UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA

**ESPECTRÔMETRO DE MASSA POR TEMPO DE VÔO
PARA ANÁLISE DE MACROMOLÉCULAS**

Eduardo Luiz Augusto Macchione

SBI-IFUSP

**Tese de Doutorado
submetida ao Instituto de Física
da Universidade de São Paulo**

Orientador: Prof. Olacio Dietzsch

Banca examinadora:

**Prof. Olacio Dietzsch
Prof. Gerard Gerson Bezerra de Souza
Prof. Manoel Tiago Freitas da Cruz
Prof. Nilson Dias Vieira Jr.
Profa. Nobuko Ueta**

São Paulo

1998

530.4
ML242
D
Ex. 2

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Macchione, Eduardo Luiz Augusto

Espectrômetro de Massa por Tempo de Voo para Análise
de Macromoléculas. São Paulo, 1998.

Tese (Doutoramento) Universidade de São Paulo.
Instituto de Física - Departamento de Física Geral

Orientador: Prof. Dr. Olacio Dietzsch
Área de Concentração: Física Nuclear

Unitermos: 1. Espectrometria de Massa;
2. Tempo de Voo; 3. Instrumentação; 4. Dessorção.

USP/IF/SBI-037/98

*aos meus pais e
à Martinha*

Agradecimentos

Gostaria de expressar os meus agradecimentos a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, em particular,

ao Prof. Olacio Dietzsch, pela orientação e apoio durante as várias etapas deste trabalho,

ao Prof. Kiyomi Koide, pelas proveitosas e esclarecedoras discussões,

aos Profs. José Hiromi Hirata e Suzana Salem Vasconcelos, pelo apoio e participação,

a todos os funcionários do IFUSP, em especial ao Srs. Rubens Dismar Forcemo e Marcelino Alves, pelo suporte prestado,

à Marta Maria Cassiano, por sua extrema dedicação e total envolvimento,

aos amigos e colegas que, de alguma maneira, participaram e torceram para o sucesso deste projeto, e

ao PADCT/CNPq pelo apoio financeiro.

Resumo

Um espectrômetro de massa por tempo de voo foi projetado e construído. A técnica de *Plasma Desorption* é empregada para provocar a dessorção e ionização das moléculas da amostra por colisões com os produtos de fissão emitidos de uma fonte radioativa de ^{252}Cf . O espectrômetro encontra-se instalado no interior de uma câmara de vácuo, que permite a sua operação a pressões da ordem de 10^{-7} torr. Uma pré-câmara é utilizada para a manipulação e troca de até três amostras simultaneamente, sem a necessidade da abertura da câmara principal para a atmosfera, reduzindo o tempo de recuperação da pressão do sistema para início das análises. No tubo de voo, que possui uma extensão de 111 cm, encontra-se instalado um guia eletrostático de partículas, usado para aumentar a transmissão dos íons secundários até o sistema de detecção. Medidas foram feitas utilizando-se amostras-padrão para a caracterização do instrumento. Estudos também foram realizados sobre o comportamento da resolução e da eficiência de transmissão do aparelho em função da tensão de aceleração dos íons secundários. Foi obtida uma resolução em massa de $m/\Delta m$ entre 1600 e 1800 para íons com massas em torno de 900 u.m.a.

Abstract

A time-of-flight mass spectrometer was projected and constructed. The *Plasma Desorption* technique is employed to desorb and ionize the molecules sample by collisions with fission fragments emitted from ^{252}Cf source. The spectrometer is placed inside a vacuum chamber, allowing operation at a pressure around of 10^{-7} torr. A pre-chamber is used to insert three samples simultaneously into the mass spectrometer, without the need of opening the main chamber to the atmosphere, reducing the recover time of the pressure system for the beginning of analyzes. Inside the flight tube (111 cm length) was installed an electrostatic particle guide, used to increase the secondary ion transmission to the detection system. Measurements using standard samples were done to characterize the apparatus performance. The instrument resolution and transmission efficiency were analyzed with respect to the secondary ion acceleration voltage. The mass resolution of $m/\Delta m$ from 1600 to 1800 for mass ions around 900 u.m.a. was obtained.

ÍNDICE

1. Introdução	6
2. Considerações Iniciais	8
2.1 <i>Espectrometria de Massa</i>	8
2.1.1 Fontes de Íons	9
2.1.2 Analisadores de Massa	12
2.2 <i>Projeto do Espectrômetro de Massa por Tempo de Vôo</i>	16
2.3 <i>Dessorção Induzida por Íons Rápidos</i>	18
2.4 <i>Fonte de ^{252}Cf</i>	22
3. Montagem do Espectrômetro de Massa por Tempo de Vôo	24
3.1 <i>Sistema de Vácuo</i>	24
3.2 <i>Trocador de Amostras, Suportes de Amostra e Fonte ^{252}Cf</i>	28
3.3 <i>Tubo de Vôo e Guia Eletrostático de Partículas</i>	32
3.4 <i>Alinhamento do Sistema</i>	34
3.5 <i>Sistema de Bombeamento</i>	35
4. Sistema de Aquisição de Dados	36
4.1 <i>Eletrônica para Análise Temporal</i>	36
4.2 <i>Ajuste da Eletrônica</i>	39
4.3 <i>Eletrônica para Análise de Amplitude de Pulsos</i>	43
4.4 <i>Sistema de Detecção de Íons - Detectores Stop e Start</i>	46
4.4.1 <i>Detector de Íons Secundários - Stop</i>	49
4.4.2 <i>Detector de Fragmentos de Fissão - Start</i>	57
5. Caracterização do Espectrômetro	62
5.1 <i>Influência da Distribuição Bimodal de Velocidades do ^{252}Cf</i>	62
5.2 <i>Equação de Tempo de Vôo dos Íons</i>	66
5.3 <i>Calibração em Massa</i>	69
5.3.1 <i>Amostra de Csl</i>	72
5.3.2 <i>Amostra de Fenilalanina</i>	77
5.3.3 <i>Amostras de Angiotensin I e LHRH</i>	82
5.4 <i>Resolução do Espectrômetro de Massa</i>	85
5.4.1 <i>Comportamento da Resolução com a Tensão de Aceleração</i>	87

5.4.2 Resolução para região de massas baixas e altas	92
5.5 <i>Transmissão e Guia Eletrostático de Partículas</i>	97
5.5.1 Transmissão dos Íons Secundários	97
5.5.2 Guia Eletrostático de Partículas	103
6. Análise do Peptídeo γ-Glutamil-S-Metilcisteína	114
7. Conclusões	118
8. Referências	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 2.1 - Princípio de funcionamento do espectrômetro de massa por tempo de voo com dessorção induzida por produtos de fissão do ^{252}Cf (adaptado de [Mac83]).	17
Fig. 2.2 - Taxa de perda de energia por unidade de comprimento para um íon de ^{127}I ao atravessar um sólido orgânico $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}$ (adaptado de [Håk92]).	21
Fig. 2.3 - Esquema da passagem de um íon rápido por um meio material. Na região próxima à passagem do íon são emitidos elétrons δ que carregam parte da energia do íon para regiões mais distantes. A passagem do íon forma as regiões cilíndricas denominadas infra-trilha e ultra-trilha (adaptado de [Håk92]).	21
Fig. 2.4 - Distribuição de massa dos fragmentos de fissão do ^{252}Cf [Kno89].	23
Fig. 2.5 - Distribuição da energia cinética dos produtos de fissão do ^{252}Cf . O pico da esquerda corresponde aos fragmentos pesados e o da direita aos leves [Kno89].	23
Fig. 3.1 - Vista em corte do espectrômetro, mostrando os vários componentes do equipamento.	26
Fig. 3.2 - Montagem do sistema de vácuo com suas duas câmaras conectadas por um fole metálico.	27
Fig. 3.3 - (a) Detalhes do sistema de troca de amostras e (b) da região da grade de aceleração e suportes de amostras e da fonte de ^{252}Cf .	29
Fig. 3.4 - Vistas da estrutura de sustentação do suporte de amostras: (a) apenas a estrutura e (b) com o suporte de amostras.	30
Fig. 3.5 - Estrutura de sustentação do suporte da fonte de ^{252}Cf .	31
Fig. 3.6 - Detalhe da fixação do tubo de voo no interior do sistema de vácuo e do suporte do fio de W/Au do guia eletrostático de partículas.	33
Fig. 3.7 - Resultados dos testes de isolamento do fio de W/Au do guia eletrostático de partículas: corrente de fuga do sistema em função da tensão aplicada no fio.	33
Fig. 3.8 - Esquema do alinhamento do espectrômetro de massa. Nesse procedimento foi usado um conjunto de aberturas circulares de 0,5 mm e dois aparelhos de raios laser de He-Ne.	34
Fig. 4.1 - Diagrama da eletrônica usada para medidas de intervalo temporal.	38
Fig. 4.2 - Deslocamento temporal ΔT existente em discriminadores disparados por um nível constante de tensão ΔV , provocado por pulsos de um mesmo evento mas com diferentes amplitudes. Apenas a borda dianteira dos pulsos é apresentada para maior clareza [Kno89].	41
Fig. 4.3 - Esquema do tratamento de pulsos realizado por um discriminador de fração constante CFD sendo α o fator de atenuação, t_d o tempo de descida do pulso e t_d o atraso externo. O ponto de disparo do pulso resultante é independente da amplitude do sinal de entrada [Kno89].	41
Fig. 4.4 - Distribuição temporal dos íons H^+ , com 17 keV de energia, provenientes de uma amostra de CsI, após ajuste da eletrônica de aquisição de dados.	42
Fig. 4.5 - Esquema da eletrônica utilizada para medidas de intervalo de tempo com o disparo do cronômetro eletrônico realizado pelos elétrons provenientes da amostra.	42
Fig. 4.6 - Diagrama da eletrônica utilizada para a determinação da distribuição de altura de pulsos dos detectores Start e Stop, em coincidência com os pulsos rápidos selecionados com o nível de discriminação do módulo (CFD).	44
Fig. 4.7 - Diagrama da eletrônica usada para a determinação da distribuição de altura de pulsos dos detectores Start e Stop, fazendo uso de coincidência temporal em relação aos íons provenientes da amostra.	45
Fig. 4.8 - Esquema de montagem do detector de íons Stop. As placas multiplicadoras de elétrons encontram-se montadas em uma configuração Chevron.	52
Fig. 4.9 - Esquema elétrico do divisor resistivo do detector Stop. A tensão de polarização é de 2400 V, R1 e R4 pertencem ao divisor de resistência total de 22,0 M Ω , L é um indutor de 1,2 μH e C, o capacitor de desacoplamento de 1,5 pF com tensão de isolamento de 6 kV.	52
Fig. 4.10 - Fotografia da tela do osciloscópio apresentando o sinal de saída do detector Stop, operando a 2400 V, varredura horizontal calibrada em 10 ns/divisão e vertical em 500 mV/divisão.	53
Fig. 4.11 - Distribuição de amplitude de pulsos em função da tensão do detector Stop, obtida por leitura na tela do osciloscópio. As barras correspondem às amplitudes máximas e mínimas observadas.	53

Fig. 4.12 - Distribuições da amplitude de pulsos formados no detector Stop, por íons provenientes de uma amostra de LiF a + 12 kV, para tensões de operação de 2400 V a 2660 V.	54
Fig. 4.13 - Distribuições da amplitude de pulsos formados no detector Stop em coincidência com íons de Cs ⁺ , provenientes de uma amostra de CsI a + 12 kV, para tensões de operação de 1950 V a 2570 V. De (a) para (b) as escalas horizontais foram alteradas para melhor visualização, sendo o ganho do sistema de amplificação o mesmo para todas as distribuições.	55
Fig. 4.14 - Posições dos primeiros momentos das distribuições de amplitudes de pulsos em função da tensão de operação do detector Stop. Os pulsos são formados pela incidência de íons positivos provenientes de amostras de CsI e LiF, sobre o detector com energias de 12 keV.	56
Fig. 4.15 - Esquema da montagem mecânica do detector Start em uma configuração Chevron, apresentado em vista frontal e em corte lateral.	59
Fig. 4.16 - Diagrama elétrico do divisor resistivo do detector Start. A tensão de operação é de + 2700 V; R1 e R5 pertencem ao divisor de resistência total de 26,5 MΩ, L é um indutor de 1,2 μH e C, o capacitor de desacoplamento de 1,5 pF com tensão de isolamento de 6 kV.	59
Fig. 4.17 - Fotografia da tela do osciloscópio apresentando o sinal do detector Start, operando a 2700 V, varredura horizontal calibrada em 5 ns/divisão e vertical em 200 mV/divisão.	60
Fig. 4.18 - Distribuição da amplitude de pulsos do detector Start em função de sua tensão, obtida por leitura na tela do osciloscópio. As barras correspondem às amplitudes máximas e mínimas observadas.	60
Fig. 4.19 - Distribuição de amplitude de pulsos do detector Start, operando a 2700 V, com a incidência de partículas alfa e produtos de fissão do ²⁵² Cf. (a) Contribuição do ruído eletrônico, partículas alfa e produtos de fissão; (b) em coincidência com elétrons emitidos de uma amostra de CsI, resultando apenas na contribuição dos produtos de fissão e coincidências casuais; (c) em coincidência com sinal rápido do detector Start com nível de discriminação ajustado a - 200 mV.	61
Fig. 5.1 - Esquema da região da fonte de ²⁵² Cf ilustrando os possíveis eventos após a fissão, sendo FL o fragmento leve e FP o fragmento pesado. Em (a) os produtos de fissão incidem perpendicularmente sobre a amostra e o detector Start, em (b) na região mais distante possível de seus centros. Em ambos os casos a fonte está colocada à mesma distância da amostra e do detector.	63
Fig. 5.2 - Influência da distribuição de velocidades dos produtos de fissão do ²⁵² Cf na distribuição temporal de elétrons de 18 keV provenientes de uma amostra de CsI. O pico à esquerda corresponde a eventos onde o fragmento pesado incide sobre o detector Start e o da direita o fragmento leve. A origem do tempo é arbitrária.	65
Fig. 5.3 - Diferença de tempo de voo de elétrons emitidos de uma amostra de CsI pela passagem dos produtos de fissão do ²⁵² Cf, em função da tensão da amostra.	65
Fig. 5.4 - Esquema da geometria do espectrômetro de massa por tempo de voo. A fonte de ²⁵² Cf encontra-se entre o detector Start e a amostra. Os íons desoriados pelos fragmentos de fissão são acelerados na região z ₁ por um campo elétrico, devido à diferença de potencial V aplicada entre a amostra e a grade. Os íons atravessam a região de comprimento z ₂ livre de campos até alcançarem o detector Stop.	68
Fig. 5.5 - Representação da velocidade inicial de emissão v ₀ do íon; Θ é o ângulo entre a normal da superfície da amostra e a direção da velocidade do íon.	68
Fig. 5.6 - Espectros de massa de uma amostra de CsI depositada a vácuo sobre um substrato de Kimfol recoberto por 500 Å de ouro, para tensões de aceleração da amostra de - 18kV (a) e + 18kV (b).	73
Fig. 5.7 - Diferenças entre as massas medidas e calculadas Δm para os possíveis íons provenientes de uma amostra de CsI a - 18 kV (a) e + 18 kV (b).	76
Fig. 5.8 - Distribuições de massa de uma amostra de fenilalanina (m = 165 u.m.a.), nas tensões de aceleração de + 12kV (a) e - 12kV (b).	78
Fig. 5.9 - Diferenças entre as massas medidas e calculadas (Δm) para os possíveis íons provenientes de uma amostra de fenilalanina a + 12 kV (a) e - 12 kV (b). Os pontos experimentais (Δ) representam os íons cuja fórmula molecular possui átomos de nitrogênio e são isóbaros a íons formados por C, H e O.	81
Fig. 5.10 - Espectros de massa do Angiotensin I a + 12 kV (a) e a - 12 kV (b) e do LHRH a + 12 kV (c). Ao lado são mostrados detalhes dos picos dos íons quasi-moleculares.	84
Fig. 5.11 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons H ⁺ , com o sistema de aquisição disparado por elétrons. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E _{ex} e Δ E _{ex} fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de Δel, fixadas as demais contribuições.	89

- Fig. 5.12 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons Γ^- , com o sistema de aquisição disparado por produtos de fissão. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E_{ci} e ΔE_{ci} , fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de $(\Delta p_f^2 + \Delta e_f^2)^{1/2}$, fixadas as demais contribuições. 90
- Fig. 5.13 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons CsI_3^- , com o sistema de aquisição disparado por produtos de fissão. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E_{ci} e ΔE_{ci} , fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de $(\Delta p_f^2 + \Delta e_f^2)^{1/2}$, fixadas as demais contribuições. 91
- Fig. 5.14 - Resolução do espectrômetro na região de pequenas massas. Em (a) picos formados pelos íons Al^+ e $C_2H_3^+$, provenientes de uma amostra de mylar aluminizado e separados por $\Delta m = 0,041$ u.m.a.; em (b) a amostra, recoberta por sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), teve o pico de Al^+ eliminado. 94
- Fig. 5.15 - Resolução do espectrômetro na região de pequenas massas. Em (a) picos formados por íons K^+ e por íons C_2HN^+ e $C_3H_3^+$, provenientes de uma amostra de valina sobre nitrocelulose, estão separados por $\Delta m = 0,05$ u.m.a.; em (b) a amostra, lavada com água destilada, teve o pico de K^+ praticamente eliminado e em (c) a amostra, após a deposição de uma solução de KI, apresenta novamente o pico de K^+ . 95
- Fig. 5.16 - Picos correspondentes aos aglomerados iônicos de uma amostra de CsI para tensões de aceleração de ± 18 kV, (a) $Cs_4I_3^+$ com $n/\Delta m = 1600$ e (b) $Cs_3I_4^+$ com $n/\Delta m = 1800$. 96
- Fig. 5.17 - Comportamento das intensidades integradas dos íons H^- (a), Γ^- (b), CsI_2^- (c) e $Cs_2I_3^-$ (d), normalizadas em relação ao número de eventos que dispararam o sistema de aquisição de dados, em função da tensão de aceleração. 100
- Fig. 5.18 - Resultados de simulações realizadas com o programa SIMION de trajetórias de íons de H^- emitidos da superfície de uma amostra, com ângulos de emissão de -80° a $+80^\circ$ e energias iniciais de 3,5 eV, para tensões de aceleração de -4 kV (a), -12 kV (b) e -18 kV (c). 101
- Fig. 5.19 - Fração de íons transmitidos pelo espectrômetro de massa em função da tensão de aceleração, sujeitos a influências da geometria do sistema e das energias iniciais, obtidas por simulações computacionais. 102
- Fig. 5.20 - Geometria do guia eletrostático de partículas. Em um instante qualquer, o íon encontra-se a uma distância r do fio, possuindo velocidade v e fazendo um ângulo θ com a normal ao plano xy e ϕ com o plano yz (adaptado de [Oak67]). 104
- Fig. 5.21 - Trajetórias de íons H^- simuladas com o programa SIMION. Os íons H^- são emitidos com energia de 3,5 eV e ângulos de emissão $\theta_0 = 36^\circ$ e $\phi_0 = 26^\circ$, para tensões de -100 V (a), -3 kV (b) e -8 kV (c). Nos detalhes são apresentados, à esquerda, a porção inicial do tubo de vóo e, à direita, a projeção no plano xy das trajetórias no final do tubo. 109
- Fig. 5.22 - Comportamento do ganho do gep em função da tensão do fio e da tensão de aceleração, medido para íons H^- (a), Γ^- (b), CsI_2^- (c) provenientes de uma amostra de CsI. 110
- Fig. 5.23 - Projeções das trajetórias no plano xy de íons H^- com energia inicial de 3,5 eV, sujeitos à influência do guia eletrostático de partículas colocado a $+20$ V. As trajetórias são obtidas por integração numérica das equações de movimento. 111
- Fig. 5.24 - Comparação dos resultados experimentais do ganho do gep com os obtidos por simulações (curvas contínuas), para os íons H^- (a) e Γ^- (b). 112
- Fig. 5.25 - Detalhe da porção inicial do tubo de vóo mostrando as deformações nas equipotenciais devido a efeitos de borda do gap de dimensão finita. 113
- Fig. 6.1- (a) Espectros de massa de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me) depositada sobre um substrato de mylar aluminizado, a uma tensão de $+10$ kV. Em (b) detalhe da região de interesse. 116
- Fig. 6.2- (a) Espectro de massa de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me) após sua oxidação "in situ" com 30 μ l de H_2O_2 (30%), a uma tensão de $+10$ kV. Em (b) detalhe da região de interesse. 117

1. Introdução

A espectrometria de massa tem aplicações em vários setores de interesse científico e tecnológico, sendo uma importante ferramenta na caracterização de substâncias em pesquisa básica e no controle de qualidade em processos industriais. Sua utilização é adequada na área da bioquímica e em indústrias farmacológicas, onde é de extrema importância a verificação da integridade estrutural e pureza das substâncias, bem como a detecção e identificação de produtos secundários formados durante o processo de síntese. A técnica também é adequada para análise de derivados de petróleo e polímeros. Nas áreas ligadas ao estudo do meio ambiente, a espectrometria de massa possibilita a determinação de contaminantes do solo ou em mananciais, tais como pesticidas e substâncias organometálicas, prejudiciais ao ecossistema.

O objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento e construção de um espectrômetro de massa por tempo de voo que utiliza a técnica de *Plasma Desorption*, onde a emissão e ionização de moléculas de uma amostra é feita pelo bombardeio com íons rápidos provenientes de uma fonte radioativa de ^{252}Cf . Um sistema de vácuo, usado para o acondicionamento do espectrômetro, sistemas de manipulação e trocas de amostra e detectores de íons também foram desenvolvidos especialmente para esse equipamento.

No capítulo 2 é apresentada uma revisão de algumas técnicas usadas na volatilização e produção de íons de moléculas orgânicas e de alguns sistemas analisadores de massa. Nos demais itens desse capítulo são apresentadas as características do espectrômetro de tempo de voo desenvolvido, considerações sobre a produção de íons secundários pela incidência de íons rápidos em uma amostra e características da fonte de íons primários utilizada.

No capítulo 3 são apresentados as características mecânicas e a montagem do espectrômetro, seu sistema de vácuo, o trocador de amostra e o guia eletrostático de partículas.

No capítulo 4 são apresentados o sistema de detecção e aquisição de dados. Alguns cuidados para o ajuste do sistema eletrônico são também discutidos neste capítulo.

No capítulo 5 são apresentados os resultados da caracterização do espectrômetro relativos aos seguintes aspectos: (i) a influência da fonte de íons primários sobre a distribuição temporal dos íons analisados, (ii) os procedimentos de calibração do espectro de massa e a precisão obtida na determinação de massas de moléculas, (iii) testes da resolução do espectrômetro e (iv) o efeito do guia eletrostático de partículas usado para aumentar a transmissão dos íons através do equipamento.

No capítulo 6 é apresentada, como exemplo de aplicação do instrumento, a análise do peptídeo γ -Glutamil-S-Metilcisteína.

No capítulo 7 são feitas as considerações finais do trabalho, sendo discutidas as alterações e implementações que serão realizadas no equipamento para ampliar suas possibilidades de aplicação.

2. Considerações Iniciais

2.1 *Espectrometria de Massa*

A espectrometria de massa é uma técnica na qual moléculas ionizadas são separadas por meio da utilização de campos elétricos ou magnéticos de acordo com suas razões de massa sobre a carga elétrica (m/q) [Wai93].

Um espectro de massa consiste na distribuição das razões m/q em função da intensidade. Dependendo do processo de ionização utilizado, as moléculas da amostra podem sofrer fragmentações, produzindo um padrão de íons relacionado com a estrutura do material analisado. Pela interpretação do espectro é possível obter informações sobre a massa da substância que compõe a amostra e, eventualmente, sua estrutura. Por ser uma técnica de grande sensibilidade, são necessários, dependendo do método de ionização usado, apenas alguns picomoles ou nanomoles do material.

Um espectrômetro de massa é constituído por (i) um sistema de produção de íons, (ii) um analisador de massa, (iii) um sistema de detecção de íons e (iv) um sistema de armazenamento de dados. As diferenças entre as várias técnicas de espectrometria de massa estão relacionadas às variações de partes do equipamento, sendo que a escolha de um determinado sistema depende dos seguintes fatores [Fen91]: faixa de massa a ser analisada, resolução, precisão, sensibilidade, rapidez na análise e custo do equipamento. Na maioria dos casos, as características físico-químicas das amostras constituem um dos principais fatores para a escolha da técnica empregada.

2.1.1 Fontes de Íons

Para materiais que se encontram em fase gasosa ou que são facilmente volatilizados é usual o emprego do processo de ionização por bombardeamento de elétrons [Har90]. Neste processo, um filamento aquecido é utilizado para a produção dos elétrons, que são acelerados para o interior de uma célula, onde o material a ser ionizado se encontra. Após as colisões, os íons positivos formados são extraídos por campos eletrostáticos e enviados para o interior do sistema analisador. Este tipo de fonte também provoca a fragmentação dos íons moleculares, podendo causar, em alguns casos, a completa destruição da amostra.

Outro processo utilizado, que permite a sobrevivência de algumas formas de íons, que seriam destruídas com a utilização da técnica anterior, é a ionização química [Mun66]. Neste caso, os íons são produzidos por colisões das moléculas, em estado gasoso, com íons primários presentes na fonte. Estas colisões ocorrem em uma célula, onde dois gases são introduzidos: o gás reagente (por exemplo, o CH_4 e o isobutano) e as moléculas da amostra, sendo a pressão local mantida em condições que permitam freqüentes colisões.

Para a análise por espectrometria de massa de materiais orgânicos sólidos termicamente instáveis, como peptídeos e proteínas, várias técnicas de produção de íons foram desenvolvidas. Com a utilização dessas técnicas, que serão discutidas em seguida, as moléculas são ionizadas de maneira branda, sem que haja uma significativa transferência de energia para modos internos da molécula, o que poderia provocar a sua dissociação.

Um grande avanço foi conseguido em 1968, com o surgimento da técnica de dessorção por campo desenvolvida por Beckey et al. [Bec69]. Nesta técnica a amostra é depositada sobre um filamento de tungstênio recoberto por micro-agulhas de carbono. Com o aquecimento do filamento, o material depositado escorre até as pontas das micro-agulhas e um intenso campo elétrico (10^8 V/m) existente entre o filamento e um eletrodo provoca a emissão das moléculas ionizadas. Esta técnica permitiu a análise de materiais como aminoácidos, esteróis, drogas e pesticidas.

Em 1974 foi introduzida a técnica de aquecimento rápido [Beu74], onde a amostra, colocada na extremidade de uma agulha de Teflon, é rapidamente aquecida e volatilizada. O emprego do Teflon permite uma diminuição da intensidade das forças de aderência entre a superfície da agulha e a amostra, favorecendo o processo de volatilização em relação ao processo de decomposição da amostra.

Neste mesmo ano, Macfarlane et al. [Tor74, Mac76] descobriram o efeito de dessorção de moléculas termicamente instáveis e não-voláteis induzidas por colisões com íons rápidos (1 MeV/nucleon). Esse efeito possibilitou o desenvolvimento da técnica conhecida como *Plasma Desorption Mass Spectrometry - PDMS*, que utiliza os produtos de fissão de uma fonte de ^{252}Cf como íons primários para provocar a dessorção de moléculas de superfícies sólidas. Logo nas primeiras aplicações, a técnica mostrou seu potencial, permitindo a análise de amostras orgânicas que nunca tinham sido analisadas com sucesso com técnicas de espectrometria de massa existentes na época [Tor74]. Outros fatores que favoreceram o emprego da técnica *PDMS* foram: a facilidade no preparo da amostra, a técnica ser não-destrutiva e a facilidade na determinação da massa do material analisado, decorrente da produção intensa de íons quasi-moleculares. As primeiras aplicações da técnica de *PDMS* foram nos campos da bioquímica e química orgânica molecular, sendo empregada na caracterização de estruturas de peptídeos e proteínas. Biomoléculas com peso molecular de até 45000 u.m.a. e agregados de moléculas com até 100000 u.m.a. foram medidos com sucesso [Jon89, Pau91]. Além de permitir a determinação da massa da molécula analisada, informações referentes à estrutura também podem ser obtidas com o emprego do padrão de íons de fragmentos da molécula, obtidos por procedimentos especiais em combinação com o *PDMS* [Cha86].

Em 1976 Benninghoven et al. [Ben76] introduziram a utilização da técnica *Secondary Ions Mass Spectrometry - SIMS* na caracterização de biomoléculas termicamente instáveis. Como na técnica *PDMS*, um feixe de partículas ionizadas colide com uma amostra sólida, provocando sua dessorção. Nesse caso, a energia dos íons primários é da ordem de keV. Embora os espectros de massa produzidos tenham se mostrado similares aos obtidos com *PDMS*, a eficiência de produção de íons secundários quasi-moleculares é menor no caso do *SIMS*.

O uso de pulsos de laser de ultravioleta para análise de biomoléculas foi introduzido por Posthumus et al. em 1978 [Pos78]. Substâncias como oligossacarídeos, glicosídeos e nucleotídeos foram analisadas e os espectros de massa apresentaram, além dos picos quasi-moleculares, picos de fragmentos, que permitiram a obtenção de informações estruturais.

Em 1981 Barber et al. introduziram a técnica *Fast Atom Bombardement* - *FAB* [Bar81]. Essa técnica é similar à *SIMS*, mas utiliza um feixe de partículas neutras para bombardear a amostra, com energia da ordem de keV. Outra diferença está relacionada ao preparo da amostra, que, nesse caso, é produzida na forma líquida, dissolvida em uma matriz de glicerol. Os espectros obtidos podem, no entanto, ser de difícil interpretação devido à interferência da matriz. Com esta técnica, amostras de polipetídeos e proteínas foram analisadas.

A técnica denominada *MALDI* - *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*, desenvolvida por Hillenkamp et al. em 1988 [Hil88], utiliza uma fina camada formada pela mistura do material a ser analisado com uma matriz composta por pequenas moléculas orgânicas, que apresentam forte absorção no comprimento de onda de um laser (UV) utilizado para arrancar o material do substrato. A excitação eletrônica das moléculas da matriz pelo pulso do laser provoca a dessorção e ionização das moléculas da amostra. Como matrizes são utilizados os ácidos sinapínico ou nicotínico. Esta técnica permite a produção de íons moleculares de massas extremamente elevadas, da ordem de centenas de milhares de u.m.a. Em 1990, este mesmo grupo relatou a possibilidade de dessorção de moléculas por fótons na faixa do infravermelho [Ove90].

Em 1988 Fenn et al. [Yam88] apresentaram resultados do uso da técnica de *Eletrospray* para a volatilização e ionização de grandes proteínas. Uma solução diluída da amostra passa por um tubo capilar, com um fluxo extremamente baixo (1 a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$). Um campo elétrico intenso é criado pela aplicação de uma diferença de potencial de 3 kV a 6 kV entre o tubo capilar e um eletrodo, separados por uma distância de 3 mm a 20 mm. O campo elétrico induz cargas no líquido, provocando a formação de uma superfície cônica, de cuja extremidade são expelidas gotículas altamente carregadas. A evaporação do solvente na gotícula provoca sua fragmentação devido ao efeito de forças elétricas,

mais intensas que as forças de coesão da gotícula. São formadas então gotas ainda menores, que sofrem novas fragmentações, produzindo um efeito em cadeia, até que as forças elétricas fiquem tão intensas que causem a emissão de íons da amostra. O interessante nessa técnica é a produção de íons moleculares com grande quantidade de cargas, o que permite a utilização de sistemas analisadores como quadrupolos eletrostáticos, que operam numa faixa de razão m/q de 1000 u.m.a. a 2000 u.m.a.

2.1.2 Analisadores de Massa

Existem vários analisadores que podem ser empregados em espectrometria de massa, entretanto, a escolha de um deles depende do problema a ser investigado e das características da fonte de íons utilizada [Wai93]. Por exemplo, no caso das técnicas *PDMS* e *MALDI* a maioria dos sistemas utiliza analisadores por tempo de voo, uma vez que existe um evento temporal bem definido relacionado ao efeito de emissão dos íons da amostra [Mac76, Hil88]. No caso do *eletrospray* podem ser empregados analisadores do tipo quadrupolo, setores eletrostáticos e magnéticos, já que nesta técnica os íons são produzidos de forma contínua [Hof96].

Em um espectrômetro de massa que utiliza um setor magnético [Wai93], um íon de carga q e massa m ao entrar em uma região onde existe um campo magnético de intensidade B , perpendicular à sua velocidade v , sofre a ação de uma força de intensidade qvB , que o faz percorrer uma trajetória em arco, de raio ρ :

$$\rho = \frac{mv}{qB} \quad 2.1$$

ou seja, um setor magnético é um analisador de momento, separando os íons de acordo com o produto da massa pela sua velocidade. Neste tipo de analisador é importante que os íons de mesma massa possuam praticamente a mesma energia, caso contrário eles serão focalizados em pontos ligeiramente diferentes, causando perdas na resolução. Para

corrigir esse efeito são usados analisadores eletrostáticos em conjunto com os magnéticos, formando os chamados analisadores de duplo-foco [Wai93].

O setor eletrostático é formado por duas placas curvas, sujeitas a uma diferença de potencial, que produz um campo elétrico E entre elas. Quando um íon de carga q e massa m penetra nessa região, percorre uma trajetória em arco de raio R :

$$R = \frac{2(mv^2/2)}{qE} \quad 2.2$$

ou seja, íons com mesma carga e energia cinética, penetrando na mesma região do setor eletrostático, percorrerão a mesma trajetória, sendo focalizados em um mesmo ponto. Fendas localizadas na saída do setor eletrostático minimizam a dispersão de energia dos íons que serão enviados para o setor magnético.

Os equipamentos podem ser encontrados nas configurações de geometria dianteira, onde o setor eletrostático antecede o setor magnético, ou na geometria reversa, onde o setor magnético está colocado à frente do eletrostático. A resolução em massa, definida como a razão $m/\Delta m$, é muito alta para este tipo de analisador, podendo chegar a 100000. Porém, isso é conseguido com uma drástica diminuição da transmissão dos íons, uma vez que as aberturas das fendas do instrumento devem ser reduzidas. Com esse tipo de espectrômetro é possível analisar moléculas com massas da ordem de até 15000 u.m.a., sendo a intensidade do campo magnético utilizado o maior fator de limitação [Hof96]. Um espectro de massa é conseguido por meio de uma varredura no valor da intensidade do campo magnético, causando a passagem sequencial de íons com diferentes massas no ponto focal do setor magnético, onde se encontra um detector.

Um analisador de massa por quadrupolo elétrico é formado por quatro barras metálicas de secção reta circular ou hiperbólica, paralelas e equidistantes entre si [Bru87]. Nas barras são aplicadas diferenças de potencial $V(t) = V + U \cos(\omega t)$, sendo V e U amplitudes das componentes contínua e de radiofrequência, respectivamente. O efeito desses potenciais é o de produzir um movimento oscilatório nas trajetórias dos íons que atravessam o analisador. Quando V , U e a frequência de oscilação ω são escolhidas

adequadamente, apenas íons com um particular valor de razão m/q conseguem atravessar o quadrupolo e alcançar o sistema de detecção. Os íons restantes entram em trajetórias instáveis e se perdem no interior do aparelho. Um espectro de massa pode ser obtido variando-se as amplitudes das tensões aplicadas V e U , com a imposição de que a razão de V/U se mantenha constante. Isto faz com que o quadrupolo faça uma varredura em uma faixa de valores de m/q . A faixa de massas e a resolução dos quadrupolos são inferiores às dos setores magnéticos de duplo-foco, sendo o limite de massa mensurável da ordem de 4000 u.m.a., com resolução entre 2000 e 4000. A transmissão desse dispositivo é alta, uma vez que o uso de fendas para colimação é desnecessário.

Em sistemas analisadores que utilizam a técnica de tempo de voo, os íons, após serem acelerados por uma diferença de potencial V , atravessam uma região de comprimento L livre de campos [Wai93]. Se todos os íons formados em um mesmo evento penetrarem nessa região com a mesma energia cinética, as suas massas podem ser determinadas a partir da medida de seus tempos de voo, isto é:

$$\frac{mv^2}{2} = qV \Rightarrow v = \left(\frac{2qV}{m} \right)^{1/2} \quad 2.3$$

$$t = \frac{L}{v} = \left(\frac{L^2 m}{2qV} \right)^{1/2} \quad 2.4$$

No entanto, a resolução em massa obtida com esses analisadores sofre limitações devido às flutuações na energia dos íons. Esse efeito pode ser corrigido com o uso de espelhos eletrostáticos [Mam73], onde íons de mesma massa mas possuindo energias ligeiramente diferentes têm seus tempos de voo corrigidos por meio de campos eletrostáticos, que focalizam os íons no tempo e espaço. Sistemas empregando esse dispositivo têm apresentado resoluções de até 10000 [Jen90, Pri90]. A transmissão desse analisador é independente da massa, o que possibilita, em princípio, a análise de uma região ilimitada de massas, e a não utilização de fendas para colimação faz com que

possua uma maior transmissão quando comparado, por exemplo, com sistemas magnéticos de duplo-foco [Hof96].

Em um sistema analisador que utiliza uma célula de ressonância ciclotrônica por transformada de Fourier (*Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance*) íons, aprisionados no interior de uma célula e sujeitos a um intenso campo magnético, descrevem trajetórias circulares na direção perpendicular à do campo aplicado [Hof96]. A frequência de *cyclotron* do movimento dos íons é dada por:

$$\omega_c = \frac{qB}{m} \quad 2.5$$

Um detector capta a corrente induzida pelo movimento circular dos íons, gerando um sinal que é analisado por técnicas de transformada de Fourier para a determinação do espectro de frequências. O espectro de massa é obtido pela correspondência entre frequência e razão m/q . A resolução do instrumento depende do intervalo de tempo do sinal induzido, sendo este limitado pelo tempo de vida do íon aprisionado no interior da célula. Na prática, valores de m/q da ordem de 2000 u.m.a. podem ser analisados.

2.2 Projeto do Espectrômetro de Massa por Tempo de Vôo

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um espectrômetro de massa por tempo de vôo, que utiliza a técnica *PDMS* (*Plasma Desorption Mass Spectrometry*), onde a dessorção e ionização das moléculas da amostra é provocada pelo seu bombardeamento por íons rápidos provenientes de uma fonte radioativa de ^{252}Cf . A Fig. 2.1 apresenta um esquema ilustrando o princípio de funcionamento do espectrômetro, com a fonte de ^{252}Cf e a amostra montadas na geometria de transmissão. Um núcleo do ^{252}Cf , ao sofrer fissão, emite dois fragmentos na mesma direção mas em sentidos opostos. Um dos fragmentos provoca a dessorção e ionização das moléculas do alvo, enquanto o segundo se dirige ao detector de fragmentos de fissão, posicionado atrás da fonte radioativa. Os íons secundários emitidos da amostra são acelerados em uma pequena região, penetram em um tubo de vôo livre de campos elétricos e são detectados em um outro sistema colocado no final do tubo. Para a determinação do tempo de vôo dos íons é usado um cronômetro eletrônico de grande precisão, com resolução temporal de sub-nanossegundos, que é acionado pelo produto de fissão correlacionado com aquele que provocou a emissão de íons da amostra.

Neste projeto foram utilizados conhecimentos e resultados anteriormente adquiridos na construção de um espectrômetro de massa compacto, que possui um tubo de vôo de 25 cm de comprimento e forneceu uma resolução em massa $m/\Delta m$ de 250 para íons com massa de 650 u.m.a. [Koi91, Mac94]. No intuito de se ter um equipamento com melhor resolução e com características mais flexíveis quanto à sua operação, surgiu a proposta da construção de um espectrômetro com um tubo de vôo de maior comprimento (111 cm) e possuindo um sistema de troca de amostras, que permite a manipulação de até três amostras simultaneamente, sem a introdução de ar no sistema principal, o que ocorria no espectrômetro anterior. Devido à maior extensão do tubo de vôo, o sistema projetado utiliza um guia eletrostático de partículas (*gep*) para aumentar a transmissão dos íons.

O espectrômetro precisa ser operado em vácuo, para que os íons secundários da amostra não sejam perdidos por colisões com moléculas do gás residual durante a sua

trajetória até o sistema de detecção. Deste modo, um sistema de vácuo foi projetado e construído totalmente em aço inoxidável, provido de flanges com guarnições metálicas que permitem operar o espectrômetro de massa em pressões muito baixas.

Fazem também parte desse projeto o desenvolvimento e os testes dos sistemas de detecção usados no espectrômetro de massa, que utilizam placas multiplicadoras de elétrons de microcanais (*microchannel plates*).

Para a caracterização do espectrômetro foram utilizadas amostras padrões como o sal de CsI e algumas amostras biológicas (fenilalanina, Angiotensin I e o LHRH), cujos espectros possibilitaram estudar a precisão na determinação das massas, a resolução e o comportamento da transmissão de íons pelo sistema.

Fig. 2.1 - Princípio de funcionamento do espectrômetro de massa por tempo de voo com dessorção induzida por produtos de fissão do ^{252}Cf (adaptado de [Mac83]).

2.3 Dessorção Induzida por Íons Rápidos

Um íon, penetrando em um meio material, perde gradativamente sua energia. A transferência de energia do íon para o meio pode provocar a emissão de fótons, átomos, fragmentos de moléculas e aglomerados de partículas, eletricamente carregados ou não. O tipo de interação que o íon primário tem com o material define o comportamento de sua taxa de perda de energia por unidade de comprimento (dE/dx), que pode ser expressa como [Bet94]:

$$\frac{dE}{dx} = \left(\frac{dE}{dx} \right)_n + \left(\frac{dE}{dx} \right)_e \quad 2.6$$

onde $(dE/dx)_n$ representa a perda de energia por colisões nucleares ou elásticas e $(dE/dx)_e$ a perda por colisões eletrônicas ou inelásticas.

A predominância de um dos processos de perda de energia é dependente da velocidade v do íon incidente. A velocidade de Bohr v_B , definida como a velocidade do elétron ao redor do átomo de hidrogênio no modelo semiclássico ($v_B = 0.22$ cm/ns), é usada como parâmetro para definir um limite entre os dois regimes de perda de energia: se $v < v_B$ predomina o termo $(dE/dx)_n$ e se $v > v_B$ o termo $(dE/dx)_e$ [Bet94].

A Fig. 2.2 apresenta como exemplo os valores calculados para as perdas de energia nuclear e eletrônica em função da energia de uma partícula pesada (^{127}I) atravessando um sólido orgânico ($\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$), com densidade de 1 g/cm^3 [Sun91].

A emissão de partículas é também governada pelas características físicas do meio material. Por exemplo, mesmo em casos em que a velocidade do íon é alta ($v > v_B$), pode ser que a emissão ocorra preferencialmente por processos colisionais nucleares, como no caso de condutores. Nesses materiais, o tempo de relaxação eletrônica é extremamente rápido ($\sim 10^{-15}$ s), o que impede a transferência da energia dos elétrons livres gerados no

processo colisional para o movimento dos átomos do meio. Nos isolantes esse tempo é mais longo ($\sim 10^{-13}$ s), possibilitando esta forma de transferência [Joh82, Sun91].

A emissão de moléculas intactas da superfície de um material isolante pelo bombardeamento por íons rápidos está relacionada com a formação de uma região altamente energizada em torno da trilha formada pelo íon. A Fig. 2.3 mostra uma representação dos efeitos de um fragmento de fissão do ^{252}Cf (1MeV/nucleon) ao atravessar um meio material. Este fragmento atravessa 1 Å do material em 10^{-17} s, formando uma região cilíndrica densamente ionizada e excitada ao redor da trilha, devido às interações coulombianas entre ele e o meio material [Sil91]. Esta região é chamada de infra-trilha e seu raio r_H é proporcional à raiz quadrada da energia cinética E_c do íon primário [Håk92]:

$$r_H = 6,7 \left(\frac{E_c}{m} \right)^{1/2} \quad 2.7$$

sendo r_H dado em Å, E_c em MeV e m , a massa do íon, em u.m.a.

A interação direta entre o íon primário e os elétrons do alvo produz elétrons secundários de alta energia ($\sim$ kev), chamados de elétrons δ , cuja interação com o meio material provoca a produção de novos elétrons secundários. Uma nova região cilíndrica ao redor da infra-trilha, chamada de ultra-trilha, é formada em um intervalo de tempo da ordem de 10^{-15} s após a passagem do fragmento de fissão. O raio r_{ut} dessa região é determinado pela projeção do alcance dos elétrons δ no meio material, sendo aproximadamente [Håk92]:

$$r_{ut} = 830 \left(\frac{E_\delta}{\rho m} \right) \quad 2.8$$

sendo r_{ut} dado em Å e ρ , a densidade do material, em g/cm³.

No caso dos produtos de fissão provenientes do ^{252}Cf , cujas massas e energias são da ordem de 100 u.m.a. e 100 MeV, os raios da infra- e ultra-trilha formados são de 5 Å e 500 Å, respectivamente. A densidade de energia depositada pelo íon no meio material decresce, em relação ao centro da trilha, aproximadamente com a distância ao quadrado [Håk92].

Os detalhes dos mecanismos básicos que levam à emissão de partículas são complexos e continuam em estudo, não existindo um modelo que consiga explicar completamente todos os resultados experimentais observados [Joh87, Rei92, Pin93]. Vários tipos de medidas são usados para a caracterização da interação de íons rápidos com meios materiais sólidos, como por exemplo, medidas da eficiência de produção dos íons secundários em função da energia do íon incidente, distribuições de velocidades radial e axial das partículas emitidas, bem como distribuições angulares de emissão [Bet94].

Alguns modelos supõem que a emissão de partículas de um sólido ocorra devido a uma alta densidade local de energia em sua superfície, por meio de processos térmicos, que provocam a evaporação ou sublimação do material do alvo [Joh87, Luc87].

Medidas da distribuição angular de emissão de íons secundários fornecem subsídios para um entendimento dos mecanismos de emissão de partículas [Ens89, Mos89, Dem91, Eri96]. Nessas medidas, íons formados de material orgânico apresentam uma distribuição angular não-uniforme, direcionada para ângulos distantes da normal à superfície da amostra, sendo estas distribuições também dependentes do ângulo de incidência do íon primário. Esse efeito pode ser atribuído, segundo modelos propostos por Johnson (*pressure pulse model*) [Joh89] e Bittensky (*shock wave model*) [Bit87], à transferência de momento devido ao processo de expansão da região central da trilha em sua direção radial, provocando a emissão de moléculas em regiões próximas à superfície do alvo.

Maiores detalhes sobre os vários modelos propostos podem ser encontrados em trabalhos de revisão de Johnson [Joh87], Reimann [Rei92], Pinho [Pin93] e Wien [Bet94].

Fig. 2.2 - Taxa de perda de energia por unidade de comprimento para um íon de ^{127}I ao atravessar um sólido orgânico $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$ (adaptado de [Håk 92]).

Fig. 2.3 - Esquema da passagem de um íon rápido por um meio material. Na região próxima à passagem do íon são emitidos elétrons δ que carregam parte da energia do íon para regiões mais distantes. A passagem do íon forma as regiões cilíndricas denominadas infra-trilha e ultra-trilha (adaptado de [Håk92]).

2.4 Fonte de ^{252}Cf

O ^{252}Cf é um elemento artificial produzido em reatores nucleares, com alto fluxo de neutrons, a partir do ^{239}Pu em sucessivas reações onde ocorrem absorção de neutrons. Sendo um núcleo instável, sua desexcitação ocorre por dois processos: (i) a emissão de partículas alfa, com energia de 6,12 MeV e meia vida de 2,73 anos, numa proporção de 97% dos eventos, ou (ii) a fissão nuclear, de meia vida de 85,5 anos, ocorrendo em 3% dos casos. Dessa forma, a meia vida efetiva do ^{252}Cf é de 2,65 anos. No processo de fissão são também emitidos neutrons rápidos com energia média de 2,35 MeV, numa razão de 3,76 neutrons por fissão [AN34].

Os fragmentos de fissão do ^{252}Cf apresentam uma distribuição de massa numa região compreendida entre 80 u.m.a. e 170 u.m.a., como mostra a Fig. 2.4. Devido à quebra assimétrica do núcleo, a distribuição em massa encontra-se dividida em um grupo leve e outro pesado ao redor das massas do $^{106}\text{Tc}_{43}$ e $^{142}\text{Ba}_{56}$ [Mac76]. Como a distribuição de massa, a distribuição de energia também é assimétrica, sendo que os fragmentos leves são os que recebem a maior fração da energia total (Fig. 2.5). A energia média dos dois grupos é de 104 MeV e 79 MeV, respectivamente. Cada fissão produz um par de fragmentos que, por conservação de momento, são emitidos na mesma direção mas em sentidos opostos.

Um espectrômetro de massa por tempo de voo que opere com ^{252}Cf necessita de uma fonte extremamente fina para permitir a transmissão dos pares de fragmentos produzidos na fissão por ambos os lados da fonte e com uma montagem que impeça a contaminação do sistema de vácuo pelo efeito de auto-transporte [Cha81]. Na fonte utilizada neste trabalho¹, o ^{252}Cf encontra-se colocado entre duas folhas de Ni de 1,1 μm de espessura (1 mg/cm^2), estando o material radioativo eletrodepositado sobre uma delas. As folhas de Ni possuem em seu exterior uma fina camada de Au de 518 Å ($100\text{ }\mu\text{g/cm}^2$) usada como proteção contra a oxidação. Dois anéis de aço inoxidável de 10 mm de diâmetro externo e 5 mm de diâmetro interno servem de molduras para suporte das folhas

¹ Isotope Products Laboratories, Burbank, CA, EUA - aferida pelo fabricante em 15/06/96.

de Ni. Todo o conjunto encontra-se fixado por soldas a ponto feitas ao redor dos anéis de aço. A fonte usada neste equipamento possui uma área útil de 7 mm^2 e atividade inicial de $25 \mu\text{Ci}$, o que significa a ocorrência de $2,7 \times 10^4$ fissões por segundo.

Fig. 2.4 - Distribuição de massa dos fragmentos de fissão do ^{252}Cf [Kno89].

Fig. 2.5 - Distribuição da energia cinética dos produtos de fissão do ^{252}Cf . O pico da esquerda corresponde aos fragmentos pesados e o da direita aos leves [Kno89].

3. Montagem do Espectrômetro de Massa por Tempo de Vôo

3.1 Sistema de Vácuo

A Fig. 3.1 apresenta uma vista em corte do projeto do espectrômetro de massa por tempo de vôo com indicações dos vários componentes do sistema e a Fig. 3.2 mostra uma foto da montagem do sistema de vácuo, construído nas oficinas do Instituto de Física da USP, usado para o acondicionamento do espectrômetro.

O sistema de vácuo, todo ele feito de aço inoxidável padrão 304, é constituído por duas câmaras conectadas por um fole metálico. O aço 304 apresenta propriedades adequadas para utilização em ultra alto vácuo, como a sua baixa taxa de degaseificação, e fornece excelentes resultados quanto à soldagem pela técnica de arco de Argônio² [Gey76]. Todas as soldas foram realizadas na parte interna da câmara, evitando o aparecimento de vazamentos virtuais. Após as soldagens dos componentes, foram realizados testes com um detector de vazamentos, que emprega o gás Hélio para a verificação de microfissuras ou falhas de soldagem.

As vedações usadas nas flanges do sistema de vácuo são todas metálicas, permitindo operações a pressões da ordem de 10^{-7} torr. A maioria das vedações utiliza o padrão CONFLAT³, onde um anel de cobre, com secção retangular de 2 mm de espessura, é esmagado entre duas facas de formatos cônicos existentes nas flanges. A escolha desse padrão deveu-se às suas excelentes características de vedação e à possibilidade de aquecimento do sistema a temperaturas da ordem de 250°C, permitindo a eliminação de gases adsorvidos em suas paredes. Além disso, esse tipo de vedação é adotado em empresas que trabalham com tecnologia de vácuo, o que garante a padronização do sistema.

No projeto foi levado em consideração a possibilidade de futuras implementações no equipamento, com a instalação de novos dispositivos e acessórios. Dessa forma, o

² Processo TIG.

³ Marca registrada da empresa Varian, Palo Alto, USA.

sistema de vácuo foi construído possuindo um total de 22 entradas, com flanges metálicas de várias dimensões.

A câmara 1 (Fig. 3.1), de formato cilíndrico, possui um diâmetro externo de 219 mm e altura de 200 mm. Nela encontram-se instalados o sistema de troca de amostras, os suportes de amostras e da fonte de ^{252}Cf e seus manipuladores, a parte inicial do tubo de voo com a grade de aceleração e conectores elétricos usados na transmissão de sinais e alimentação das tensões do detector de fragmentos de fissão (*Start*) e da amostra.

A câmara 2 possui um corpo também cilíndrico, com diâmetro externo de 138 mm e altura de 150 mm. Perpendicularmente à sua parede estão soldados dois tubos alinhados entre si, de comprimentos de 200 mm e 400 mm e diâmetro de 89 mm. Nesta câmara encontra-se grande parte do tubo de voo, o detector de íons secundários (*Stop*) e o acoplamento com o sistema de bombeamento.

O comprimento total do equipamento é de 135 cm e as câmaras encontram-se montadas sobre bancadas feitas em estruturas metálicas. O alinhamento entre as câmaras é possível com o emprego de apoios que permitem a movimentação das câmaras.

Fig. 3.2 - Montagem do sistema de vácuo com suas duas câmaras conectadas por um fole metálico.

3.2 Trocador de Amostras, Suportes de Amostra e Fonte ^{252}Cf

O sistema de troca de amostras está instalado na câmara 1, em sua tampa superior. Este sistema permite a introdução de até três amostras simultaneamente, sem a necessidade da abertura da câmara principal para a pressão atmosférica, minimizando o tempo de espera para o início das análises. A Fig. 3.3 (a) apresenta o trocador de amostras constituído por uma pré-câmara, uma válvula gaveta e uma haste metálica de translação. A movimentação do porta-amostras no interior do sistema de vácuo é acionada exteriormente por meio de hastes e alavancas metálicas. Dessa forma, as três amostras podem ser posicionadas à frente da grade de aceleração no momento de suas medidas.

Na Fig. 3.3 (b) é apresentado um esquema da montagem dos suportes de amostras, da grade de aceleração e da fonte de ^{252}Cf . A fonte está posicionada entre o detector de fragmentos de fissão e a amostra, a uma distância de 13 mm de suas superfícies.

A fonte de ^{252}Cf pode ser movimentada para o seu armazenamento no interior de uma estrutura de proteção durante os procedimentos de troca de amostra e mudança de tensão de aceleração, sendo esta uma forma de garantir sua integridade física e impedir eventuais contaminações das partes internas do sistema de vácuo. A movimentação da fonte também é feita com o uso de hastes e alavancas metálicas, que podem ser acionadas exteriormente sem a quebra de vácuo.

Os suportes de amostras e da fonte de ^{252}Cf estão montados em uma placa de vidro temperado, usado para isolação elétrica dos mesmos. As hastes metálicas de movimentação estão isoladas dos suportes por conexões de Delrin. Este conjunto mostrou ser capaz de suportar tensões de até ± 18 kV. Acima destas tensões ocorrem faiscamentos entre o suporte e as partes metálicas adjacentes. O detector de fragmentos de fissão também encontra-se montado nesta placa de vidro, mas está isolado eletricamente dos suportes de amostra e da fonte radioativa.

A sequência de fotos da Fig. 3.4 e Fig. 3.5 apresenta as estruturas de sustentação dos suportes de amostras e da fonte de ^{252}Cf , respectivamente.

(a)

(b)

Fig. 3.3 - (a) Detalhes do sistema de troca de amostras e (b) da região da grade de aceleração e suportes de amostras e da fonte de ^{252}Cf .

Fig. 3.4 - *Vistas da estrutura de sustentação do suporte de amostras: (a) apenas a estrutura e (b) com o suporte de amostras.*

Fig. 3.5- Estrutura de sustentação do suporte da fonte de ^{252}Cf .

3.3 *Tubo de Vão e Guia Eletrostático de Partículas*

No interior do sistema de vácuo encontra-se montado um tubo de vão de 111 cm de comprimento e 50 mm de diâmetro, feito de aço inoxidável (Fig. 3.6). A fixação do tubo de vão no interior da câmara de vácuo é feita por dois suportes que possuem também o papel de permitir o ajuste da posição do tubo no interior da câmara para a sua centralização em relação ao conjunto formado pelo porta-amostras e pela fonte de ^{252}Cf .

Em um dos extremos do tubo está instalado o detector de íons secundários (*Stop*) e no outro extremo, um suporte cônico, onde a grade de aceleração está montada. A grade, de 90 % de transmissão⁴, permite a entrada dos íons secundários para o interior do tubo de vão após a etapa de aceleração. Seu uso minimiza as inomogeneidades do campo elétrico na região de aceleração, responsáveis pelas alterações das trajetórias dos íons secundários, que podem prejudicar a resolução do instrumento. A grade encontra-se fixada em um anel de aço de 10 mm de diâmetro, estando a 5 mm da superfície da amostra. Nesta região, onde ocorre a aceleração de íons secundários, a intensidade do campo elétrico pode chegar a um valor de 3600 V/mm (para uma diferença de potencial de 18 kV).

Ao longo do centro do tubo de vão está instalado um guia eletrostático de partículas, formado por um fio de Tungstênio com diâmetro de 150 μm , recoberto por uma fina camada de Ouro. Sua função é a de aumentar a transmissão de íons secundários provenientes da superfície da amostra até o detector *Stop*. Seu comprimento total é de 102 cm e encontra-se a uma distância de 52 mm da grade de aceleração e a 35 mm da face frontal do detector *Stop*. O fio está suspenso nos seus extremos por dois tubos de aço de 1 mm de diâmetro. O fio de W/Au encontra-se isolado eletricamente, sendo possível aplicar diferenças de potencial entre o fio e o tubo de vão de até ± 1500 V. Para tensões fora deste intervalo, é observado o aparecimento de faíscas entre o fio de W/Au e os tubos usados para sua sustentação. A Fig. 3.7 apresenta os resultados dos testes de isolamento, mostrando a corrente de fuga do sistema em função da tensão aplicada no fio.

⁴ Buck Bee Mears, USA

Fig. 3.6 - Detalhe da fixação do tubo de vôo no interior do sistema de vácuo e do suporte do fio de W/Au do guia eletrostático de partículas.

Fig. 3.7 - Resultados dos testes de isolamento do fio de W/Au do guia eletrostático de partículas: corrente de fuga do sistema em função da tensão aplicada no fio.

3.4 Alinhamento do Sistema

Inicialmente foi feito um alinhamento das câmaras de vácuo, sendo necessário movimentá-las nas direções vertical e horizontal usando-se, para isso, parafusos do sistema de sustentação das câmaras projetados para esta finalidade.

O alinhamento dos componentes internos do espectrômetro de massa foi realizado com o auxílio de aberturas circulares de 0,5 mm de diâmetro e de dois aparelhos de raios laser de He-Ne, conforme a montagem esquematizada na Fig. 3.8. A utilização dos dois lasers evitou a perda do referencial de alinhamento, mesmo quando um dos feixes era interrompido pela introdução dos componentes do espectrômetro. Em sequência foram instalados o tubo de vôo, com o seu guia eletrostático de partículas, os suportes de amostras e da fonte radioativa e os sistemas de detecção. A precisão obtida para o alinhamento é de $\pm 0,25$ mm, sendo esta limitação devida ao conjunto de fendas utilizado.

Fig. 3.8 - Esquema do alinhamento do espectrômetro de massa. Nesse procedimento foi usado um conjunto de aberturas circulares de 0,5 mm e dois aparelhos de raios laser de He-Ne.

3.5 Sistema de Bombeamento

O sistema de vácuo do espectrômetro de massa utiliza um conjunto formado por uma bomba turbomolecular e uma bomba mecânica de duplo estágio. A bomba turbomolecular encontra-se instalada na câmara 2. Com este tipo de bombeamento há uma menor taxa de contaminação por compostos orgânicos no sistema de vácuo. Uma bomba turbomolecular retira os gases do sistema pela colisão das moléculas do gás com as palhetas do rotor, que giram a 30000 rpm. A bomba turbomolecular⁵ usada tem velocidade de bombeamento de 600 m³/h para a faixa de pressões de 10⁻³ torr a 10⁻¹⁰ torr e trabalha associada a uma bomba mecânica⁶ com velocidade de bombeamento de 16 m³/h para a faixa de pressões de 10⁻³ torr a 760 torr.

A pressão interna do sistema é da ordem de 10⁻⁷ torr. As medidas de pressão para esta faixa são feitas com medidores de ionização Penning⁷. Para pressões acima de 10⁻³ torr o sistema utiliza medidores termopar⁸.

O sistema de troca de amostras possui uma bomba mecânica auxiliar, acionada apenas durante os procedimentos de substituição dos alvos. A válvula gaveta, instalada entre a pré-câmara e o sistema de análise, deve ser aberta para a introdução das amostras quando a pressão da pré-câmara alcança um valor de 10⁻² torr. Para evitar a contaminação da superfície da amostra por vapores orgânicos provenientes da bomba mecânica é utilizada uma armadilha de nitrogênio líquido conectada entre a bomba e a pré-câmara.

⁵ Modelo TPU-170 da Balzers.

⁶ Modelo DUO 016B da Balzers.

⁷ Modelo Varian Multi-Gauge com transdutor UHV-24, EUA.

⁸ Modelo Varian Multi-Gauge com transdutor 531, EUA.

4. Sistema de Aquisição de Dados

O sistema de aquisição de dados do espectrômetro de massa faz uso de eletrônica modular padrão *NIM* (*Nuclear Instruments Modules*) [Kno89]. São utilizados módulos para tratamento de sinais rápidos e lentos em medidas de intervalos de tempo e de altura de pulsos dos detectores.

4.1 Eletrônica para Análise Temporal

Para a medida da distribuição temporal dos íons secundários provenientes da amostra, é utilizada a montagem eletrônica apresentada na Fig. 4.1. Um produto de fissão ao alcançar o detector *Start* gera um pulso que dispara o cronômetro eletrônico. Os íons secundários emitidos da amostra pelo produto de fissão correlacionado com aquele que dispara o cronômetro interrompem a contagem de tempo com pulsos gerados no detector *Stop*. Os sinais provenientes dos detectores *Start* e *Stop* são tratados inicialmente por pré-amplificadores rápidos. Conectados às saídas dos pré-amplificadores estão discriminadores de fração constante (*constant fraction discriminator - CFD*). Esses módulos são ajustados para serem disparados por sinais cujas amplitudes estejam acima de um nível de tensão pré-definido.

Um dos módulos de medida temporal é um conversor tempo-amplitude (*time to amplitude converter - TAC*), que envia um sinal analógico com amplitude proporcional ao intervalo de tempo medido para um analisador multicanal que armazena a informação. O disparo desse cronômetro por outro sinal de *Start* é novamente realizado somente após um período de tempo pré-programado, que pode ser ajustado entre 50 ns e 80 μ s. A resolução temporal desse instrumento é menor ou igual a 0,01% da escala de tempo selecionada mais 25 ps.

Outro cronômetro empregado é um conversor tempo-digital (*time to digital converter - TDC*), onde o intervalo de tempo medido é representado por uma palavra

digital. Esse módulo possui a característica de medir sucessivos intervalos de tempo relacionados a um mesmo evento que dispara o processo de contagem. No caso do espectrômetro de massa o uso desse tipo de cronômetro permite o registro de uma seqüência de intervalos temporais relativos a íons formados em um mesmo evento de dessorção. Um novo sinal de *Start* é aceito somente após decorrido um período de tempo pré-programado entre 80 ns e 163,84 μ s. A resolução temporal do *TDC* é de 0,1 ppm da escala de tempo mais 25 ps.

TOF - Tubo de tempo de voo (*Time of Flight*)

DET - Detectores multiplicadores de elétrons

I - Pré-amplificador rápido⁹

CFD - Discriminador de fração constante (*Constant Fraction Discriminator*)¹⁰

ΔT - Cronômetro eletrônico: conversor tempo-amplitude (*Time to Amplitude Converter - TAC*)¹¹ ou conversor tempo-digital (*Time to Digital Converter - TDC*)¹²

MEM - Memória de armazenamento

Fig. 4.1 - Diagrama da eletrônica usada para medidas de intervalo temporal.

⁹ Pré-amplificador modelo VT110 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹⁰ Discriminador de fração constante modelo 853 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹¹ Conversor tempo-amplitude modelo 467 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹² Conversor tempo-digital modelo PTA 9308 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

4.2 Ajuste da Eletrônica

A natureza estatística do processo de multiplicação eletrônica nas placas multiplicadoras de elétrons de microcanais (*microchannel plates - MCP*), usadas nos detectores *Start* e *Stop*, provoca grandes flutuações na amplitude de seus pulsos [Wiz79]. Deste modo, é desaconselhado o emprego de discriminadores de tempo que utilizem simplesmente um nível constante de tensão para a seleção do ponto de disparo de seus circuitos. Diferentes amplitudes geram deslocamentos temporais no ponto de disparo desses discriminadores (*amplitude time walk*), causando perdas na resolução temporal (Fig. 4.2). Nesse caso o discriminador de fração constante *CFD* pode ser usado na eletrônica associada ao espectrômetro de massa por tempo de voo, desde que alguns cuidados sejam tomados.

O princípio de funcionamento do *CFD* baseia-se na manipulação dos pulsos provenientes dos detectores, de forma a gerar um ponto de disparo no discriminador independente da amplitude dos pulsos (Fig. 4.3) [Kno89]. Em uma primeira etapa o sinal é dividido e enviado a dois circuitos, sendo em um deles atenuado a uma fração de 10% a 20% da amplitude do sinal original e no outro invertido e atrasado por um intervalo de tempo t_d , da ordem do tempo de subida do pulso. Em seguida os dois pulsos são somados, resultando em um pulso bipolar. O ponto de cruzamento do pulso bipolar com a linha de base é utilizado para disparar o discriminador, sendo este ponto independente das amplitudes dos sinais, desde que os pulsos na entrada do módulo possuam a mesma forma. Com este tratamento de sinais é possível minimizar a perda da resolução temporal provocada pelas variações de amplitude.

Entretanto, os *CFD*'s existentes foram desenvolvidos para trabalhar com pulsos formados por fotomultiplicadoras, mais lentos (tempo de subida da ordem de 1 a 2 ns) e de maior amplitude que os pulsos provenientes dos *MCP*'s. Cova et al. [Cov90, Cov91, Cov93], sugerem procedimentos que permitem contornar esta limitação, tornando a utilização de *CFD*'s também adequada para o uso com os *MCP*'s, sem a necessidade de alterações dos circuitos deste módulo. Uma sugestão é utilizar pré-amplificadores com pequena largura de banda (tempo de subida da ordem de 1 ns) e que, após uma

pré-filtragem, forneçam pulsos com larguras entre 2 ns e 3 ns, dentro da faixa de operação do *CFD*. Estes pré-amplificadores também devem fornecer ganhos que possam compensar a diferença existente entre as amplitudes dos pulsos dos *MCP's* e das fotomultiplicadoras.

Seguindo essas sugestões, neste trabalho foram usados com os *MCP's* pré-amplificadores rápidos com largura de banda de 10 a 350 MHz e ganho de 200 vezes.

A Fig. 4.4 apresenta a distribuição temporal de íons de H^+ , com 17 keV de energia, provenientes de uma amostra de CsI, com largura à meia altura de (240 ± 20) ps, medida com o sistema de aquisição após o ajuste da eletrônica. Nos ajustes dos *CFD's* usados no sistema de aquisição de dados foi empregada a eletrônica esquematizada na Fig.4.5. Neste caso o disparo do cronômetro eletrônico foi feito por elétrons provenientes da amostra, utilizados para eliminar a contribuição devida à distribuição bimodal das velocidades dos fragmentos de fissão.

Fig. 4.2 - Deslocamento temporal ΔT existente em discriminadores disparados por um nível constante de tensão ΔV , provocado por pulsos de um mesmo evento mas com diferentes amplitudes. Apenas a borda dianteira dos pulsos é apresentada para maior clareza [Kno89].

Fig. 4.3 - Esquema do tratamento de pulsos realizado por um discriminador de fração constante CFD sendo α o fator de atenuação, t_s o tempo de descida do pulso e t_d o atraso externo. O ponto de disparo do pulso resultante é independente da amplitude do sinal de entrada [Kno89].

Fig. 4.4 - Distribuição temporal dos íons H^+ , com 17 keV de energia, provenientes de uma amostra de CsI, após ajuste da eletrônica de aquisição de dados.

TOF - Tubo de tempo de voo (*Time of Flight*)

DET - Detectores multiplicadores de elétrons

1 - Pré-amplificador rápido

CFD - Discriminador de fração constante (*Constant Fraction Discriminator*)

ΔT - Cronômetro eletrônico: conversor tempo-amplitude (*Time to Amplitude Converter - TAC*) ou conversor tempo-digital (*Time to Digital Converter - TDC*)

MEM - Memória de armazenamento

Fig. 4.5 - Esquema da eletrônica utilizada para medidas de intervalo de tempo com o disparo do cronômetro eletrônico realizado pelos elétrons provenientes da amostra.

4.3 Eletrônica para Análise de Amplitude de Pulsos

O sistema de aquisição de dados usado nas medidas de amplitude de pulsos dos detectores *Start* e *Stop* é apresentado na Fig. 4.6. Nesse sistema é feita uma coincidência entre pulsos do detector enviados para os ramos da eletrônica rápida e lenta. O *CFD*, usado como um analisador monocanal, faz com que apenas pulsos acima de um determinado valor de tensão possam ser medidos. Para o armazenamento dos dados é usado um analisador multicanal.

No caso em que as distribuições de amplitude dos detectores devam estar correlacionados com o tempo de voo de algum íon secundário proveniente da amostra é usada a eletrônica esquematizada na Fig. 4.7. O *TAC* é usado para gerar um sinal de coincidência, utilizando uma janela para selecionar o tempo de voo do íon de interesse, obtida com os controles do analisador monocanal incorporados neste módulo. Assim, esse módulo fornece um sinal lógico (*GATE*) que é enviado para disparar a etapa subsequente da eletrônica, o módulo *LGS*, em coincidência com o tempo de voo do íon de interesse.

DET - Detector

1 - Pré-amplificador rápido

2 - Pré-amplificador de carga¹³

CFD - Discriminador de fração constante (*Constant Fraction Discriminator*)

AMP - Amplificador¹⁴

GDG - Gerador de atraso temporal e sinal para lógica de coincidência (*Gate & Delay Generator*)¹⁵

LGS - Detector de máxima amplitude e módulo de coincidência (*Linear Gate & Stretcher*)¹⁶

MCA - Analisador multicanal (*Multichannel Analyzer*)¹⁷

CPU - Computador

Fig. 4.6 - Diagrama da eletrônica utilizada para a determinação da distribuição de altura de pulsos dos detectores Start e Stop, em coincidência com os pulsos rápidos selecionados com o nível de discriminação do módulo (CFD).

¹³ Pré-amplificador modelo 124 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹⁴ Amplificador modelo 572 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹⁵ Módulo 416A da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹⁶ Módulo 542 da EG&G Ortec, Oak Ridge, EUA.

¹⁷ Analisador multicanal modelo Spectrum 88 da Nucleus, EUA.

- DET - Detector
- 1 - Pré-amplificador rápido
- 2 - Pré-amplificador de carga
- CFD - Discriminador de fração constante (*Constant Fraction Discriminator*)
- AMP - Amplificador
- TAC - Conversor tempo-amplitude (*Time to Amplitude Converter*)
- LGS - Detector de máxima amplitude e módulo de coincidência (*Linear Gate & Stretcher*)
- DA - Amplificador atrasador (*Delay Amplifier*)
- MCA - Analisador multicanal (*Multichannel Analyzer*)
- CPU - Computador

Fig. 4.7 - Diagrama da eletrônica usada para a determinação da distribuição de altura de pulsos dos detectores Start e Stop, fazendo uso de coincidência temporal em relação aos ions provenientes da amostra.

4.4 Sistema de Detecção de Íons - Detectores Stop e Start

O espectrômetro de massa utiliza um sistema de detecção para produtos de fissão provenientes da fonte de ^{252}Cf (detector *Start*) e um para íons secundários emitidos no processo de dessorção da amostra (detector *Stop*).

Ambos os detectores são construídos com placas multiplicadoras de elétrons de microcanais (*microchannel plates - MCP*). Os *MCP's*, por serem sensíveis a partículas carregadas e formarem pulsos extremamente rápidos, são comumente empregados em sistemas de detecção de espectrômetros de massa por tempo de voo que utilizam a técnica *PDMS* [Wiz79, Hed87]. Essas placas são formadas pela fusão de um feixe de microtubos de vidro-chumbo com diâmetros internos da ordem de 12 μm , possuindo paredes semicondutoras, adequadas para a produção de elétrons secundários sob a incidência de elétrons, íons, fótons de ultravioleta e raios X. O ganho nesse dispositivo é obtido pela emissão em cadeia de elétrons secundários à medida que os mesmos colidem com as paredes e são arrastados para o interior do microtubo, devido à presença de um campo elétrico formado pela diferença de potencial aplicada entre as faces do *MCP*. Ganhos de 10^3 a 10^4 podem ser alcançados por placa multiplicadora. Para que ganhos maiores possam ser obtidos, os detectores são montados com duas placas em uma configuração *Chevron*, proporcionando ganhos da ordem de 10^6 a 10^7 . Nesse tipo de montagem é minimizada a corrente inversa de íons positivos formadas no interior dos microcanais, responsável pela limitação do ganho do dispositivo [Wiz79].

O detector *Stop* tem a função de fornecer os sinais usados para a interrupção do sistema de análise do tempo de voo dos íons secundários. Para que isso ocorra, o detector deve ser sensível a íons com energia da ordem de keV.

Para um mesmo tipo de íon, a intensidade de elétrons secundários emitidos pela superfície do detector é descrita por uma distribuição de Poisson [Beu77] e a probabilidade de um íon ser detectado é dada por [Gen89]:

$$P = 1 - e^{-\gamma} \quad 4.1$$

onde γ é o número médio de elétrons secundários emitidos.

O número médio de elétrons secundários emitidos γ depende de vários fatores relacionados com as interações dos íons com a superfície do *MCP*, do tipo de material empregado na construção do detector e das condições superficiais (contaminação e rugosidade).

Valores de $\gamma < 1$ foram encontrados em medidas com íons de biomoléculas na faixa de energia de keV [Hed87, Gen89]. Geno et al. [Gen89], usando íons formados por aminoácidos e peptídeos, com velocidades entre 15000 m/s e 32000 m/s e massas entre 86 u.m.a. e 1059 u.m.a., verificaram que γ é proporcional à massa m do íon e possui dependência exponencial com sua velocidade v [Gen88], isto é:

$$\gamma = A m e^{Bv} \quad 4.2$$

sendo A e B constantes relacionadas às condições experimentais.

O detector *Start*, usado na detecção de partículas com energia de MeV, utiliza uma folha conversora de elétrons que permite aumentar a sua área de detecção, uma vez que apenas aproximadamente 50% da área total do *MCP* é sensível à radiação [Wiz79, Lan93]. As partículas, ao atravessarem o conversor, arrancam elétrons que são acelerados por uma diferença de potencial até a superfície da placa do *MCP*. Devido à dispersão das trajetórias destes elétrons existe a possibilidade de ocorrer a excitação de vários microcanais. O uso da folha conversora também possibilita a discriminação entre as amplitudes dos pulsos formados por diferentes partículas incidentes. Como visto anteriormente, a fonte de ^{252}Cf , em seu processo de decaimento, emite produtos de fissão e uma grande quantidade de partículas alfa. Entretanto, os produtos de fissão, ao passarem pelo conversor, produzem um maior número de elétrons secundários (10^2 elétrons) que as

partículas alfa (10 elétrons) [Cle73]. Cada conjunto de elétrons, ao ser arrastado até a primeira placa, é multiplicado, formando um pulso no anodo, sendo de maior amplitude aqueles relativos aos produtos de fissão. Apesar da não-linearidade na resposta dos *MCP's*, é possível, ajustando-se o nível de discriminação dos amplificadores usados nas etapas subsequentes de tratamento de sinais, distinguir entre os pulsos das partículas alfa e aqueles relativos aos produtos de fissão.

No processo de fabricação dos *MCP's* pode ocorrer a formação de tensões internas no material que, com o passar do tempo, devido a variações de temperatura ou umidade do ar, provocam rachaduras no componente. No momento da montagem dos detectores do espectrômetro, as placas disponíveis encontravam-se danificadas e, para que a montagem não fosse interrompida, optou-se pela utilização de fragmentos de *MCP's* que possuíam regiões intactas grandes o suficiente para a montagem.

Os fragmentos foram retirados de *MCP's*¹⁸ possuindo 5 cm de diâmetro, espessura de 1 mm, microcanais com diâmetro de 12 μm e um OAR (*Open Area Rate*) de 50 %. O ganho por placa é de 4×10^3 para uma tensão de 1000 V. Os microcanais fazem um ângulo de 8° em relação à normal da superfície da placa (*bias angle*).

Inicialmente, com a ajuda de uma lupa, foi feita uma inspeção para determinar regiões dos *MCP's* em melhores condições para fornecer fragmentos de maior área. Uma vez escolhida a área de interesse, o fragmento foi separado cuidadosamente para se evitar novas quebras. Em seguida, a limpeza do fragmento foi feita em um aparelho de ultrassom com álcool isopropílico. Procedimentos de limpeza mais drásticos, fazendo uso de meios ácidos a quente, podem ser encontrados na literatura [Gib94], mas devido à quantidade limitada de *MCP's*, optou-se por uma limpeza mais branda.

Com esse procedimento foram obtidos fragmentos de tamanho adequado para as montagens dos detectores *Start* e *Stop*.

¹⁸ Fabricados pela Galileo Electro-Optics Corporation (USA).

4.4.1 Detector de Íons Secundários - *Stop*

Um esquema da montagem mecânica do detector *Stop* utilizada no espectrômetro é apresentado na Fig. 4.8. O detector *Stop* possui uma área útil de 314 mm^2 ($R = 10 \text{ mm}$). As placas multiplicadoras de elétrons encontram-se montadas em uma configuração *Chevron*, estando separadas por anéis confeccionados por placas de circuito impresso de 1,7 mm de espessura, feitas de resina epoxy e fibra de vidro, com contatos elétricos feitos por pistas de cobre. A espessura do conjunto é de 7,5 mm. O detector encontra-se posicionado no final do tubo de voo, a 111 cm da superfície do alvo.

A Fig. 4.9 apresenta um esquema do divisor resistivo usado para a distribuição de tensões dos vários estágios do detector. Este divisor, com resistência total de $22,0 \text{ M}\Omega$, encontra-se montado na mesma placa onde está o anodo plano usado para coletar os elétrons. A face da primeira placa multiplicadora encontra-se no mesmo potencial que a grade de aceleração do tubo de voo, evitando-se assim que campos elétricos espúrios alterem as velocidades dos íons secundários durante o percurso até o detector *Stop*. A tensão de polarização é aplicada ao anodo por meio de um indutor de $1,2 \text{ }\mu\text{H}$, usado para filtrar eventuais ruídos provenientes da fonte de alta tensão.

O sinal do detector *Stop* é extraído do anodo utilizando-se um capacitor de desacoplamento de $1,5 \text{ pF}$ com tensão de isolamento de 6 kV . Entre o capacitor e a linha de aterramento está colocada uma resistência de $4,7 \text{ k}\Omega$, usada para proteger a eletrônica associada ao detector.

As distorções e reflexões presentes nos pulsos dos detectores do equipamento mostram-se de pequena ordem, como pode ser apreciado na foto do pulso na saída do detector, apresentada na Fig. 4.10, tirada diretamente da tela do osciloscópio¹⁹, com uma câmara digitalizadora do tipo *CCD (charge coupling device)*²⁰, sem amplificações ou tratamentos eletrônicos adicionais. Devido à frequência de corte de 400 MHz do osciloscópio, o tempo de descida apresentado, da ordem de 2 ns , não corresponde ao do

¹⁹ Tektronix modelo 2465 BCT.

²⁰ Tektronix modelo DCS01.

pulso do detector, tipicamente da ordem de 500 ps a 600 ps [Wiz79]. Os pulsos foram produzidos pela incidência de partículas alfa e produtos de fissão provenientes da fonte de ^{252}Cf , colocada próxima a este detector para os testes.

Para determinação do comportamento geral da distribuição de amplitudes do detector *Stop* em função da tensão de operação, uma série de medidas foi feita com o uso do osciloscópio. Os resultados obtidos são apresentados na Fig. 4.11. Os pontos observados são os valores médios das amplitudes máximas e mínimas dos pulsos, representadas no gráfico pelas barras que envolvem os valores médios. Nesse gráfico pode-se observar uma região com um comportamento aproximadamente exponencial da amplitude do sinal em função da tensão aplicada ao MCP e o início do processo de saturação do ganho [Wiz79].

A distribuição de amplitudes dos pulsos também foi determinada com o uso de sistemas de aquisição descritos no item 4.3. A Fig. 4.12 apresenta as distribuições de amplitude de pulsos, para várias tensões de operação do detector *Stop*, de íons provenientes de uma amostra de LiF, colocada a uma tensão de aceleração de + 12 kV. É possível observar o deslocamento da distribuição e seu alargamento com a tensão e a crescente separação do ruído eletrônico.

Outro composto utilizado neste estudo foi o CsI. A Fig. 4.13 apresenta os resultados obtidos para várias tensões do detector, estando a amostra colocada também a uma tensão de + 12 kV. Neste caso, as medidas foram feitas em coincidência temporal com os íons de Cs^+ , utilizando o sistema de aquisição descrito no item 4.3. As distribuições de amplitudes para este material se mostraram mais largas que as do LiF. A queda de intensidade na região de pequenas amplitudes é decorrente da utilização de um limite de tensão usado para o disparo dos discriminadores (*CFD's*), permitindo eliminando o ruído eletrônico.

A Fig. 4.14 apresenta os valores dos primeiros momentos das distribuições de amplitude de pulsos obtidas para o LiF e o CsI em função da tensão de operação do detector *Stop*. Como pode ser visto, a saturação do ganho não foi alcançada até a tensão de 2700 V. A tensão de 2400 V foi escolhida para a operação do detector. Com esta

tensão o primeiro MCP do detector *Stop* opera a 980 V e o segundo a 1000 V, nos demais intervalos as tensões são da ordem de 210 V. Estas tensões seguem as especificações do fabricante dos MCP's, que recomenda tensões ao redor de 1000 V por placa multiplicadora. O uso de tensões acima da recomendada provoca a redução do tempo de vida dos MCP's devido ao intenso bombardeio de elétrons nas paredes dos microcanais. Este efeito provoca a destruição da cobertura semicondutora das paredes, reduzindo gradativamente a sua capacidade de produção de elétrons secundários e, dessa forma, reduzindo o fator de multiplicação do MCP [Wiz79]. Na tensão de trabalho escolhida a amplitude dos pulsos é suficiente para as aplicações com o espectrômetro de massa.

Fig. 4.8 - Esquema de montagem do detector de íons Stop. As placas multiplicadoras de elétrons encontram-se montadas em uma configuração Chevron.

Fig. 4.9 - Esquema elétrico do divisor resistivo do detector Stop. A tensão de polarização é de 2400 V, R1 a R4 pertencem ao divisor de resistência total de 22,0 M Ω , L é um indutor de 1,2 μ H e C, o capacitor de desacoplamento de 1,5 pF com tensão de isolamento de 6 kV.

Fig. 4.10 - Fotografia da tela do osciloscópio apresentando o sinal de saída do detector *Stop*, operando a 2400 V, varredura horizontal calibrada em 10 ns/divisão e vertical em 500 mV/divisão.

Fig. 4.11 - Distribuição de amplitude de pulsos em função da tensão do detector *Stop*, obtida por leitura na tela do osciloscópio. As barras correspondem às amplitudes máximas e mínimas observadas.

Fig. 4.12 - Distribuições da amplitude de pulsos formados no detector Stop, por íons provenientes de uma amostra de LiF a $+12$ kV, para tensões de operação de 2400 V a 2660 V.

Fig. 4.13 - Distribuições da amplitude de pulsos formados no detector Stop em coincidência com íons de Cs^+ , provenientes de uma amostra de CsI a + 12 kV, para tensões de operação de 1950 V a 2570 V. De (a) para (b) as escalas horizontais foram alteradas para melhor visualização, sendo o ganho do sistema de amplificação o mesmo para todas as distribuições.

Fig. 4.14 - Posições dos primeiros momentos das distribuições de amplitudes de pulsos em função da tensão de operação do detector Stop. Os pulsos são formados pela incidência de ions positivos provenientes de amostras de CsI e LiF, sobre o detector com energias de 12 keV.

4.4.2 Detector de Fragmentos de Fissão - *Start*

O detector *Start* apresenta, essencialmente, a mesma construção do detector *Stop*, com exceção de uma folha de *Mylar*²¹ aluminizada, de 1,5 μm de espessura, usada como conversor de elétrons, instalada a 1,7 mm da face do primeiro *MCP* (Fig. 4.15). A folha conversora encontra-se a uma distância de 13 mm da fonte de ^{252}Cf . Os elétrons emitidos do conversor, pela radiação incidente, são acelerados por uma diferença de potencial de +400 V sobre a face do primeiro *MCP*, disparando o processo de multiplicação de elétrons.

A folha conversora está presa a uma moldura de aço inoxidável. Como a superfície onde está depositado o alumínio encontra-se voltada para a face do primeiro *MCP*, foi feita uma deposição a vácuo de uma camada de ouro de aproximadamente 500 Å sobre a superfície de *Mylar* para garantir o seu contato elétrico com o anel de inox. Esta precaução foi tomada para evitar a formação de cargas estáticas sobre a face de *Mylar*, que poderiam ocasionar faiscamentos entre o suporte de amostra e o detector *Start*. A fina camada condutora de ouro não impede a passagem dos produtos de fissão.

A montagem do detector *Start* possui a área útil de 78,5 mm² (R = 5 mm). A espessura do conjunto é de 8,5 mm, estando o seu divisor resistivo montado na mesma placa onde se encontra o anodo. A Fig. 4.16 apresenta o diagrama elétrico de montagem do detector com seu divisor resistivo, cuja resistência total é de 26,5 M Ω . O detector opera a uma tensão de +2700 V, aplicada em seu anodo por um indutor de 1,6 μH , usado para filtrar eventuais ruídos da fonte de alta tensão. Com esta tensão cada placa multiplicadora fica sujeita a uma tensão de polarização da ordem de 1000 V, como recomenda o fabricante.

Fazendo uso de um osciloscópio, uma fotografia do pulso do detector *Start* foi obtida (Fig. 4.17). A mesma ressalva feita para a imagem do pulso do detector *Stop* vale para este caso em relação ao tempo de subida do pulso, que é mais rápido do que o apresentado. Usando também o osciloscópio e a fonte de ^{252}Cf foi feito o levantamento da distribuição de amplitude de pulsos em função da tensão do detector *Start*. O resultado

²¹ Mylar - nome comercial para o polietileno tereftalato dado pela DuPont.

pode ser apreciado na Fig. 4.18, onde as barras em torno dos pontos médios representam os valores máximos e mínimos observados.

Para verificar as condições operacionais do detector *Start* e tentar determinar o nível de discriminação mais adequado para o corte das contribuições do ruído eletrônico e das partículas alfa, medidas da distribuição de amplitude de pulsos foram realizadas, utilizando o sistema de aquisição de dados descrito no item 4.3. Numa primeira medida, o detector *Start* foi exposto à fonte de ^{252}Cf e a distribuição, apresentada na Fig. 4.19 (a), foi obtida tendo como contribuições o ruído eletrônico, as partículas alfa e os fragmentos de fissão.

Na Fig 4.19 (b) é apresentada a distribuição de amplitude de pulsos do detector *Start*, tendo sido feita uma coincidência com os elétrons emitidos de uma amostra de CsI, após a passagem do produto de fissão. Como pode ser visto, houve um drástico corte no ruído eletrônico e na contribuição das partículas alfa, restando os eventos produzidos pelos produtos de fissão e eventos casuais. Por este resultado, nota-se que a distribuição de amplitude de pulsos devido aos fragmentos de fissão é larga, estando sobreposta à distribuição das partículas alfa. Dessa forma, o nível de discriminação da eletrônica deve ser ajustado com cautela para que não ocorra um corte drástico na contribuição dos fragmentos de fissão. A Fig. 4.19 (c) apresenta a distribuição de amplitude de pulsos obtida em coincidência com o próprio sinal rápido do detector *Start*, mas com o circuito de coincidência ajustado para um nível de discriminação de - 200 mV. Neste caso, o ruído e parte da contribuição das partículas alfa foram eliminados, mas é possível notar a sobreposição de parte da distribuição das partículas alfa com a dos produtos de fissão.

Fig. 4.15 - Esquema da montagem mecânica do detector Start em uma configuração Chevron, apresentado em vista frontal e em corte lateral.

Fig. 4.16 - Diagrama elétrico do divisor resistivo do detector Start. A tensão de operação é de + 2700 V; R1 a R5 pertencem ao divisor de resistência total de 26,5 M Ω , L é um indutor de 1,2 μ H e C, o capacitor de desacoplamento de 1,5 pF com tensão de isolamento de 6 kV.

Fig. 4.17 - Fotografia da tela do osciloscópio apresentando o sinal do detector Start, operando a 2700 V, varredura horizontal calibrada em 5 ns/divisão e vertical em 200 mV/divisão.

Fig. 4.18 - Distribuição da amplitude de pulsos do detector Start em função de sua tensão, obtida por leitura na tela do osciloscópio. As barras correspondem às amplitudes máximas e mínimas observadas.

Fig. 4.19 - Distribuição de amplitude de pulsos do detector Start, operando a 2700 V, com a incidência de partículas alfa e produtos de fissão do ^{252}Cf . (a) Contribuição do ruído eletrônico, partículas alfa e produtos de fissão; (b) em coincidência com elétrons emitidos de uma amostra de CsI, resultando apenas na contribuição dos produtos de fissão e coincidências casuais; (c) em coincidência com sinal rápido do detector Start com nível de discriminação ajustado a -200 mV .

5. Caracterização do Espectrômetro

5.1 Influência da Distribuição Bimodal de Velocidades do ^{252}Cf

Aproximadamente 10^3 produtos de fissão por segundo incidem sobre a amostra e sobre o detector *Start*, devido à geometria adotada na montagem do sistema de suporte de amostras e da fonte de ^{252}Cf .

Os produtos de fissão perdem energia ao atravessarem as camadas de Ni e de Au usadas como suporte da fonte. Essas perdas foram calculadas usando o programa *TRIM* (*Transport Ions on Matter*) de Ziegler e Biersack [Zie88], que simula as interações de íons com um meio material e calcula as taxas de perdas de energia por unidade de comprimento (dE/dx), fornecendo como resultado suas energias finais após a passagem pelo meio. Estimativas dessas perdas foram feitas para o grupo leve e o pesado, representados pelos núcleos do $^{106}\text{Tc}_{43}$ e do $^{142}\text{Ba}_{56}$, respectivamente, atravessando camadas de Ni de $(1,1 \pm 0,1) \mu\text{m}$ e de Au de $(500 \pm 50) \text{Å}$. A tabela 5.1 apresenta os resultados para as energias finais e velocidades de saída dos íons. Os desvios das energias finais foram determinados analisando-se os valores obtidos em simulações com variações nas espessuras das camadas de Ni e Au, de acordo com suas incertezas.

Produto de Fissão	Energia Inicial (MeV)	Energia Final (MeV)	Velocidade Final (cm/ns)
^{106}Tc	100	72 ± 4	$1,15 \pm 0,03$
^{142}Ba	80	52 ± 3	$0,84 \pm 0,02$

Tabela 5.1 - Valores obtidos com o programa *TRIM* para as energias finais dos íons de ^{106}Tc e ^{142}Ba , após passagem por folhas de Ni e Au de $(1,1 \pm 0,1) \mu\text{m}$ e $(500 \pm 50) \text{Å}$ de espessura, respectivamente. Também são apresentadas suas velocidades ao saírem do material.

A característica bimodal da distribuição de energia dos produtos de fissão do ^{252}Cf afeta a distribuição temporal das moléculas ionizadas provenientes da amostra. Devido ao procedimento usado para as medidas de tempo de voo, onde a referência temporal é dada pelo fragmento de fissão que incide sobre o detector *Start*, complementar ao que provoca a dessorção, ora a determinação do intervalo de tempo pode ser iniciada por um produto de fissão leve, ora por um pesado. Deste modo, o tempo medido para um mesmo tipo de íon sofre pequenos deslocamentos temporais a cada evento. A partir das velocidades dos íons de ^{106}Tc e ^{142}Ba uma estimativa desses deslocamentos temporais pode ser obtida, levando-se em conta a geometria utilizada, apresentada na Fig. 5.1, considerando a fonte pontual e efetuando o cálculo para trajetórias com ângulos de emissão de 0° e 21° .

Fig. 5.1- Esquema da região da fonte de ^{252}Cf ilustrando os possíveis eventos após a fissão, sendo FL o fragmento leve e FP o fragmento pesado. Em (a) os produtos de fissão incidem perpendicularmente sobre a amostra e o detector *Start*, em (b) na região mais distante possível de seus centros. Em ambos os casos a fonte está colocada à mesma distância da amostra e do detector.

Estando a fonte posicionada à mesma distância d do detector *Start* e da amostra, a diferença temporal ΔT é dada pela expressão:

$$\Delta T = 2d \left(\frac{1}{v_p} - \frac{1}{v_l} \right) \quad 5.1$$

onde v_p e v_l são as velocidades dos fragmentos de fissão pesado e leve, respectivamente.

A tabela 5.2 apresenta as estimativas obtidas para ΔT . As distribuições temporais dos íons moleculares provenientes da amostra sofrem um deslocamento da ordem de 800 ps para a incidência normal e 900 ps para a incidência na região mais afastada do centro da amostra e do detector *Start*.

d (mm) - (ângulo)	ΔT (ps)
(a) 13,0 - (0°)	800±100
(b) 13,9 - (21°)	900±100

Tabela 5.2 - Cálculo das diferenças temporais devido à incidência dos produtos de fissão leve ou pesado do ^{252}Cf sobre o detector *Start*, com ângulos de 0° e 21°.

A Fig. 5.2 apresenta a distribuição temporal medida com o espectrômetro de massa por tempo de voo para elétrons emitidos devido à incidência de produtos de fissão em uma amostra de Csl. As medidas foram realizadas estando a amostra numa tensão de - 18 kV e fazendo uso do sistema de aquisição descrito no item 4.2. Dois picos separados por (870±50) ps podem ser observados, sendo o pico à esquerda devido a eventos onde produtos de fissão pesados incidiram sobre o detector *Start* e o outro pico proveniente da incidência de fragmentos leves. Para verificar o comportamento desta diferença temporal com a tensão da amostra várias medidas, como a descrita acima, foram feitas e os resultados são apresentados na Fig. 5.3. Foi encontrado um valor médio de (840±30) ps, estando de acordo com as estimativas.

Fig. 5.2 - Influência da distribuição de velocidades dos produtos de fissão do ^{252}Cf na distribuição temporal de elétrons de 18 keV provenientes de uma amostra de CsI. O pico à esquerda corresponde a eventos onde o fragmento pesado incide sobre o detector Start e o da direita o fragmento leve. A origem do tempo é arbitrária.

Fig. 5.3 - Diferença de tempo de voo de elétrons emitidos de uma amostra de CsI pela passagem dos produtos de fissão do ^{252}Cf , em função da tensão da amostra.

5.2 Equação de Tempo de Vôo dos Íons

A Fig. 5.4 apresenta o esquema do espectrômetro de massa. O ^{252}Cf , ao sofrer a fissão, emite dois fragmentos colineares em sentidos opostos. Um dos fragmentos, ao atravessar a amostra, provoca a dessorção e eventual ionização das moléculas. O outro fragmento, correlacionado ao anterior, vai em direção do detector *Start*, provocando a formação de um pulso usado no disparo do sistema de aquisição de dados. Os íons secundários dessorvidos são acelerados por uma diferença de potencial V existente entre a amostra e a grade de aceleração, que se encontram separados por uma distância z_1 . Após a aceleração os íons penetram no tubo de vôo de comprimento z_2 livre de campos elétricos que possam afetar as suas trajetórias. Os íons, chegando ao final do tubo, encontram o detector *Stop* provocando a formação de um pulso usado para interromper a medida de tempo. Considerando que a aceleração dos íons é provocada por um campo elétrico uniforme, o tempo de vôo para a geometria do espectrômetro de massa pode ser calculado pela expressão:

$$T = A \sqrt{\frac{m}{q}} + B \quad 5.2$$

onde m/q é a razão da massa pela carga do íon e

$$A = z_1 \left(\frac{2}{V} \right)^{1/2} \left[\left(1 + \frac{m(v_0 \cos \Theta)^2}{2qV} \right)^{1/2} - \left(\frac{m(v_0 \cos \Theta)^2}{2qV} \right)^{1/2} \right] + \quad 5.3$$

$$z_2 \left(\frac{1}{2V} \right)^{1/2} \left(1 + \frac{m(v_0 \cos \Theta)^2}{2qV} \right)^{-1/2}$$

O termo $m(v_0 \cos \Theta)^2/2$ é algumas vezes referido como “energia inicial axial” E_{ci} do íon secundário, sendo $v_0 \cos \Theta$ a componente da sua velocidade na direção perpendicular à superfície da amostra, paralela ao eixo do tubo de vôo (Fig.5.5). Medidas realizadas

mostram que o valor médio de E_{ei} é da ordem de eV, sendo máximo para íons H^+ [Mac87, Bet94].

O coeficiente B está relacionado com os acréscimos no intervalo de tempo medido devido, por exemplo, ao tempo de processamento dos sinais nos módulos eletrônicos ou ao tipo de referência usada no disparo do cronômetro eletrônico (produtos de fissão ou elétrons da amostra).

Como pode ser observado, a equação 5.2 depende dos parâmetros do espectrômetro. Introduzindo-se os valores efetivos desses parâmetros, seria possível calcular a massa de um íon a partir do valor medido de seu tempo de voo. Entretanto, irregularidades nas superfícies da amostra e dos detectores, não-uniformidades do campo elétrico entre a amostra e a grade, bem como fatores ligados ao tipo de amostra utilizada dificultam a obtenção dos valores exatos desses parâmetros. A maneira mais adequada para a determinação de massas é calibrar o espectro de cada amostra analisada, como será visto na próxima seção.

Fig. 5.4 - Esquema da geometria do espectrômetro de massa por tempo de voo. A fonte de ^{252}Cf encontra-se entre o detector Start e a amostra. Os íons dessorvidos pelos fragmentos de fissão são acelerados na região z_1 por um campo elétrico, devido à diferença de potencial V aplicada entre a amostra e a grade. Os íons atravessam a região de comprimento z_2 livre de campos até alcançarem o detector Stop.

Fig. 5.5 - Representação da velocidade inicial de emissão v_0 do íon; Θ é o ângulo entre a normal da superfície da amostra e a direção da velocidade do íon.

5.3 Calibração em Massa

Na espectrometria de massa por tempo de voo a calibração de um espectro é feita a partir da relação 5.2 entre o tempo de voo dos íons secundários e a raiz quadrada da massa do íon. Apesar da equação levar em consideração a velocidade inicial de cada íon, para que uma relação geral possa ser obtida para um determinado espectro de massa esta velocidade é suposta ser a mesma para todos os íons. No caso da operação do equipamento em altas tensões de aceleração tal suposição é aceitável, uma vez que os termos dependentes da velocidade inicial tornam-se desprezíveis.

Genericamente, para se efetuar a calibração de um espectro é necessário apenas a escolha de dois picos de íons cujas massas são conhecidas. Entretanto, para melhorar a precisão da calibração, um maior número de íons identificados devem ser utilizados.

A calibração deve ser feita para cada espectro analisado, pois assim é garantido que os íons selecionados para a calibração estão sujeitos às mesmas condições experimentais que os demais íons presentes no espectro.

Os íons utilizados para a calibração podem ser provenientes da própria amostra, do material do substrato, da matriz usada para adsorção e de padrões adicionados à amostra para esta finalidade [Bea89, Bea90]. No caso do uso de padrões, estes não devem interferir na formação dos íons secundários da amostra [McI91].

Os íons H^+ , H_2^+ e H_3^+ estão freqüentemente presentes em um espectro de tempo de voo e, como são de fácil identificação, podem ser usados nas primeiras tentativas de calibração do espectro. Entretanto, por estes íons possuírem uma velocidade de emissão maior que os demais íons formados na amostra, sua utilização pode fornecer um ajuste inadequado para os íons situados em regiões de maior massa, provocando grandes desvios nas massas calculadas. Em alguns casos, após uma calibração preliminar do espectro, íons de maior massa são identificados e usados para uma nova calibração. Uma outra forma de corrigir o efeito das variações das energias iniciais é associar a esses íons massas empíricas, porém este procedimento nem sempre apresenta resultados satisfatórios [McI91, Man90].

Também podem ser usados para calibração de espectros íons formados de sais alcalinos, como o CsI. Tanto o Cs como o I são monoisotópicos e esse sal tem a característica de formar aglomerados iônicos do tipo $(\text{CsI})_n\text{Cs}^+$ e $(\text{CsI})_n\text{I}^-$.

Entretanto, os sais alcalinos, quando presentes em grande concentração, prejudicam a formação de íons de moléculas orgânicas, não sendo adequado associá-los a essas amostras no propósito de formar íons para auxiliar a calibração do espectro. Quando em pequena quantidade, a contaminação com material alcalino pode formar íons positivos com as moléculas orgânicas, sendo observado, no caso do Na, íons do tipo $(\text{M}+\text{Na})^+$, $(\text{M}+2\text{Na}+\text{H})^+$, etc. Esses íons são úteis para a identificação do material analisado, podendo ser usados na calibração do espectro. Porém, caso o espectrômetro possua baixa resolução em massa, picos formados pelos íons da molécula associada ao átomo alcalino podem se sobrepor ao picos dos íons quasi-moleculares $(\text{M}+\text{H})^+$, prejudicando a sua adequada determinação [Bea90].

Na região de íons leves podem ser usados na calibração íons formados por fragmentos de moléculas orgânicas. No caso de íons positivos são usados CH_3^+ e C_2H_3^+ , para os negativos C^- e C_2H^- . Outros fragmentos podem ser observados, mas isso depende do tipo de amostra orgânica analisada.

Na região de massas grandes os fragmentos iônicos do material analisado são, na maioria dos casos, os únicos candidatos para uso na calibração, desde que estes sejam devidamente identificados e não reste dúvida quanto à sua composição química.

Para que a curva de calibração de massa forneça boa precisão alguns cuidados devem ser tomados na seleção dos picos usados. A forma e intensidade dos picos devem permitir uma adequada determinação de suas posições. Vários são os procedimentos usados nessa determinação, aplicados à espectrometria de massa por tempo de voo [Cha82, Man90, McI91].

Neste trabalho é usado o ajuste de uma distribuição normal para a determinação da posição do pico. As distribuições temporais dos íons apresentam uma porção estreita situada sobre uma base bastante larga. Esta base ocorre devido ao decaimento em voo de íons metaestáveis, sendo a porção estreita formada pelos íons que são detectados intactos

[Cha81]. Nesse caso, o ajuste é feito apenas na porção mais estreita da distribuição temporal, preferencialmente usando-se apenas alguns canais ao redor do pico [Bea90].

Após a determinação das posições dos picos é feito um ajuste pelo método dos mínimos quadrados para o conjunto de pontos formados pelas posições dos picos e as raízes quadradas das massas dos íons [Hel81]. Nem sempre o uso de vários picos é garantia da determinação de uma boa curva de calibração, sendo necessário estudar-se qual conjunto de íons produz os menores desvios entre os valores das massas calculadas em relação às prováveis massas dos íons. O conjunto que apresenta os menores desvios é utilizado para a calibração do espectro como um todo [Hil87, Man90].

A correta identificação dos íons influi na precisão da calibração, uma vez que é a partir de sua fórmula molecular que as suas massas são calculadas. Na região de pequena massa, caso a resolução do equipamento seja capaz de resolver moléculas isobáricas, deve-se ter o cuidado de identificar corretamente os picos, levando-se em conta os isótopos mais abundantes para o cálculo da massa, acrescentando-se ou subtraindo-se um elétron no caso de íons negativos ou positivos.

Em um espectrômetro de massa cuja resolução está abaixo da resolução necessária para separar íons originados de uma mesma molécula orgânica, mas com diferentes massas devido à distribuição isotópica de átomos de C, H, N, O e S, o valor da massa associado ao pico resultante é calculado pela média ponderada das massas dos íons, com pesos dados pela probabilidade de ocorrência de cada isótopo [Cha82]. Esta probabilidade é calculada usando-se uma distribuição binomial²².

Neste trabalho, o procedimento empregado para a calibração em massa de um espectro inicia-se com a determinação da posição dos picos de alguns íons de pequena massa que, como mencionado anteriormente, estão presentes na maioria dos espectros. Após uma primeira calibração outros íons são identificados e usados para melhorar a precisão do ajuste na região de maiores massas. As massas e abundâncias usadas nos cálculos efetuados neste trabalho são extraídas da tabela de isótopos do C R C Handbook of Chemistry and Physics [Wea91].

²² No caso do carbono, se n é o número total de C na molécula, x o número de ^{13}C , p a abundância de ^{12}C , q a abundância de ^{13}C e $P(x)$ a probabilidade de ocorrência de x átomos de ^{13}C no íon, então $P(x) = [n!/(x!(n-x)!)]p^xq^{n-x}$.

A seguir são apresentados os resultados obtidos na análise de uma amostra inorgânica, o sal de CsI, e algumas amostras biológicas como o aminoácido fenilalanina e os peptídeos Angiotensin I e LHRH.

5.3.1 Amostra de CsI

A amostra de CsI encontra-se depositada sobre um substrato de Kimfol²³ de 1 μm de espessura recoberto por uma fina camada de Au de 500 Å para garantia do contato elétrico. Este material é depositado pelo processo de evaporação a vácuo, sendo sua espessura da ordem de 500 Å. As Fig. 5.6 (a) e (b) apresentam as distribuições de massa obtidas com a amostra sujeita a tensões de aceleração de $\pm 18\text{kV}$. Para calibração do espectro positivo são usados os íons de Cs^+ e Cs_2I^+ , sendo este último pertencente ao conjunto de aglomerados formados por esta amostra do tipo $(\text{CsI})_n\text{Cs}^+$. O aglomerado de maior massa observado é o Cs_5I_4^+ , porém com intensidade muito baixa. No caso dos íons negativos, o ajuste é realizado com os íons I^- e Cs_2I_3^- . Neste caso são observados aglomerados do tipo $(\text{CsI})_n\text{I}^-$ e o íon de maior massa encontrado é o Cs_4I_5^- . Após a calibração é possível identificar a presença de outros aglomerados devido à contaminação da amostra por átomos de Cl e Br. Estes átomos também formam famílias de aglomerados em substituição ao iodo do sal de CsI. São observados aglomerados do tipo $(\text{Cs}_n\text{I}_{n-2})\text{Br}^+$ e $(\text{Cs}_n\text{I}_{n-2})\text{Cl}^+$ para tensões positivas e do tipo $(\text{CsI})_n\text{Cl}^-$ e $(\text{CsI})_n\text{Br}^-$ para tensões negativas. Nestes casos estes aglomerados sofrem a influência da distribuição isotópica dos átomos de Cl (^{35}Cl e ^{37}Cl) e Br (^{79}Br e ^{81}Br), apresentando picos cujas intensidades relativas seguem a distribuição binomial.

Nas tabelas 5.3 e 5.4 são apresentados os valores das massas obtidas pela calibração dos espectros juntamente com as massas calculadas pela fórmula molecular associada ao íon. Na quarta coluna são apresentadas as incertezas das massas medidas, calculadas pela

23 Nome comercial do polímero $-\text{[C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{]}_n-$.

propagação de erros dos parâmetros da reta de calibração, e na quinta coluna são apresentadas as diferenças entre as massas calculadas e medidas Δm . Como pode ser observado para este conjunto de dados as diferenças Δm são da ordem de milésimos a centésimos da u.m.a. Na Fig. 5.7 (a) e (b) estão os gráficos de Δm em função de m/q relativos às duas tabelas anteriores, permitindo uma melhor visualização da tendência de maior dificuldade na identificação de íons de maior massa.

Fig. 5.6 - Espectros de massa de uma amostra de CsI depositada a vácuo sobre um substrato de Kimfol recoberto por 500 Å de ouro, para tensões de aceleração da amostra de -18kV (a) e +18kV (b).

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Erro da Medida	Δm
H ⁺	1,00837	1,0077	0,0002	-0,0007
C ⁺	11,99945	11,996	0,001	-0,003
C ₂ H ⁺	25,00728	25,006	0,001	-0,001
C ₂ HO ⁺	41,00329	41,002	0,001	-0,001
I ⁺	126,90502	—	—	(calibr.)
CsICl ⁺ (³⁵ Cl)	294,7793	294,771	0,006	-0,008
CsICl ⁺ (³⁷ Cl)	296,77635	296,769	0,006	-0,007
CsIBr ⁺ (⁷⁹ Br)	338,72879	338,723	0,006	-0,006
CsIBr ⁺ (⁸¹ Br)	340,72674	340,723	0,007	-0,004
CsI ₂ ⁺	386,71495	386,713	0,008	-0,002
Cs ₂ ICl ₂ ⁺ (³⁵ Cl)	462,65358	462,651	0,009	-0,003
Cs ₂ ICl ₂ ⁺ (³⁷ Cl)	464,65063	464,657	0,009	0,006
(CsI) ₂ Cl ⁺ (³⁵ Cl)	554,5892	554,59	0,01	-0,001
(CsI) ₂ Cl ⁺ (³⁷ Cl)	556,58626	556,58	0,01	-0,006
(CsI) ₂ Br ⁺ (⁷⁹ Br)	598,53869	598,53	0,01	-0,009
(CsI) ₂ Br ⁺ (⁸¹ Br)	600,53664	600,53	0,01	-0,007
Cs ₂ I ₃ ⁺	646,52483	—	—	(calibr.)
(CsI) ₃ Cl ⁺ (³⁵ Cl)	814,39911	814,47	0,02	0,07
(CsI) ₃ Cl ⁺ (³⁷ Cl)	816,39616	816,47	0,04	0,07
Cs ₃ I ₄ ⁺	906,33473	906,38	0,02	0,04
(CsI ₄)Cl ⁺ (³⁵ Cl)	1074,20901	1074,33	0,02	0,12
Cs ₄ I ₅ ⁺	1166,14463	1166,24	0,03	0,10

Tabela 5.3 - Massas dos prováveis íons (u.m.a.) provenientes de uma amostra de CsI a - 18 kV. A calibração é feita usando-se os picos de I⁺ e CsI₂⁺.

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Erro da Medida	Δm
H^+	1,00742	1,0101	0,0003	0,003
H_2^+	2,01510	2,0190	0,0005	0,004
H_3^+	3,02293	3,0274	0,0004	0,004
CH_3^+	15,02293	15,032	0,001	0,009
Na^+	22,98977	23,001	0,001	0,01
$C_2H_3^+$	27,02293	27,034	0,001	0,01
NO^+	29,99744	29,989	0,002	-0,008
Cs^+	132,90488	-----	-----	(calibr.)
Cs_2^+	265,81031	265,761	0,007	-0,05
Cs_2H^+	266,81813	266,805	0,007	-0,01
Cs_2O^+	281,80522	281,788	0,007	-0,02
Cs_2OH^+	282,81305	282,814	0,007	0,001
$Cs_2Cl^+ (^{35}Cl)$	300,77916	300,777	0,007	-0,002
$Cs_2Cl^+ (^{37}Cl)$	302,77621	302,776	0,007	-0,0002
$Cs_3Br^+ (^{79}Br)$	344,72865	344,726	0,008	-0,003
$Cs_3Br^+ (^{81}Br)$	346,72660	346,728	0,008	0,001
Cs_3I^+	392,71478	-----	-----	(calibr.)
$Cs_3ICl^+ (^{35}Cl)$	560,58906	560,59	0,01	0,001
$Cs_3ICl^+ (^{37}Cl)$	562,58611	562,58	0,01	-0,006
$Cs_3IBr^+ (^{79}Br)$	604,53855	604,53	0,01	-0,008
$Cs_3IBr^+ (^{81}Br)$	606,53650	606,54	0,02	0,003
$Cs_3I_2^+$	652,52468	652,51	0,01	-0,01
$Cs_3I_2Cl^+ (^{35}Cl)$	820,39897	820,43	0,03	0,03
$Cs_4I_3^+$	912,33459	912,32	0,02	-0,01

Tabela 5.4 - Massas dos prováveis íons (u.m.a.) provenientes de uma amostra de CsI a + 18 kV. A calibração é feita usando-se os picos de Cs^+ e Cs_2I^+ .

Fig. 5.7 - Diferenças entre as massas medidas e calculadas Δm para os possíveis íons provenientes de uma amostra de CsI a -18 kV (a) e $+18 \text{ kV}$ (b).

5.3.2 Amostra de Fenilalanina

A amostra de fenilalanina ($C_9H_{11}NO_2$, $m = 165,08$ u.m.a.) é preparada com a diluição de 5 mg do material em 10 ml de uma solução de TFA (0,1%) gotejada sobre um substrato de mylar aluminizado, de 1,5 μm de espessura, e recoberto com uma camada de nitrocelulose usada para melhor adesão do material sobre a sua superfície. Depois de seca ao ar livre a amostra é introduzida no interior do espectrômetro para análise.

Os resultados de duas medidas feitas a tensões de +12kV e -12kV são apresentados na Fig. 5.8 (a) e (b), respectivamente. Nas distribuições de massa são observados os íons quasi-moleculares $(M+H)^+$ e $(M-H)^-$, sendo ainda identificado no espectro positivo o aparecimento do pico correspondente a íons onde o aminoácido encontra-se ligado a um átomo de sódio $(M+Na)^+$, bem como o pico relativo aos íons bimoleculares $(2M+H)^+$. Picos observados no espectro com valores de massa menores que a do pico quasi-molecular são devidos à fragmentação da molécula de fenilalanina e contribuições do substrato e impurezas. Por exemplo, o fragmento identificado como $(M-COOH)^+$ ocorre pela perda do terminal carboxila da fenilalanina.

A utilização de um substrato de nitrocelulose e a própria amostra causam no espectro de massa o aparecimento de picos que podem conter íons isóbaros não resolvidos pelo espectrômetro, formados pela combinação de átomos de C, H, O e N. Como exemplo, na região de massa de 39 u.m.a. é formado um pico pela provável contribuição de íons do tipo $C_3H_3^+$ e C_2HN^+ . Dessa forma, a escolha de picos para calibração deve ser feita com cautela, evitando-se aqueles onde mais de uma espécie de molécula possa estar presente.

As tabelas 5.5 e 5.6 apresentam as fórmulas moleculares dos prováveis íons observados nos espectros de massa da fenilalanina a +12 kV e -12 kV, sendo possível comparar as massas calculadas pela fórmula (coluna 2) com as massas medidas, obtidas pela calibração dos espectros (coluna 3). Na coluna 4 são apresentadas as incertezas das massas medidas e na coluna 5 são apresentadas as diferenças entre as massas calculadas e medidas Δm . Nesta tabela também estão presentes as massas de picos isóbaros, cujos valores são os mais próximos do valor obtido pela calibração. Nas Fig. 5.9 (a) e (b) são apresentados os gráficos relativos aos desvios Δm e suas respectivas incertezas. Os pontos

relacionados com os íons isóbaros formados por moléculas possuindo átomos de nitrogênio são representados pelo símbolo (Δ). Nestas medidas a precisão na determinação das massas encontra-se novamente entre 0,001 u.m.a. e 0,01 u.m.a.

Fig. 5.8 - Distribuições de massa de uma amostra de fenilalanila ($m = 165$ u.m.a.), nas tensões de aceleração de +12kV (a) e -12kV (b).

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Erro da Medida	Δm
H^+	1,00728	1,007	0,001	-0,0003
H_2^+	2,01510	-----	-----	(calibr.)
CH_3^+	15,02293	15,026	0,006	0,003
Na^+	22,98922	22,991	0,007	0,002
K^+	38,96316	38,965	0,01	0,002
$C_3H_3^+$	39,02293	39,02	0,01	-0,003
C_2HN^+	39,01035	"	"	0,01
$C_6H_5^+$	77,03858	77,04	0,01	0,001
$C_5H_3N^+$	77,02600	"	"	0,01
$C_7H_7^+$	91,05423	91,04	0,02	-0,01
$C_6H_5N^+$	91,04165	"	"	-0,002
$C_8H_7^+$	103,05423	103,05	0,02	-0,004
$C_7H_5N^+$	103,04165	"	"	0,008
$(M-CO_2H)^+$	120,08132	120,07	0,02	-0,01
$(M+H)^+ (^{12}C)$	166,08626	-----	-----	(calibr.)
$(M+H)^+ (^{13}C)$	167,08961	167,09	0,03	0,0004
$(M+Na)^+$	188,06820	188,07	0,03	0,002
$(2M+H)^+$	331,16523	331,20	0,05	0,03

Tabela 5.5 - Massas dos prováveis íons (u.m.a.) observados na amostra de fenilalanina sujeitos a tensão de aceleração de + 12kV. A calibração em massa é feita usando-se os picos de H_2^+ e $(M+H)^+$.

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Erro da Medida	Δm
H ⁺	1,00837	1,0093	0,0006	0,0009
C ₂ H ⁺	25,00837	-----	-----	(calibr.)
CN ⁺	26,00362	26,007	0,003	0,003
C ₂ HO ⁺	41,00329	41,000	0,005	-0,003
CHN ₂ ⁺	41,01452	"	0,005	-0,015
C ₂ H ₃ O ⁺	42,01111	41,996	0,005	-0,015
CNO ⁺	41,99854	"	0,005	-0,002
HCOO ⁺	44,99820	44,998	0,006	0,0002
HN ₂ O ⁺	45,00944	"	0,005	0,01
C ₃ N ⁺	50,00362	50,002	0,005	-0,002
(M-H) ⁺ ¹² C	164,07170	-----	-----	(calibr.)
(M-H) ⁺ ¹³ C	165,07506	165,06	0,01	-0,015

Tabela 5.6 - Massas dos prováveis íons (u.m.a.) observados na amostra de fenilalanina sujeitos a tensão de aceleração de -12kV. A calibração em massa é feita usando-se os picos de C₂H⁺ e (M+H)⁺.

Fig. 5.9 - Diferenças entre as massas medidas e calculadas (Δm) para os possíveis íons provenientes de uma amostra de fenilalanina a $+12$ kV (a) e -12 kV (b). Os pontos experimentais (Δ) representam os íons cuja fórmula molecular possui átomos de nitrogênio e são isóbaros a íons formados por C, H e O.

5.3.3 Amostras de Angiotensin I e LHRH

Dois peptídeos analisados são apresentados como exemplos da análise de biomoléculas com massas na faixa de 1000 u.m.a. O primeiro é o Angiotensin I, $m = 1296,7$ u.m.a., formado por 10 aminoácidos, e o outro uma amostra de LHRH (*Luteinizing Hormone Releasing Hormone*), $m = 1182,3$ u.m.a., também possuindo 10 aminoácidos.

Ambas as amostras são preparadas com a diluição de 5 mg do material em 20 μ l de TFA - ácido trifluoracético (0,1%). O substrato usado nestas medidas é feito por uma folha de Kimfol de 1 μ m de espessura e 10 mm de diâmetro, recoberta por uma camada de ouro de 500 Å, sobre a qual é gotejada uma solução de nitrocelulose, feita pela dissolução de uma folha de nitrocelulose de 10 mg em 20 ml de acetona. Durante o processo de secagem da nitrocelulose o suporte é colocado em rotação para espalhar a solução de forma uniforme sobre o substrato de Kimfol. Após esta etapa, uma gota da solução da amostra é colocada sobre a nitrocelulose, sendo o conjunto deixado secar ao ar livre e posteriormente colocado no interior do espectrômetro para as medidas.

A nitrocelulose é usada como uma matriz que facilita a adesão da amostra sobre o substrato, permitindo uma distribuição uniforme do material sobre sua superfície. A nitrocelulose também possibilita o aumento da emissão de íons moleculares da amostra. O uso da nitrocelulose para este fim iniciou-se em trabalhos realizados pelo grupo de Upsalla, em meados da década de 80 [Jon86]. O mecanismo pelo qual matrizes como a nitrocelulose permitem o aumento na produção de íons não é bem compreendido, sendo este ainda motivo de estudos e tentativas de encontrar outros materiais com características similares ou superiores às da nitrocelulose [McN86, Nie87, Zub97].

Na Fig. 5.10 (a), (b) e (c) são apresentados os espectros do Angiotensin I, adquiridos nas tensões de + 12 kV (a) e - 12kV (b), e do LHRH (c) na tensão de + 12 kV. Cada medida foi realizada durante um período de 4 horas, sendo que para o LHRH não foi observado o pico $(M-H)^-$ para a tensão de - 12kV. O Angiotensin I mostrou-se com maior taxa de produção do íon $(M+H)^+$ a + 12 kV em relação ao íon $(M-H)^-$ a - 12kV.

Para calibração desses espectros foram utilizados os íons identificados como H^+ , H_2^+ , H_3^+ , Na^+ e CH_3^+ , para tensões positivas, e H^- , C^- e C_2H^- , para as negativas. Os valores obtidos pelas calibrações para os íons quasi-moleculares são apresentados na tabela 5.7. As massas usadas para comparação com as empíricas são calculadas pela média ponderada das distribuições isotópicas dessas moléculas como mencionado no item 5.3.

Os resultados mostram que a precisão obtida é menor que 1 u.m.a. Tal precisão é suficiente para a determinação da massa de biomoléculas nessa região de massa, permitindo, por exemplo, verificar se o processo de síntese do material ocorreu de forma esperada. Nesse sentido, o espectrômetro de massa pode servir como ferramenta para o controle de qualidade na síntese de peptídeos, verificando possíveis contaminações, ausência ou adição acidental de aminoácidos, bem como evidenciando possíveis reações colaterais [Cho89, Bie92].

Picos de baixa intensidade podem ser vistos nos espectros apresentados na região de massas abaixo do pico molecular. Tais picos são formados por íons pertencentes a fragmentos das moléculas analisadas e podem, eventualmente, ser usados em estudos de seqüenciamento de peptídeos e proteínas para a identificação de seus aminoácidos [Tsa89, Bie92].

	$(M+H)^+$		$(M-H)^-$	
	Massa Medida	Massa Calculada	Massa Medida	Massa Calculada
Angiotensin I	$1297,1 \pm 0,9$	1297,4	$1295,3 \pm 0,8$	1295,4
LHRH	$1182,8 \pm 0,8$	1183,2	-----	-----

Tabela 5.7 - Massas dos íons quasi-moleculares (u.m.a.) do Angiotensin I e LHRH nas tensões de + 12 kV e - 12 kV. A Calibração foi feita usando os íons H^+ , H_2^+ , H_3^+ , Na^+ e CH_3^+ , para tensões positivas, e H^- , C^- e C_2H^- , para tensões negativas.

Fig. 5.10 - Espectros de massa do Angiotensin I a + 12 kV (a) e a - 12 kV (b) e do LHRH a + 12 kV (c). Ao lado são mostrados detalhes dos picos dos íons quasi-moleculares.

5.4 Resolução do Espectrômetro de Massa

O espectrômetro de massa por tempo de voo sofre limitações em sua resolução decorrentes de fatores intrínsecos aos equipamentos de medida e de características estatísticas presentes no processo de produção dos íons secundários da amostra [Sta92].

Em relação ao sistema de aquisição, a eletrônica rápida empregada teve seu desenvolvimento em experimentos de física nuclear, que exigem resoluções temporais abaixo de 1 ns. Tal característica é mais que satisfatória para o uso em espectrometria de massa por tempo de voo de biomoléculas, porém os módulos eletrônicos utilizados devem ser adequadamente ajustados para operação neste tipo de aplicação (ver item 4.2) [Ens92].

Outros fatores que podem limitar a resolução do instrumento são os possíveis desvios mecânicos dos componentes do espectrômetro que podem provocar desalinhamentos entre as superfícies da amostra, da grade de aceleração e dos sistemas de detecção [Rig87].

No desenvolvimento da equação de tempo de voo, no item 5.2, o campo elétrico foi considerado uniforme na região de aceleração. Entretanto, o emprego da grade de aceleração provoca inhomogeneidades no campo elétrico, causando desvios nas trajetórias dos íons, limitando a resolução do instrumento [Sun85]. Para minimizar estes efeitos, grades construídas com tramas largas e pouco espaçadas devem ser utilizadas, desde que não haja o comprometimento na transmissão dos íons secundários [Ber89, Owe92].

No espectrômetro de massa construído, a energia inicial dos íons secundários apresenta-se como outro fator de limitação da resolução do sistema. Porém, como mencionado no item 5.2, estas distribuições possuem valores da ordem de alguns eV e, caso o aparelho seja operado em tensões de aceleração altas, esta contribuição torna-se de pouca importância. Quanto à distribuição espacial dos íons secundários, como o material da amostra é desissorvido de maneira praticamente pontual de uma superfície plana, este tipo de contribuição provoca pequena influência na resolução do sistema [Sta92].

A equação 5.2 para o cálculo do tempo de voo dos íons secundários é dependente dos parâmetros z_1 , z_2 , V e E_{ci} , onde, z_1 é a distância percorrida pelos íons da superfície da amostra até a grade de aceleração, z_2 é a distância percorrida pelos íons ao longo do tubo de

vão, V a tensão de aceleração e E_{ci} a “energia inicial axial” dos íons. A resolução temporal do equipamento sofre limitações devido às possíveis flutuações desses parâmetros durante o processo de medida. Supondo que suas contribuições sejam independentes, a resolução temporal ΔT pode ser calculada pela raiz quadrada da soma quadrática das contribuições de cada termo [Hel81]. Ainda devem ser acrescentadas a esta soma contribuições referentes às flutuações temporais dos produtos de fissão no processo de disparo do sistema de aquisição Δpf e da resolução eletrônica Δel . Dessa forma, ΔT pode ser escrita como:

$$\Delta T = \left[\left(\frac{\partial T}{\partial V} \right)^2 \Delta^2 V + \left(\frac{\partial T}{\partial z_1} \right)^2 \Delta^2 z_1 + \left(\frac{\partial T}{\partial z_2} \right)^2 \Delta^2 z_2 + \left(\frac{\partial T}{\partial E_{ci}} \right)^2 \Delta^2 E_{ci} + \Delta^2 pf + \Delta^2 el \right]^{1/2} \quad 5.4$$

Após os cálculos das derivadas parciais, a expressão acima torna-se:

$$\Delta T = \left\{ \left(\frac{2m}{qV} \right) \left[A(X) \left(\frac{\Delta V}{V} \right)^2 + B(X) (\Delta z_1)^2 + \frac{C(X)}{4} (\Delta z_2)^2 + D(X) \left(\frac{\Delta E_{ci}}{2qV} \right)^2 \right] + \Delta^2 pf + \Delta^2 el \right\}^{1/2} \quad 5.5$$

sendo

$$A(X) = \left\{ z_1 \left[X^{1/2} - (1+X)^{1/2} - \frac{1}{2} (1+X)^{-1/2} \right] - \frac{z_2}{4} (1+X)^{-3/2} \right\}^2 \quad 5.6$$

$$B(X) = \left[(1-X)^{1/2} - X^{1/2} \right]^2 \quad 5.7$$

$$C(X) = (1-X)^{-1} \quad 5.8$$

$$D(X) = \left\{ z_1 \left[(1+X)^{1/2} - X^{1/2} \right] + \frac{z_2}{2} (1+X)^{-3/2} \right\}^2 \quad 5.9$$

com

$$X = \frac{E_d}{qV} \quad 5.10$$

O termo referente à contribuição dos produtos de fissão deve ser eliminado do cálculo caso as medidas sejam feitas com o disparo do sistema de aquisição pelos elétrons.

A resolução em massa do equipamento, definida como $m/\Delta m$, onde Δm é a largura à meia altura da distribuição de massa, pode ser calculada pela relação:

$$\frac{m}{\Delta m} = \frac{T}{2 \Delta T} \quad 5.11$$

Substituindo as equações 5.2 e 5.5 na equação acima e seguindo a análise feita por Davis et al. [Dav88], é verificado que no limite de baixas tensões a resolução é fortemente influenciada pela “energia axial inicial” dos íons. É observado ainda que nesse limite a sua dependência com a massa tende a ser menos importante, uma vez que tanto T quanto ΔT dependem de $(m)^{-1/2}$. No limite de altas tensões a resolução em massa sofre maior influência dos termos relativos à distribuição temporal dos produtos de fissão e da resolução do sistema eletrônico.

5.4.1 Comportamento da Resolução com a Tensão de Aceleração

Utilizando uma amostra de CsI, o comportamento da resolução em massa do espectrômetro foi estudado em função da tensão de aceleração dos íons secundários. Para isso, várias distribuições temporais dos íons H^+ , I^- e CsI_2^- foram obtidas e as posições de seus picos e larguras à meia altura determinadas.

A Fig. 5.11 apresenta os resultados para os íons H^- , mostrando uma variação da resolução em massa de 600 a 1250, para tensões de aceleração entre -2 kV e -18 kV. As incertezas dos pontos experimentais foram obtidas pela propagação dos erros das posições dos picos e das larguras à meia altura das distribuições. Nessas medidas o sistema de aquisição foi disparado com elétrons emitidos da amostra, sendo eliminada a contribuição da distribuição bimodal de velocidades dos produtos de fissão Δpf na distribuição temporal dos íons H^- . As curvas apresentadas com os pontos experimentais foram calculadas a partir da equação 5.11, com T e ΔT calculados pelas equações 5.2 e 5.5, respectivamente. Na Fig. 5.11 (a) as curvas foram calculadas variando-se os parâmetros E_{ci} e ΔE_{ci} e fixando-se as demais contribuições e na Fig. 5.11 (b) as curvas foram calculadas variando-se a contribuição do sistema eletrônico Δel e fixando-se as demais contribuições.

O mesmo estudo foi feito para os íons Γ e $Cs_2\Gamma$ mas, nesses casos, o sistema eletrônico foi disparado por produtos de fissão. Para o íon Γ a resolução em massa obtida apresentou uma variação entre 990 e 1540 e para o íon $Cs_2\Gamma$, entre 1060 e 1730, para tensões de aceleração entre -3 kV a -18 kV. A Fig. 5.12 (a) e a Fig 5.13 (a) mostram os resultados experimentais obtidos juntamente com as curvas calculadas, mostrando o comportamento da resolução com variações de E_{ci} e ΔE_{ci} , fixadas as demais contribuições. Na Fig. 5.12 (b) e na Fig 5.13 (b) os mesmos conjuntos de pontos são apresentados com as curvas calculadas variando-se a contribuição $(\Delta pf^2 + \Delta el^2)^{1/2}$.

Nos cálculos das curvas apresentadas foram utilizados valores para as variações das trajetórias dos íons na região de aceleração e no tubo de vôo Δz_1 e Δz_2 de 0,1 mm e 0,2 mm, respectivamente, e para o desvio da tensão de aceleração foi usada a relação $\Delta V = 0,005\% V$, segundo informações do fabricante²⁴. Para simplificação dos cálculos foi assumido $E_{ci} = \Delta E_{ci}$, estando a ordem de grandeza de seus valores em acordo com dados encontrados na literatura [Bet94].

²⁴ Fonte de Alta tensão modelo RHSR30R60 -Spellman High Voltage Corporation, New York, USA.

Fig. 5.11 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons H^- , com o sistema de aquisição disparado por elétrons. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E_{el} e ΔE_{el} fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de Δel , fixadas as demais contribuições.

Fig. 5.12 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons I^- , com o sistema de aquisição disparado por produtos de fissão. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E_{ci} e ΔE_{ci} , fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de $(\Delta pf^2 + \Delta et^2)^{1/2}$, fixadas as demais contribuições.

Fig. 5.13 - Comparação entre os resultados experimentais e calculados para a resolução em massa do espectrômetro para íons CsI_2^- , com o sistema de aquisição disparado por produtos de fissão. (a) Curvas calculadas para diferentes valores de E_{ci} e ΔE_{ci} , fixadas as demais contribuições; (b) curvas calculadas para diferentes valores de $(\Delta p f^2 + \Delta e l^2)^{1/2}$, fixadas as demais contribuições.

5.4.2 Resolução para região de massas baixas e altas

Como exemplo da capacidade do equipamento em resolver picos na região de massas baixas, uma amostra constituída por uma folha de mylar aluminizada foi analisada. A Fig. 5.14 (a) mostra a região dos picos isobáricos de massa 27 u.m.a., sendo possível a distinção entre os picos formados pelos íons Al^+ e C_2H_3^+ , cujas massas medidas são respectivamente $(26,982 \pm 0,001)$ u.m.a. e $(27,023 \pm 0,001)$ u.m.a., sendo a diferença entre as massas $\Delta m = 0,041$ u.m.a. Os íons de C_2H_3^+ possivelmente foram formados pela contaminação com produtos orgânicos provenientes do sistema de bombeamento. Para verificar a correta identificação do pico com esse íon, a amostra foi recoberta por uma camada de sacarose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), espessa o suficiente para encobrir totalmente a superfície de alumínio, impedindo a emissão de íons de Al^+ e favorecendo a formação de íons C_2H_3^+ pela fragmentação da sacarose [Cha81]. O resultado desse estudo está apresentado na Fig. 5.14 (b), onde o pico de Al^+ foi completamente eliminado.

Como outro exemplo, na Fig. 5.15 (a) é apresentada a região dos picos isobáricos de massa 39 u.m.a. de uma amostra de valina depositada sobre um substrato de nitrocelulose. Neste caso, o primeiro pico foi associado ao íon K^+ e o segundo à contribuição dos íons C_3H_3^+ e C_2HN^+ , sendo as massas medidas para esses picos de $(38,965 \pm 0,004)$ u.m.a. e $(39,014 \pm 0,004)$ u.m.a., respectivamente, com $\Delta m = 0,05$ u.m.a. O equipamento não possui capacidade de resolver os picos de C_3H_3^+ e C_2HN^+ , cuja diferença em massa é da ordem de 0,013 u.m.a. Nesse caso, seria necessário um equipamento com uma resolução de $m/\Delta m = 3000$. A hipótese da contribuição de íons de C_2HN^+ na formação de um dos picos se deve ao uso da matriz de nitrocelulose, como mencionado no item 5.3.2. A amostra foi lavada com água destilada e novamente analisada no espectrômetro de massa. A Fig. 5.15 (b) apresenta o resultado dessa medida, mostrando a perda de intensidade do pico de K^+ . Um outro pico, associado ao íon Ca^+ , também sofreu perda de intensidade com esse procedimento, como pode ser visto pela comparação com o espectro da Fig. 5.15 (a). Após esta etapa, uma solução de KI foi depositada sobre a superfície da amostra. Um novo espectro foi adquirido, apresentando, mais uma vez, o pico de K^+ , como pode ser observado na Fig. 5.15 (c).

Medidas feitas com uma amostra de CsI possibilitaram a avaliação da resolução espectrômetro na região de massas da ordem de centenas de u.m.a. Na Fig. 5.16 (a) e (b) são apresentados os picos correspondentes aos aglomerados Cs_4I_3^+ ($912,32 \pm 0,02$) u.m.a. e Cs_3I_4^- ($906,38 \pm 0,02$) u.m.a., sujeitos a tensões de aceleração de $\pm 18\text{kV}$. As medidas das larguras à meia altura obtidas para estes picos, 0,50 u.m.a. e 0,56 u.m.a., mostram que a resolução $m/\Delta m$ para estes aglomerados é de 1800 e 1600, respectivamente.

Fig. 5.14 - Resolução do espectrômetro na região de pequenas massas. Em (a) picos formados pelos íons Al^+ e $C_2H_3^+$, provenientes de uma amostra de mylar aluminizado e separados por $\Delta m = 0,041$ u.m.a.; em (b) a amostra, recoberta por sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), teve o pico de Al^+ eliminado.

Fig. 5.15 - Resolução do espectrômetro na região de pequenas massas. Em (a) picos formados por íons K^+ e por íons C_2HN^+ e $C_3H_3^+$, provenientes de uma amostra de valina sobre nitrocelulose, estão separados por $\Delta m = 0,05$ u.m.a.; em (b) a amostra, lavada com água destilada, teve o pico de K^+ praticamente eliminado e em (c) a amostra, após a deposição de uma solução de KI, apresenta novamente o pico de K^+ .

Fig. 5.16 - Picos correspondentes aos aglomerados iônicos de uma amostra de CsI para tensões de aceleração de $\pm 18\text{kV}$, (a) Cs_4I_3^+ com $m/\Delta m = 1600$ e (b) Cs_3I_4^- com $m/\Delta m = 1800$.

5.5 Transmissão e Guia Eletrostático de Partículas

5.5.1 Transmissão dos Íons Secundários

Para estudar o comportamento da transmissão dos íons secundários através do espectrômetro de massa foram feitas medidas das intensidades de alguns íons, normalizadas em relação ao número total de eventos que dispararam o sistema de aquisição de dados. Foram analisados os íons H^+ , I^+ , CsI_2^+ e $Cs_2I_3^+$ provenientes de uma amostra de CsI evaporada sobre um substrato de Kimfol recoberto por 500 Å de ouro. Nestas medidas a tensão de aceleração foi variada de - 1,5 kV a - 18 kV, sendo um espectro de massa obtido para cada tensão. A Fig. 5.17 apresenta os resultados obtidos para os quatro íons, mostrando o crescimento da intensidade com a tensão de aceleração. No caso do $Cs_2I_3^+$, para tensões abaixo de - 7 kV, as intensidades integradas são de difícil obtenção devido às baixas razões sinal-ruído para este íon, o mesmo ocorrendo para o I^+ e o CsI_2^+ em tensões abaixo de - 2,5 kV.

O feixe de íons provenientes da amostra possui um formato cônico, cuja abertura angular depende das componentes radial e axial da velocidade dos íons secundários. Sendo o campo elétrico uniforme na região de aceleração, a única componente da velocidade afetada pela ação do campo elétrico é aquela paralela à direção axial do tubo de vóo, ficando a velocidade radial inalterada durante todo o percurso do íon. Dessa forma, quando a intensidade do campo elétrico é aumentada, a velocidade axial aumenta, provocando a diminuição da abertura angular do cone. Isto faz com que uma maior quantidade de íons seja transmitida e colida com a superfície do detector, explicando o comportamento observado na Fig. 5.17. Quando a área da secção transversal do cone é menor que a área do detector, todos os íons podem ser detectados, não sendo mais observados acréscimos na intensidade dos íons com o aumento da tensão de aceleração. Tal condição aparentemente não foi alcançada para o conjunto de íons estudados, uma vez que não é observada uma tendência de saturação nas intensidades integradas dos íons.

A condição que deve ser satisfeita para que os íons emitidos da amostra possam ser transmitidos até o detector é dada pela relação:

$$v_0 \sin \theta_0 \leq \frac{R_d}{T} \quad 5.12$$

onde v_0 é a velocidade inicial do íon, θ_0 o seu ângulo de emissão em relação à normal da superfície da amostra, T o seu tempo de voo e R_d o raio do detector.

Utilizando o programa SIMION²⁵ para modelagem de campos eletrostáticos, simulações de trajetórias de íons de H^+ atravessando o espectrômetro de massa desde a região da amostra até a porção final do tubo de voo foram realizadas. Na Fig 5.18 são apresentados os resultados dessas simulações, sendo os íons de H^+ emitidos da região central da superfície da amostra, com energias iniciais de 3,5 eV, ângulos de emissão variando de -80° a $+80^\circ$, em passos de 20° , e a tensões de aceleração de -4 kV, -12 kV e -18 kV. Detalhes das porções inicial e final do espectrômetro de massa também são mostrados, sendo possível acompanhar o estreitamento do cone com o aumento da tensão de aceleração dos íons. Em -4 kV alguns íons não conseguem alcançar o final do tubo de voo, colidindo com sua parede. Em -12 kV e -18 kV todos os íons simulados chegam ao final do tubo, sendo a eventual detecção dependente do raio do detector.

A influência da geometria do sistema e da distribuição de energias iniciais dos íons na transmissão do espectrômetro de massa foi simulada com auxílio de um programa desenvolvido em linguagem FORTRAN77, onde as posições iniciais de emissão dos íons (x_0, y_0) , seus ângulos (θ_0, ϕ_0) e suas energias iniciais E_0 são obtidos por sorteios. A distribuição das posições iniciais é suposta uniforme, podendo ocorrer em qualquer ponto da superfície da amostra de raio $R_a = 5$ mm e os ângulos θ_0 e ϕ_0 podendo assumir valores de 0 a $\pi/2$ e de 0 a 2π , respectivamente. As energias iniciais são sorteadas adotando-se uma distribuição normal, com valor médio $\langle E_0 \rangle$ e desvio padrão $\sigma = \langle E_0 \rangle / 2$. Após o sorteio, o íon atravessa o sistema segundo trajetórias calculadas por suas equações de movimento. No final do percurso, a posição radial r do íon em relação ao eixo do tubo é comparada com o

25 Idaho National Engineering Laboratory EG&G Idaho Inc, Idaho Falls, ID 83415, EUA.

raio do detector ($R_d = 10$ mm), sendo considerada uma transmissão bem sucedida aquela em que $r < R_d$.

Várias simulações foram realizadas para íons de diferentes energias médias iniciais e tensões de aceleração variando de 1,5 kV a 20 kV. Na Fig. 5.19 são apresentadas as razões dadas pelo número de íons transmitidos em relação ao número de íons emitidos da amostra (N/N_0). Neste caso, os resultados independem da massa do íon, uma vez que a posição radial dos íons no final do tubo de vóo de comprimento d é dada pela relação:

$$r = d \sin \theta \left(\frac{E_0}{qV} \right)^{1/2} \quad 5.13$$

As diferenças entre os vários tipos de íons devem se tornar aparentes se os modelos usados nas simulações forem modificados com a introdução das distribuições angulares e de energias iniciais mais condizentes com as dos próprios íons. Por exemplo, no caso do H^+ medidas indicam que este íon possui uma distribuição angular do tipo $\cos^{1/2} \theta$, com um ângulo médio de emissão $\langle \theta \rangle = 36^\circ$, e para o íon de Cs^+ é observada uma distribuição angular do tipo $\cos^3 \theta$, com $\langle \theta \rangle = 27^\circ$ [Bet94].

A Fig. 5.19 mostra o gradual aumento do número de íons que alcançam o detector com o aumento da tensão de aceleração, similarmente aos resultados apresentados na Fig. 5.17. Entretanto, uma comparação direta entre os dois resultados não pode ser feita, uma vez que as intensidades integradas obtidas experimentalmente dependem, além do efeito da tensão de aceleração, das contribuições relativas à eficiência da dessorção pelos íons primários, à transmissão da grade de aceleração e à eficiência do detector *Stop*. Para tensões da ordem de 18 kV, os resultados das simulações indicam que são transmitidos, através do sistema, cerca de 50 % dos íons com energias médias entre 3 eV e 4 eV e 75 % com energias médias entre 1 eV e 2 eV, que corresponderiam às transmissões do H^+ e I^+ que possuem energias dentro destas faixas, segundo dados encontrados na literatura [Bet94].

Fig. 5.17 - Comportamento das intensidades integradas dos ions H^- (a), I^- (b), CsI_2^- (c) e $Cs_2I_3^-$ (d), normalizadas em relação ao número de eventos que dispararam o sistema de aquisição de dados, em função da tensão de aceleração.

Fig. 5.18 - Resultados de simulações realizadas com o programa SIMION de trajetórias de íons de H^- emitidos da superfície de uma amostra, com ângulos de emissão de -80° a $+80^\circ$ e energias iniciais de 3,5 eV, para tensões de aceleração de -4 kV (a), -12 kV (b) e -18 kV (c).

Fig. 5.19 - *Fração de íons transmitidos pelo espectrômetro de massa em função da tensão de aceleração, sujeitos a influências da geometria do sistema e das energias iniciais, obtidas por simulações computacionais.*

5.5.2 Guia Eletrostático de Partículas

O espectrômetro de massa utiliza um dispositivo que permite aumentar a transmissão dos íons secundários através de seu interior, chamado guia eletrostático de partículas (*gep*), cuja utilização em sistemas de tempo de voo foi introduzida por Oakley e Macfarlane [Oak67]. Conforme a descrição mecânica no item 3.3, o *gep* é constituído por dois cilindros metálicos concêntricos, um deles sendo o tubo de voo e o outro um fio de tungstênio recoberto com ouro, havendo entre os dois uma diferença de potencial V_0 , cuja polarização depende da carga dos íons que se quer transmitir.

A função do *gep* é fazer com que os íons presentes no interior do tubo fiquem aprisionados em órbitas espirais, devido ao campo elétrico radial ali existente, e sejam transmitidos até a região de detecção. Na Fig. 5.20 é apresentada a geometria do sistema para um íon viajando no interior do *gep* em um instante de tempo qualquer, com velocidade v , direcionada segundo os ângulos θ , medido em relação à normal do plano xy , e ϕ , medido em relação ao plano yz . A componente da velocidade paralela ao fio v_z não é alterada pelo campo elétrico nessa região, sendo responsável pelo transporte do íon até o final do tubo. A componente perpendicular da velocidade v_p está relacionada com o movimento espiral do íon ao redor do fio:

$$v_p = v \sin \theta \quad 5.14$$

A “energia orbital efetiva” do íon em coordenadas cilíndricas é dada pela relação:

$$E_{ef} = \frac{m\dot{r}^2}{2} + \frac{L^2}{2mr^2} + U(r) \quad 5.15$$

onde $L = mr^2\dot{\alpha}$ é o módulo do momento angular do íon em relação ao eixo do tubo de voo.

Fig. 5.20 - Geometria do guia eletrostático de partículas. Em um instante qualquer, o íon encontra-se a uma distância r do fio, possuindo velocidade v e fazendo um ângulo θ com a normal ao plano xy e ϕ com o plano yz (adaptado de [Oak67]).

Nesta configuração, a energia potencial para um íon posicionado a uma distância r do fio no interior de um *gep* infinito, é dada por [Oak67]:

$$U(r) = -q|V_0| \frac{\ln(r/R)}{\ln(s/R)} \quad 5.16$$

onde q é a carga do íon, s o raio do fio e R o raio do tubo.

Uma vez que não há torques agindo sobre os íons em relação ao eixo do tubo na região de aceleração e no interior do *gep*, pela conservação do momento angular o termo dependente de L^2 , na equação 5.15, pode ser escrito como:

$$\frac{L^2}{2mr^2} = E_0 \sin^2 \theta_0 \sin^2 \phi_0 \left(\frac{r_0^2}{r^2} \right) \quad 5.17$$

onde E_0 é a energia inicial do íon, θ_0 e ϕ_0 são os seus ângulos de emissão na superfície da amostra e r_0 a sua posição radial.

Para que um íon não colida com as paredes do tubo e com o fio, sua energia inicial E_0 deve respeitar a seguinte condição [Dav88]:

$$\frac{U(s) - U(r_1)}{\sin^2 \theta_0 \left[1 - \sin^2 \phi_0 \left(\frac{r_0}{s} \right)^2 \right]} < E_0 < \frac{U(R) - U(r_1)}{\sin^2 \theta_0 \left[1 - \sin^2 \phi_0 \left(\frac{r_0}{R} \right)^2 \right]} \quad 5.18$$

sendo $U(r_1)$ a energia potencial do íon ao entrar no *gap*.

Este resultado advém da utilização da conservação de energia e das condições para a ocorrência, na órbita do íon, de um apogeu e um perigeu ($\dot{r} = 0$), com raios iguais a R e s , respectivamente.

As equações de movimento dos íons podem ser obtidas por meio da Lagrangiana do sistema escrita em termos dos parâmetros acima descritos, conforme cálculos feitos por Oakey et al. [Oak67]:

$$\ddot{r} = \frac{A_1}{r^3} + \frac{A_2}{r} \quad 5.19$$

$$\dot{\alpha} = \frac{A_1^{1/2}}{r^2} \quad 5.20$$

sendo

$$A_1 = r_0^2 v_p^2 \sin^2 \phi \quad 5.21$$

$$A_2 = \frac{qV_0}{m \ln(s/R)} \quad 5.22$$

Entretanto, as equações 5.19 e 5.20 não podem ser integradas, não sendo possível obter expressões analíticas para $r(t)$ e $\alpha(t)$. Para o cálculo dessas grandezas é necessário utilizar técnicas de cálculo numérico, como realizado por Hooverman [Hoo63] e Oakley [Oak67].

As trajetórias dos íons sob a influência do *gep* foram simuladas com o auxílio do programa SIMION. Os resultados dessas simulações são apresentadas na Fig. 5.21. Nestas simulações dois íons H^- partem de posições simétricas em relação ao centro da amostra, com energias iniciais de 3,5 eV e ângulos de emissão de $\theta_0 = 36^\circ$ e $\phi_0 = 20^\circ$, estando o *gep* a uma tensão de +15 V e tensões de aceleração de -100 V, -3 kV e -8 kV. Os valores para E_0 e θ_0 utilizados nestas simulações representam os valores médios dessas grandezas encontrados na literatura [Bet94]. Na figura são também apresentados detalhes da porção inicial do tubo de vôo e as projeções das trajetórias dos íons no final do tubo sobre o plano xy . Nestas projeções, é observado que, com o aumento da tensão de aceleração, o íon não consegue executar vários períodos de rotação em torno do fio, ficando pouco a pouco a projeção de sua trajetória sem o padrão de pétalas observado no caso da tensão de -100 V.

Para estudar o comportamento do *gep* em função de sua tensão de operação e da tensão de aceleração dos íons secundários, espectros de massa foram obtidos para uma amostra de CsI. A Fig. 5.22 apresenta as intensidades dos picos dos íons H^- , I^- e CsI_2^- normalizadas em relação à intensidade desses picos sem o *gep* em operação. Foram utilizadas variações da tensão do *gep* de +5 V a +50 V e tensões de aceleração de -3 kV a -18 kV.

Ao se utilizar o *gep* em tensões de aceleração elevadas, o efeito do estreitamento radial do feixe de íons provoca a diminuição do número de íons que somente poderiam ser transmitidos com o auxílio do *gep*. Este efeito pode ser observado na Fig. 5.22, mostrando

que, para uma tensão do *gep* fixa, o seu ganho diminui com o aumento da tensão de aceleração.

Uma maior eficiência do ganho do *gep* é notada a baixas tensões de aceleração, a - 3 kV e - 4 kV, para o H^+ comparativamente aos íons de I^- e CsI_2^- . Tal comportamento pode ser atribuído às energias iniciais dos íons que, sendo maior para o H^+ , faz com que as suas trajetórias fiquem mais dispersas, possibilitando a ação do *gep* sobre uma população mais numerosa de íons.

Para tensões de aceleração mais elevadas o ganho do *gep* praticamente se iguala para todos os íons, uma vez que a componente axial da velocidade v_z é extremamente grande, mascarando o efeito da velocidade radial. Nas medidas analisadas, observa-se que para tensões de aceleração entre - 12 kV e - 18 kV o *gep* possibilita um aumento no valor da intensidade da ordem de 50%.

Da mesma maneira que no item anterior, o ganho do *gep* foi modelado por meio de simulações das trajetórias dos íons emitidos da superfície da amostra, passando pela etapa de aceleração e alcançado o início do *gep*, que transmite os íons até a região do detector. Para isso, um novo programa foi desenvolvido, em linguagem FORTRAN77, onde são sorteados as posições (x_0, y_0) dos íons na superfície da amostra, os ângulos de emissão θ_0 e ϕ_0 e a energia inicial E_0 , esta última a partir de uma distribuição do tipo normal com valor médio $\langle E_0 \rangle$ e desvio padrão $\sigma = \langle E_0 \rangle / 2$. Após a aceleração, os íons alcançam a entrada do *gep* na posição (x_1, y_1) , com ângulos de entrada θ_1 e ϕ_1 . As trajetórias dos íons nesta região são calculadas ponto a ponto, por meio de integração numérica da equação 5.19, utilizando a técnica desenvolvida por Verlet [All89], onde a componente radial da trajetória, no instante $(t+\delta t)$, é dada por:

$$r(t + \delta t) = 2r(t) - r(t - \delta t) + \ddot{r}(t) \delta t^2 \quad 5.23$$

Este resultado é obtido tomando-se as expansões em série de Taylor das posições radiais $r(t+\delta t)$ e $r(t-\delta t)$, somando-as e considerando apenas os termos até segunda ordem.

Durante a simulação são testadas as condições de contorno geométricas do sistema, sendo verificado, em cada instante, se há colisão do íon com as paredes do tubo ou com o fio do *gep*. Ao final do trajeto é determinado se o íon alcança o detector.

Na Fig 5.23 são apresentadas projeções no plano xy de duas trajetórias para íons de H^+ calculadas com o programa desenvolvido, ilustrando a capacidade do *gep* em transmitir os íons até o detector. Os íons são acelerados com tensões de -500 V e -3 kV estando o *gep* a $+20\text{ V}$. A circunferência incluída na figura representa o raio do detector (10 mm) instalado no final do tubo.

Os resultados das simulações para íons de H^+ e I^- são comparados com os dados obtidos experimentalmente na Fig. 5.24. As simulações reproduzem o comportamento do ganho do *gep* em função de sua tensão, bem como com a tensão de aceleração. Entretanto, as simulações fornecem valores superiores de N/N_0 em relação aos dados experimentais, sendo maiores as discrepâncias para baixas tensões de aceleração.

Uma possível explicação para este resultado é o uso de um modelo ideal para o potencial do *gep*, que não leva em consideração os possíveis desvios das trajetórias dos íons nas partes inicial e final do dispositivo, devido às deformações nas linhas de campo eletrostático. Com auxílio do programa SIMION é possível modelar um *gep* mais realístico e observar as deformações das equipotenciais nestas regiões, como no exemplo da Fig 5.25. Devido a estas perturbações, um íon é acelerado nas proximidades da entrada do *gep*, e desacelerado em sua saída.

Para um futuro aperfeiçoamento da simulação, arquivos poderão ser gerados com o programa SIMION, contendo uma matriz de pontos com o mapeamento do potencial nas porções inicial e final do *gep*, e usados como arquivos de entrada do programa para o cálculo das trajetórias dos íons nestas regiões.

Fig. 5.21 - Trajetórias de íons H^- simuladas com o programa SIMION. Os íons H^- são emitidos com energia de 3,5 eV e ângulos de emissão $\theta_0 = 36^\circ$ e $\phi_0 = 20^\circ$, para tensões de -100V (a), -3kV (b) e -8kV (c). Nos detalhes são apresentados, à esquerda, a porção inicial do tubo de voo e, à direita, a projeção no plano xy das trajetórias no final do tubo.

Fig. 5.22 - Comportamento do ganho do gep em função da tensão do fio e da tensão de aceleração, medido para íons H^- (a), I^- (b), CsI_2^- (c) provenientes de uma amostra de CsI .

(a)

(b)

Fig. 5.23 - Projeções das trajetórias no plano xy de íons H^- com energia inicial de 3,5 eV, sujeitos à influência do guia eletrostático de partículas colocado a + 20 V. As trajetórias são obtidas por integração numérica das equações de movimento.

Fig. 5.24 - Comparação dos resultados experimentais do ganho do gep com os obtidos por simulações (curvas contínuas), para os íons H^- (a) e Γ (b).

Fig. 5.25 - Detalhe da porção inicial do tubo de vóo mostrando as deformações nas eqüipotenciais devido a efeitos de borda do gep de dimensão finita.

6. Análise do Peptídeo γ -Glutamil-S-Metilcisteína

Em colaboração com o Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP e com o Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da USP foi analisado o peptídeo γ -glutamil-S-metilcisteína ($C_9H_{16}O_5N_2S$) de massa 264,30 u.m.a. com o espectrômetro de massa por tempo de voo. O interesse no estudo desse peptídeo sulfurado não-protéico reside no fato de o mesmo estar presente, em quantidade variável, em diversas sementes de leguminosas comestíveis, incluindo o feijão, e ser suspeito de causar efeitos tóxicos semelhantes aos descritos para a S-metilcisteína [Gia98].

Uma solução da amostra foi gotejada sobre um substrato de Mylar aluminizado de 1,5 μ m de espessura, formando, após a sua secagem, um depósito de 40 nmoles do material. A seguir, a amostra foi introduzida no espectrômetro de massa e analisada por um período de 5 horas a uma tensão de aceleração de +10 kV. A Fig. 6.1 (a) apresenta o espectro de massa obtido e a Fig. 6.1 (b) mostra em detalhe a região de interesse, onde foram indentificados alguns dos prováveis íons formados pela amostra. Na Tabela 6.1 estão listados os íons identificados e suas respectivas massas medidas, tendo sido utilizados para a calibração os picos dos íons H^+ , H_2^+ e Na^+ , não apresentados no espectro, e as massas calculadas pelas fórmulas associadas aos íons.

Após esta primeira análise, a amostra foi retirada do espectrômetro e sobre ela foram gotejados 5 μ l de uma solução de H_2O_2 (30%), com a intenção de provocar a oxidação do material e mostrar a possibilidade da técnica na análise de produtos resultantes de reações químicas realizadas "in situ". A Fig. 6.2 (a) apresenta o espectro de massa obtido após um período de análise de 2 horas e a Fig. 6.2 (b) mostra em detalhe a região de interesse. Na Tabela 6.2 estão listados os íons prováveis e as massa calculadas pela calibração e por suas fórmulas. Após o processo de oxidação, os picos formados pelos íons $(M+H)^+$, $(M+Na)^+$, $(M+2Na-H)^+$ e $(M+3Na-2H)^+$ foram praticamente eliminados, restando apenas as formas oxidadas e aparecendo com maior intensidade o pico de $(M+Na+2O)^+$.

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Δm
$(M+H)^+$	265,31	265,30	0,01
$(M+O+H)^+$	281,303	281,269	0,034
$(M+Na)^+$	287,29	287,30	-0,1
$(M+Na+O)^+$	303,285	303,260	0,025
$(M+2Na-H)^+$	309,272	309,277	-0,005
$(M+O+2Na-H)^+$	325,267	325,266	-0,001
$(M+3Na-2H)^+$	331,22	331,24	-0,02
$(M+2O+2Na-H)^+$	341,262	341,256	0,006
$(M+O+3Na-2H)^+$	347,25	347,29	-0,004

Tabela 6.1 - Massas dos prováveis íons positivos (u.m.a.) provenientes de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me) a + 10kV. Os picos dos íons H^+ , H_2^+ e Na^+ foram usados na calibração.

Íon Provável	Massa Calculada	Massa Medida	Δm
$(M+O+H)^+$	281,30	281,34	-0,04
$(M+Na+O)^+$	303,28	303,30	-0,02
$(M+Na+2O)^+$	319,28	319,22	0,06
$(M+O+2Na-H)^+$	325,27	325,28	-0,01
$(M+2O+2Na-H)^+$	341,26	341,21	0,05
$(M+O+3Na-2H)^+$	347,25	347,30	-0,05

Tabela 6.2 - Massas dos prováveis íons positivos (u.m.a.) provenientes de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me), após oxidação com 5 μ l de H_2O_2 (30%), a + 10 kV. Os picos dos íons H^+ , H_2^+ e Na^+ foram usados na calibração.

Fig. 6.1- (a) Espectros de massa de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me) depositada sobre um substrato de mylar aluminizado, a uma tensão de + 10kV. Em (b) detalhe da região de interesse.

Fig. 6.2- (a) Espectro de massa de uma amostra de γ -Glu-Cys (S-Me) após sua oxidação "in situ" com $5\mu\text{l}$ de H_2O_2 (30%), a uma tensão de +10kV. Em (b) detalhe da região de interesse.

7. Conclusões

Este trabalho consistiu no desenvolvimento de um espectrômetro de massa por tempo de voo que utiliza a técnica de dessorção e ionização de moléculas por bombardeamento de íons rápidos. Sua realização possibilitou uma visão geral das várias etapas ligadas a um projeto na área de instrumentação, desde a sua concepção até os testes de caracterização do equipamento.

Numa primeira etapa foram feitos a montagem e testes de estanqueidade da câmara de vácuo do sistema, que alcançou uma pressão final de 2×10^{-7} torr a 3×10^{-7} torr. Em seguida, foram executados as montagens e ajustes das partes mecânicas internas de movimentação do porta-amostras e da fonte radioativa, como também testes de isolamento elétrico desse conjunto. Finalizadas as montagens, foram instalados o tubo de voo com o guia eletrostático de partículas e os sistemas de detecção.

Após esta fase preliminar, seguiu-se uma série de medidas para o ajuste da eletrônica associada ao instrumento, o que permitiu um entendimento das capacidades e limitações do sistema de aquisição de dados.

Nos estudos que se seguiram, amostras-padrão foram analisadas para a determinação da precisão do espectrômetro na determinação de massas. A escolha dos íons para a calibração dos espectros deve ser feita de maneira criteriosa, sendo esta escolha dependente do tipo de amostra analisada. Entretanto, íons como H^+ , H_2^+ , Na^+ , H^- , C^- e C_2H^- , presentes na maioria dos espectros, são normalmente usados no processo inicial de calibração, podendo ser realizados refinamentos, com a utilização de outros íons identificados no espectro da amostra.

No caso da amostra de CsI, as diferenças obtidas entre as massas medidas e as massas calculadas pelas fórmulas químicas dos íons foram de 0,01 u.m.a., para a região de massa de algumas u.m.a. até centenas de u.m.a., e de 0,1 u.m.a., para massas entre 500 u.m.a. e 1000 u.m.a. Os mesmos valores para as diferenças de massas foram encontrados no caso dos íons emitidos de uma amostra do aminoácido fenilalanina.

Para os peptídeos Angiotensin I e LHRH, a precisão na determinação de suas massas ficou em torno de 1 u.m.a. A distribuição isotópica dos elementos constituintes

dessas moléculas causam dificuldades na determinação de suas massas, devido à sobreposição de vários picos, não resolvidos pelo equipamento. Entretanto, os valores medidos das massas possuem precisão suficiente para o uso do instrumento na verificação de possíveis falhas durante os processos de síntese de peptídeos e proteínas.

O uso de amostras-padrão também possibilitou o estudo da resolução do espectrômetro de massa. No caso da amostra de CsI foi obtida uma resolução de $m/\Delta m = 1600$ para o íon Cs_4I_3^+ ($m = 912,32 \pm 0,02$ u.m.a.) e $m/\Delta m = 1800$ para o íon Cs_3I_4^- ($m = 906,38 \pm 0,02$ u.m.a.). Também foi estudado o comportamento da resolução em função da tensão de aceleração dos íons secundários, tendo sido analisadas as possíveis fontes de sua limitação. Foi visto que, para tensões entre 2 kV e 10 kV, a distribuição de velocidades iniciais dos íons é uma das principais causas da limitação da resolução do sistema e, para tensões acima de 10 kV, as perdas da resolução são associadas ao sistema eletrônico e à distribuição bimodal de velocidades da fonte de ^{252}Cf .

Na região de íons com pequena massa o espectrômetro mostrou ser capaz de separar picos com diferenças de massa de $\Delta m = 0,041$ u.m.a., no caso de uma amostra constituída por uma folha de mylar aluminizado. Para a verificação da correta identificação dos picos no espectro de massa da amostra, sacarose foi depositada sobre o substrato de mylar, acentuando o pico de C_2H_3^+ . Tal procedimento exemplifica a possibilidade dessa técnica, que permite novas análises após modificações na amostra.

A transmissão do espectrômetro foi estudada em função da tensão de aceleração dos íons secundários e modelada com o auxílio de um programa desenvolvido para simular as trajetórias desses íons, levando-se em conta a geometria do sistema. Das simulações foi possível concluir que, operando o espectrômetro a tensões de aceleração da ordem de 18 kV, a transmissão de íons com energias iniciais médias entre 1 eV e 2 eV é de 75% e com energias entre 3 eV e 4 eV é de 50%. Nestes resultados não foram consideradas as eficiências de detecção e de produção de íons secundários da amostra pelos produtos de fissão.

Com o objetivo de aumentar a transmissão dos íons secundários, foi instalado no tubo de vóo do espectrômetro de massa um guia eletrostático de partículas (*gep*). O ganho da transmissão também foi modelado com o uso de um programa desenvolvido para

simular as trajetórias dos íons secundários sujeitos à ação do *gep*, reproduzindo parcialmente o comportamento dos resultados experimentais. Nas medidas do ganho deste dispositivo, aumentos de 50% foram obtidos na transmissão dos íons H^+ , I^- e CsI_2^- , a uma tensão de aceleração de $-18kV$.

Como continuidade do trabalho está programada a inclusão de uma fonte de ionização por fótons de ultravioleta para uso do espectrômetro de massa com a técnica *MALDI* [Lim98]. Para isso, uma janela de quartzo será instalada em uma das entradas laterais da câmara de vácuo, que permitirá a passagem de um pulso de laser para o interior do sistema. Deste modo, será possível estender o limite de análise de massas para a faixa de 10^4 u.m.a. Outra modificação necessária para o uso dessa técnica é a instalação, no analisador de massa por tempo de voo, de um sistema de deflexão de íons secundários para eliminar a interferência de íons de pequena massa produzidos em grande quantidade pelo pulso do laser, prejudicando a detecção de íons de grandes moléculas. Para uso com a técnica *MALDI*, também será desenvolvido um sistema de aquisição de dados baseado em um digitalizador de pulsos (*Transient Recorder*).

Paralelamente a essas implementações, serão realizados estudos para a construção de um novo espectrômetro de massa possuindo um espelho eletrostático que permitirá medidas com resolução em massa superior à do atual sistema [Hir98].

Além dos esforços voltados à área de instrumentação, deverão ser intensificados os intercâmbios com grupos ligados à área de bioquímica, que têm interesse na técnica de espectrometria de massa para a caracterização de biomoléculas. Nesse sentido, contatos estão sendo feitos com grupos da Escola Paulista de Medicina (UNIFESP), do Instituto de Química da USP e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, tendo sido realizado, em colaboração com os dois últimos, um trabalho relacionado à análise do peptídeo γ -glutamil-S-metilcisteína. Como continuidade, um programa de estudos relativos à análise de substâncias clorofiladas extraídas da soja será realizado.

8. Referências

- [All89] - M.P. Allen and D. J. Tildesley, "Computer Simulation of Liquids", Clarendon Press, Oxford, UK, 1989.
- [AN34] - Experiments in Nuclear Science - AN34 Laboratory Manual, EG&G Ortec, 1984, EUA.
- [Bar81] - Michel Barber, Robert S. Bordoli, R. D. Sedgwick and A. N. Tyler, J. C. S. Chem. Comm., (1981)325.
- [Bea89] - R. C. Beavis, B. T. Chait, Rapid Commun. Mass Spectrometry, 3(1989)233.
- [Bea90] - R. C. Beavis, B. T. Chait, Anal. Chem., 62(1990)1836.
- [Bec69] - H. D. Beckey, J. Mass Spectrometry and Ion Physics, 2(1969)500.
- [Ben76] - A. Benninghoven, D. Jaspers and W. Sichtermann, Appl. Phys., 11(1976)35.
- [Ber89] - T. Bergmann, T. P. Martin and H. Schaber, Rev. Sci. Instrum., 60(1989)347.
- [Bet94] - Gerhard Betz, Karl Wien, Int. J. of Mass Spectrometry and Ion Process, 140(1994)1-110.
- [Beu74] - R. J. Beuhler, E. Flanigan, L. J. Greene and L. Friedman, J. of the American Chemical Society, 96(1974)3990.
- [Beu77] - R. J. Beuhler; L. Friedman; Int J. Mass Spectr. & Ion Physics 23(1977)81.
- [Bie92] - K. Biemann, Annu. Rev. Biochem., 61(1992)977.
- [Bit87] - I.S. Bitensky and E.S. Parilis, Nuclear Instr. and Methods in Physics Research B 21(1987)26.
- [Bru87] - C. Brunnée, International Journal of Mass Spectrometry and Ion Process, 76(1987)125.
- [Cha81] - B. T. Chait, W. C. Agosta and F. H. Field, International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics, 39(1981)339.
- [Cha82] - B. T. Chait, B. F. Gisin and F. H. Field, J. Am Chem. Soc., 104(1982)5157-5162.
- [Cha86] - B. T. Chait and F. H. Field, Biochem. Biophys. Res. Commun., 134(1986)420.

- [Cho89] - Swapan K. Chowdhury and Brian T. Chait, *Analytical Biochemistry*, 180(1989)387-395.
- [Cle73] - H.G. Clerc, H.J. Gehrhardt, L. Richter & K.H. Schmidt; *Nuclear Instruments and Methods*, 113(1973)325-331.
- [Cov90] - S. Cova and G. Ripamonti, *Rev. Sci. Instrum.* 61(1990)1072.
- [Cov91] - S. Cova, M. Ghioni and F. Zappa, *Rev. Sci. Instrum* 62(1991)2596.
- [Cov93] - S. Cova, M. Ghioni and F. Zappa and A. Lacaita, *Rev. Sci. Instrum* 64(1993)118.
- [Dav88] - K.V Davis, E.F. da Silveira and E. A. Schweikert, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*273(1988)203.
- [Dem91] - P. Demirev, G. Brinkmalm, D. Fenyö, Per Håkansson and B.U.R Sundqvist, *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* 111(1991)41.
- [Ens89] - W Ens, B.U.R Sundqvist, Per Håkansson, A. Hedin and G. Jonsson, *Phys. Rev. B* 39(1989)763.
- [Ens92] - W. Ens, K. G. Standing and A. Verentchikov, "Digital and Analog Methods for Time of Flight Mass Spectrometry", *Proceedings of the International Conference on Instrumentation for Time of Flight Mass Spectrometry*, LeCroy Corporation, Chestnut Ridge, New York, November 11-12, 1992, Editors George J. Blunar e Robert J. Cotter, 1992, pag. 137.
- [Eri96] - J. Eriksson, P. Demirev, P. Håkansson, R. M. Papaléo, and B.U.R. Sundqvist, *Phys. Rev. B*, 54(1996)15025.
- [Fen91] - Catherine Fenselau, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* 20(1991)205.
- [Gen88] - P. W. Geno, tese de doutorado, Departamento de Química, Texas A&M University, College Station, Texas, USA, 1988.
- [Gen89] - P. W. Geno & R. D. Macfarlane, *Int J of Mass Spectr. & Ion Process* 92(1989)195.
- [Gey76] - C. Geyari, *Vacuum*, no.7, 26(1976)287.
- [Gia98] - M. de L. R. Giada, M. T. M. Miranda and U. M. L. Marquez, *Food Chemistry* 61(1998)177.
- [Gib94] - D.K. Gibson & I.D. Reid; *Journal of Physics E: Scientific Instruments*; 17(1994)443.

- [Häk92] - Per Håkansson, "Desorption Experiments on Organic Insulators with High Energy Particle Beams", em *Fundamental Process in Sputtering of Atoms and Molecules - SPUT92*, Matematisk Fysiske Meddelelser, 43(1992)593.
- [Har90] - Alex G. Harrison e Robert J. Cotter, "Methods of Ionization", *Methods in Enzymology: Mass Spectrometry*, Editor James A. McCloskey, Academic Press, Inc., New York, 193(1990)1.
- [Hed87] - A. Hedin, P. Håkansson e B. U. R. Sundqvist - *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Process*, 75(1987)275-289.
- [Hel81] - O. A. M. Helene e V. R. Vanin, "Tratamento Estatístico de Dados em Física Experimental", Ed. Edgar Blucher Ltda., São Paulo, Brasil, 1981.
- [Hil87] - John Chester Hill, Phd Dissertation, "Californium-252 Plasma Desorption Mass Analysis of Proteins Adsorbed on Polymer and Modified-Polymer Surfaces", Texas A&M University, 1987, Texas, USA.
- [Hil88] - M. Karas and F. H Hillenkamp, "Photochemical Reaction Pathways and their Relevance to Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectra", em *Ion Formation from Organic Solids IV*, editado por A. Benninghoven, John Wiley & Sons, New York, 1988, p. 103.
- [Hir98] - J. H. Hirata, comunicação interna.
- [Hof96] - E. de Hoffmann, J. Charette e V. Stroobant, "Mass Spectrometry - Principles and Applications", John Wiley & Sons, New York, 1996.
- [Hoo63] - R.H. Hooverman, *J of Applied Physics* 34(1963)3505.
- [Jen90] - Keith R. Jennings and Gregory G. Dolnikowski, "Mass Analyzers", *Methods in Enzymology: Mass Spectrometry*, Editor James A. McCloskey, Academic Press, Inc., New York, 193(1990)37.
- [Joh87] - R. E. Johnson, *Int. Journal of Mass Spect. and Ion Proc.*, 78(1987)357.
- [Joh89] - R. E. Johnson, B. Sunqvist, A. Hedin and D. Fenyö, *Phys. Rev. B*, 40(1989)49.
- [Joh82] - R. E. Johnson and W. L. Brown, *Nuclear Instruments and Methods*, 198(1982)103.
- [Jon86] - G. P. Jonsson, A. B. Hedin, P. L. Håkansson, B. U. R. Sundqvist, B. G. S. Sæve, P. F. Nielsen, P. Roepstorff, K. E. Johansson, I. Kamensky and M. S. L. Lindberg, *Anal. Chemistry* 58(1986)1084.

- [Jon89] - G. P. Jonsson, A. B. Hedin, P. L. Håkansson, B. U. R. Sundqvist, H. Bennich, P. Roepstorff, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 3(1989)190.
- [Kno89] - F. G. Knoll- *Radiation Detection and Measurement*, John Wiley & Sons, New York, second edition (1989).
- [Koi91] - K. Koide, E.L.A. Macchione, M.A.L. Leite, J.H. Hirata, V. Stojanoff, A.C. Lanza, I.P. Cavalcante, F.T. Degasperis e O. Dietzsch, *caderno de resumos da Escola Latino Americana de Física (ELAF91)*, Caxambú, Minas Gerais, 1991.
- [Lim98] - E. R. Lima, "Desenvolvimento de um Espectrometro de Massa utilizando o Método MALDI", projeto de dissertação de mestrado, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- [Lan93] - A. C. Lanza, K. Koide, E.L.A. Macchione, J. H. Hirata, S.S. Vasconcelos e O. Dietzsch, XVI Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, Programas e Resumos, p. 185, Caxambú, Minas Gerais, 1993.
- [Luc87] - R. R. Lucchese, *J. Chem. Phys.*, 86(1987)443.
- [Mac76] - R. D. Macfarlane and D. F. Torgerson, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics*, 21(1976)81-92.
- [Mac83] - R. D. Macfarlane, *Anal. Chem.*, 55(1983)1247A.
- [Mac87] - R. D. Macfarlane and D. L. Jacobs, "Influence of Substrate on Kinetic Energy Distributions in ^{252}Cf -Plasma Desorption Mass Spectrometry", *Proceedings of the Fourth International Conference on Ion Formation from Organic Solids (IFOS IV) - Mass Spectrometry of Involatile Material*, Münster, Federal Republic of Germany, September 21-23, 1987, Editor A. Benninghoven, pg. 71.
- [Mac94] - E. L. A. Macchione, K. Koide, J.H. Hirata, S.S. Vasconcelos, A.C. Lanza, I.P. Cavalcante, F.P. Zandona e O. Dietzsch. *Workshop sobre Métodos Avançados para Análise Estrutural de Biomoléculas*, caderno de resumos, p. 19, São Carlos, São Paulo, 1994.
- [Mam73] - B.A. Mamyrin, V.I. Karataev, D.V. Shmikk, and V.A. Zagulin, *Sov. Phys.-JETP*, 37(1973)45.
- [Man90] - M. Mann, H. Rahbek-Nielsen and P. Roepstorff, "Practical Aspects of Calibration and Effect of Non-Protein Compounds on Spectrum Quality in Protein Analysis by PDMS", *Proceedings of the Fifth International Conference on Ion Formation from Organic Solids (IFOS V)*, Löfvånger, Sweden, June 18-21, 1989, Editor A. Hedin, B. U. R. Sundqvist, A. Benninghoven, (1990), p. 47.

- [McI91] - Thomas Shane McIntire - Msc. Thesis - High Performance ^{252}Cf Plasma Desorption Mass Spectrometry - 1991 - Texas A&M University, USA.
- [McN86] - Catherine J. McNeal e Ronald D. Macfarlane, J. Am. Chem. Soc., 108(1986)2132-2139.
- [Mos89] - R. Moshhammer, R. Matthäus, K. Wien and G. Bolbach, "Energy and Angular Distributions of Secondary Ions Ejected from Organic Solids by MeV Ions", Proceedings of the 5th International Conference on Ion Formation from Organic Solids (IFOS V), A. Hedin, B.U.R. Sundvist, A. Benninghoven editors, Lövanger, Sweden, 1989, Wiley, Chichester, 1990, p. 17.
- [Mun66] - M. S. B. Munson e F. H. Field, Journal of the Chemical Society, 88(1966)2621.
- [Nie87] - P. F. Nielsen e P. Roepstorff, "Sensitivity as Function of Sample Preparation Technique in Plasma Desorption Mass Spectrometry", Proceedings of the Fourth International Conference on Ion Formation from Organic Solids (IFOS IV) - Mass Spectrometry of Involatile Material, Münster, Federal Republic of Germany, September 21-23, 1987, Editor A. Benninghoven, pg. 87.
- [Oak67] - N.S. Oakey and R. D. Macfarlane, Nuclear Instruments and Methods 49(1967)220.
- [Ove90] - A. Overberg, M. Karas, U. Bahr, R. Kaufmann e F. Hillenkamp, Rapid Commun. Mass. Spectrom. 5(1990)128.
- [Owe92] - K. G. Owens and R. C. King, "Ion Flight Time Calculations and Instrument Design", em Proceedings of the International Conference on Instrumentation for Time-of-Flight Mass Spectrometry, Editores George J. Blunar e Robert J. Cotter, Lecroy Corporation, Chestnut Ridge, New York, 1992, USA.
- [Pau91] - Paul D. Mudget - Phd. Dissertation - "Characterization of Ion Desorption and Decay in ^{252}Cf Plasma Desorption Mass Spectrometry", 1991 - Texas A&M University, USA.
- [Pin93] - R. R. Pinho, Phd Thesis, "Estudo da Dessorção Iônica Induzida pelo Impacto de Íons Rápidos sobre Fenilalanina", Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 1993.
- [Pos78] - M.A. Posthumus, P.G. Kistemaker, H. L.C. Meuzelaar e M.C. de Brauw, Anal. Chem., 50(1978)985.
- [Pri90] - D. Price and G.J. Milnes, Int. Journal of Mass Spect. and Ion Proc., 99(1990)1.

- [Rei92] - C. T. Reimann, "Theoretical Models for Sputtering and Desorption of Bio-Organic Molecules under Collisional and Electronic Excitation by Ion Impact", em *Fundamental Process in Sputtering of Atoms and Molecules - SPUT92*, Matematisk Fysiske Meddelelser, 43(1992)593.
- [Rig87] - F. Riggi, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* B22(1987)588.
- [Sil91] - E. F. da Silveira e E. A. Schweikert, "Desorção de Íons Induzida por Feixe de Partículas Carregadas. Mecanismos e Espectrometria de Massa.", sumário de aulas ministradas na Escola Latino Americana de Física - ELAF91, Caxambú, Brasil, 1991.
- [Sta92] - K. G. Standing, W. Ens and X. Tang, "Some Problems in Time-of-Flight Measurements", em *Proceedings of the International Conference on Instrumentation for Time-of-Flight Mass Spectrometry*, Editores George J. Blunar e Robert J. Cotter, Lecroy Corporation, Chestnut Ridge, New York, 1992, USA.
- [Sun85] - B. Sunqvist, A. Hedín, P. Håkansson, L. Kamensky, M. Salehpour and G. Sæwe, *Int. J. of Mass Spect. and Ion Proc.*, 65(1985)69.
- [Sun91] - B. U. R. Sundqvist, "Eletronic Sputtering of Large Organic Molecules and Its Application in Biomolecular Mass Spectrometry", sumário de aulas ministradas na Escola Latino Americana de Física - ELAF91, Caxambú, Brasil, 1991.
- [Tor74] - D. F. Torgerson, R. P. Skowronski and R. D. Macfarlane, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 60(1974)616.
- [Tsa89] - Anthony Tsarbopoulos, *Peptide Research*, 2(1989)258.
- [Wai93] - Robin Wait, *Methods in Molecular Biology*, vol. 17, *Spectroscopic Methods and Analyses: NMR, Mass Spectrometry and Metalloprotein Techniques*. Editores C. Jones, B. Mulloy e A. H. Thomas. 1993 Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA.
- [Wea91] - CRC Handbook of Chemistry & Physics - First Student Edition, Robert C. Weast Editor, 3ª Edição, 1991, CRC Press, USA.
- [Wiz79] - J.L. Wiza, *Nucl. Instr. Meth.* 188(1979)587.
- [Yam88] - M. Yamashita e J.B. Fenn, *Phys. Chem.* 88(1988)4451.
- [Zie88] - J.F. Ziegler, J.P. Biersack e G. Cuomo, Programa TRIM 88, versão 4.4.
- [Zub97] - R. A. Zubarev, P. Håkansson, B. U. R. Sunqvist and V. L. Talrose, *Rapid Communication in Mass Spectrometry* 11(1997)63-70.