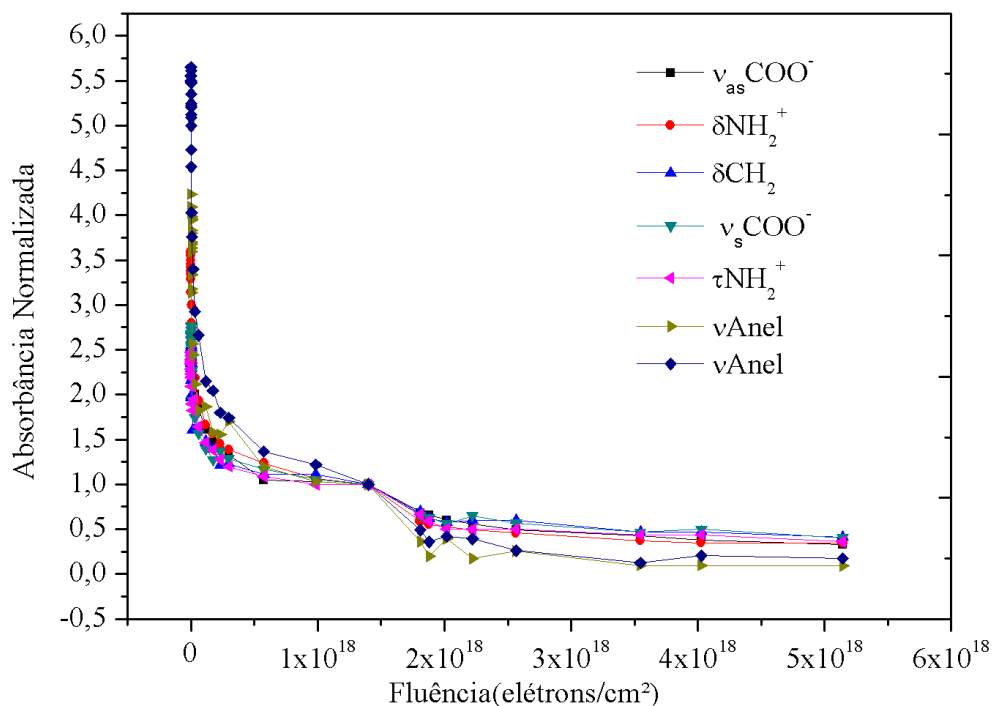


Figura 4.16: Absorbância normalizada de diferentes bandas em função da fluência de elétrons. Curva referentes à amostra sem tratamento térmico.

Como discutido no capítulo 2, o melhor ajuste para as curvas de absorbância normalizada em função da fluência (como as da figura acima) é feito a partir de duas exponenciais, descritas na equação 14. A primeira exponencial refere-se ao regime inicial onde ocorre rearranjo da estrutura da amostra e destruição e a segunda exponencial, ao regime de destruição. Os ajustes nos forneceram os valores de seção de choque  $\sigma_r$  e  $\sigma_d$  para cada banda, descritos na tabela 4.4.

Tabela 4.4: Seções de choque para prolina por impacto de elétrons para a amostra sem *annealing*

Banda	Atribuição	$\sigma_r (10^{-17} \text{ cm}^2)$	$\sigma_d (10^{-19} \text{ cm}^2)$
1	$\nu_{as} \text{COO}^-$	$7 \pm 1$	$3,3 \pm 0,6$
2	$\delta \text{NH}_2^+$	$9 \pm 2$	$10 \pm 2$
3	$\delta \text{CH}_2$	$7,3 \pm 0,9$	$3,6 \pm 0,6$
4	$\nu_s \text{COO}^-$	$5 \pm 1$	$6,1 \pm 0,7$
5	$\tau \text{NH}_2^+$	$12 \pm 2$	$10 \pm 1$
9	$\nu \text{AneI}$	$16 \pm 4$	$10 \pm 2$
10	$\nu \text{AneI}$	$13 \pm 2$	$12 \pm 2$
Média	-	$10 \pm 4$	$8 \pm 3$

### 4.3.2 Radiólise da amostra tratada termicamente

No segundo experimento de degradação por impacto de elétrons, foi utilizada uma amostra de prolina produzida da mesma forma que a anterior, mas submetida a um tratamento térmico de 2h a 120°C. Sua espessura estimada, após o processo de annealing, foi de 0,77  $\mu\text{m}$ , sendo inferior àquela da amostra não tratada termicamente. Além da diferença citada na seção 4.1.2 referente às diferenças de temperaturas intermediárias no processo de sublimação, o procedimento do annealing em si pode ter causado alguma desorção no filme, diminuindo sua espessura. A figura 4.17 apresenta a evolução espectral dessa amostra para diferentes fluências de elétrons de energia de 1960 eV.

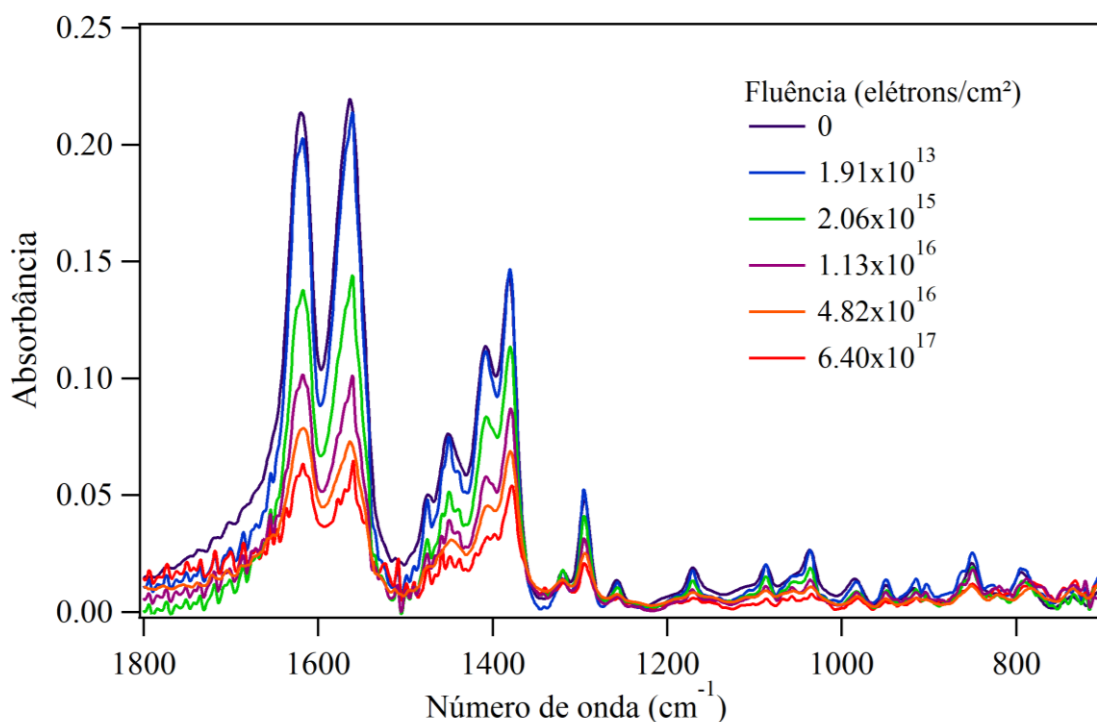


Figura 4.17: Evolução dos espectros ao longo das irradiações do filme de prolina tratado termicamente.

Utilizando as mesmas bandas, foi feito o mesmo tratamento de dados para essa amostra, obtida a curva de absorvância normalizada em função da fluência (fig. 4.18) para cada banda. Nessa figura, pode-se verificar que as curvas também podem ser ajustadas para duas exponenciais e, a partir desse ajuste, encontrados os valores de seção de choque apresentados na tabela 4.5.

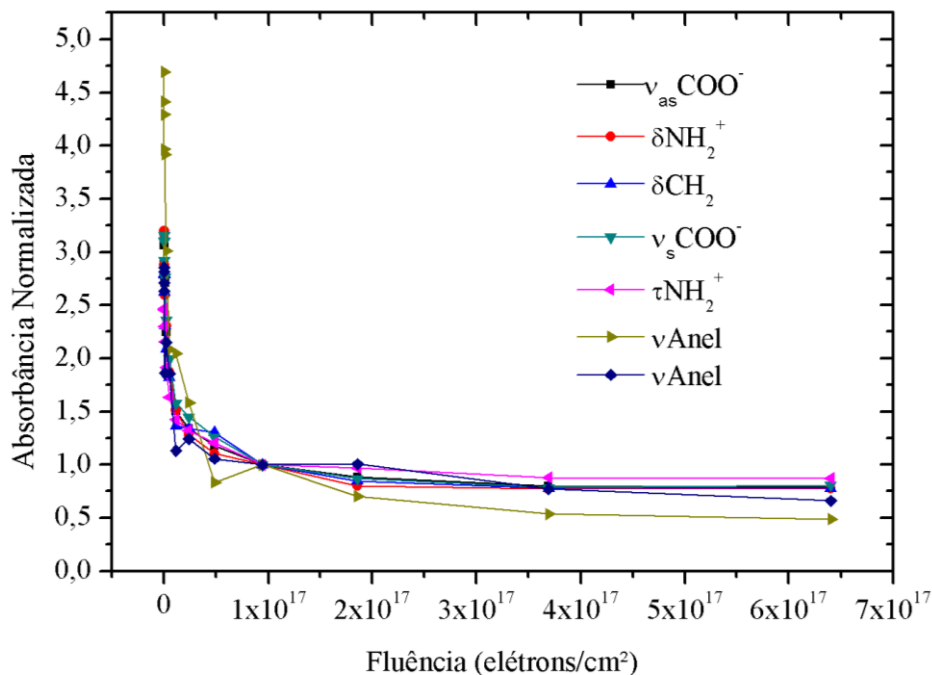


Figura 4.18: Absorbância normalizada de diferentes bandas em função da fluência de elétrons. Curvas referentes à amostra com tratamento térmico.

Tabela 4.5: Valores de seção de choque para a amostra tratada termicamente.

Banda	Atribuição	$\sigma_r (10^{-16} \text{ cm}^2)$	$\sigma_d (10^{-17} \text{ cm}^2)$
1	$\nu_{as} \text{COO}^-$	$3,7 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,3$
2	$\delta \text{NH}_2^+$	$4,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,8$
3	$\delta \text{CH}_2$	$3,7 \pm 0,9$	$1,2 \pm 0,4$
4	$\nu_s \text{COO}^-$	$3,2 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,4$
5	$\tau \text{NH}_2^+$	$4,1 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,4$
9	$\nu \text{Anel}$	$4 \pm 1$	$1,2 \pm 0,4$
10	$\nu \text{Anel}$	$2,1 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,5$
Média	-	$3,6 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,4$

Analisando as tabelas 4.4 e 4.5, foi possível concluir para os dois casos (com e sem *annealing*):

i) Os valores de seção de choque de rearranjo são maiores em relação aos de seção de choque de destruição;

ii) Considerando as suas ordens de grandeza, observa-se que os valores da seção de rearranjo para cada banda são bastante próximos entre si, assim como os da seção de choque de destruição. Nesse caso, é possível afirmar que o comportamento de qualquer

banda pode representar o comportamento geral da molécula durante o experimento de radiólise. Em função disso, uma média dos valores foi calculada e utilizada nas análises.

A partir das médias das tabelas 4.4 e 4.5, foi feita uma comparação dos valores de seção de choque de rearranjo e destruição entre as amostras com e sem tratamento térmico, exposta na tabela 4.6.

Tabela 4.6: Variação das seções de choque de rearranjo e destruição para as duas amostras analisadas, com e sem tratamento térmico (*annealing*)

	$\sigma_r$ ( $10^{-16}$ cm <sup>2</sup> )		$\sigma_d$ ( $10^{-17}$ cm <sup>2</sup> )	
	Sem <i>annealing</i>	Com <i>annealing</i>	Sem <i>annealing</i>	Com <i>annealing</i>
<b>Média</b>	1,0±0,4	3,6±0,7	0,08±0,03	1,5±0,4

Ao analisá-la, observa-se que:

i) A amostra tratada termicamente apresenta valor de seção de choque de rearranjo próximo ao da amostra sem tratamento. Isso não é esperado pelo modelo de radiólise de gelos que foi utilizado na análise, já que o tratamento térmico realizaria o rearranjo antecipadamente. Portanto, há uma indicação de que o *annealing* realizado não foi suficiente para alterar a estrutura da amostra a ponto compactá-la ou rearranjá-la integralmente. No entanto, seria necessário dar continuidade ao trabalho e outros experimentos serem realizados para se obter uma conclusão a respeito;

ii) Os valores de seção de choque de destruição foram quase duas ordens de grandeza maiores na radiólise da amostra com tratamento térmico, sugerindo que o processo de destruição (dissociação química e *sputtering*) ocorreu de forma mais eficaz.

Com os valores de seção de choque, foi possível obter a fluência de meia-vida, ou fluência de meia intensidade, calculada a partir da equação 15. A tabela 4.7 apresenta os valores dessa grandeza para os dois experimentos de radiólise realizados. Observa-se que o valor da fluência de meia-vida para o filme de prolina previamente aquecido é inferior em relação ao que não foi aquecido, indicando que o *annealing* favoreceu a degradação da amostra.

Tabela 4.7: Valores de fluência de meia-vida para a prolina sem e com aquecimento prévio (*annealing*)

$F_{1/2}$ (elétrons/cm <sup>2</sup> )	
Sem <i>annealing</i>	Com <i>annealing</i>
$8,7 \cdot 10^{17}$	$4,62 \cdot 10^{16}$

## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste capítulo, serão apresentadas as conclusões sobre os resultados obtidos nos experimentos realizados, bem como as considerações gerais acerca desse trabalho e suas perspectivas futuras de continuidade e melhorias.

### 5.1 CONCLUSÕES

Quanto aos resultados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir:

i) Na preparação do experimento, os testes de produção de amostras mostraram que a técnica mais eficiente para produzir filmes finos e sem presença de água é a de deposição a vácuo (sublimação);

ii) A análise dos espectros das amostras modificadas pela presença de água mostrou que as bandas evidentemente afetadas referem-se às vibrações  $\nu_{as}COO^-$ ,  $\delta NH_2^+$  e  $\nu_sCOO^-$ , provavelmente afetadas em função das ligações de hidrogênio.

iii) Durante os testes, a Microscopia Eletrônica de Varredura se revelou eficiente para analisar a superfície dos filmes e medir suas espessuras. Com as espessuras e os espectros das amostras, foi obtida a curva ‘Espessura x Absorbância’, a partir da qual é possível saber de forma aproximada quão espesso é um filme a partir do seu espectro;

iv) Foi possível ainda calcular o *A-Value* da banda  $1170\text{ cm}^{-1}$  da prolina a partir das espessuras e dos espectros, obtendo  $A_{\nu(1170)} = (6,4 \pm 0,8) \cdot 10^{-19}\text{ cm/molécula}$ . Valores de força da banda (*A-Value*) são escassos na literatura para outros aminoácidos, e inexistentes para a prolina;

iv) Os experimentos de annealing a  $90^\circ\text{C}$  mostraram que, para essa temperatura, o tratamento térmico não provoca alterações estruturais permanentes na amostra capazes de serem visualizadas por FT-IR. Ademais, foi possível concluir que os espectros da amostra medidos a uma mesma temperatura são praticamente idênticos;

iv) No experimento de radiólise induzida por elétrons das duas amostras de prolina à temperatura ambiente, a evolução espectral em função da fluência apresenta redução da absorbância integrada, sem surgimentos de novas bandas ou desvios;

v) Ainda sobre a radiólise, a curva da absorbância normalizada em função da fluência pôde ser, como previa o modelo, ajustada de modo adequado para duas exponenciais, indicando que havia dois regimes distintos. Por meio do *fitting*, foram obtidas as seções de choque de rearranjo e destruição;

v) Em cada amostra, os valores da seção de choque tanto de rearranjo quanto de destruição para as bandas são bastante próximos da média, se considerarmos o desvio associado, sugerindo, assim, que quaisquer bandas podem ser utilizadas para a análise da radiólise, por representar o comportamento da molécula como um todo;

vi) Ao comparar os resultados das duas amostras, com e sem annealing, vê-se que os valores de seção de choque de rearranjo são ligeiramente diferentes, mas de mesma ordem de grandeza. Assim, pode-se dizer que o annealing de 2h a 120°C não foi eficaz para realizar integralmente o rearranjo que o feixe de elétrons realiza durante a irradiação. Vê-se ainda que os valores de seção de choque de destruição são distintos, sendo duas ordens de grandeza maior para a amostra com annealing.

## **5.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O TRABALHO**

Os experimentos realizados nesse trabalho forneceram informações acerca de um dos aminoácidos de interesse astrofísico, a prolina. Mais especificamente, sobre como esse aminoácido se comporta quando é bombardeado com um feixe de elétrons de 2 keV de energia.

A utilização do modelo da dinâmica da densidade de coluna de gelos astrofísicos irradiados em vácuo mostrou-se, de modo geral, satisfatória na caracterização da radiólise da prolina, uma vez que processos semelhantes foram identificados e as mesmas grandezas puderam ser medidas por meio das equações especificadas. Há, no entanto, uma divergência em relação aos resultados esperados para o annealing realizado. Desse modo, outros experimentos deverão ser feitos posteriormente para a melhor compreensão do efeito do tratamento térmico prévio em uma amostra degradada por impacto de elétrons.

Os valores de seção de choque de destruição encontrados neste trabalho são importantes para a construção de modelos de evolução química do aminoácido em ambientes astrofísicos, podendo ser utilizados em trabalhos correlatos para elaboração de rotas de fragmentação. Da mesma forma, os valores da fluência de meia-vida encontrados podem ser utilizados, junto aos outros dados de interesse astrofísico, para compreender a sobrevivência da molécula nesses meios.

Por fim, é possível dizer que, dada a pouca quantidade de informações na literatura sobre radiólise de aminoácidos induzida por elétrons, e considerando a prolina um

aminoácido de alta relevância biológica, trabalhos como este se fazem necessários, sendo essenciais a sua continuidade e aprimoramento.

### 5.3 PERSPECTIVAS

Para a continuidade deste trabalho, algumas ações podem ser realizadas a fim de aprimorá-lo:

- i) Calcular o *A-value* de outras bandas da prolina;
- ii) Realizar o experimento envolvendo *annealing* das amostras e análise via FT-IR em outras faixas de temperatura, superiores a 90°C;
- iii) Repetir o experimento de irradiação de amostras de prolina por impacto de elétrons com energia de 2 keV e também em outras faixas de energia;
- iv) Repetir o experimento citado acima (iii) em amostras submetidas a tratamentos térmicos com durações e temperaturas diferentes;



## REFERÊNCIAS

- [1] GREENBERG, J. M. et al. Origin of organic matter in the Protosolar nebula and in comets. **Adv. Space Res.** Vol. 16, No. 2, pp. 9-16, 1995.
- [2] ALTWEGG, K. et al. Prebiotic chemicals – amino acids and phosphorus – in the coma of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko. **Science Advances**, 2, n° 5, 2016.
- [3] GLAVIN, D. P.; ALEXANDER, C. M. O.; APONTE, J. C.; DWORKIN, J. P.; ELSILA, J. E.; YABUTA, H. The Origin and Evolution of Organic Matter in Carbonaceous Chondrites and Links to Their Parent Bodies. **Primitive Meteorites and Asteroids**, 205–271, 2018.
- [4] KVENVOLDEN, K. et al. Evidence for extraterrestrial amino-acids and hydrocarbons in the Murchison meteorite. **Nature**, 228, 923–926, 1970.
- [5] CRONIN, J. R.; MOORE, C. B. Amino acid analyses of the Murchison, Murray, and Allende carbonaceous chondrites. **Science**, 172, n° 3990, 1327–1329, 1971.
- [6] PIZZARELLO, S. Cosmochemical evolution and the origin of life: Insights from meteorites. In M. Gargaud, P. López-García, & H. Martin (Eds.), **Origins and Evolution of Life: An Astrobiological Perspective**, Cambridge Astrobiology, 98-117, 2011.
- [7] ELSILA, J. E. et al. Meteoritic Amino Acids: Diversity in Compositions Reflects Parent Body Histories. **ACS Central Science**, 2(6), 370–379, 2016.
- [8] PIZZARELLO, S; CRONIN, J. R. Non-racemic amino acids in the Murray and Murchison meteorites. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Vol. 64, No. 2, pp. 329–338, 2000
- [9] GILMOUR, I. Structural and Isotopic Analysis of Organic Matter in Carbonaceous Chondrites. In: DAVIS, A. M. (Ed.) **Meteorites, comets and planets**. Vol 1. Treatise on geo chemistry. First ed. Oxford: Elsevier – Pergamum, 2003. 269-290.
- [10] LAWLESS, J. G.; KVENVOLDEN, K. A.; PETERSON, E.; PONNAMPERUMA, C.; MOORE, C. Amino acids indigenous to Murray meteorite. **Science**, 173, 626–627, 1971.
- [11] BONNER, W. A. The quest for chirality. **AIP Conference Proceedings**. American Institute of Physics, 1996.
- [12] MUÑOZ CARO, G. M.; DARTOIS, E. Prebiotic chemistry in icy grain mantles in space. **Chem. Soc. Rev.**, 42, 2173, 2013.

- [13] MEIERHENRICH, U. J. et al. The prebiotic synthesis of amino acids – interstellar vs. atmospheric mechanisms. **Proceedings of the Second European Workshop on Exo/Astrobiology**, Ed. Huguette Lacoste Graz. Austria, 2002.
- [14] SORRELL, W. H. Origin of amino acids and organic sugars in interstellar clouds. **The Astrophysical Journal**, 555:L129–L132, 2001.
- [15] IGLESIAS-GROTH, S.; CATALDO, F.; URSINI, O.; MANCHADO, A. Amino acids in comets and meteorites: stability under gamma radiation and preservation of the enantiomeric excess. **Mon. Not. R. Astron. Soc.** 410, 1447–1453, 2011.
- [16] NUEVO, M.; AUGER, G.; BLANOT, D.; d’HENDENCOURT, L. A Detailed Study of the Amino Acids Produced from the Vacuum UV Irradiation of Interstellar Ice Analogs. **Orig Life Evol Biosph**, 38:37–56, 2008.
- [17] MUÑOZ CARO, G. M. Amino acids from ultraviolet irradiation of interstellar ice analogues. **Nature**, 416 (6879), 403–406, 2002.
- [18] BOECHAT-ROBERTY, H. M. Astroquímica. *In: Astrobiologia* [livro eletrônico]: uma ciência emergente / Núcleo de Pesquisa em Astrobiologia. - São Paulo : Tikinet Edição : IAG/USP, 2016.
- [19] SOUZA-CORRÊA, J, A; da COSTA, C.A.P.; da SILVEIRA, E.F. Compaction and Destruction Cross-Sections for  $\alpha$ -Glycine from Radiolysis Process via 1.0 keV Electron Beam as a Function of Temperature. **Astrobiology**, Vol. 19, nº 9, 2019.
- [20] SOUZA, A. B. **Estudo de gelos astrofísicos sob influência do vento solar e de raios cósmicos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Física e Astronomia) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale da Paraíba, São José dos Campos, São Paulo.
- [21] PORTUGAL, W. Radiolysis of amino acids by heavy and energetic cosmic ray analogues in simulated space environments:  $\alpha$ -glycine zwitterion form. **MNRAS** 441, 3209–3225, 2014.
- [22] MEJÍA, C. F et al. Cosmic ray–ice interaction studied by radiolysis of 15 K methane ice with MeV O, Fe and Zn ions. **Monthly Notices of the Royal Astronomical Society**, 433(3), 2368–2379, 2013.
- [23] MEJÍA, C. F et al. Compaction of porous ices rich in water by swift heavy ions. **Icarus**, 250, 222–229, 2015.
- [24] de BARROS, A. L. F. et al. Ion irradiation of ethane and water mixture ice at 15 k: implications for the solar system and the ISM. **The Astrophysical Journal**, 824:81 (14pp), 2016.
- [25] COSTA, C. A. **Análise por espectroscopia no infravermelho da radiólise da valina por íons com energia de MeV**. Dissertação (Mestrado em Física) – Departamento do Centro Técnico Científico. PUC-Rio, Rio de Janeiro, 2016.

- [26] GERAKINES, P. A.; HUDSON, R. L.; MOORE, M. H. BELL, J. L. In situ measurements of the radiation stability of amino acids 15-140K. **Icarus**, 220, 647-659, 2012.
- [27] PORTUGAL, W.; PILLING, S.; ANDRADE, D. P. P.; BODUCH, P.; ROTHARD, H. Radiólise de aminoácido sob ação de íons pesados: implicações em astroquímica e astrobiologia. **Revista Univap - Edição Especial**, v. 19, n. 34, 2013.
- [28] de SALES, R. M. **Estudo da Degradação da Glicina em Fase Isolada por Impacto de Elétrons**. 2016. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- [29] MATÉ, B. et al. Stability of extraterrestrial glycine under energetic particle radiation estimated from 2 keV electron bombardment experiments. **The Astrophysical Journal**, 806:151, 2015.
- [30] PILLING, S., NAIR, B. G., ESCOBAR, A., FRASER, H., & MASON, N. The temperature effect on the glycine decomposition induced by 2 keV electron bombardment in space analog conditions. **The European Physical Journal D**, 68: 58, 2014.
- [31] SANTOS, L. S. **Radiólise da alanina induzida por elétrons estudada pela técnica de infravermelho**. 2017. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.
- [32] PUBCHEM. USA. Compound summary: L-Proline. Disponível em: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-Proline#section=3D-Conformer.\\_Acesso](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-Proline#section=3D-Conformer._Acesso) em: janeiro, 2020.
- [33] NEACSU, A. et al. The effect of gamma rays upon L-proline and 4-hydroxy-L-proline. A thermochemical study. **Radiation Physics and Chemistry**, 156 115–127, 2019.
- [34] CHAMPE, P. C; HARVEY, R. A, FERRIER, D. R Amino acids. *In*: Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. Lippincott Williams & Wilkins, 6th Edition, 2013.
- [35] WAGNER, C. C; TORRE, M. H; BARAN, E. J. Vibrational Spectra of Copper (II) Complexes of L-Proline. **Lat. Am. J. Pharm.** 27 (2): 197-202, 2008.
- [36] RAMEK, M., KELTERER, A.-M; NIKOLI, S. Ab initio and molecular mechanics conformational analysis of neutral L-proline. **International Journal of Quantum Chemistry**, 65(6), 1033–1045, 1997.
- [37] DETAR, D. F; LUTHRA, N. P. Conformations of Proline. **Journal of the American Chemical Society**, 99:4, 1977.
- [38] VASILECSU, D.; CABROL, D.; BROCH, H. Conformers in amino acid sequences typical of collagen: A quantum mechanical study. **International Journal of Quantum Chemistry**, 24(S10), 109–122, 2009.
- [39] KOPOLVODÁ, J.; VORÁČEK-HÜBSCH, M. Gamma-Radiolysis of Aqueous Solution of Proline. **Z. Naturforsch**, 30 c, 474-477, 1975.

- [40] TAMULIENE, J. et al. (2016). On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: proline. **The European Physical Journal D**, 70: 143, 2016.
- [41] SILVEIRA, T. R. Observação via espectroscopia infravermelho do efeito oxirredutor do ácido ascórbico nas espécies reativas da prolina induzidas por prótons (H<sup>+</sup>) e elétrons. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.
- [42] STONE, N.; MEISTER, A. Function of Ascorbic Acid in the Conversion of Proline to Collagen Hydroxyproline. **Nature**, 194(4828), 555–557, 1962.
- [43] MARY, Y. S., USHAKUMARI, L., HARIKUMAR, B., VARGHESE, H. T., PANICKER, C. Y. FT-IR, FT-Raman and SERS Spectra of L-Proline. **Journal of the Iranian Chemical Society**, Vol. 6(1), 2009,138-144.
- [44] KRISHNAN, R S; SANKARANARAYANAN, V. N.; KRISHNAN, K. Raman and infrared spectra of amino acids. **Journal of the indian institute of Science**. Vol 55, nº 2, 1973.
- [45] HERLINGER, A. W.; LONG, T. V. Laser-Raman and infrared spectra of amino acids and their metal complexes. III. Proline and bisprolinato complexes. **Journal of the American Chemical Society**, 92(22), 6481–6486, 1970.
- [46] CHAPKANOV, A.; ZAREVA, S. L-Valine and L-Proline - Solid-State IR-LD Spectroscopic Study. **Protein & Peptide Letters**, 17(3), 347–350, 2010.
- [47] REVA, I. D. et al. Infrared matrix isolation studies of amino acids. Molecular structure of proline. **Journal of Molecular Structure**, 318, 1–13, 1994.
- [48] TARAKESHWAR, P.; MANOGARAN, S. Proline and hydroxyproline zwitterions—an ab initio study. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, 417(3), 255–263, 1997.
- [49] TARAKESHWAR, P., MANOGARAN, S. Vibrational frequencies of proline and hydroxyproline An ab initio study. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, 365(2-3), 167–181, 1996.
- [50] HOLLAS, J. M. **Modern Spectroscopy**. John Wiley & Sons, 4<sup>th</sup> ed., 2004
- [51] GRIFFITHS, P. R.; HASETH, J. A. de; WINEFORDNER, J. D. **Fourier Transform Infrared Spectrometry**. 2<sup>nd</sup> Edition. Wiley-Interscience, 2007.
- [52] STUART, B. H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. John Wiley & Sons, 1<sup>a</sup> ed., 2004.
- [53] DAVIS, S.; ABRAHMS, M.; BRAULT, J. **Fourier Transform Spectrometry**. Academic Press, 1<sup>o</sup> ed., 2001.
- [54] BARROW, J. **Introduction to molecular spectroscopy**. Ed. McGraw-Hill Inc., 1963.
- [55] de BARROS, A. L. et al. Radiolysis of astrophysical ices by heavy ion irradiation: Destruction cross section measurement. **Low Temperature Physics**, 38, 759, 2012.

- [56] SMITH, B. **Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach**. CRC Press, 1 edition, 1998.
- [57] DUARTE, E. S. et al. Heavy ion irradiation of condensed CO<sub>2</sub>: sputtering and molecule formation. **A&A** 502, 599–603, 2009.
- [58] de BARROS, A. L. et al. Radiolysis of frozen methanol by heavy cosmic ray and energetic solar particle analogues. **Mon. Not. R. Astron. Soc.** 418, 1363–1374, 2011
- [59] ANDRADE, D. P. P. et al. Chemical reactions induced in frozen formic acid by heavy ion cosmic rays. **Mon. Not. R. Astron. Soc.** 430, 787–796, 2013.
- [60] PEREIRA, R. C. et al. Radiolysis of N<sub>2</sub>O:CO<sub>2</sub> ice by heavy ions: simulation of cosmic ray effects **Mon. Not. R. Astron. Soc.**, 478, 4939–4951, 2018.
- [61] PILLING, S. et al. Radiolysis of ammonia-containing ices by energetic, heavy, and highly charged ions inside dense astrophysical environments. **A&A**, 509, A87, 2010.
- [62] PILLING, S. et al. The Influence of Crystallinity Degree on the Glycine Decomposition Induced by 1 MeV Proton Bombardment in Space Analog Conditions. **Astrobiology**, Vol. 13, Number 1, 2013.
- [63] CASSIDY, T. et al. Radiolysis and Photolysis of Icy Satellite Surfaces: Experiments and Theory. **Space Sci. Ver.**, 153: 299–315, 2010.
- [64] ROTHARD, H. et al. Modification of ices by cosmic rays and solar Wind. **J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.** 50 062001, 2017.
- [65] JOACHAIN, C. J. **Quantum Collision Theory**. North-Holland Publishing Company, 1975.
- [66] DAMASCENO, E. M. Estudo da radiólise do cianoacetileno e das suas misturas com o monóxido de carbono, dióxido de carbono e metano induzida por íons na faixa de MeV. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2019.
- [67] CREATEC. Manual da OLED Effusion Cell. CreaTec Fischer & CO.
- [68] MELLON, E. F.; HOOVER, S. R. Hygroscopicity of amino acids and its relationship to the vapor phase water absorption of proteins. **J. Am. Chem. Soc.** 73, 8, 3879-3882, 1951.
- [69] DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007.
- [70] KIMBALL PHYSICS. Manual do canhão de elétrons ELG-2/EGPS-1022.
- [71] DA COSTA, A. P.; da SILVEIRA, E. F. Valine infrared absorbance at cryogenic temperatures. **Low Temperature Physics**, 45(6), 649–655, 2019.
- [72] MARSH, A. et al. Influence of organic compound functionality on aerosol hygroscopicity: dicarboxylic acids, alkyl-substituents, sugars and amino acids. **Supplement of Atmos. Chem. Phys.**, 17, 5583–5599, 2017.