



26
2. folio

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE PESOS MOLECULARES POR CROMATO-
GRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA EFICIENCIA DE MUESTRAS
IRRADIADAS DE CIANUROS Y NITRILOS SIMPLES

T E S I S

Que para obtener el Título de
Q U I M I C O
P r e s e n t a

CARLOS HUMBERTO JUAREZ GARCIA



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

La irradiación Gamma de Cianuros, Nitrilos, y otras moléculas sencillas de importancia prebiológica producen una amplia variedad de oligómeros.

El objetivo primordial de este trabajo fue determinar el peso molecular de los oligómeros formados cuando soluciones acuosas de HCN, NH_4CN , CH_3CN , $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$, Dicianamida y Glicina libres de O_2 y en concentraciones de 1×10^{-3} - 2×10^{-1} M se expusieron a la irradiación gamma, proveniente de una fuente de ^{60}Co . Así mismo, se estudió el efecto de la dosis y la concentración de los reactivos en la formación de los productos radiolíticos de carácter oligomérico. El estudio de la dosis se extendió en el intervalo de 2.5 - 600 Kgy.

Los análisis conducentes a la determinación del peso molecular de los productos radiolíticos, se realizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia. Para esto se contó con dos columnas de permeación en gel, las cuales fueron calibradas previamente con polímeros solubles en agua y de peso molecular conocido.

Los resultados de esta investigación nos muestran

que la radiación ionizante produce polimerización de las moléculas antes mencionadas aún en soluciones acuosas muy diluídas y a bajas dosis de irradiación, dando varios oligómeros cuyos pesos moleculares oscilan entre 10,000 - 32,000 daltones, encontrándose también la relación entre el comportamiento de cada producto y la dosis de irradiación.

CONTENIDO

CAPITULO I. IMPORTANCIA DE LOS CIANUROS Y NITRILOS SIM- PLES EN LA QUIMICA PREBIOTICA	1
A. Algunos aspectos sobre evolución química	1
B. Fuentes de energía para las síntesis orgánicas en la tierra primitiva	4
C. La radiación ionizante como fuente energética para la evolución química	6
D. Los cianuros y nitrilos simples como materia- les primordiales	8
1. Producción de Biomonómeros	8
2. Biopolímeros	9
3. Métodos Térmicos en la polimerización de HCN	10
4. Polimerización de HCN, CH ₃ CN, C ₂ H ₅ CN y NH ₄ CN inducida por la radiación ionizante.	12
CAPITULO II. METODOS PARA LA DETERMINACION DE PESOS MO- LECULARES	14
A. Medición de las propiedades coligativas	14
1. Descenso de la presión de vapor	15
2. Disminución de la temperatura de fusión y aumen- to de la temperatura de ebullición	15

3.	Medición de la presión osmótica	16
B.	Medida del número de grupos terminales	18
C.	Dispersión de la luz	19
D.	Viscosimetría	20
E.	Métodos cromatográficos	21
1.	Generalidades sobre cromatografía de líquidos	21
2.	Cromatografía de exclusión	22
CAPITULO III. METODOS EXPERIMENTALES		25
A.	Purificación del agua	25
B.	Preparación del material de vidrio para la irradiación	26
C.	Reactivos	26
1.	Reactivos usados en la calibración de las columnas cromatográficas	26
2.	Reactivos usados en la irradiación	26
i)	Acido cianhídrico y cianuro de amonio	26
ii)	Otros reactivos	27
D.	Procedimiento para la irradiación	27
E.	Condiciones cromatográficas	27
F.	Curva de calibración	28
G.	Análisis cualitativo de las muestras irradiadas	30
H.	Análisis de HCN remanente	30

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION	32
A. Sistema glicina y clicina dicianamida	32
1. Glicina	32
2. Glicina dicianamida	33
B. Sistema de cianuros y nitrilos	34
1. Sistemas HCN y NH_4CN	34
2. Sistema de HCN + CH_3CN + $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$	36
C. Mecanismos de formación	37
1. Sistema glicina	38
2. Sistema de cianuros y nitrilos	39
CAPITULO V. CONCLUSIONES	43
CAPITULO VI. REFERENCIAS	45

CAPITULO I

IMPORTANCIA DE LOS CIANUROS Y NITRILOS SIMPLES EN LA QUIMICA PREBIOTICA

A. Algunos aspectos sobre evolución química.

Se puede decir que el planteamiento del problema sobre el posible origen de la vida es tan antiguo como el hombre mismo. Las teorías que han tratado de explicarlo son de las más variadas, y muchas han desaparecido y otras aún persisten. Es hasta principios del siglo XX en que este problema es replanteado y atacado desde un punto de vista científico. Fueron los trabajos de A.I. Oparin (1924) y J.B.S. Haldane (1929) los que dieron comienzo a la nueva era de investigación sobre el origen de la vida. Lo innovativo e importante de sus trabajos es que proponen un mecanismo evolutivo desde el comienzo mismo del universo y no dejan el problema a la mera casualidad o al azar.

Para tratar al problema como un proceso evolutivo es necesario buscar la explicación de como formar compuestos orgánicos y biomoléculas, en ausencia de seres vivos.

Los avances en la Astronomía, Química, Geología y en general de todas las ciencias naturales, impulsaron la investigación hacia una etapa experimental. Uno de los primeros experimentos de este tipo fue realizado en Berkeley en 1950 por el grupo de investigadores dirigido por M. Calvin. Estos experimentos no utilizaron una atmósfera completamente reductora, sino compuesta por CO_2 , agua, Fe (II) en solución e hidrógeno como el agente reductor primario, la mezcla se irradió con iones de helio producidos en un ciclotrón y con energía de 40 MeV. Los experimentos mostraron la formación de ácido fórmico y formaldehído (Garrison, 1951). Dos años después de este experimento Stanley Miller y H.C. Urey en la Universidad de Chicago, utilizando una mezcla de hidrógeno, metano, amoníaco y vapor de agua, la sometieron a la acción de descargas eléctricas por períodos de una semana o más y al final se analizó la mezcla gaseosa encontrando además de los gases iniciales N_2 , CO_2 , y CO . El condensado se analizó también, el cual contenía cantidades significativas de compuestos orgánicos solubles en agua. De esta mezcla Miller identificó α -amino ácidos incluyendo algunos de tipo proteico y también encontró ácidos carboxílicos que se conoce ocurre en los seres vivos (Miller, 1955; 1957; Miller y Urey, 1959). Desde entonces muchos de estos experimentos denominados abióticos han sido publicados (Mi-

ller y Orgel, 1974).

Los estudios modernos sobre el origen de la vida coinciden en señalar tres grandes etapas evolutivas.

i) Evolución Química:

El período que comprende desde la formación de la tierra hasta la síntesis de compuestos orgánicos monoméricos y poliméricos de importancia biológica sin la participación de seres vivos.

ii) Evolución Prebiológica y Protobiológica:

Período que contempla la formación y transformación de sistemas polimoleculares o precelulares abiertos capaces de intercambiar materia y energía con los alrededores. Estructuras tales que condujeron a la formación de las primeras formas vivas y eubiontes.

iii) Evolución Biológica:

Etapa en la cual desde los primeros seres vivos hasta los actuales se adaptan al medio ambiente cambiando sus funciones y estructuras, teniendo como resultado la continuidad y supervivencia de las especies mejor adaptadas (selección natural).

Los avances en la radioastronomía nos han dado la prueba de que moléculas orgánicas sencillas se pueden sin

tetizar abióticamente ya que cientos de éstas se han detectado en el medio interestelar, apoyando así los experimentos de síntesis prebiótica de biomoléculas, (Brown, R. D. 1981; Field, y colaboradores., 1978).

El proceso de la evolución química representa la base fundamental para el surgimiento de materia viva, ya que es en este período cuando todas las biomoléculas y biopolímeros son formados a partir de moléculas sencillas disponibles en la tierra y regidas bajo las leyes físicas y químicas universales.

Aportaciones de varias disciplinas, permiten en la actualidad tener una base más sólida de las ideas expresadas por Oparin y un conocimiento de las condiciones de la tierra primitiva donde el fenómeno de la vida tuvo lugar.

B. Fuentes de Energía para las Síntesis Orgánicas en la Tierra Primitiva.

Las fuentes de energía disponibles en la tierra primitiva para las síntesis orgánicas, que han sido propuestas, son la radiación ultravioleta del sol, las descargas eléctricas de la atmósfera, la energía térmica proveniente de los volcanes y manantiales térmicos, la radioactividad, y las ondas de choque producidos por el paso de un meteoro a través de la atmósfera y su impacto con la su-

perficie de la hidrósfera. La Tabla I resume las probables fuentes de energía.

TABLA I

ENERGIA DISPONIBLE PARA LA SINTESIS DE COMPUESTOS ORGANICOS *		
FUENTES	ENERGIA (Cal cm ⁻² Año ⁻¹)	EXPERIMENTOS SIMULADOS
RADIACION SOLAR:		
3 000 A	3 400	
2 500	570	LAMPARAS ULTRAVIOLETA
1 500	1.7	
RELAMPAGOS	4	DESCARGAS ELECTRICAS
RADIATIVIDAD	0.8	CICLOTRON FUENTES GAMMA
CALOR DE VOLCANES	0.13	HORNOS

* (Miller y Urey, 1959)

De estas fuentes a la que se le da mayor importancia es a la radiación proveniente del sol, la cual produce un total de 260,000 cal/cm² año, no obstante, la mayoría de

ésta radiación es removida del flujo solar incidente. Así se ha estimado que la contribución de luz ultravioleta de longitudes de onda menores a 250 nm es de $570 \text{ cal/cm}^2 \text{ año}$. (Miller y Urey, 1959).

La estimación de la cantidad de energía disponible por las otras fuentes es difícil de estimar y depende del modelo empleado para calcularla. Sin embargo, hay que tener en cuenta que también, pudieron contribuir.

C. La Radiación Ionizante como Fuente Energética para la Evolución Química.

La importancia de la radiación ionizante ha sido propuesta con base a cálculos del decaimiento radioactivo de elementos tales como potasio - 40, uranio - 235, uranio - 238 y torio - 232, todos ellos con vidas medias del orden de 10^9 años o más, (Negrón - Mendoza, 1980).

La conclusión generalmente aceptada sobre la cantidad de energía disponible por la radiación ionizante es que pudo ser del mismo orden de magnitud de las descargas eléctricas, las ondas de choque y la radiación ultravioleta con longitudes de onda menores a 150 nm (Miller, 1976).

Estos modelos no toman en cuenta la probable contribución de reactores nucleares naturales como el encontrado

en las minas de uranio en Gabon (Africa) y los elementos radioactivos producidos por éstos (Draganić y Draganić, 1980; 1983).

Hay muchas razones que indican que los cambios químicos inducidos por la radiación ionizante pudieran ser de importancia para la química prebiótica en solución acuosa, ya que este tipo de fuente energética tiene varias ventajas respecto a otras fuentes propuestas:

i) La energía de la radiación se deposita primeramente en las moléculas de agua a lo largo de la trayectoria de ésta.

ii) Las especies reactivas formadas a partir de las moléculas del agua reaccionan con el soluto para dar los productos radiolíticos, y estos pueden difundir lejos de la trayectoria de la radiación incidente, y escapar a la degradación producida por ésta.

iii) Aún en soluciones muy diluídas se pueden observar cambios químicos.

iv) Los efectos observados son independientes de la concentración, pH, temperatura, etc.

v) Se puede calcular exactamente la cantidad de energía depositada en cada molécula.

(Draganić y Draganić, 1980; Spinks y Woods, 1976; Allen, 1961).

D. Los Cianuros y Nitrilos Simples como Materiales Primordiales.

Los cianuros y nitrilos simples son considerados como posibles materiales promordiales que pudieron ocurrir en la tierra primitiva, debido a la detección de éstos en medios interstelares tanto en cometas como en los planetas jovianos y a su presencia entre los productos de numerosos experimentos prebióticos (Ponnamperuma, 1972; Miller y Orgel, 1974; Fox y Dose, 1977). La importancia de estos compuestos se debe a la gran cantidad de transformaciones químicas que pueden sufrir, para dar origen a su vez monómeros y oligómeros de importancia prebiótica.

La gran reactividad química de los cianuros y nitrilos se debe fundamentalmente a la alta polaridad del triple enlace carbon - nitrógeno, provocada por la mayor electronegatividad del átomo de nitrógeno con respecto al átomo de carbono, dando como resultado que los nitrilos sean susceptibles al ataque de especies nucleofílicas y de radicales libres.

1. Producción de Bionómeros.

Se han realizado experimentos en que ácido cianhídri

co, acetonitrilo y propionitrilo han sido expuestos a la acción de diferentes fuentes de energía (Fox y Dose, 1977; Draganić y Col., 1978), produciéndose un gran número de especies químicas constituyentes de los seres vivos. Así por ejemplo, se han podido detectar aminoácidos de tipo protéico y no protéico (Abelson, 1953; Sweeney, 1976; Niketić, 1983; Jovanović, 1982).

Otros investigadores han podido encontrar bases nitrogenadas púricas y pirimidícas al someter el ácido cianhídrico a la acción de diferentes fuentes energéticas (Ferris y Col., 1969; Oró, 1961). Recientemente se han llevado a cabo experimentos para detectar ácidos carboxílicos, productos de la reacción de compuestos del tipo $R-C\equiv N$ (Negrón - Mendoza y Col., 1982; Navarro - González, 1982; Negrón - Mendoza y Col., 1983).

2. Biopolímeros.

La acción de varias fuentes de energía sobre moléculas primordiales ha dado como resultado la producción de moléculas de importancia biológica. El siguiente paso importante, para la evolución química, es la polimerización de estas moléculas pequeñas para dar sistemas moleculares más complejos como las proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos.

El proceso de polimerización no se ve favorecido por

las condiciones prevalecientes en la época prebiótica. Así, por ejemplo, la formación de un enlace peptídico es muy improbable que suceda en un medio completamente acuoso. Es por eso que se han propuesto varios mecanismos para favorecer las reacciones.

i) Uno de los mecanismos de condensación estudiados es la eliminación de agua por métodos térmicos, tales modelos se han usado principalmente en la síntesis de proteínoides (Harada y Fox, 1964).

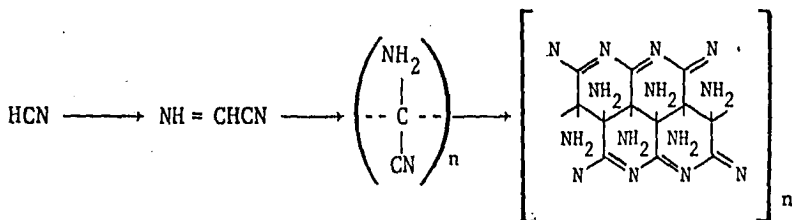
ii) Otros mecanismos son la utilización de moléculas condensantes que se cree pudieron existir en el período de la evolución química para que promuevan reacciones de deshidratación-condensación aún en sistemas acuosos. De este tipo de moléculas que se han utilizado podemos citar algunos nitrilos y/o productos de estos como cianamida, dicianamida, tetrámero del ácido cianhídrico (diamino malonitrilo), etc., (Hulshof y Ponnampuruma, 1976).

3. Métodos Térmicos para la Polimerización de HCN.

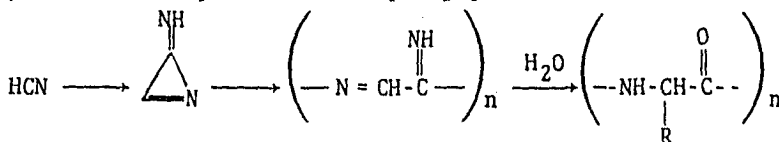
Es conocido desde hace mucho tiempo que el HCN se autocondensa para dar polímeros (Sánchez y Col., 1967), los cuales bajo hidrólisis, liberan aminoácidos y bases heterocíclicas. La estructura del llamado "polímero del ácido cianhídrico" no se conocen en realidad y se han pos

tulado tres estructuras y mecanismos de formación de éste (Ferris, 1981).

i) Uno de estos mecanismos (Volkér, 1960) supone que los oligómeros son producidos por la polimerización del dímero del HCN (imino - aceto - nitrilo) para dar un polímero lineal que posteriormente sufre un entrecruzamiento debido a la condensación de los grupos nitrilo y amino para dar una estructura heterocíclica.

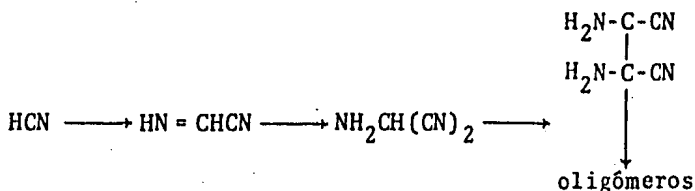


ii) Matthews y Colaboradores (Matthews y Moser, 1967) proponen que los oligómeros son formados por la polimerización de la formación azaciclopropendildenamino del dímero del HCN para dar heteropoliamidas que subsecuentemente bajo hidrólisis produce heteropolipéptidos.



iii) Otras publicaciones no proponen una estructura química para los oligómeros formados; pero sugieren que estos son producidos por la polimerización del tetrámero

del HCN (diaminomalonitrilo), (Ferris, 1972).



Se han realizado hasta ahora varios experimentos para tratar de elucidar la estructura de estos oligómeros, habiendo diferentes resultados que apoyan cada una de las hipótesis. Por ejemplo, la estructura propuesta por Volker se ve apoyado por la falta de solubilidad en agua del polímero, su color oscuro que concuerda con la presencia de insaturaciones conjugadas y la liberación de heterociclos bajo hidrólisis.

La estructura de heterópolipéptidos se ve apoyada al encontrarse aminoácidos después de un tratamiento hidrolítico del oligómero.

4. Polimerización de HCN, CH_3CN , $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$ y NH_4CN inducida por la radiación ionizante.

Se han realizado varios trabajos en la irradiación gamma de soluciones acuosas de cianuros y nitrilos (Draganić, Z.D. y Col., 1976; Draganić, I.G. y Col., 1976). Más del 70 % de los átomos de nitrógeno y carbono de las

moléculas descompuestas por la radiación están en forma de oligómeros, algunos de los cuales contienen fragmentos con enlace peptídico (Draganić y Draganić, 1981).

La presencia de algunos enlaces peptídicos en varios oligómeros se apoya en la prueba positiva de biuret (Draganić, Z.D. y Col., 1976; Draganić, I.G. y Col., 1976; Draganić, Z.D., 1977, 1980; Niketić, V., 1983), así como por la liberación de aminoácidos bajo la acción proteolítica de ciertas enzimas como pronasa y aminopeptidasa (Draganić, Z.D. y Col. 1980; Niketić, V. y Col., 1982), y la absorción característica del grupo amida en la región del infrarrojo del espectro electromagnético (Draganić, Z.D. y Col., 1980; Draganić, I.G. y Col., 1976, 1977). Estos resultados ponen de manifiesto la posibilidad de sintetizar enlaces peptídicos en solución acuosa sin la intervención de aminoácidos libres mediante la radiación ionizante.

CAPITULO II

METODOS PARA LA DETERMINACION DE PESOS MOLECULARES

El peso molecular de polímeros puede ser determinado por métodos químicos y físicos, estos métodos pueden ser, medición de las propiedades coligativas, medida del número de grupos terminales, dispersión de la luz, ultracentrifugación, medición de la viscosidad de una solución diluida del polímero y métodos de cromatografía de exclusión, todos los métodos excepto los dos últimos, son métodos absolutos, esto quiere decir que en principio el peso molecular del polímero puede ser calculado sin calibración previa del método.

A. La medición de Propiedades Coligativas.

La presión de vapor, la temperatura de ebullición, la temperatura de fusión y la presión osmótica de una solución son conocidas como propiedades coligativas. Para soluciones suficientemente diluidas, estas propiedades son linealmente dependientes de la concentración del soluto presente, esto es, las propiedades coligativas dependen del número de moléculas de soluto en solución y no dependen de su estruc-

tura o naturaleza química.

Entre las propiedades coligativas más usadas para la determinación de pesos moleculares de un soluto en solución se encuentran.

1. Descenso de la Presión de Vapor.

Para una solución con una concentración en peso conocida, las medidas de la presión de vapor del solvente nos sirven para calcular el peso molecular del soluto en solución, la solución debe ser diluida e ideal por lo que las medidas se hacen en función de la concentración y extrapoladas a concentración nula. El método tiene desventajas como son las siguientes; la inexactitud en la medida de la presión de vapor nos limita a unos cuantos miles en el peso molecular que se puede medir, la presencia de impurezas nos afecta demasiado porque la presión de vapor depende de la fracción mol del solvente, por lo que cada molécula de soluto presente contribuye igualmente para disminuir la presión de vapor (Tinoco, 1978).

2. Disminución de la temperatura de fusión y aumento de la temperatura de ebullición.

El cambio del punto de fusión y del punto de ebullición son inversamente proporcionales el peso molecular del soluto.

Las expresiones que relacionan el cambio de éstas propiedades del solvente con el peso molecular del soluto se pueden escribir como:

Elevación del punto de ebullición.

$$\Delta T_B = \frac{W_B}{M_B} \cdot \frac{K_B}{Kg \text{ solvente}}$$

Disminución del punto de fusión.

$$\Delta T_F = \frac{W_B}{M_B} \cdot \frac{K_F}{Kg \text{ solvente}}$$

donde:

M_B = peso molecular del soluto.

ΔT_B = incremento en la temperatura de ebullición.

ΔT_F = descenso en la temperatura de fusión.

K_B y K_F = son las constantes ebulloscópicas y cris
cópicas que dependen únicamente del sol-
vente, respectivamente.

Estos métodos tienen las mismas limitaciones que el método de la medición del descenso de la presión de vapor y además, las medidas deben ser hechas cerca de las tempe
raturas de ebullición y fusión del solvente (Tinoco, 1978; Castellan, 1976).

3. Medición de la presión osmótica.

La presión osmótica se define como la presión que de

ben ser ejercida en una solución, para mantener el solvente de ésta en equilibrio con el solvente puro.

Si una solución es separada por medio de una membrana semipermeable, del solvente puro, este va a fluir a través de la membrana hacia la solución hasta alcanzar el equilibrio.

Como las demás propiedades coligativas la presión osmótica depende del número de moléculas de soluto presentes en solución.

La medida de la presión osmótica para la determinación de pesos moleculares es precisa hasta pesos moleculares de aproximadamente un millón de daltones, impurezas como sales o solutos que actúen como amotiguadores, no interfieren si se usan membranas adecuadas. Solo se calcula el peso molecular de los solutos que no pasan a través de la membrana.

La ecuación general para la presión osmótica es:

$$\Pi = \frac{N}{M} RT$$

donde

Π = presión osmótica (atmósferas)

w = concentración del soluto (g/l).

R = constante de los gases (0.08205 atm·l·mol⁻¹.
°K⁻¹)

M = peso molecular del soluto.

T = temperatura absoluta.

Usualmente se mide la presión osmótica para una serie de soluciones con diferentes concentraciones de soluto, se traza la gráfica Π/w vs w , extrapolando a concentración nula, obteniendo el valor de RT/M como la ordenada al origen.

Generalmente la pendiente que se observa es positiva, una pendiente negativa indica un incremento en el peso molecular y puede ser debido a fenómenos de agregación.

B. Medida del número de grupos terminales.

La determinación del peso molecular por medio del análisis de grupos funcionales requiere que el polímero tenga un número conocido de grupos determinables por molécula.

El método cuenta el número de moléculas presentes en un peso conocido de muestra, dando como resultado la medición del peso molecular número promedio.

El método está limitado a pesos moleculares de aproximadamente 25,000 daltones, ya que, arriba de este límite la fracción de grupos funcionales terminales disminuye notablemente (Billmeyer, 1971).

C. Dispersión de la luz.

El fenómeno físico de la dispersión de luz ocurre cuando un rayo de luz choca con la materia, los núcleos y electrones comienzan a vibrar en fase con la onda luminosa incidente (Billmeyer, 1971).

Si un polímero se encuentra en solución, la cantidad de luz dispersada por la solución excede a la dispersada por el solvente y es una medida absoluta del peso molecular (Rodríguez, 1970). Para la determinación del peso molecular nos basamos en la relación de Debye que se expresa como:

$$\frac{Hc}{K} = \frac{1}{MP(\theta)} + 2A_2C$$

en la que H' es una constante que agrupa factores estéricos y del cambio del índice de refracción por la presencia del polímero en solución, $P(\theta)$ es una función compleja dependiente de la forma molecular y A_2 es un coeficiente de virial. La intensidad de la luz dispersada se mide para diferentes ángulos tanto para el solvente como para dar la solución, y a diferentes concentraciones del polímero, pudiéndose calcular el factor k ;

$$k = \frac{(I_g - I_s) \text{ Sen}(\theta)}{1 + \text{Cos}^2(\theta)}$$

donde I_g e I_s son la intensidad luminosa de la solución y del solvente al ángulo, θ respectivamente.

Los resultados experimentales se pueden poner en una gráfica con $H^2/c/k$ vs concentración a valores constantes de θ , y la ordenada al origen $1/MP(\theta)$ se traza contra $\text{Sen}^2(\theta)$ para obtener de esta nueva gráfica el valor $1/\bar{M}_w$ en la ordenada al origen.

D. Viscosimetría.

Desde los trabajos de Staudinger en 1926, el estudio de la viscosidad de soluciones de compuestos macromoleculares, se ha convertido en un método empírico muy útil para determinar el peso molecular de polímeros.

En la práctica, la viscosidad de las soluciones de polímeros es determinada por la comparación de los tiempos de flujo a través de un capilar de volúmenes iguales, de la solución y del solvente puro.

La determinación del peso molecular se basa en la relación propuesta por Staudinger para la viscosidad intrínseca (η) que se expresa como:

$$(\eta) = KM^a$$

donde:

K y a: son constantes características de un sistema

polímero - solvente.

M = peso molecular del polímero.

Usualmente se mide el tiempo de flujo de una serie de soluciones con concentraciones diferentes de soluto, pudiéndose calcular a la viscosidad específica (η_{esp}), con la expresión: $\eta_{\text{esp}} = (t - t_0)/t_0$

donde t y t_0 son los tiempos que tarda en fluir los volúmenes de la solución y del solvente puro, respectivamente.

Los resultados experimentales se pueden poner en una gráfica con $(\eta_{\text{esp}})/c$ vs c extrapolando a concentración nula para obtener el valor de la viscosidad intrínseca (η) en la ordenada al origen.

Este método requiere de una calibración previa para determinar el valor de las constantes k y a .

E. Métodos cromatográficos.

1. Generalidades sobre cromatografía de líquidos.

El término cromatografía es aplicado a una amplia variedad de separaciones, basada en la partición de una especie química entre dos fases, una móvil que puede ser líquida o gaseosa, y una estacionaria que puede ser sólida o líquida. El primero en describir el proceso cromatográfico

fué Tswett quien en 1903 cuando en una columna de vidrio empacada con carbonato de calcio separó los pigmentos contenidos en hojas vegetales verdes.

El uso de la cromatografía de líquidos se ha hecho muy usual en tiempo recientes, ya que el método no está limitado por la volatilidad y estabilidad térmica de las muestras, como para el caso de la cromatografía de gases. Es por esto que la cromatografía de líquidos se ha extendido como método analítico para compuestos iónicos, macromoléculas y compuestos poco estables (Johnson y Stevenson, 1978).

Se han ensayado muchos tipos de fase estacionaria dando como resultado la aparición de varias ramas de la cromatografía de líquidos, de ellas la que tiene interés en el estudio de polímeros es la cromatografía de exclusión.

2. Cromatografía de exclusión.

Esta técnica se usa para la separación de muestras con solutos de pesos moleculares altos, particularmente a aquellos que son no iónicos. Un análisis preliminar de una muestra por cromatografía de exclusión nos indica si la muestra es una mezcla compleja y nos da una idea preliminar del peso molecular de los componentes.

La cromatografía de exclusión separa a las moléculas basándose en el tamaño real en solución de éstas, las columnas utilizadas contienen partículas porosas de diámetro de poro variable, las moléculas con un diámetro efectivo en solución menor que el diámetro efectivo del poro van, a difundir en esos poros dando como resultado a su retención dentro de la columna. Las moléculas con un diámetro efectivo en solución mayor que el diámetro efectivo de poro no difundirán en estos dando como resultado su elución más rápidamente de la columna.

Si un soluto no puede difundir en ninguno de los poros decimos que el soluto ha sido totalmente excluido y a eluido en un volumen de exclusión total (v_0), contrariamente si la muestra difunde en todos los poros decimos que ha sido totalmente permeada y eluida en un volumen de permeación total (v_t). Donde podemos dar la interpretación de v_0 como el volumen de solvente dentro de la columna pero fuera de las partículas (volumen interparticular), y a $v_t - v_0 = v_i$, como el volumen dentro de las partículas del empaque (volumen interparticular). (Snyder y Kirkland, 1979).

El método de separación comunmente llamado cromatografía de exclusión, se le ha dividido en dos técnicas, una de ellas cromatografía de filtración en gel (CFG), en la

que los solventes utilizados son soluciones acuosas, y cromatografía de permeación en gel (CPG), en la que se utilizan solventes orgánicos, para su aplicación con muestras solubles en agua o muestras solubles en solventes orgánicos, respectivamente.

A pesar de que el mecanismo de separación es el mismo para estas dos técnicas, los empaques de las columnas pueden ser completamente diferentes. Los empaques utilizados en las columnas para cromatografía de exclusión pueden ser tanto partículas rígidas (usualmente partículas de gel de sílice porosa), tanto como empaques semirígidos (usualmente polímeros de estireno).

Para la determinación del peso molecular de un polímero por cromatografía de exclusión es necesaria la calibración de la columna, esto se logra midiendo los volúmenes de retención de muestras con peso molecular conocido, generalmente una gráfica de $\log (M)$ vs. volumen de retención presenta una porción lineal limitada entre los volúmenes de permeación y exclusión tales de la columna.

CAPITULO III

METODOS EXPERIMENTALES

El análisis del material polimérico producido durante la irradiación gamma de las soluciones acuosas de diciana mida, glicina, cianuro de amonio, ácido cianhídrico, una mezcla de acetonitrilo, propionitrilo y ácido cianhídrico y una segunda mezcla de los dos primeros se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia, equipado con dos columnas para cromatografía de exclusión (cromatografía de filtración en gel).

A. Purificación del Agua.

El estudio de la radiólisis de compuestos orgánicos en solución acuosa debe realizarse en agua de alta pureza ya que los contaminantes orgánicos, aún en bajas concentraciones, compiten con el soluto en estudio por las especies reactivas formadas por la radiación ionizante. La purificación se llevó a cabo mediante una destilación tri ple: de una solución alcalina de permanganato de potasio, posteriormente una solución ácida de dicromato de potasio

y finalmente sin la adición de reactivos (Draganić y Draganíć, 1971).

B. Preparación del Material de Vidrio para la Irradiación.

La preparación del material de vidrio debe realizarse con igual cuidado que para el agua. Este es procesado por técnicas usuales en química de radiaciones (Draganić y Draganíć, 1971) sumergiéndolos en una mezcla de ácido nítrico ácido sulfúrico en caliente (1:1 aproximadamente) seguido de un lavado abundante con agua tridestilada y secados en una mufla a 300°C por treinta minutos como mínimo.

C. Reactivos.

1) Reactivos utilizados en la calibración de las columnas cromatográficas.

Los estándares de tipo protéico que se usaron para la determinación de la curva de calibración fueron los distribuidos por Fine Pharmaceuticals y Merck, Co. Los aminoácidos utilizados fueron los más puros que se pueden obtener comercialmente (Sigma Chemical Company).

2) Reactivos utilizados en la irradiación.

i) Acido cianhídrico y Cianuro de Amonio.

La generación del ácido cianhídrico y cianuro de amonio se realizó por el método descrito por Azamar y Dra-

ganić (1982).

ii) La dicianamida, el acetonitrilo y propionitrilo fueron los distribuidos por Aldrich Chemical Co.

D. Procedimiento para la Irradiación.

La irradiación de las muestras se efectuó en una fuente de ^{60}Co (Gammabeam 650) del Centro de Estudios Nucleares, U.N.A.M. con una intensidad de dosis en septiembre de 1984 de 15.7 kGy/h en la posición central.

Las muestras se colocaron en la posición central del irradiador y fueron expuestas a diferentes dosis en un intervalo de 2.5 - 600 KGy.

E. Condiciones Cromatográficas.

Para la determinación del proceso molecular de las muestras por analizar se tomó una alícuota de diez microlitros de la solución y se inyectó directamente en un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia Varian modelo 5000, con un sistema de detección UV - visible modelo UV - 50 y una unidad de integración y registro CDS 111 L, las dos también de Varian.

Para el análisis se utilizaron dos columnas para cromatografía de exclusión.

1) La primera del tipo TSK - 4,000 SW (Toyo Soda, Japón de tubo de acero inoxidable de 30 cm de largo por 0.75 cm de diámetro interno empacada con gel de sílice de esferas rígidas con un tamaño de partícula de 13 ± 3 micrómetros. La columna se mantuvo a temperatura ambiente.

2) La segunda columna empleada fue del tipo TSK - 2,000 SW (Toyo Soda, Japón) de tubo de acero inoxidable de 30 cm de largo por 0.75 cm de diámetro interno empacada con gel de sílice de esferas rígidas con un tamaño de partícula de 10 ± 2 micrómetros, manteniéndose a una temperatura constante de 37°C .

La fase móvil empleada fue en ambos casos una solución amortiguadora de fosfatos (KH_2PO_4 6.1×10^{-2} M y Na_2HPO_4 3.9×10^{-2} M) de pH siete (Perrin y Boyd, 1974), se usó en forma isocrática y el flujo fue de 1 ml/min para el caso de la columna TSK - 4,000 SW y de 0.8 y 0.3 ml/min para la otra columna. (Rokushika y col., 1979; Juárez - García y Col., 1984). El detector de UV - visible se ajustó para trabajar en el intervalo de 210 ± 2 nm. La velocidad del papel usado en el graficador fue de 0.25 cm/min.

F. Curva de Calibración.

Para la evaluación del peso molecular por cromatografía de filtración en gel, es necesario calibrar la columna

cromatográfica, analizando compuestos de pesos moleculares conocidos. Se determinan los volúmenes de retención (el producto del tiempo de retención por el flujo del eluyente) o bien se calcula k (coeficiente de distribución) definido como:

$$K = \frac{V_r - V_0}{V_t - V_0}$$

donde:

V_r = volumen de retención de la muestra.

V_0 = volumen de exclusión total (volumen de retención de un compuesto suficientemente grande para que la columna no lo retenga).

V_t = Volumen de permeación total (volumen de retención de la glicina).

Con estos datos se traza una gráfica de logaritmo del peso molecular vs k (o bien volumen de retención).

Todas las especies químicas que sirvieron como estándares fueron disueltos en una solución amortiguadora de fosfatos de pH siete para obtener una concentración aproximada de 20 mg/ml. Las figuras 1 y 2 muestran las curvas obtenidas en las condiciones descritas, para ambas columnas y se señala los nombres de los compuestos utilizados y sus respectivos pesos moleculares.

G. Análisis Cualitativo y Cuantitativo de las Muestras Irradiadas.

Las muestras fueron analizadas después de la irradiación, en el caso de los experimentos con ácido cianhídrico y cianuro de amonio fueron también evaporadas a presión reducida y a 45°C en un rotavapor o bien en una liofilizadora a fin de eliminar los productos volátiles presentes en la muestra. Procediéndose a la inyección de una alícuota de 10 micrólitros de la solución en el cromatógrafo de líquidos equipado con la columna TSK 2000 SW ya que ésta presenta límites de exclusión y permeación total adecuados para la determinación de los pesos moleculares de los oligómeros formados durante la irradiación.

El análisis cuantitativo de la concentración relativa de los productos de radiólisis en las diferentes muestras irradiadas, se hizo con la suposición de que, el coeficiente de absortividad molar de los componentes en la mezcla, es igual en el intervalo de longitud de onda seleccionado para el análisis, por lo que se usó el porcentaje de área cromatográfica como medida de la concentración relativa de los componentes de las mezclas.

H. Análisis del HCN Remanente.

Para la determinación del HCN remanente después de

la irradiación se inyectó una alícuota de 5 microlitros de las soluciones irradiadas en un cromatógrafo de gases Varian Aerograph 2400 con detector de ionización de flama, el cual está acoplado a un integrador Hewlett-Packard terminal 3388A. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador (flujo de nitrógeno: 30 ml/min.). La columna empleada fue de acero inoxidable de 2,05 metros de largo por 3.2 milímetros de diámetro, empacada con Chromosorb 102 de 80/100 mallas.

El programa de temperatura empleado fue desde 60°C hasta 200°C, con un incremento de 6°C/min.

En la figura 3 se muestra el esquema general de análisis de los productos radiolíticos.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

A. Sistemas Glicina y Glicina + Dicianamida.

1) Glicina ($\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2\text{COO}^-$).

La irradiación de una solución acuosa de glicina en concentración 0.1M produce cuatro productos de tipo oligomérico cuyos pesos moleculares calculados son 31,000, 26,000, 22,000 y 16,000 daltones aproximadamente.

La concentración de glicina decrece exponencialmente y a una dosis de 200 KGy se tiene menos de 50% del material original. El intervalo de dosis de irradiación se extendió de 10 a 600 KGy, se pudo observar que en dosis menores a 200 KGy los oligómeros con peso molecular de $\sim 16,000$ daltones predominan sobre los demás oligómeros. En dosis comprendidas en el intervalo de 200 a 600 KGy los productos de carácter oligomérico con pesos moleculares de $\sim 22,000$, 26,000 y 31,000 daltones aumentaron su proporción de concentración con respecto al oligómero de peso molecular menor ($\sim 16,000$ daltones), Figura (4).

En base al análisis cromatográfico de las soluciones de glicina, irradiadas en el intervalo de 10 - 200 KGy, calculamos la G° de descomposición de la glicina la cual tiene un valor de 4.5, en donde G es el rendimiento radiolítico y se define como el número de moléculas producidas o descompuestas por cada 100 eV.

2) Glicina + Dicianamida ($N \equiv C - CH_2 - C \equiv N$)

La irradiación de soluciones acuosas de una mezcla de glicina y dicianamida cada una en concentración 0.1 M en un intervalo de dosis de 10 - 200 KGy, produce cuatro oligómeros cuyos pesos moleculares son de 30,000, 25,000, 22,000 y 16,000 daltones aproximadamente. Observándose que en este intervalo de dosis los dos productos con peso molecular mayor se encontraron en una cantidad menor al 0.3% del total, (Figura 5). Los oligómeros predominantes fueron los de $\sim 16,000$ daltones de peso molecular. Los resultados obtenidos en la irradiación de este sistema nos muestra que los productos de radiólisis son producidos por la descomposición y oligomerización de la glicina únicamente, ya que se observó que la dicianamida es estable en estas condiciones, pues la concentración de ésta permanece constante en el intervalo estudiado y que los oligómeros formados corresponden a los encontrados en la serie de experimentos en que se irradiaron soluciones acuosas

de glicina. (Figura 6). Otros de los productos radiolíticos que se encontraron fueron compuestos que euyen en el volumen de permeación total de la columna que pueden ser oligómeros y moléculas con peso molecular menor a 20,000 daltones. Estos productos tienen una tendencia a aumentar en concentración al incrementarse la dosis.

B. Sistemas de Cianuros y Nitrilos.

1) Sistemas de HCN y NH_4CN .

Soluciones acuosas de ácido cianhídrico y cianuro de amonio ($1 \times 10^{-3}\text{M}$, $5 \times 10^{-3}\text{M}$ y $10 \times 10^{-3}\text{M}$) fueron irradiadas con dosis entre 2.5 - 30 KGy. A éstas dosis la concentración de HCN y NH_4CN remanente en estos sistemas es menos del 30% debido a la gran reactividad del grupo ciano. Un cromatograma obtenido para cada uno de estos sistemas se muestra en las figuras 7, A y B. Como puede observarse no existe gran diferencia en el comportamiento de ambos sistemas. Se observan cuatro picos cuyos pesos moleculares son 22,000; 16,000; 10,000 y 200 daltones aproximadamente. El oligómero de 16,000 daltones y el pico correspondiente a un peso de 200 daltones son las especies predominantes en éstos sistemas. Este último pico corresponde a un grupo de moléculas pequeñas como ácidos mono, di- y tri- carboxílicos, aldehídos y cetonas con número de átomos de carbono de 1 - 7 que se produce por la irradiación

de ácido cianhídrico o su sal de amonio. (Negrón-Mendoza, 1983; Navarro-González, 1982),

Los polímeros con peso molecular de 10,000 y 22,000 daltones se encuentran en cantidades menores al 2 y 5% respectivamente.

Un estudio cuantitativo nos muestra que sólo en una ligera proporción la formación de polímeros y pequeñas moléculas es mayor en el sistema de HCN, lo cual concuerda con resultados previos obtenidos en la formación de moléculas pequeñas (Navarro-González, 1983; Berber, 1983).

La figura número 8 nos muestra que a medida que se incrementa la dosis aumenta ligeramente la formación de polímeros y de moléculas pequeñas. En la solución más concentrada (1×10^{-2} M) se obtiene un rendimiento mayor para el oligómero de 16,000 daltones, en tanto que en la solución más diluida se observa una mayor producción de moléculas pequeñas y se puede observar que a dosis menores a 2.5 KGy aún había formación de productos radiolíticos de carácter oligomérico.

El efecto de la concentración de los reactivos en la producción de los productos radiolíticos antes mencionados se muestra en la figura 9 para una dosis, donde podemos observar que en el intervalo de concentraciones estu

diado, a partir de 5×10^{-3} M, la formación del oligómero de 16,000 daltones alcanza un estado estacionario en relación a su formación. Los resultados nos muestran asimismo que las moléculas pequeñas alcanzan un máximo y después su formación comienza a declinar alcanzando a ser el 60% aproximadamente de los productos radiolíticos en esa dosis. Comportamientos similares los podemos encontrar en la irradiación de NH_4CN .

La figura 10 nos muestra la descomposición del HCN en función de la dosis.

2) Sistema $\text{HCN} + \text{CH}_3\text{CN} + \text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$.

La irradiación de una mezcla en solución acuosa de HCN, CH_3CN y $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$ en concentraciones 0.2 M, 0.04 M y 0.02 M respectivamente, irradiadas a 60, 120 y 180 KGy producen tres productos de carácter oligomérico cuyos pesos moleculares son 22,000, 16,000 y 10,000 daltones aproximadamente y un grupo de moléculas que eluyen el volumen de permeación total de la columna empleada (TSK-2000 SW), el oligómero de 16,000 daltones y el grupo de moléculas con un peso molecular aproximado de 200 daltones son las especies predominantes en el sistema, los oligómeros con pesos moleculares de 10,000 y 22,000 daltones se encuentran en menor proporción siendo menos del 2 y 5% del cuerpo de productos radiolíticos respectivamente. Una comparación

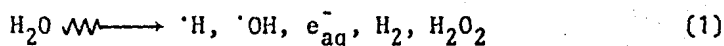
de los cromatogramas obtenidos para el sistema irradiado a diferentes dosis se muestra en la figura 11.

El análisis del comportamiento de los productos nos muestra que estos son generados por la descomposición del ácido cianhídrico únicamente debida a la gran reactividad del ácido cianhídrico ($k'[\text{HCN}]$). El acetonitrilo y propionitrilo no sufren descomposición apreciable en el intervalo de dosis estudiado. En la figura 12 se pueden apreciar dos cromatogramas, uno obtenido para el sistema HCN en concentración $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ e irradiado con una dosis de 5 KGy y otro para el sistema HCN (0.2M), CH_3CN (0.04M) y $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$ (0.02M) irradiado a una dosis de 60 KGy donde podemos observar el mismo patrón de picos, apoyando nuestra suposición de que el proceso dominante en la mezcla es la descomposición radiolítica del ácido cianhídrico.

C. Mecanismos de Formación.

Los esquemas probables para la formación de los oligómeros estudiados son bastante complejos. La acción química de la radiación ionizante induce la formación de especies químicas muy reactivas, de vida muy corta, como son radicales libres e iones radicales que pueden reaccionar entre sí o con otros solutos. Cuando sistemas acuosos diluidos (concentración $< 0.1 \text{ M}$) se exponen a la ac-

ción de la radiación ionizante la energía es depositada casi completamente en el agua. Las moléculas de agua son excitadas e ionizadas dando como resultado la producción de especies reactivas primarias, como radicales hidróxilos ($\cdot\text{OH}$), átomos de hidrógeno ($\text{H}\cdot$), electrones hidratados (e_{aq}^-) y especies moleculares H_2 , H_2O_2 (Draganić y Draganić, 1971). Este proceso se puede resumir en la siguiente expresión (1).

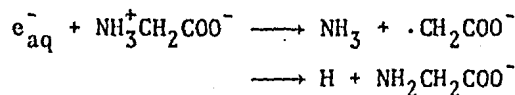
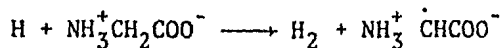


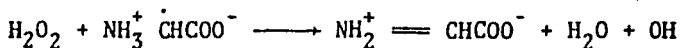
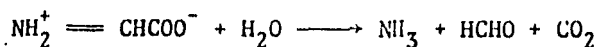
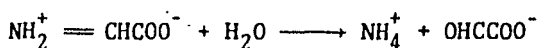
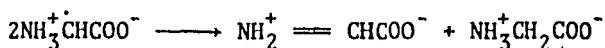
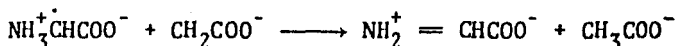
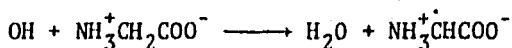
1) Sistema de Glicina.

La glicina es descompuesta por los radicales libres formados de la radiólisis del agua. Aquí las reacciones predominantes son las de abstracción y en especial en el átomo de carbono alfa al grupo carbonilo (Spinks y Woods, 1976).

Esquema I

Formación de Intermediarios en la Irradiación de Glicina





Algunos de los radicales formados en la irradiación de glicina, se oligomerizan dando por lo menos 4 productos que por hidrólisis ácida liberan aminoácidos (Draganić, 1984).

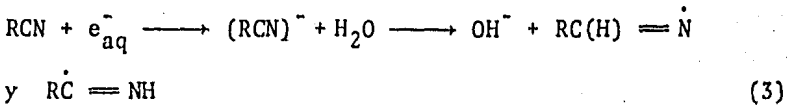
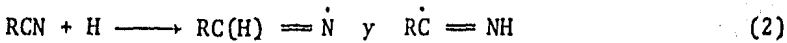
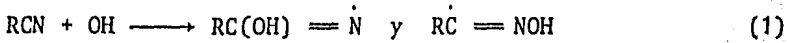
2. Sistema de Cianuros y Nitrilos.

La reacción de éstas especies con cianuros y nitrilos consiste en el ataque de las especies reactivas al triple enlace carbon - nitrógeno que produce radicales libres intermediarios (Ogura, H. y Col., 1967; Ogura, H., 1968; Draganić, I.G. y Col., 1973). Más del 60% de los productos identificados en la radiólisis se encuentran tanto en el sistema cianuros como el de nitrilos. Indicando la acción predominante del grupo ciano. Las reacciones de adición son las más importantes y sólo un 5% de

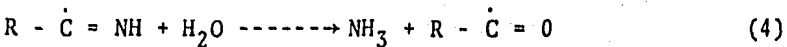
las reacciones proceden vía reacciones de abstracción (Ne grón-Mendoza y colaboradores, 1982). El esquema II resume estas reacciones.

Esquema II

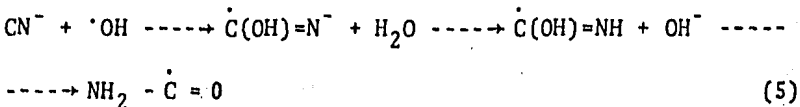
Formación de Intermediarios en la Irradiación de Cianuros y Nitrilos



Aunque algunos radicales imino pueden hidrolizarse como se muestra en la reacción (4)



los procesos de desproporción; dimerización y oligomerización se encuentran en competencia. En el NH_4CN a un pH de 9.2 el 50% está en forma ionizada y el ión cianuro también puede ser atacado por los radicales libres del agua. Reacción (5)



Los intermediarios formados en las reacciones del esquema I, son especies químicas muy reactivas y algunas de ellas son las que producen la oligomerización.

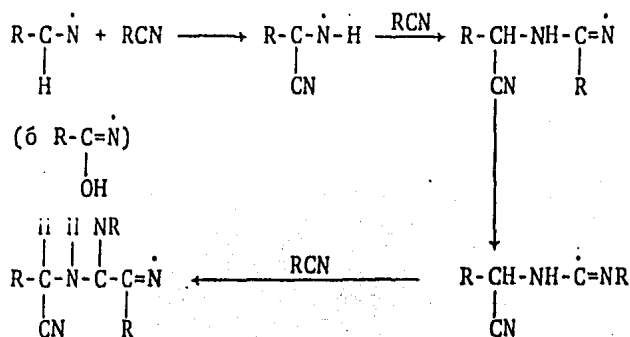
Resultados experimentales previos a este trabajo muestran la formación de ácidos carboxílicos libres, amidas primarias y/o secundarias, así como la formación de oligómeros con enlaces amídicos. Así, un posible esquema de oligomerización en cadena iniciado por el radical $R-C(H)=\dot{N}$ (o $R-C(\dot{N})$) se presenta en el esquema III.

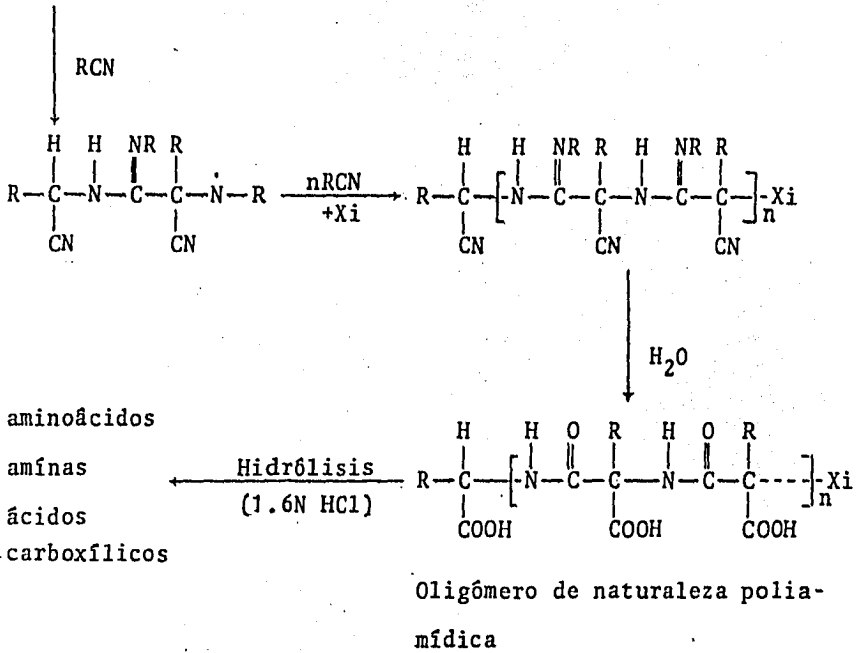


Esquema III

Posible Mecanismo de Oligomerización de Nitrilos en Cadena Iniciado por Radicales Libres

R puede ser un hidrógeno o algún radical alquilo de cadena corta. Xi puede ser cualquier radical libre.





La naturaleza química de los oligómeros formados aún está en proceso de dilucidación en base a sus características espectroscópicas y del aislamiento de estas mediante cromatografía preparativa.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados experimentales podemos resumir:

1) En el sistema de glicina; glicina + dicianamida se forman cuatro oligómeros con pesos moleculares de 31,000, 26,000, 22,000 y 16,000 daltones aproximadamente.

Se puede seguir la descomposición de la glicina y se encontró que se descompone con una $G(\text{glicina}) = 4.5$ en donde G es el rendimiento radiolítico.¹ Asimismo, se pudo observar que en el intervalo de dosis estudiado la dicianamida es estable a la irradiación.

2) En el sistema de cianuros y nitrilos se forman tres oligómeros con pesos moleculares de 22,000, 16,000 y 10,000 daltones aproximadamente.

¹ G se define como el rendimiento radiolítico y es igual al número de moléculas descompuestas o formadas por cada 100 eV de energía absorbida por el sistema.

Se observó que la formación de oligómeros es ligeramente mayor en HCN que en la irradiación de NH_4CN .

En el sistema de $\text{HCN} + \text{CH}_3\text{CN} + \text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$ se observó que el patrón de picos en los cromatogramas es similar a los obtenidos para las soluciones acuosas e irradiadas de HCN, mostrándonos que los oligómeros formados son productos de la descomposición de HCN únicamente. Así también se observó que en soluciones muy diluídas y a bajas dosis se forman oligómeros de HCN y/o NH_4CN después de la irradiación.

Se encontró que el rendimiento radiolítico de descomposición de HCN fue $G(\text{HCN}) = 13$ moléculas/100 eV.

Todos estos resultados son muy importantes para estudios de evolución química ya que ponen de manifiesto el papel tan importante que pudo tener la radiación ionizante como fuente de energía en la tierra primitiva.

CAPITULO VI

CITAS BIBLIOGRAFICAS

- Abelson, P.H. 1953. "Paleobiochemistry". Carnegie Inst. of Washington. Yearbook N° 53.
- Allen, A.O. 1961. "The Radiation Chemistry of Water and Aqueous Solutions". D. Van Nostrand Company, Inc. (Londres).
- Azamar-Barrios, J.A. 1982. "Dosimetría de las Fuentes de Irradiación Gamma de ^{60}Co del Centro de Estudios Nucleares, U.N.A.M.: Gammabeam-650 y Gammacell-200. Informe Técnico Q-10-82. CEN-UNAM., México.
- Azamar-Barrios, J.A. y Draganić, I.G., 1982. "Equipo para la Preparación de Compuestos Tóxicos en Solución Acuosa y en Atmósfera Controlada". Informe Técnico Q-02-82, CEN-UNAM., México.
- Berber-Gutiérrez, M.D., 1983. "Algunos Compuestos Producidos por Radiación Ionizante en Soluciones Acuosas de HCN y NH_4CN ". Tesis de Licenciatura. Escuela de Química, Universidad La Salle. México.
- Billmeyer, F.W. 1971. "Textbook of Polymer Science". Segunda Edición. John Wiley and Sons, Inc. (Tokyo, Japón).
- Brown, R.D., 1981. "Interstellar Molecules and The Origin of Life". Y. Wolman (Ed.), Origins of Life. Proceedings of the Third ISSOL Meeting and the Sixth ICOL Meeting.

rusalem, June 22-27., pp. 1 - 9.

- Calvin, M. 1969., "Chemical Evolution. Molecular Evolution Towards the Origin of Living Systems on the Earth and Elsewhere". Oxford University Press, Ely House. (Londres).
- Castellan, G.W. 1976., "Fisicoquímica". Segunda Edición Fondo Educativo Interamericano, S.A. México.
- Draganić, I.G. 1971., "The Radiation Chemistry of Water". Academic Press. (N.Y.).
- Draganić, I.G., Draganić, Z.D., Petković, Lj. y Nikolić, A. 1973. "The Radiation Chemistry of Aqueous Solutions of Simple RCN Compounds". J. Am. Chem. Soc. 95 (22) 7193-7199.
- Draganić, I.G., Draganić, Z.D. y Shushtarian, M.J. 1976. "The Radiation Chemistry of Aqueous Solutions of Acetonitrile and Propionitrile. In the Megarad Dose Range. Radiation Research. 66, 54 - 65.
- Draganić, I.G., Draganić, Z.D., Jovanović, S. y Ribnikar, S.V. 1977. "Infrared spectral Characterization of Peptidic Material Produced by Ionizing Radiation in Aqueous Cyanides". J. Mol. Evol. 10, 103 - 109.
- Draganić, I.G. y Draganić, Z.D. 1980. "Radiation-Chemical Aspects of Chemical Evolution and Radiation Chemistry of Simple Cyano Compounds". Radiat. Phys. Chem. 15, 195 - 201.
- Draganić, I.G. y Draganić, Z.D. 1981. "A Survey of Compounds Formed by Radiolysis of Aqueous Solutions of Simple Cyanides and Nitriles". En Memorias, III Simposio sobre Química Nuclear, Radioquímica y Química de Radiaciones. Alicia Negrón-Mendoza y Gaudalupe Albarrán, Ed. CEN-UNAM. México.

- Draganić, I.G. y Draganić, Z.D. 1983. "Natural Nuclear Reactors and Ionizing Radiation in the Precambrian. Precambrian Research. 20, 283 - 298.
- Draganić, I.G., Draganić, Z.D. y Vujčević, S.I. 1984. "Some Radiation Aspects of Chemistry in Cometary Nuclei". Precambrian Research. En Prensa.
- Draganić, Z.D., Draganić, I.G. y Borovičćanin, M. 1976. "The radiation Chemistry of Aqueous Solutions of Hydrogen Cyanide in the Megarad Dose Range. Radiation Research. 66, 42 - 53.
- Draganić, Z.D. y Draganić, I.G. 1977. "The Radiation Chemistry of Aqueous Solutions of Ammonium and Sodium Cyanides in the Megarad Dose Range. Radiation Research. 69, 223 - 229.
- Draganić, Z.D., Niketić, V., Jovanović, S. y Draganić, I.G. 1980. "The Radiolysis of Aqueous Ammonium Cyanide: Compounds of interest to Chemical Evolution Studies. J. Mol. Evol. 15, 239 - 260.
- Ferris, J.P., Sánchez, R.A. y Orgel, L.E. 1968. "Studies in Prebiotic Chemistry III: Synthesis of Pyrimidines from Cyano Acetylene and Cyanate". J. Mol. Biol. 33, 693 - 704.
- Ferris, J.P., Donner, D.B. y Lotz, W. 1972. "The Mechanism of the Oligomerization of Hydrogen Cyanide and Its Possible Role in the Origins of Life. J. Am. Chem. Soc. 94, (20) 6968 - 6974.
- Ferris, J.P., Edelson, E.H., Auyeung, J.M. y Joshi, P.C. 1981. "Structural Studies on HCN Oligomers, J. Mol. Evol. 17, 69 - 77.
- Field, G.B., Verschuur, G.L. y Ponnampereuma, C. 1978. "Cosmic Evolution". Houghton Mifflin Co. (Boston).

- Fox, S.W. y Dose, K. 1977. "Molecular Evolution and the Origin of Life". Biology. A series of Textbooks. Volumen 2. Marcel Dekker, Inc. (N.Y.).
- Garrison, W.M., Morrison, D.C., Hamilton, J.G., Benson, A.A. y Calvin, M. 1951. "Reduction of Carbon Dioxide in Aqueous Solutions by Ionizing Radiation". Science. 114, 416.
- Haldane, J.B.S. 1928. "The Origin of Life". Racionnalist Annual. 148. 142 - 154.
- Harada, K. y Fox, S.W. 1964. "Thermal Synthesis of Amino Acids from Postulated Terrestrial Atmosphere". Nature. 201, 335 - 336.
- Hulshof, J. y Ponnampereuma, C. 1976. "Prebiotic Condensation Reactions in an Aqueous Medium", A Review of Con densing Agents. Origin of Life. 7, 197 - 224.
- Johnson, E.L. y Stevenson, R. 1978. "Basic Liquid Chroma tography". Varian Associates, Inc. (Palo Alto, California).
- Jovanović, S., Nešković, S., Spirić, V., Draganić, Z.D. y Draganić, I.G., 1982. "The Radiolysis of Aqueous Propionitrile: Compounds of interest to Chemical Evolution Studies. J. Mol. Evol. 18, 337 - 343.
- Juárez-García, C.H. y Negrón-Mendoza, A. 1984. "Curvas de Calibración para la Determinación de Pesos Moleculares por Cromatografía de Filtración en Gel". Informe Técnico Q-06-84, CEN-UNAM., México.
- Matthews, C.N. y Moser, R.E. 1967. "Peptide Synthesis from Hydrogen Cyanide and Water". Nature. 215, 1230 - 1234.
- Miller, S.L. y Urey, H.C. 1959. "Organic Compounds Synthesis on the Primitive Earth. Science. 130, 245 - 251.

- Miller, S.L. y Orgel, L. 1974. "The Origin of Life on Earth". Prentice-Hall. (Englewood Cliffs, NJ).
- Miller, S.L., Urey, H.C. y Oró, J. 1976. "Origin of Organic Compounds on the Primitive Earth and Meteorites" J. Mol. Evol. 9, 59 - 72.
- Navarro-González, R., Negrón-Mendoza, A., Draganić, Z.D. y Draganić, I.G. 1982. "Acidos Carboxílicos y Compuestos Carbonílicos Formados Radiolíticamente en Soluciones Acuo sas de Nitrilos". Resúmenes del IV Simposio sobre Química Nuclear, Radioquímica y Química de Radiaciones. UNAM. México.
- Navarro-González, R. 1983. "Identificación de Acidos Carbox ílicos de Interés en la Evolución Química Formados en Muestras Irradiadas de Nitirlos y Cianuros Sencillos". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM., México.
- Negrón-Mendoza, A. 1980. "Formación de Acidos Policarbox ílicos de Importancia Biológica Inducida por la Radiaci ón Ionizante". Tesis Doctoral. Div. EPg. Facultad de Química, UNAM, México.
- Negrón-Mendoza, A., Navarro-González, R., Draganić, Z.D. y Draganić I.G. 1982. "Acidos Carboxílicos y Compuestos Carbonílicos Formados Radiolíticamente en Soluciones Acuo sas de Cianuros". Resúmenes del IV Simposio sobre Química Nuclear, Radioquímica y Química de Radiaciones. UNAM, México.
- Negrón-Mendoza, A., Draganić, Z.D., Navarro-González, R. y Draganić, I.G. 1983. "Aldehydes, Ketones and Carboxilic Acids Formed Radiolitically in Aqueous Solutions of Cyanides and Simple Nitriles". Radiation Research. 95, 248 - 261.

- Niketić, V., Draganić, Z.D., Nešković, S. y Draganić, I.G. 1982. "Enzymatic Characterization of Peptidic Material Isolated from Aqueous Solutions of Ammonium Cyanide (pH 9) and Hydrocyanic Acid (pH 6) Exposed to Ionizing Radiation. J. Mol. Evol. 18, 130 - 136.
- Niketić, V., Draganić, Z.D., Nešković, S., Jovanović, S. and Draganić, I.G. 1983. "Radiolysis of Aqueous Solutions of Hydrogen Cyanide (pH ~ 6): Compounds of Interest in Chemical Evolution Studies. J. Mol. Evol. 19, 184 - 191.
- Ogura, H. y Kondo, M. 1967. "Radiation Induced Formation of Tetrameric Hydrogen Cyanide in Aqueous Solution". Bull. Chem. Soc. Japan. 40, 2448 - 2449.
- Ogura, H. 1968. "Radiolysis of Hydrogen Cyanide in an Aqueous System. II. Effects of Additives and Reaction Mechanism". Bull. Chem. Soc. Japan. 41, 2871 - 2876.
- Oparin, A. 1928. "El origen de la Vida". Ediciones de Cultura Popular, S.A., México, D.F. México.
- Oró, J. 1961. "Mechanism of Synthesis of Adenine from Hydrogen Cyanide Under Possible Primitive Earth Conditions. Nature. 191. 1193 - 1194.
- Perrin, D.D. y Boyd, D. 1974. "Buffers for pH and Metal Ion Control". Chapman and Hall, LTD (Londres).
- Ponnampetuma, C. 1972. "Organic Compounds in the Murchison Meteorite". Ann. of N.Y. Aca. of Sci 194, 56 - 70.
- Prud'Homme, J. y Prud'Homme, R. 1981. "Synthèse et Caractérisation de Macromolécules". Les Presses de l'Université de Montreal. (Montreal, Canadá).
- Rodríguez, F. 1974. "Principles of Polymer Systems". Tata McGraw-Hill Publishing Company LTD (New Delhi).

- Rokushika, S., Ohkawa, T., y Hattano, H. 1979. "High-Speed Aqueous Gel Permeation Chromatography of Proteins. Journal of Chromatography. 176, 456 - 461.
- Sánchez, R.A., Ferris, J.P. y Orgel, L.E. 1967. "Studies in Prebiotic Synthesis. II. Synthesis of Purine Precursors and Amino Acids form Aqueous Hydrogen Cyanide. J. Mol. Biol. 30, 223 - 253.
- Snyder, L.R., y Kirkland, J.J. 1979. "Introduction to Modern Liquid Chromatography". John Wiley and Sons, Inc. (N.Y.).
- Spinks, J.W.T. y Woods, R.J. 1976. "An Introduction to Radiation Chemistry". Segunda Edición. John Wiley and Sons, Inc. (N.Y.).
- Sweeney, M.A., Toste, A.P. y Ponnamperuma, C. 1976. "Formation of Amino Acids by Cobalt-60 Irradiation of Hydrogen Cyanide solutions. Origins of Life. 7, 187 - 191.
- Tinoco, I., Sauer, K. y Wang, J. 1978. "Physical Chemistry", Principles and Applications in Biological Sciences. Prentice-Hall (Englewood Cliffs, N.J.).
- Völker, Th. 1960. "Polymere Blausäure". Angew. Chem. 72, 379 - 384.

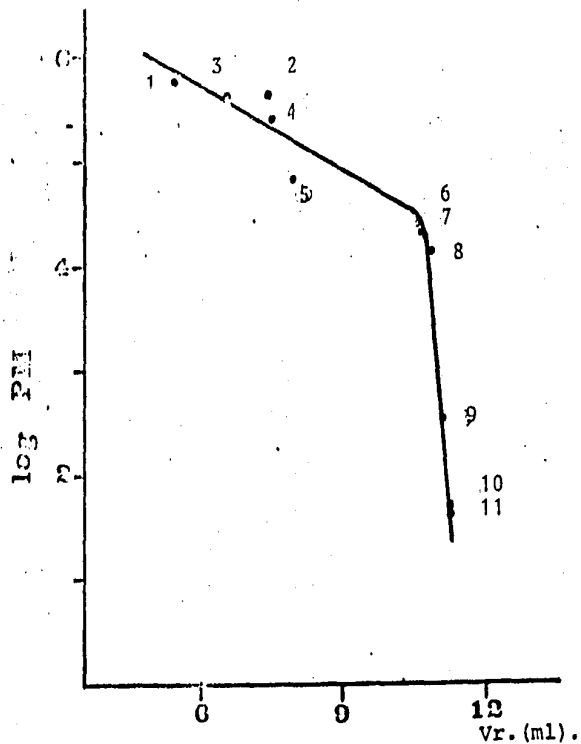


Fig. Curva de calibración para la columna TSK-4000-SW.

1= L-Glutamato Deshidrogenasa (P.M. 1×10^6); 2= Tiroglobulina (669000);
 3= Ureasa (480000); 4= Ferritin (440000); 5= Catalasa (332000); 6= Sero-
 albumina Bovina (67000); 7= Quimotripsinógeno-A (25000); 8= Ribonucleasa
 (13700); 9= Sucrosa (342); 10= Alanina (89); 11= Glicina (75).

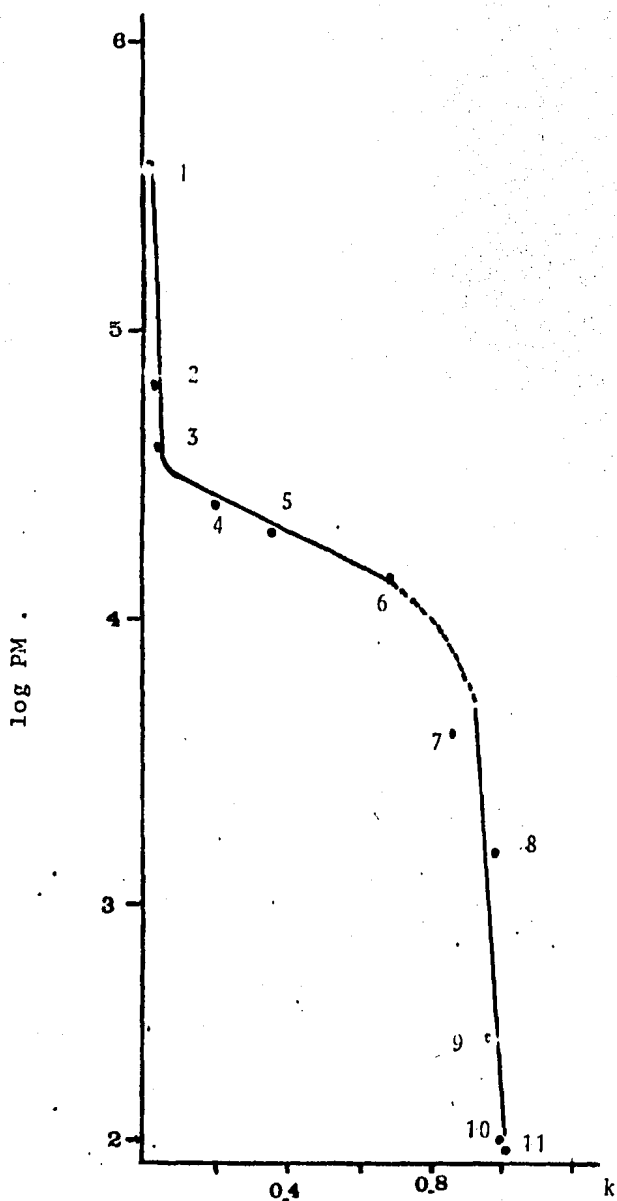


Fig 2. Curva de calibración para la columna TSK-2000 SW. 1=Ferritin(440000); 2=Seroalbumina Bovina(67000); 3-Ovoalbumina(43000); 4=Quimotripsinogeno-A(25000); 5=Papaina(20700); 6=Ribonucleasa(13700); 7=Acido fosfomolibdico(3939); 8=Coenzima B-12(1500); 9=Glucosa(180); 10=alanina(89); 11=Glicina(75).

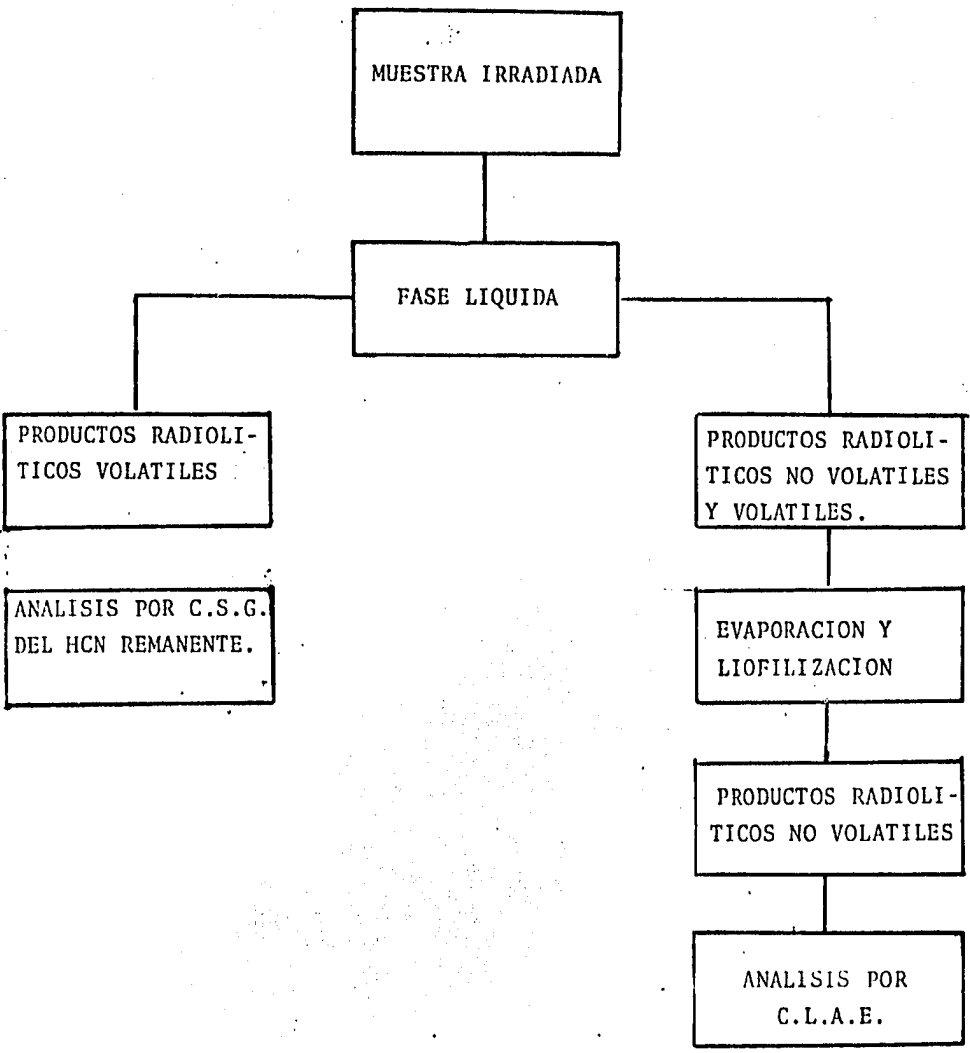


Fig. 3. Esquema general de análisis de las muestras irradiadas.

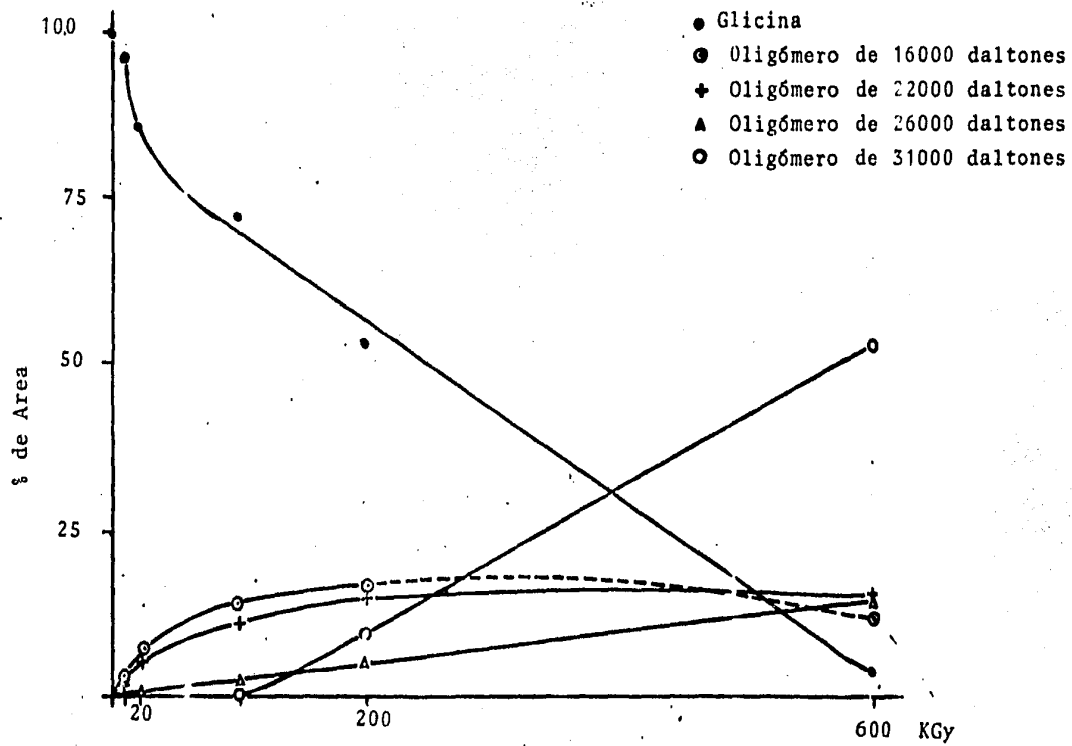


Fig. 4. Efecto de la dosis absorbida en la formación de productos radiolíticos en el sistema de glicina.

- 1 DICIANAMIDA
- 2 MOLEC PEQUEÑAS.
- 3 OLIGOMERO 16000 DALT.
- 4 " 22000 "
- 5 " 25000 "

GLICINA + DICIANAMIDA

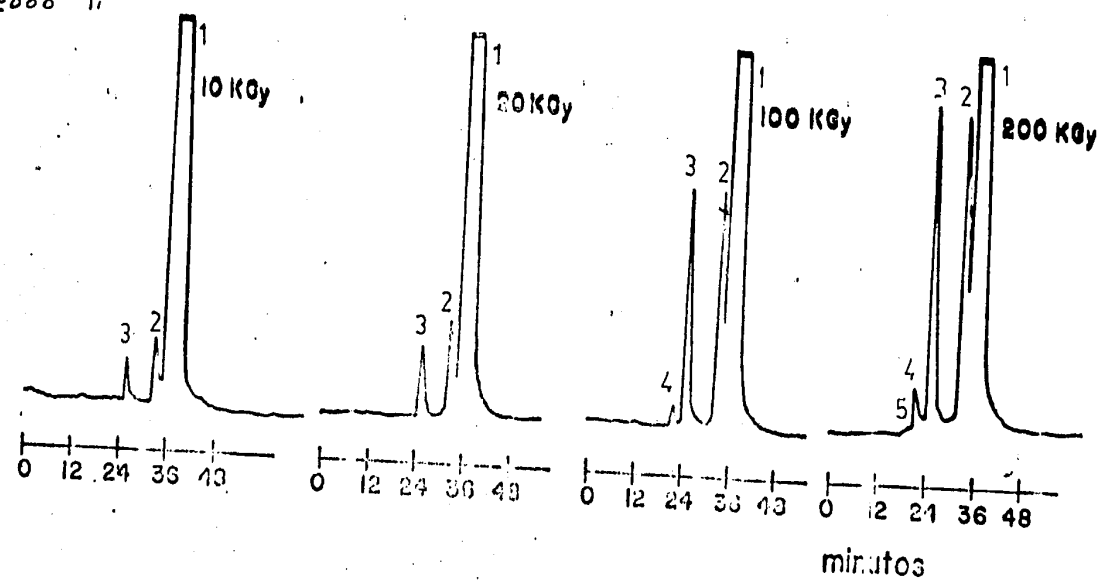


Fig. 5. Comparación de los cromatogramas obtenidos para el sistema de glicina + dicianamida irradiados a diferentes dosis.

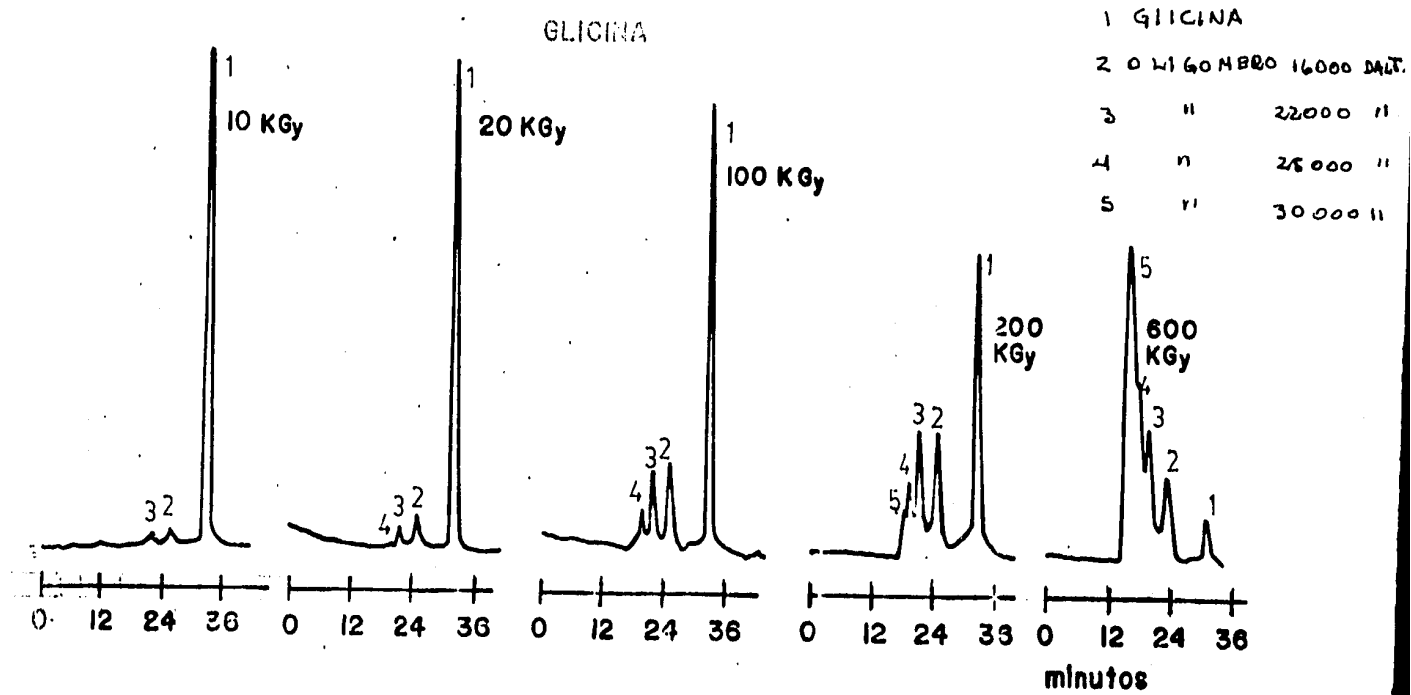


Fig. 6. Comparación de los cromatogramas obtenidos para el sistema de glicina irradiado a diferentes dosis.

1. Oligómero de 22000 daltones
2. Oligómero de 16000 daltones
3. Oligómero de 10000 daltones
4. Pequeñas Moléculas.

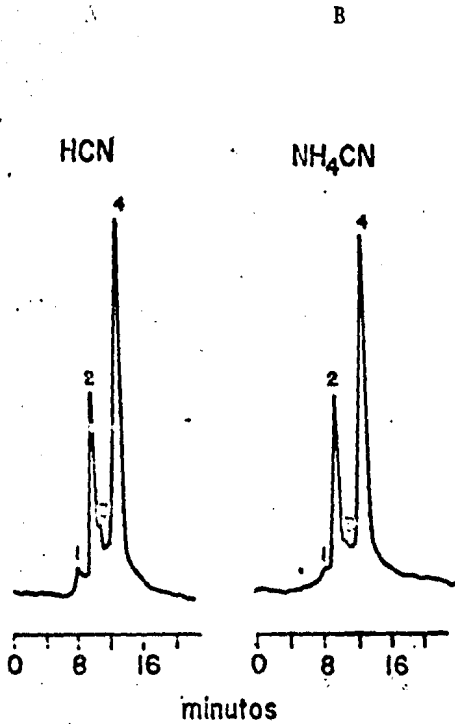


Fig. 7. A - Formación de oligómeros en los sistemas de HCN
B - Formación de oligómeros en los sistemas de NH₄CN.

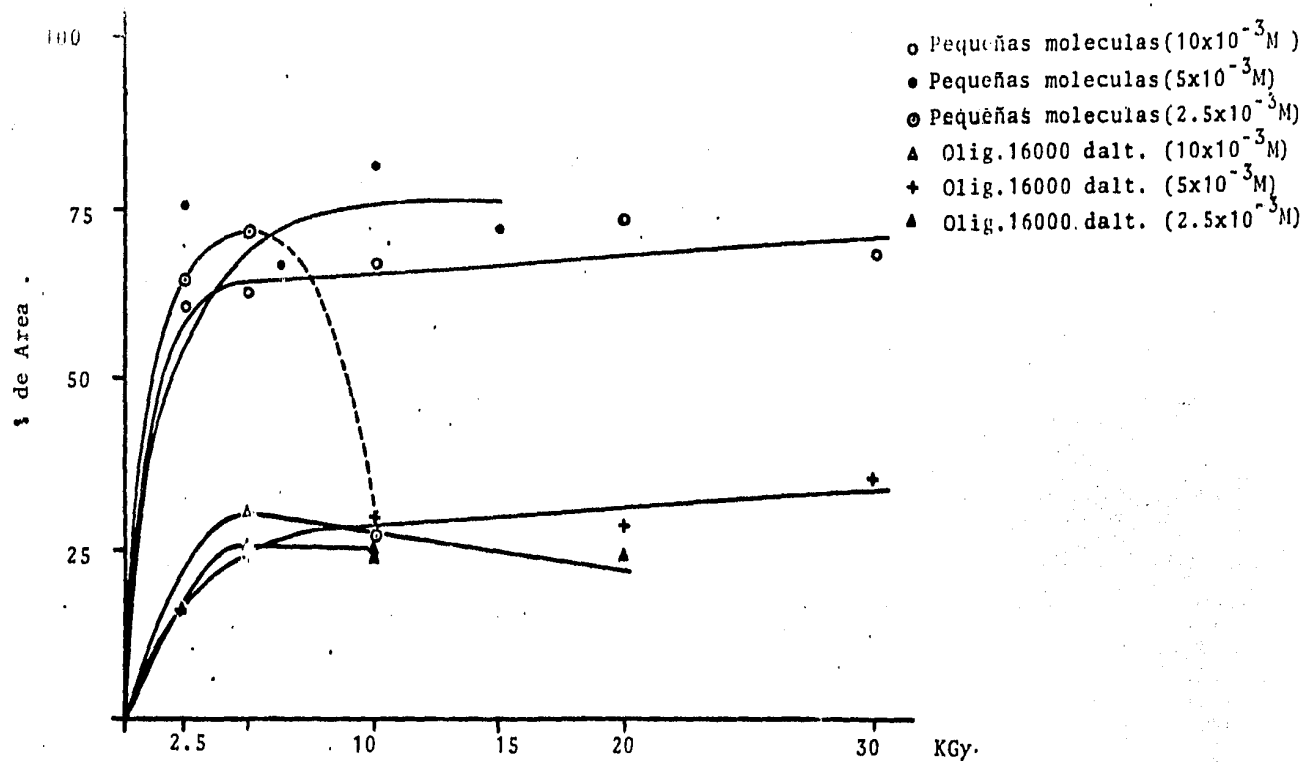


Fig. 8. Efecto de la dosis en la formación de oligómeros en el sistema de HCN.

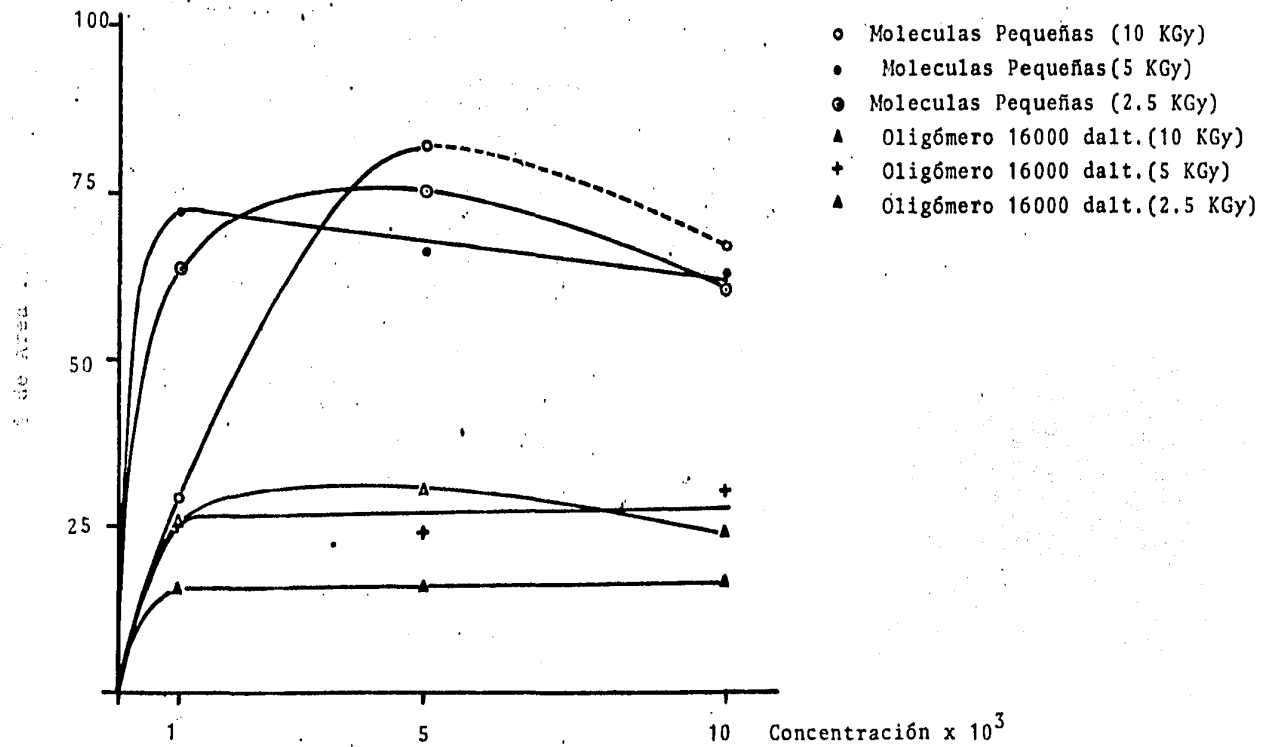


Fig. 9. Efecto de la concentración en la formación de oligómeros en el sistema de HCN.

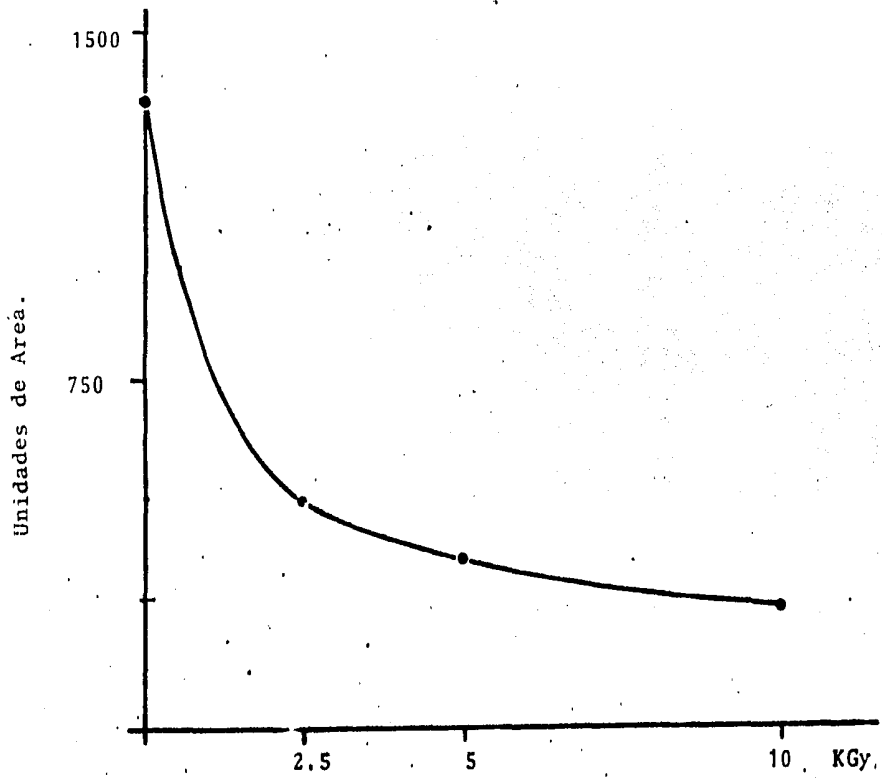


Fig. 10. curva de descomposición de HCN ($10 \times 10^{-3}M$)

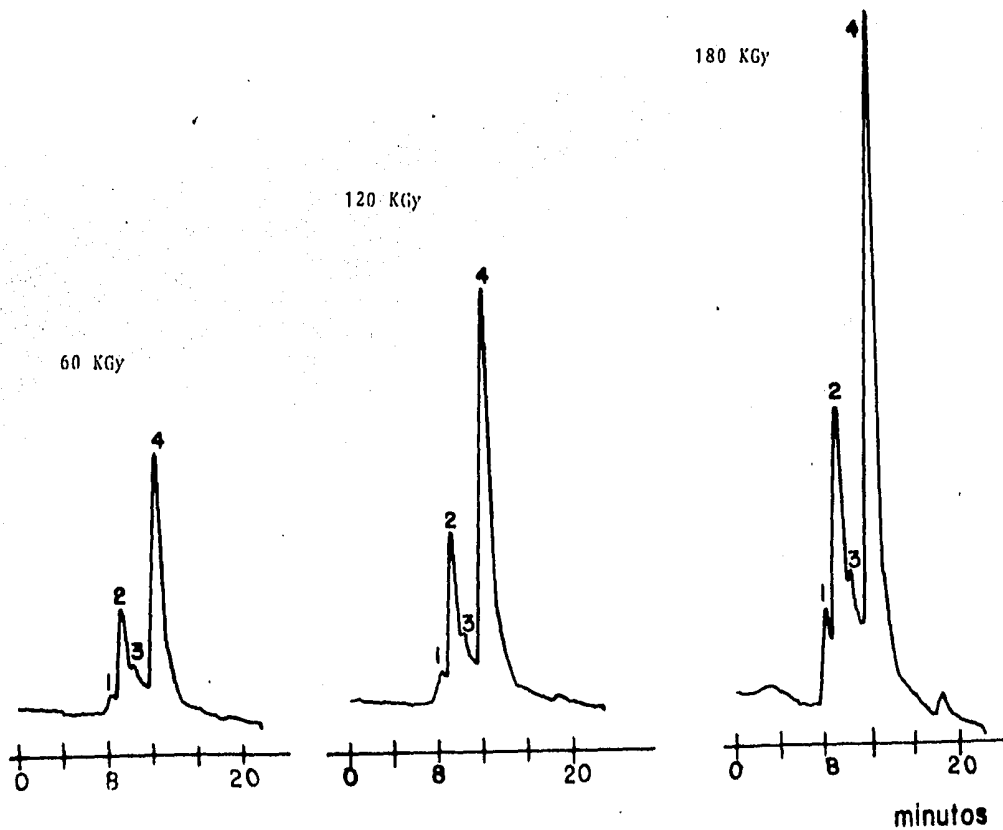
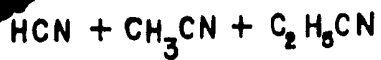


Fig. 11. Cromatogramas obtenidos para el sistema $\text{HCN} + \text{CH}_3\text{CN} + \text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$ a diferentes dosis de irradiación.

1. Oligómero de 22000 daltones
2. Oligómero de 16000 daltones
3. Oligómero de 10000 daltones
4. Moléculas Pequeñas.

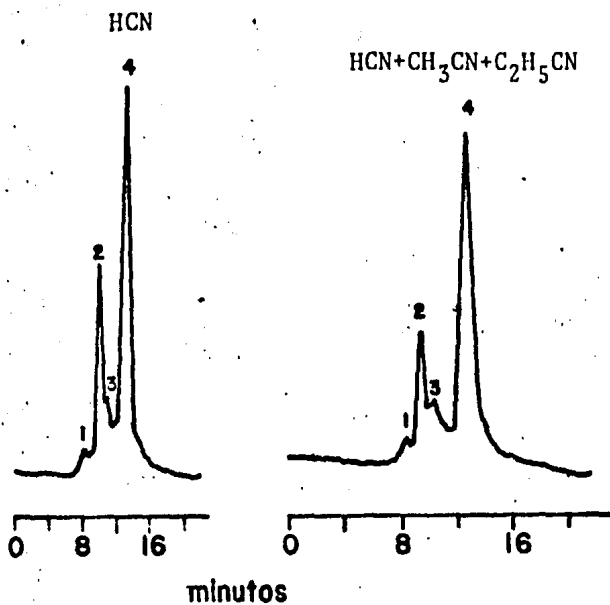


Fig. 12. Comparación de dos cromatogramas de los sistemas irradiados de HCN y HCN+CH₃CN+C₂H₅CN.