



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**INFLUENCIA DE LAS SUPERFICIES MINERALES
EN EL DESARROLLO Y ESTABILIZACIÓN
DE MOLÉCULAS ORGÁNICAS EN CONDICIONES PREBIÓTICAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. ELLEN YVETTE AGUILAR OVANDO

DRA. ALICIA NEGRÓN MENDOZA
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM

MÉXICO, DICIEMBRE DE 2015



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**INFLUENCIA DE LAS SUPERFICIES MINERALES
EN EL DESARROLLO Y ESTABILIZACIÓN
DE MOLÉCULAS ORGÁNICAS EN CONDICIONES PREBIÓTICAS**

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. ELLEN YVETTE AGUILAR OVANDO

**DRA. ALICIA NEGRÓN MENDOZA
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM**



México, D. F., diciembre de 2015

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. GERMINAL COCHO GIL

Secretario: Dr. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

Vocal: Dra. SOFÍA GUILLERMINA BURILLO AMEZCUA

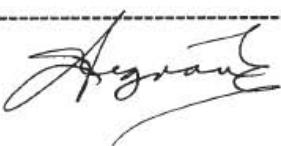
Vocal: Dr. JUAN MANUEL NAVARRETE TEJERO

Vocal: Dra. FABIOLA MONROY GUZMÁN

La presente tesis de doctorado fue desarrollada en el Laboratorio de Química de Radiaciones y Evolución Química del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería, División de Materiales, Ciencia e Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Yokohama (YNU), Japón.

TUTOR DE TESIS:

Dra. ALICIA NEGRÓN MENDOZA

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Alicia Negron Mendoza". The signature is fluid and cursive, with a horizontal line above and below it.

Avances del presente trabajo se presentaron en los siguientes eventos:

Origins 2014

Nara, Japón, 06-11 de julio de 2014.

QuimiUNAM 2013

UNAM, México, D.F., 13-15 de noviembre de 2013.

IX International Symposium on Radiation Physics

Puebla, México, 15-17 de abril de 2013.

VIII Reunión B bianual de la Sociedad Mexicana de Astrobiología (SOMA)

UAEM, Cuernavaca, Morelos, México, 24 de agosto de 2012.

Origins 2011

Montpellier, Francia, 03-08 de julio de 2011.

Así mismo, parte del trabajo fue publicada en:

Aguilar-Ovando E. y Negrón-Mendoza A. (2015). Stability of alanine in a high radiation field, adsorbed onto solid surfaces. *J Radioanal Nucl Chem*, **304**: 213-217. DOI 10.1007/s10967-014-3735-4

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Posgrado en Ciencias Químicas, por permitirme estudiar, que es lo que más me gusta en esta vida.

A CONACYT, por la beca de estudios otorgada (no. de becaria: 216380) y el apoyo para la escritura de tesis, brindado a través del proyecto no. 168579.

A la Dra. Alicia Negrón Mendoza, por dirigir esta tesis y por su apoyo, confianza, solidaridad y amistad durante todo el doctorado.

Al Dr. Kensei Kobayashi por su asesoría y colaboración en la Universidad Nacional de Yokohama, Japón, y a todos los miembros de su grupo que aportaron tiempo, trabajo y sugerencias durante mi estancia doctoral.

A los miembros de mi comité tutorial, Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero y Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez, por su asesoría, comentarios y críticas a lo largo del trabajo.

A los miembros del jurado, Dr. Germinal Cocho Gil, Dra. Sofía Guillermina Burillo Amescua, Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero, Dra. Fabiola Monroy Guzmán y Dr. Manuel Jiménez Estrada, por revisar y brindar sugerencias para mejorar el manuscrito.

Al personal de la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares, en especial al Físico Francisco García Flores, por su ayuda en la irradiación de muestras.

A los miembros de otras unidades del Posgrado que colaboraron con el desarrollo de análisis específicos, en especial a la M. en C. Victoria Gómez, por su colaboración con los análisis de EPR y a la M. en C. Cecilia Salcedo, por su apoyo en los análisis de difracción de rayos X.

A todos los compañeros del grupo de investigación de Origen de la Vida y Evolución y miembros del Instituto de Ciencias Nucleares que de alguna forma colaboraron para hacer posible la realización de este trabajo, y en especial a la Química Claudia Camargo y el Dr. Sergio Ramos por toda su generosa ayuda y amistad a lo largo de estos años.

A todos gracias por siempre.

*A mi familia, Rommel, Ana María,
Krista, Jacobo, Alba y Christian.
A mi compañero Hugo.*

Índice de Contenido

	Página
I. Abstract / Resumen.....	1
II. Introducción.....	3
A. Antecedentes.....	3
1. Origen de la vida: <i>evolución química</i>	3
2. La Tierra primitiva: <i>escenario de síntesis química y prebiótica</i>	5
a. Fuentes de energía en la Tierra primitiva: <i>impulsando la evolución química</i>	8
3. Superficies minerales en los procesos de evolución química.....	11
a. Las arcillas.....	12
b. Los meteoritos y otros cuerpos celestes.....	15
4. Homoquiralidad: <i>una característica común de los seres vivos</i>	17
5. Los aminoácidos: <i>bloques de construcción de la vida</i>	23
a. Síntesis abiótica de aminoácidos.....	24
B. Objetivos.....	26
C. Justificación.....	27
D. Hipótesis.....	28
III. Materiales y Métodos.....	29
A. Materiales.....	29
1. Reactivos.....	29
2. Equipo.....	29
B. Procedimiento experimental.....	30
1. Lavado de cristalería.....	31
2. Preparación de disoluciones de aminoácidos.....	32
3. Análisis de disoluciones patrón.....	32
4. Preparación de minerales.....	32
a. Preparación de arcillas bloqueadas con CTAB.....	33
b. Preparación de arcillas bloqueadas con Na ₅ P ₃ O ₁₀	33
5. Pruebas de Adsorción.....	33
a. Análisis por difracción de rayos X de polvos.....	35
b. Adsorción sobre arcillas químicamente bloqueadas.....	35
6. Pruebas de desorción.....	35
7. Experimentos de Irradiación.....	36
a. Experimentos de irradiación en disolución acuosa.....	36
b. Experimentos de irradiación en sólido.....	38
IV. Resultados.....	39
A. Análisis de disoluciones patrón.....	39
B. Análisis y preparación de minerales.....	40
C. Pruebas de adsorción.....	43
1. Sitio de adsorción de los aminoácidos dentro de la estructura tridimensional de la montmorillonita de sodio.....	48
D. Pruebas de desorción.....	49
E. Experimentos de irradiación.....	51
1. Experimentos en disolución acuosa: <i>análisis por HPLC/ELSD</i>	51
2. Experimentos de irradiación en sólido: <i>análisis por EPR</i>	53
V. Discusión de Resultados.....	61
A. Pruebas de adsorción y desorción.....	62
B. Experimentos de irradiación.....	65
VI. Conclusiones y Consideraciones Finales.....	69
VII. Referencias Bibliográficas.....	71
VIII. Anexos.....	80
A. Obtención de agua tridestilada (Donell y Sangster, 1970).....	80
B. Difracción de rayos X de polvos: <i>Método analítico aplicado</i>	80
C. Resonancia Paramagnética Electrónica: <i>Método analítico aplicado</i>	80
IX. Artículo Publicado.....	81

Índice de Figuras

	Página
Figura 1 Escala temporal geológica de la Tierra.....	5
Figura 2 Arreglos cristalinos en la estructura de las arcillas.....	12
Figura 3 Tipos de arcillas según su estructura.....	13
Figura 4 Distribución de cargas en la unidad estructural de la montmorillonita de sodio.....	14
Figura 5 Enantiómeros D y L de un aminoácido con un solo centro estereogénico.....	18
Figura 6 Estructura química de los α -aminoácidos y su comportamiento anfotérico.....	23
Figura 7 Estructura química de los aminoácidos seleccionados para el estudio.....	24
Figura 8 Síntesis de Strecker para aminoácidos.....	25
Figura 9 Esquema de la disposición de las muestras dentro de la cámara del irradiador.....	37
Figura 10 Cromatograma obtenido por HPLC/ELSD bajo las condiciones analíticas ensayadas en los experimentos para disoluciones racémicas de:	
a. Alanina.....	39
b. Serina.....	39
Figura 11 Espectro de difracción de rayos X de polvos de minerales pretratados con H_2O_2 :	
a. Montmorillonita de sodio antes del lavado.....	41
b. Montmorillonita de sodio después del lavado.....	41
c. Olivino antes del lavado.....	41
d. Olivino después del lavado.....	42
e. Meteorito Allende antes del lavado.....	42
f. Meteorito Allende después del lavado.....	42
Figura 12 Espectro de difracción de rayos X de polvos de montmorillonita de sodio pretratada con H_2O_2 :	
a. Arcilla pura.....	43
b. Arcilla tratada con CTAB.....	43
c. Arcilla tratada con $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	43
Figura 13 Curvas de adsorción de DL, D y L-alanina en arcilla, meteorito Allende y olivino a distintos valores de pH y distintos tiempos de adsorción:	
a. DL-alanina en arcilla.....	44
b. L-alanina y D-alanina en arcilla.....	44
c. DL-alanina en meteorito Allende.....	44
d. L-alanina y D-alanina en meteorito Allende.....	45
e. DL-alanina en olivino.....	45
Figura 14 Curvas de adsorción de DL, D y L-serina en arcilla, meteorito Allende y olivino a distintos valores de pH y distintos tiempos de adsorción:	
a. DL-serina en arcilla.....	44
b. L-alanina y D-alanina en arcilla.....	44
c. DL-alanina en meteorito Allende.....	44
d. L-alanina y D-alanina en meteorito Allende.....	45
e. DL-alanina en olivino.....	45
Figura 15 Espectro de difracción de rayos X de polvos de montmorillonita de sodio tras adsorciones:	
a. Arcilla pura.....	48
b. Arcilla + DL-alanina.....	48
c. Arcilla + DL-serina.....	48

Figura 16 Porcentaje de adsorción de DL, L y D-alanina y serina a diferentes valores de pH:	49
a. Desorción de arcilla.....	49
b. Desorción de meteorito Allende.....	50
Figura 17 Curvas de descomposición de DL, D y L-alanina y serina en disolución acuosa 0.01 M por efecto de la radiación gamma:	
a. Alanina (pH 6).....	51
b. Alanina (pH 2).....	51
c. Serina (pH 6).....	51
d. Serina (pH 2).....	51
Figura 18 Espectros de EPR de DL, D y L-alanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).....	54
Figura 19 Espectros de EPR de D, L y L-alanina-2-d sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).....	55
Figura 20 Principales radicales formados por irradiación de alanina con radiación ionizante.....	55
Figura 21 Espectros de EPR de DL, D y L-serina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).....	56
Figura 22 Espectros de EPR de DL, D y L-ácido málico sólido irradiado con ^{60}Co (12.96 kGy).....	56
Figura 23 Espectros de EPR de DL, D y L-ácido aspártico sólido irradiado con ^{60}Co (12.96 kG).....	57
Figura 24 Espectros de EPR de DL, D y L-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).....	57
Figura 25 Espectro de EPR de DL-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy) analizada inmediatamente después de la irradiación, comparado con los de DL, D y L-fenilalanina analizados 12 días después de la irradiación.....	58
Figura 26 Espectros de EPR de D y L-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy) analizadas inmediatamente después de la irradiación, y 12 días más tarde.....	58
Figura 27 Espectros de EPR de D, L y DL-alanina sólida irradiada con el haz de iones de carbono acelerados (12.5 kGy) en el HIMAC.....	59
Figura 28 Espectros de EPR de muestras sólidas de montmorillonita de sodio / aminoácido (95:5) irradiadas con el haz de iones de carbono acelerados (12.5 kGy) en el HIMAC:	
a. DL-alanina.....	60
b. DL-serina.....	60

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Fuentes de energía probables presentes en la Tierra primitiva hace 4,000 millones de año.....	8
Tabla 2. Concentraciones de elementos radiactivos de vida larga en la actualidad y durante el período de evolución química de la Tierra.....	10
Tabla 3. Factor de anisotropía para algunos aminoácidos, medido a temperatura ambiente y longitudes de onda específicas.....	20
Tabla 4. Intensidad de la dosis de irradiación en la cámara del Gammabeam 651 PT.....	37
Tabla 5. Condiciones experimentales comprobadas para el análisis de alanina y serina por HPLC/ELSD.....	39
Tabla 6. Estabilidad de las disoluciones de DL-alanina y DL-serina durante 10 días, comprobados por HPLC/ELSD.....	40
Tabla 7. Porcentaje de adsorción de DL-alanina y serina en arcillas tratadas con CTAB (bloqueo de canales) y Na ₅ P ₃ O ₁₀ (bloqueo de bordes) a pH 2 y 6.....	49
Tabla 8. Porcentaje remanente de DL-alanina en disoluciones irradiadas con ⁶⁰ Co a dos diferentes razones de dosis, en ausencia de arcilla y a pH 2.....	52
Tabla 9. Porcentaje remanente de D, L y DL-alanina tras irradiación con ⁶⁰ Co en presencia y ausencia de montmorillonita de sodio a pH 2.....	53
Tabla 10. Diferencias porcentuales entre las concentraciones de radicales presentes en la D, L y DL-alanina sólida tras irradiación con ⁶⁰ Co (12.96 kGy) , calculadas para los tres picos más intensos de sus espectros de EPR.....	54

I. Abstract

Homochirality of certain organic molecules (L-amino acids and D-sugars) is part of all known biological systems, including viruses and prions. It is considered fundamental for molecules to be able to express and support life, and that is why its origin is so relevant in studies of the origin and evolution of life.

This study intends to contribute new evidence regarding the mineral-homochirality development hypothesis. The influence of Sodium Montmorillonite and Allende's meteorite on the chemical transformations undergone by solid and aqueous alanine and serine, when subjected to conditions simulating the primitive Earth during the period of chemical evolution, was studied. Likewise, the influence of these minerals and the effects of the simulated environment in the optical isomerism of the samples were evaluated.

By using X-ray diffraction techniques, HPLC/ELSD and EPR to analyze samples irradiated with doses between 0 and 96 kGy from a cobalt-60 gamma ray source, the experiments prove the hypothesis of the concentration capacity and protective role against external sources of ionizing radiation that some solid surfaces can provide to amino acids adsorbed on them. At the same time, the results show a very slight difference in radiolysis of solid D and L amino acids, which suggests that the ionizing radiations may have contributed to the development of homochirality.

I. Resumen

La homoquiralidad de ciertas moléculas orgánicas (L-aminoácidos y D-azúcares) es parte de todos los sistemas biológicos conocidos, incluyendo virus y priones. Se considera fundamental para que las moléculas sean capaces de expresar y mantener la vida y es por eso que su origen es de tanta importancia en los estudios sobre origen y evolución de la vida.

Este estudio pretende aportar nueva evidencia respecto a la hipótesis del desarrollo de la homoquiralidad relacionada con las superficies minerales. Se evaluó la influencia de la Montmorillonita de sodio y el meteorito Allende en las transformaciones químicas sufridas por dos aminoácidos, alanina y serina, tanto en estados sólido como acuoso, cuando se les somete a condiciones que simulan la Tierra primitiva durante el periodo de evolución química. Así mismo, se estudió la influencia de estos minerales y la del ambiente simulado en la isomería óptica de las muestras.

Mediante el uso de técnicas de difracción de rayos X, HPLC/ELSD y EPR para analizar las muestras irradiadas con una fuente de rayos gamma de cobalto-60, con dosis entre 0 y 96 kGy, los experimentos efectuados prueban la hipótesis de la capacidad de concentración y papel protector contra fuentes externas de radiación ionizante que algunas superficies sólidas pueden proporcionar a los aminoácidos adsorbidos en ellas. Al mismo tiempo, los resultados muestran una muy ligera diferencia en la radiólisis de los aminoácidos D y L en estado sólido, lo cual sugiere que la radiación ionizante pudo haber contribuido al desarrollo de la homoquiralidad en moléculas orgánicas.

II. Introducción

A. Antecedentes

1. Origen de la Vida: *Evolución química*

El origen de la vida y su evolución constituyen un enigma que se ha estudiado desde diferentes disciplinas a lo largo de la historia de la humanidad. La definición de *vida* propuesta por la Administración Nacional de Aeronáutica y del Espacio –NASA– considera a todo sistema químico autosustentable capaz de llevar a cabo evolución Darwiniana (Zubay, 2000), es decir, capaz de cambio gradual a través del tiempo mediante selección natural, promovida por la necesidad de adaptación al entorno. Esta definición evita limitar el concepto a estructuras y moléculas que componen la vida como la conocemos hoy exactamente, permitiendo así hipotetizar libremente sobre sus comienzos; aunque la mayor parte de estudios prácticos busquen centrarse en sistemas que puedan responder más concretamente al origen de los seres vivos presentes en la Tierra.

Así, diversas teorías han sido desarrolladas a lo largo del tiempo, como la de la *generación espontánea* o *abiogénesis*, propuesta por Aristóteles en el siglo XVI y refutada experimentalmente en el siglo XIX por Louis Pasteur (Lazcano, 2000), en la cual se proponía que la vida compleja podría surgir espontáneamente a partir de la mera conjunción de cierta materia orgánica o inorgánica. En 1908 Svante Arrhenius propuso la *panspermia* (basándose en el término y principios creados en 1865 por el biólogo alemán Hermann Richter), que traslada el origen de la vida al universo fuera de la Tierra, de donde ésta arribó en forma de esporas o microorganismos transportados por cometas y otros cuerpos celestes que impactaron en ella en algún punto (Zubay, 2000). La idea fue retomada por Crick y Orgel en 1973, quienes basaron sus argumentos en la anómala abundancia de molibdeno que presentan los organismos terrestres que solo es explicable por su presunta procedencia extraterrestre. Esta teoría no explica propiamente cómo se originó la vida en otra parte y tiene como crítica fundamental las difíciles condiciones que tendrían que soportar los organismos para sobrevivir en su trayecto y arribo a la Tierra.

Un enfoque que en ocasiones es conocido como *pseudopanspermia* o *panspermia molecular*, habla de la posibilidad de que moléculas orgánicas de cierta complejidad se formaran fuera de la Tierra y ya en ella condujeran a la generación de vida, propuesta que ha sido estudiada cada vez con mayor interés y que se sitúa entre aquellas que buscan explicar el origen de la vida mediante procesos de *evolución química*.

Tradicionalmente se considera que fueron Alexandre Oparin y John Haldane, en 1924 y 1929 respectivamente, quienes sentaron las bases de lo que actualmente se conoce como evolución química (Luisi, 1998), proponiendo que en el planeta primitivo habrían existido las condiciones físicas y los ingredientes químicos necesarios para la vida, probablemente disueltos en los mares, en una “sopa prebiótica” (término acuñado por Haldane), idea que retomaba el planteamiento de Charles Darwin del siglo XIX sobre un estanque tibio lleno de sales y otros ingredientes fundamentales para la vida (Colín, 1999).

Hoy en día se reconoce que el surgimiento de la vida requirió, por lo menos de cuatro pasos: 1) la formación de bio-moléculas, 2) el ensamblaje de sistemas macromoleculares, 3) la emergencia de moléculas con ciclos de auto replicación, y 4) procesos de evolución molecular por selección natural (Hazen, 2005), por lo que su estudio se ha dividido en tres etapas: *evolución química o síntesis abiótica, evolución prebiológica y evolución biológica* (Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993).

La hipótesis de Oparin-Haldane, señala que la vida se originó por medio de la síntesis abiótica y la consecuente acumulación de compuestos orgánicos, a través de una serie de procesos físicos y químicos. Así, la *evolución química* puede entenderse como la química de la formación y organización de compuestos bio-orgánicos bajo condiciones que se suponen primitivas (Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993).

Se postula que posteriormente estos primeros compuestos orgánicos con vidas medias altamente variables (Miller, 1986) y dependientes de micro-ambientes específicos, se transformaron en aquellos polímeros clave con capacidades químicas para la aparición de la vida: autocatálisis y autorreplicación, en una etapa conocida como *evolución molecular*.

Tomando como base las premisas de Oparin y Haldane, se desarrollaron numerosos trabajos, entre los que sobresalen los experimentos realizados por Harold Urey y Stanley Miller en los 50's, que demuestran la síntesis abiótica de moléculas orgánicas de importancia biológica, simulando las condiciones que se creía prevalecieron en la atmósfera reductora primitiva (Urey, 1952; Miller, 1953). También destaca el trabajo de Joan Oró, quien planteó la posibilidad de sintetizar adenina a partir de HCN en las condiciones de la Tierra primitiva, donde se cree fue uno de los compuestos más abundantes, al serlo relativamente en el universo (Oró y Kimball, 1961); y el de John Bernal, quien propuso a las arcillas como agentes concentradores, protectores y/o catalizadores de moléculas importantes en el surgimiento de la vida (Bernal, 1951).

Trabajos previos demostraban la factibilidad de sintetizar abióticamente monómeros de importancia bioquímica, aunque en ellos no se contemplaban condiciones que simularan

ambientes específicos, pues no se asociaban con estudios de origen de la vida. Entre ellos cabe realzar los de Joseph Proust en 1807 sobre síntesis de polímeros y adenina a partir de ácido cianhídrico, el de Friedrich Wöhler en 1828 sobre síntesis de urea a partir de cianatos –que destacó por derrumbar la creencia vitalista de que no era posible obtener un compuesto orgánico a partir de uno inorgánico–, el de Adolph Strecker en 1850 sobre síntesis de aminoácidos racémicos a partir de aldehídos y cetonas en presencia de un cloruro de amonio y cianuro, y el de Aleksandr Butlerov en 1861, que muestra la síntesis de una serie de azúcares partiendo de formaldehído (Bada y Lazcano, 2003).

2. La Tierra primitiva: *escenario de la evolución química y prebiótica*

Aunque el concepto de evolución química se halla bien definido, es difícil ubicar el proceso en un tiempo y espacio concreto. Según las evidencias fósiles la vida en la Tierra inició en forma de microorganismos y debió aparecer tras el enfriamiento del planeta que siguió al intenso bombardeo tardío de cometas, meteoros y planetesimales (materiales sólidos condensados a partir de la nebulosa solar), hace unos 3,500 millones de años, cuando la tasa de bombardeo alcanzó su valor actual (Maher y Stevenson, 1988; Sleep *et al.*, 1989) y la superficie de la Tierra se hizo lo suficientemente hospitalaria como para permitir la síntesis de moléculas orgánicas (Draganić y Draganić, 1978).

No se puede determinar con certeza, pero se cree que lo más probable es que la vida no se haya generado una única vez, dadas las características de la evolución de la Tierra desde sus orígenes. Inclusive, se ha propuesto que los impactos pudieron haber tenido efectos benéficos, siendo fuente importante de compuestos químicos volátiles y orgánicos (Chyba y Sagan, 1992; Greenberg y Mendoza-Gómez, 1992; Oró *et al.*, 1992).

El escenario geológico propuesto para la evolución química abarca la mayor parte eón Arcaico y hasta inicios del Proterozoico (Véase *Figura 1*), de acuerdo a la información actual de rocas y minerales carbonatados.

El eón Arcaico es la segunda división geológica del Tiempo Precámbrico. Comenzó hace 3,800 millones de años (después del eón Hadeico) y finalizó hace 2,500 millones de años

Figura 1: Escala temporal geológica de la Tierra.



(cuando inició el eón Proterozoico), durando aproximadamente 1,300 millones de años (Cooper *et al.*, 1986). En este período se produjo una evolución de la corteza terrestre, por lo cual tuvo que haber movimiento de placas y una estructura interna terrestre similar a la que conocemos hoy en día, aunque la diferenciaba el exceso de calor. Se calcula que había más actividad tectónica debido a la mayor velocidad en que se producía la litosfera y un mayor número de placas más pequeñas, no habiéndose formado grandes continentes hasta finales del Arcaico, puesto que la alta tasa de actividad geológica impedía la coalescencia en unidades más grandes.

Inicialmente, los elementos más abundantes de la capa rocosa del planeta eran oxígeno, magnesio, silicio y hierro. En contraste con el Proterozoico, las rocas arcaicas son a menudo sedimentos de aguas profundas fuertemente metamorfosados, tales como grauvacas (rocas detríticas formadas por la consolidación de los minerales que resultan de la disgregación del granito), esquistos arcillosos, sedimentos volcánicos y formaciones de hierro bandeados, producto de la precipitación de sales ferrosas en forma de óxidos férricos a medida que la atmósfera fue pasando de ser reductora a oxidante (Zubay, 2000). Las rocas carbonatadas son raras, lo que indica que los océanos eran más ácidos que durante el Proterozoico, debido a la disolución de dióxido de carbono (Stanley, 1999).

La hidrosfera de la Tierra Primitiva tuvo un papel fundamental en el surgimiento de la vida, según las teorías de evolución química, puesto que en ella podrían haberse formado y difundido las moléculas bio-orgánicas (Negrón-Mendoza *et al.*, 1992). Se ha sugerido que los océanos podrían haber aparecido en el eón Hadeico tan temprano como 150-200 millones de años después de la formación de la Tierra, en un ambiente caliente (alrededor de 100°C) y reductor, con un pH inicial de 5.8 que subió rápidamente hacia la neutralidad. Esta idea ha sido apoyada por la datación de cristales de zircón encontrados en cuarcitas metamórficas en Australia occidental, y otros estudios realizados en el cinturón de basalto de Nuvvuagittuq, al norte de Quebec, Canadá, empleando neodimio-142, que confirman que los océanos y la corteza continental existieron dentro de los 150 primeros millones de años tras la formación de la Tierra (Kasting, 1993; Sagan y Mullen, 1972; Schidlowski *et al.*, 1979). Se supone que hubo una época de bombardeo profundo y continuos de cometas que generaron una atmósfera de vapor densa, que al cambiar la temperatura permitió la condensación y formación de los océanos, cuya masa se acumuló en el período comprendido entre hace 4,400 y 3,900 millones de años (Chang, 1994).

En cuanto al pH de los océanos hace 3,500 millones de años –cuando se supone inició la vida según el fósil más antiguo de un organismo vivo (bacteriano), hallado en Australia (Noffke *et al.*, 2013)–, no hay consenso, y existen numerosas hipótesis que proponen valores de entre 9 y 11

(Kasting, 1993), de 6, con algunos microambientes de pH extremo hasta de 1 (Walker, 1985), o bien, 8.1 ± 0.2 , similar al actual (Sillén, 1967), considerando que el pH es determinado por el efecto amortiguador de los enormes depósitos arcillosos y minerales en el fondo oceánico, los cuales han impedido que cambie significativamente (Zubay, 2000). Es de hacerse notar que el interior de las células en los organismos suele estar cercano a 8.1, de modo que el supuesto pH de los océanos primitivos sería ideal para las reacciones bioquímicas.

La composición química de la atmósfera se ha considerado un factor de gran importancia en los experimentos de evolución química y estudios prebióticos (Vega-Arreguín, 1998), ya que sus componentes pudieron formar parte de las reacciones abióticas al entrar en contacto con los componentes de la hidrósfera.

Originalmente, la Tierra debió haber tenido una atmósfera con composición muy similar a la de la nebulosa primordial de la cual se formó el Sistema Solar. Por lo tanto, debió ser rica en hidrógeno, el cual redujo el carbono y nitrógeno presentes, formando CH_4 y NH_3 en cantidades importantes (Walker, 1977; Owen, 1985). Esta *atmósfera primaria* pudo contener también H_2 , He, H_2O y H_2S , y presentar un carácter reductor, que se sabe hoy día es apropiado para la síntesis efectiva de aminoácidos y otros compuestos esenciales para la vida (Chang, 1994). Se calcula esta atmósfera primaria no duró más de 100 millones de años (Walker, 1985).

Con el tiempo, la atmósfera sufrió cambios, perdiéndose los gases más ligeros hacia el espacio exterior (H_2 , He, etc.) por la acción del calor emitido por el sol y la debilidad del campo gravitacional generado por la Tierra, comparado con el de los planetas gigantes como Júpiter y Saturno (Lazcano-Araujo, 1991). Al mismo tiempo ocurrió la pérdida de los componentes más abundantes, el NH_3 y el CH_4 , por fotólisis (Levine *et al.*, 1982), y ocurrieron emisiones volcánicas y degasificación de la corteza terrestre, ocasionadas probablemente por el calentamiento producido durante la acreción, o por la producción de energía por decaimiento de elementos radiactivos (Ponnamperuma y Molton, 1981; Levine *et al.*, 1982; Owen, 1985), dando como resultado la aparición de una *atmósfera secundaria* (Could, 1977; Owen, 1985).

Más adelante disminuyó la concentración de CO_2 por la formación de depósitos de carbonatos en los continentes (Kasting, 1993), favorecidos por la permanencia de agua en la Tierra, que facilitó la fijación de este gas (Mason, 1992).

Se cree que en el momento de la evolución química, la atmósfera tuvo un carácter ligeramente reductor o neutro, producto de la presencia de H_2O , CO_2 , S_2 y N_2 , principalmente, los cuales provocarían un efecto invernadero que ayudaría a mantener la temperatura de la superficie terrestre y los océanos entre los 30° y 50°C (Lowe, 1994). El oxígeno aumentó su abundancia hace

sólo 2,100 millones de años, debido principalmente, a los procesos fotosintéticos (Kasting, 1993), y al agotamiento de los “sumideros de oxígeno” (aquellos fenómenos que consumían el oxígeno libre, como la presencia de Fe^{2+} disuelto en los océanos, que fue precipitando en forma de Fe_2O_3 hasta agotarse el catión, dejando depósitos de hierro bandeados [Garzón, 1996]). Al irse acumulando y por reacciones de fotólisis con la luz UV, el oxígeno se fue transformando en ozono en la parte alta de la atmósfera, hasta formar una capa que absorbía esta radiación y disminuyó su efecto en la superficie terrestre, permitiendo la acumulación de oxígeno molecular y transformando las condiciones ambientales para el desarrollo y evolución de la vida ya existente.

a. Fuentes probables de energía en la Tierra primitiva: impulsando la evolución química

Además de requerirse elementos específicos en condiciones ambientales favorables para la formación de moléculas complejas, se requiere de fuentes de energía que impulsen las reacciones químicas. La transformación de moléculas simples y precursores orgánicos en moléculas biológicamente relevantes como aminoácidos, azúcares, ácidos grasos, y polímeros fue posible por la acción de diversas fuentes de energía presentes en la Tierra primitiva, entre las cuales se incluyen luz UV, descargas eléctricas, rayos cósmicos y viento solar provenientes del espacio exterior, radioactividad, energía térmica (volcánica y de manantiales hidrotermales) y ondas de choque (Miller, 1986; Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993). La cantidad de energía disponible para cada fuente se calcula sustancialmente distinta (Véase *Tabla 1*), además de variar su capacidad para promover síntesis y/o destrucción de nuevas moléculas, y por tanto, los efectos que se supone tuvieron sobre los procesos de evolución química.

Tabla 1: Fuentes de energía probables presentes en la Tierra primitiva hace 4,000 millones de años (tomado de Garzón y Garzón, 2001).

Fuente	Energía (J/año)
Radiación UV (total)	6.0×10^{22}
UV $< 1,500 \text{ \AA}$ (150 nm)	3.0×10^{19}
Descargas eléctricas	7.0×10^{19}
Ondas de choque	2.0×10^{19}
Radioactividad (a 1 Km de profundidad)	1.0×10^{19}
Viento solar	3.0×10^{18}
Energía térmica (volcánica)	2.0×10^{17}
Rayos cósmicos	2.0×10^{16}

La radiación solar fue la fuente de energía más abundante en la Tierra primitiva. Está compuesta de una gama de longitudes de onda con diferentes capacidades para promover reacciones químicas. La mayor parte no es suficientemente energética, aunque ha sido fuente

de calor para acelerar reacciones que se iniciasen por otros medios y podría haber promovido otras reacciones que requerían de procesos de deshidratación. La luz ultravioleta (radiación electromagnética $< 3,000 \text{ \AA}$ [300 nm], que corresponde a cerca del 1.5% de toda la radiación solar) puede ser absorbida por la mayor parte de compuestos orgánicos, haciéndolos más reactivos químicamente, sin embargo, mientras mayor es su longitud de onda, menos moléculas (tanto orgánicas como inorgánicas) pueden absorberla, dejando sólo una porción de la misma (menos del 2%) como realmente efectiva para las pequeñas moléculas prebióticas presentes durante el período de evolución química (Draganić y Adloff, 1993; Zubay, 2000). Así mismo, los rendimientos de las reacciones producidas con ella en condiciones prebióticas son bajos, aunque probablemente sus efectos fuesen mayores en la parte alta de la atmósfera, donde la radiación UV habría generado reacciones fotolíticas (Miller, 1986).

Las descargas eléctricas constituyen la segunda fuente de energía en magnitud, y primera en eficiencia en reacciones de síntesis abiótica dentro de atmósferas reductoras, por lo que son la fuente más empleada en experimentos de evolución química (Navarro-González *et al.*, 2001). Es bien probada su capacidad para sintetizar cianuro de hidrógeno, donde la luz UV no resulta efectiva, y debido a que las descargas ocurren cerca de la tierra, las moléculas formadas y sus intermediarios podrían haber alcanzado a disolverse en los océanos antes de ser fotodissociados (Oró *et al.*, 1990).

Las ondas de choque, producto de los impactos de cuerpos espaciales, se han investigado en experimentos de química prebiótica, probando cierta efectividad como fuente de energía para la síntesis de aminoácidos y ácidos carboxílicos (Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993); mientras que la energía térmica se considera no pudo ser muy efectiva para la síntesis de compuestos orgánicos en la atmósfera primitiva, debido a que para producir reacciones, las mezclas de gases atmosféricos requieren más de 600°C, y deben enfriarse rápidamente (Miller y Orgel, 1974). Sin embargo, la actividad volcánica submarina pudiese haber funcionado en las reacciones de evolución química (Washington, 2000). Se ha considerado en especial su posible participación en las síntesis pirolíticas de algunos aminoácidos (Friedmann *et al.*, 1971).

La radiación ionizante (rayos cósmicos, viento solar y radiactividad), originalmente fue subvaluada en los estudios de evolución química (Oró *et al.*, 1990), pues se había estimado un aporte energético muy por debajo del que ahora se calcula (que la equipara con la energía obtenible de descargas eléctricas, y aún superior si se consideran sitios puntuales con depósitos de uranio a mayor profundidad [Garzón y Garzón, 2001]). Además, diversos estudios demuestran que debido a su gran capacidad de penetración en la materia puede ser eficiente en experimentos de química prebiótica, como la síntesis de monómeros y polímeros de

importancia biológica (Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993; Kobayashi *et al.*, 1990; 1995; 1997; 1998; Garzón y Garzón, 2001), y podría haber promovido reacciones en sitios donde la luz UV y otras fuentes de energía habrían estado ausentes, como en los fondos oceánicos (Dartnell, 2011).

Entre estas fuentes de radiación ionizante, los rayos cósmicos no solares, rayos solares y radiación corpuscular geomagnética (en general, partículas subatómicas cargadas originadas en el espacio y aceleradas a grandes energías [Dartnell, 2011]) fueron la fuente menor de energía disponible, y probablemente sólo produjeron reacciones en la parte alta de la atmósfera (Miller, 1986; Guzmán-Marmolejo, 2006). En cambio, en el espacio exterior, se considera que tuvieron gran importancia en los procesos de evolución química llevados a cabo en polvo interestelar, cometas y meteoritos, permitiendo se generara una amplia variedad de moléculas orgánicas que luego pudieron ser depositadas en la Tierra (Ehrenfreund y Charnley, 2000).

La radiactividad provenía fundamentalmente de radionúclidos en la corteza terrestre formados por procesos nucleares en las estrellas, especialmente: ^{40}K , ^{232}Th , ^{235}U y ^{238}U (radionúclidos primarios, de los cuales los tres últimos forman las series o familias radiactivas que producen, durante su descomposición, isótopos gaseosos y radiactivos de Radón que se acumularon en los vacíos o porosidades de la corteza continental y se difundieron en la atmósfera e hidrosfera a medida que escapaban de la corteza, generando con ello más radiación ionizante que se difunde más ampliamente en el sistema). Todos ellos, durante el período de evolución química, eran más abundantes que en la actualidad (según sus características intrínsecas), pues aún no habían decaído (Véase *Tabla 2*), y se hallaban, según se estima, homogéneamente distribuidos dentro de unos cuantos kilómetros de profundidad, por toda la corteza terrestre (Oró *et al.*, 1990; Garzón y Garzón, 2001). Otros radionúclidos primarios como el ^{87}Rb , ^{176}Lu y ^{138}La resultan relativamente escasos comparados con los anteriores, y sus contribuciones a la radiactividad de la corteza son bajas (Garzón, 1979), por lo que no suelen incluirse en los cálculos de estudios relacionados con evolución química.

Tabla 2: Concentraciones de elementos radiactivos de vida larga en la actualidad y durante el período de evolución química de la Tierra (tomado de Garzón y Garzón, 2001).

	Concentración en la corteza (ppm)		Concentración en depósitos de uranio (ppm)		Factor de multiplicación de la abundancia
	Actual	Hace 4,000 Ma	Actual	Hace 4,000 Ma	
^{238}U	2.7	5	1000	2000	1.86
^{235}U	0.02	1	0.7	400	51.4
^{233}Th	10	12	-	140	1.22
^{40}K	3	26	-	26	8.76

De los isótopos radiactivos de vida media larga ($>10^9$ años), el más ampliamente distribuido fue el ^{40}K , principalmente en el océano, sedimentos y arcillas. La taza de dosis que pudo ser liberada por este radionúclido (hace 3.8 Ma) en las arcillas fue de 1.75×10^{-2} Gy/año, y en el agua de mar de 2.5×10^{-4} Gy/año (Mosqueira *et al.*, 1996). Se estima que 10^{14} g de compuestos orgánicos pudieron haber sido creados en 100 millones de años por la irradiación *in situ* de minerales carbonatados en los océanos primordiales (Draganić, 2005).

Puesto que los diferentes elementos radiactivos producen tanto partículas alfa y beta como radiación gamma, las posibilidades de interacción son múltiples, al igual que los efectos, que pueden incluir ionización directa de moléculas, formación de pares y/o defectos puntuales que podrían preservar la energía dentro del material sólido de la corteza durante largos períodos para luego ser liberada en forma de calor o impulsando reacciones (Avan, 1973), y formación de radicales libres (con el agua u otras moléculas) que podrían haber interactuado posteriormente (Draganić y Vujosević, 1998).

Además de las fuentes físicas de energía mencionadas anteriormente, ciertas reacciones químicas podrían haber proveído energía para la síntesis de compuestos orgánicos, como las óxido-reducciones del ion ferroso y los sulfuros de hierro e hidrógeno, sumamente abundantes en la corteza terrestre y en los océanos (Zubay, 2000).

3. Superficies minerales en la evolución química

La síntesis prebiótica de biomoléculas, es en cierta manera fácil, como lo ha demostrado, medio siglo de experimentación. Sin embargo, en la Tierra, el océano prebiótico contenía una solución diluida de miles de especies de moléculas orgánicas, de las cuales muchas no formaron parte de moléculas de importancia biológica (Hazen, 2005). Para la formación de compuestos más complejos fue necesaria la selección, concentración y organización de monómeros dentro de ese medio. En los organismos vivos estas funciones las llevan a cabo las membranas, pero las superficies minerales podrían ser una alternativa en el mundo prebiótico (Zubay, 2000). Reacciones de tipo heterogéneo en las interfaces mineral/agua y atmósfera/litósfera pudieron tener lugar en las orillas de los océanos, en lagunas someras, etc., donde los procesos de evaporación/re-hidratación podrían haber facilitado la concentración de compuestos orgánicos. Algunos, además de poseer la capacidad de adsorción podrían haber contribuido como catalizadores, fuentes de elementos (como en el caso de la hidroxiapatita, fuente de fosfatos) o con capacidad redox para promover reacciones químicas (como la pirita de hierro, reductora).

Entre los minerales que pudieran haber tenido mayor relevancia se cuentan sulfuros, carbonatos, silicatos y arcillas.

a. Arcillas: *montmorillonita de sodio*

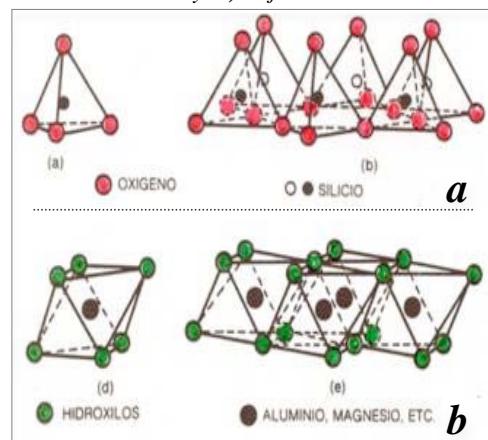
Debido a la amplia distribución geológica (Negrón-Mendoza y Navarro-González, 1990) y antigüedad de las arcillas, y considerando sus propiedades fisicoquímicas y gran afinidad que poseen por los compuestos orgánicos (Ponnamperuma *et al.*, 1982), en 1951 John D. Bernal propuso por primera vez que los compuestos orgánicos prebióticos pudieron ser adsorbidos en superficies minerales, como las arcillas, y ser concentrados y orientados para favorecer o catalizar ciertas reacciones (Negrón-Mendoza y Navarro-González, 1990), o bien dar protección a los compuestos formados ante las fuentes de irradiación, puesto que el escenario primitivo postula un ambiente con intensa luz UV que eventualmente destruiría cualquier monómero y polímero formado de acuerdo a sus tiempos de vida media y/o reactividad).

La presencia de arcillas en la Tierra es muy antigua, y se tiene evidencia geológica de su existencia hace aproximadamente 3.8×10^9 años, la mayoría formándose durante el Arqueano (Rao *et al.*, 1980).

Las arcillas tienen un área superficial alta y una distribución de carga superficial específica. Están asociadas con iones metálicos intercambiables y poseen una capacidad de adsorción variable para cada tipo de material orgánico (del orden de 500 a 760 m²/g para la montmorillonita, por ejemplo [Lazlo, 1987]). Esencialmente están constituidas por silicio, aluminio, oxígeno e hidrógeno (Domínguez y Schifter, 1992), y se consideran dentro del grupo de los filosilicatos (Colín, 1999).

Estructuralmente están formadas por dos tipos de láminas: con arreglos cristalinos tetraédricos de Si–O (“hojas tetraédricas” de simetría hexagonal) y con arreglos cristalinos octaédricos de aluminio o Mg–O–OH, apiladas unas sobre otras. En las capas tetraédricas de Si–O, el átomo de silicio está coordinado a cuatro átomos de oxígeno, de modo que tres átomos de oxígeno están compartidos con tres tetraedros vecinos y un cuarto átomo de oxígeno está libre (Véase Figura 2a), y puede ser

Figura 2: Arreglos cristalinos en la estructura de las arcillas: a) hoja tetraédrica y b) hoja octaédrica.

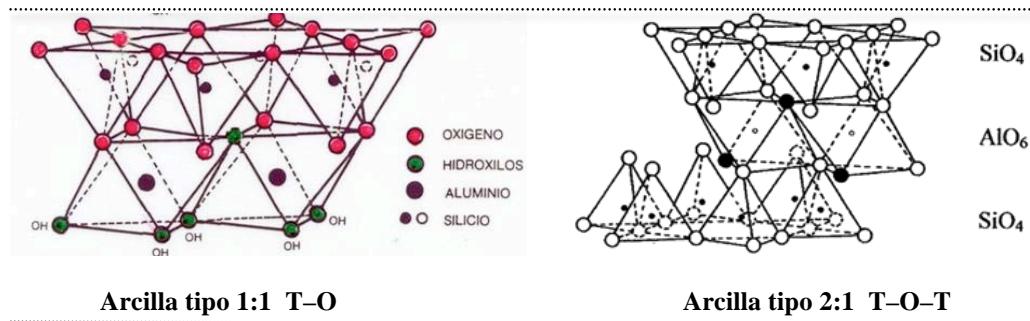


compartido por otra lámina. Los átomos tetravalentes de silicio pueden ser sustituidos por aluminio trivalente.

En las láminas octaédricas de aluminio o Mg–O–OH, el átomo metálico está coordinado con seis átomos de oxígeno o de hidroxilo, localizados en los vértices de un octaedro regular. Los átomos de oxígeno o grupos hidroxilo se encuentran en dos planos paralelos, con los átomos metálicos entre ambos planos, formando un empaquetamiento hexagonal compacto (Véase Figura 2b), conocido como “hoja octaédrica de alúmina (gibbsita) o magnesia (brusita)” (Guzmán-Marmolejo, 2006). El aluminio trivalente puede ser reemplazado por magnesio divalente, o por Fe, Cr, Zn, entre otros átomos (van Olphen, 1977).

La combinación de las hojas tetraédricas entre sí, o con octaédricas genera los distintos tipos de arcillas: tipo 1:1 T–T, tipo 1:1 T–O, tipo 2:1 T–O–T (Véase Figura 3). A los arreglos cristalinos se les denomina *capa*, y cuando presentan además un canal interlaminar, se les denomina *unidades estructurales de la arcilla* (Cruz-Castañeda, 2008).

Figura 3: Tipos de arcillas según su estructura.

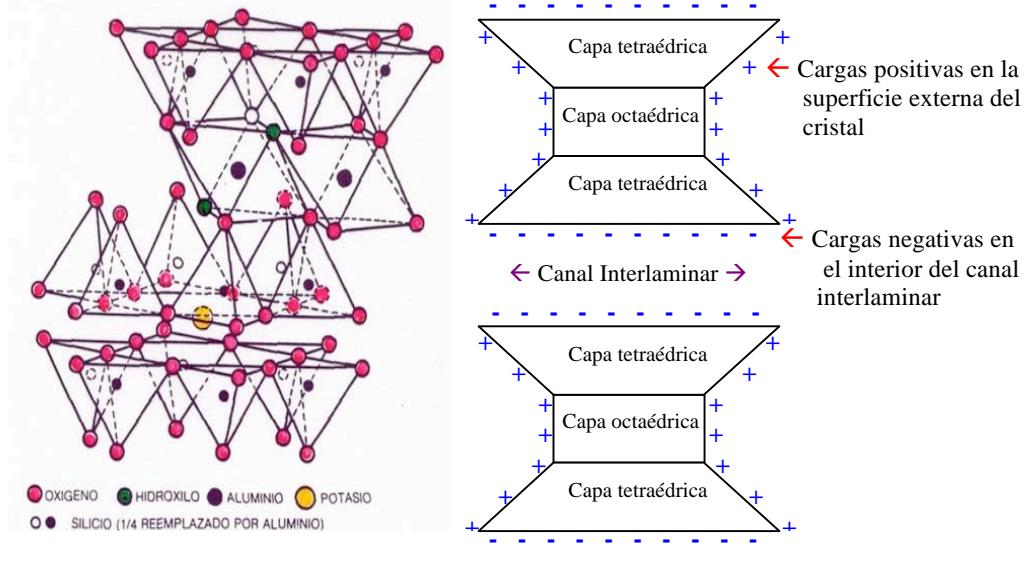


En la montmorillonita $-(\text{Al}_{1.67}, \text{Mg}_{0.33})\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ – las capas de arcilla están formadas por una hoja de alúmina que comparte átomos de oxígeno con dos hojas de sílica (tipo 2:1 T–O–T), que presenta naturalmente (y en ese orden de abundancia) cationes libres de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y/o Mg^{2+} (Emsley, 1990). Las capas apiladas paralelamente una sobre otra están separadas por un canal interlaminar, en el que se pueden encontrar distintos tipos de cationes. Las principales fuerzas que unen estas capas entre sí son fuerzas electrostáticas aumentadas por interacciones de tipo van der Waals.

A $\text{pH} \leq 8$ existen cargas negativas sobre las paredes del canal interlaminar, y cargas positivas en las orillas de los cristales de arcilla (Véase Figura 4). Estas cargas son originadas principalmente por sustituciones isomórficas, pero también son debidas a imperfecciones en la

estructura cristalina de la arcilla, enlaces rotos en las orillas de las partículas y disociación de grupos hidroxilos (Rao *et al.*, 1980).

Figura 4: Distribución de cargas en la unidad estructural de la montmorillonita de sodio.



Las cargas son estabilizadas por cationes metálicos en cada capa, que en ambientes naturales pueden ser Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} y H_3O^+ (van Olphen, 1977). Los cationes Fe^{3+} , Cr^{6+} , Al^{3+} , etc., estructurales o intercambiables, dan carácter ácido de Lewis (aceptor de electrones) a la arcilla (Solomon, 1968), mientras que los protones dentro del canal interlaminar le dan carácter de ácido de Bronsted-Lowry (donador de protones) (Negrón-Mendoza *et al.*, 1996). Estas sustituciones se conocen como isomórficas (van Olphen, 1977).

El catión soluble más abundante es el Na^+ , lo que hace a la montmorillonita de sodio la arcilla más común (Mosqueira *et al.*, 1996). En presencia de agua, los contraiones adsorvidos dentro del canal interlaminar pueden ser cambiados fácilmente por otros iones en disolución, y en particular, los cationes monovalentes son fácilmente sustituidos por cationes divalentes, de modo que las arcillas en ambientes naturales suelen presentar diferentes mezclas de cationes, siendo común la montmorillonita de sodio con magnesio, aunque pueden ser preparadas artificialmente arcillas monocatiónicas, que presentan diferentes capacidades de adsorción (Zubay, 2000). A la cantidad de cationes intercambiables expresada en miliequivalentes por 100 g de arcilla seca se le llama *capacidad de intercambio catiónico* o *capacidad base* (Guzmán-Marmolejo, 2006).

El agua, al igual que algunos compuestos orgánicos, también puede entrar en el canal interlaminar, produciendo un hinchamiento de la arcilla, debido a que ésta no presenta sus láminas unidas por puentes de hidrógeno y se separan fácilmente (Colín, 1999; Zubay, 2000).

Los mecanismos de adsorción de moléculas orgánicas en la montmorillonita, como en el resto de arcillas en general, son una combinación de fenómenos como puentes de hidrógeno, interacciones ión-dipolo, fuerzas de van der Waals, y especialmente intercambio iónico (Lailach *et al.*, 1968), así como formación de complejos con los contraiones de las arcillas (van Olphen, 1977). La adsorción es un fenómeno complejo que depende de la naturaleza de la molécula que se adsorbe, su forma (Rao *et al.*, 1980) y su concentración, del pH total de la solución, de la existencia de metales en la posición intercambiable, de los fenómenos de coadsorción, del tipo de arcilla, de los metales asociados y del número de moléculas de agua presentes (Negrón-Mendoza *et al.*, 1996). En moléculas orgánicas pequeñas, la presencia de anillos planos suele incrementar la afinidad entre éstas y la arcilla, y en algunos casos se ha observado el fenómeno de adsorción cooperativa, en el cual incrementa el porcentaje de adsorción a medida que incrementa la cantidad de moléculas en el medio. Dicho fenómeno ha sido poco estudiado con mezclas de moléculas, pero se cree podría haber sido de gran importancia al potenciar la cercanía entre moléculas que podrían luego reaccionar entre sí (Zubay, 2000).

Existen numerosos estudios de Evolución Química en los que se han empleado arcillas (especialmente Montmorillonita y Kaolinita), demostrándose que tienen gran capacidad para servir como lugares de síntesis o descomposición de algunos compuestos (como en: Yoshino *et al.*, 1971; Akabori, 1956; Harvey, *et al.*, 1972; Chittenden y Schwartz, 1976; Harvey *et al.*, 1971), sitios de adsorción para otros (como en: Graf y Lagaly, 1980; Friebel *et al.*, 1981; Serrato, 1996; Colín, 1999; Cai *et al.*, 2005; Perezgasga *et al.*, 2005; Meléndez, 2008; Aguilar-Ovando y Negrón-Mendoza, 2010) y catalizadores poliméricos en algunos casos (como en: Akabori, 1955; Degens *et al.*, 1970; Negrón-Mendoza *et al.*, 1992), sin embargo, aún no se conocen los detalles de los pasos que presenta cada uno de dichos fenómenos (Negrón-Mendoza *et al.*, 1992).

b. Los meteoritos y otros cuerpos celestes

Fuera de la Tierra, diferentes cuerpos celestes con composiciones minerales variables han podido efectuar el mismo papel protector y catalítico que se les atribuye a las arcillas mencionadas anteriormente.

Se conocen más de 80 especies moleculares detectadas en las nubes interestelares, siendo muchas de ellas orgánicas, las cuales se ha propuesto pudieron incluirse en partículas de polvo

interestelar que formó cometas y planetesimales (núcleos de condensación de partículas sólidas en los discos protoplanetarios que con el tiempo dieron origen a planetas) durante la formación del Sistema Solar. En esta materia interestelar no se han detectado aminoácidos, pero sí precursores de ellos –aldehídos, HCN, NH₃, etc.– (Oró *et al.*, 1990).

Los análisis espectrales de las colas de cometas (cuerpos celestes constituidos por hielo, polvo y rocas que orbitan alrededor del Sol siguiendo diferentes trayectorias elípticas, parabólicas o hiperbólicas y cuyo material se sublima en las cercanías de éste, generando una estela o cola de polvo y gas ionizado) revelan la presencia de alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, aminoácidos y N-heterociclos no determinados con precisión a la fecha (Guíjarro y Yus, 2009). Mientras que, numerosos estudios realizados en fragmentos de meteoritos (materia que gira alrededor del Sol o cualquier objeto del espacio interplanetario que es demasiado pequeño para ser considerado como un asteroide o un cometa y que alcanza la superficie terrestre sin vaporizarse completamente), y particularmente en condritas carbonáceas (meteoritos rocosos no metálicos que contienen compuestos carbonados y agua o minerales alterados por ella, que datan de épocas cercanas al origen del Sistema Solar –4,567 miles de millones de años aproximadamente–) demuestran la presencia de moléculas orgánicas específicas de variable complejidad (incluidos 89 aminoácidos, muchos de ellos biológicamente activos [Meierhenrich, 2008]) que se han formado en el medio interestelar y han sobrevivido la travesía hasta llegar a la Tierra, gracias al mineral en el que se encontraban embebidas, lo que sugiere que la presencia de las superficies sólidas en el espacio también ha tenido influencia en la generación, acumulación y concentración de las mismas.

En el caso del meteorito Allende –la condrita carbonácea más estudiada hasta la fecha, caída a tierra en 1969 en el estado de Chihuahua, al norte de México– la matriz y los cóndrulos (pequeñas esferas minerales que conforman los meteoritos condriticos y los distinguen de cualquier roca terrestre) están formados de diferentes minerales, predominantemente olivino y piroxeno, y es rica en óxidos y silicatos de calcio, aluminio y titanio, y pobre en elementos volátiles como sodio y potasio, además de poseer hierro en diferentes combinaciones hasta un 24%. Presenta, así mismo, pequeñas cantidades de carbón en forma de grafito, diamante y moléculas orgánicas, incluidos aminoácidos.

Otras condritas carbonáceas, como los meteoritos Murray (caído en 1950 en Murray, Kentucky, USA), LEW90500 (hallado en la Antártida tras miles de años de reposar en el hielo) y Murchison (caído a tierra en Murchison, Australia en 1969), han resultado poseer mayores cantidades de agua y carbono. En especial, Murchison presenta hasta un 2% aproximadamente

(15,300 ppb) de carbono, en el que se distinguen principalmente carbono macromolecular (70-80%), carbonatos minerales (2-10%) y compuestos orgánicos de bajo peso molecular (10-20%), conocidos como la fase soluble, entre los que se cuentan 89 aminoácidos (Meierhenrich, 2008) –entre ellos alanina, serina y otros 17 con actividad biológica–. De algunos de éstos se ha observado un exceso enantiomérico de la forma L (7-9%), el cual fue comprobado por dos grupos de investigación independientes (Engel y Macko, 1997; Cronin y Pizzarello, 1997; Guijarro y Yus, 2009). En esos estudios, se diferencian los compuestos de origen extraterrestre de aquellos adquiridos por contaminación terrestre mediante el estudio de sus composiciones isotópicas (Pizzarello *et al.*, 2003).

4. Homoquiralidad: una característica común de los seres vivos

Los estudios de evolución química también han observado la condición homoquiral constante de ciertas moléculas orgánicas fundamentales en todos los sistemas biológicos conocidos (incluyendo virus y priones), que hacen destacar que la vida debe contemplarse no sólo como una consecuencia de la mera colección de elementos biogénicos en un sistema, sino de la organización y del dinamismo en la interacción de dichos elementos. Por lo anterior, la búsqueda del origen de ésta cualidad química en estudios de evolución es fundamental.

La *quiralidad* (término acuñado por Lord Kelvin en 1904, del griego 'χείρ', khéir = "mano", basado en las ideas de "disimetría" de Pasteur [Guijarro y Yus, 2009]) es la propiedad geométrica de un objeto (en este caso, una molécula) de no ser superponible con su imagen espectral, careciendo de ejes de rotación impropios. Cuando los estereoisómeros de una molécula son *quirales* se les denomina *enantiómeros* (del griego 'ενάντιος', enántios = "opuesto", y 'μέρος', méros = "parte" o "porción") o *isómeros ópticos*. Los enantiómeros poseen las mismas propiedades fisicoquímicas entre sí, y sólo se comportan de manera diferente frente a un entorno quiral, como la presencia de luz polarizada (cuyo plano hacen rotar en sentidos opuestos) y/o la de otros compuestos quirales (enzimas metabólicas, por ejemplo). Poseen un *centro estereogénico* (o varios), constituido por un átomo asimétrico (en moléculas orgánicas, típica –aunque no exclusivamente– un carbono con cuatro sustituyentes diferentes en arreglo tetraédrico). Así, un compuesto *homoquiral* es el que presenta una sola quiralidad (es *enantiopuro*), y uno *aquiral* es el que no presenta quiralidad.

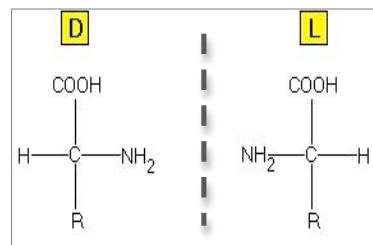
Existen diferentes nomenclaturas empleadas para identificar los compuestos quirales, siendo común la designación L/D (que parte de la proyección de Fischer de los compuestos) para enantiómeros con un solo centro estereogénico (Véase Figura 5), y la R/S (basada en las reglas de Cahn, Ingold y Prelog) para aquellos con más. Adicionalmente, en aquellos casos que tenga importancia, se designan como levorotatorios (-) o dextrorotatorios (+), según el sentido en que hagan rotar el plano de la luz polarizada.

Se dice que todos los seres vivos son homoquirales porque presentan L-aminoácidos y D-azúcares en sus proteínas y material genético (Klabunovskii, 2012), habiéndose probado que no es posible formar los polímeros biológicos funcionales con monómeros racémicos (Sarfati, 2010). El cuándo, cómo y por qué de esta homoquiralidad de los seres vivos sigue estando entre los misterios sin resolver relacionados con el origen de la vida.

Se han considerado *hipótesis bióticas y abióticas* del origen de dicha homoquiralidad. Las primeras se refieren a la posibilidad de que la homoquiralidad fuese adquirida después del surgimiento de la vida, habiendo existido primero organismos tanto D como L, y habiéndose extinto unos por algún motivo particular (como la existencia de una enzima que apareció en el desarrollo de la evolución biológica, y eliminó solamente los organismos de su propia quiralidad, sobreviviendo los opuestos, por ejemplo). Sin embargo, estas hipótesis han perdido fuerza al no hallarse evidencia de ningún organismo primitivo que conserve restos de un metabolismo que incluyese los bloques de construcción de quiralidad opuesta a la actual (Guíjarro y Yus, 2009), más allá de algunas bacterias aerobias de suelos que pueden degradar enzimáticamente pequeñas cantidades de algunos D-aminoácidos para emplearlos como fuentes de carbono y nitrógeno (Zhang y Sun, 2014). Investigaciones recientes muestran que los D-enantiómeros de aminoácidos proteinogénicos inhiben el metabolismo de microorganismos aerobios, y pequeñas concentraciones de ciertos aminoácidos no proteinogénicos (algunos hallados con frecuencia en meteoritos condriticos) resultan tóxicas para organismos anaerobios como los que podrían haber surgido originalmente en el ambiente anóxico de la Tierra primitiva (Nixon y Cockell, 2015).

Por lo anterior, se han formulado más hipótesis para describir el posible origen prebiótico de la homoquiralidad biológica. Así, las teorías abióticas postulan que la aparición de la selección y homogeneidad quiral es anterior al origen de la vida, es decir cuando la vida comienza ya solo existía en el medio ambiente un enantiómero del par quiral, seleccionado previamente por algún mecanismo abiótico. Algunos trabajos teóricos (como los de Goldanskii y Kuzmin, 1988) y otros

Figura 5: Enantiómeros D y L de un aminoácido con un solo centro estereogénico.



experimentales (como el de Joyce *et al.*, 1984; quien a partir de experimentos sobre oligomerización de nucleótidos concluye que la presencia de moléculas L y D al mismo tiempo en un sistema, impide la formación de polinucleótidos –bases de un sistema autorreplicativo–, haciendo necesaria la existencia previa de moléculas de una sola quiralidad para que éstos se ensamblen) refuerzan la verosimilitud de esta hipótesis.

Entre ambas líneas de pensamiento cabe siempre la hipótesis panspérmbica de la homoquiralidad, según la cual organismos vivos formados ya por moléculas homoquirales fueron transportados desde otro sistema solar hasta la Tierra. Sin embargo, esta hipótesis no resuelve el origen de la bioquiralidad, sino que solamente sitúa el problema fuera de nuestro planeta.

Así, los estudios de origen de la vida y evolución química relacionados con el desarrollo de quiralidad en moléculas orgánicas datan de hace aproximadamente 80 años. En ellos se han dado múltiples hipótesis sobre los mecanismos que pudieron permitir la aparición de un sistema homoquiral, las cuales pueden agruparse en dos tipos de enfoques: *casuísticos* y *determinísticos* (Guíjarro y Yus, 2009). La diferencia entre unos y otros estriba en considerar la existencia o no de una causa específica de rompimiento de la simetría de un *sistema racémico* de moléculas quirales (aquel compuesto por proporciones iguales de los enantiómeros, que constituye un sistema en equilibrio y que se obtiene tras cualquier síntesis a partir de elementos quirales). En el primero se considera a la casualidad como responsable de este inicio de homoquiralidad, seguido de procesos diversos de amplificación y transmisión a otras moléculas; mientras que en el segundo se consideran causas específicas locales (espacial o temporalmente hablando) o universales (constantes) del rompimiento de la simetría.

De este modo, algunas de las principales hipótesis que se han planteado incluyen (Guíjarro y Yus, 2009; Sarfati, 2010):

Variaciones estadísticas: basada en la observación de que una mezcla racémica es una designación para el estado macroscópico de un sistema, el cual analizado en detalle es realmente un equilibrio cinético de las especies enantioméricas que lo componen (y por tanto no posee en todo momento exactamente 50% de cada uno de los enantiómeros de un par); plantea que las fluctuaciones estadísticas a favor de un enantiómero u otro causan continuamente rupturas espontáneas de la simetría, de modo que en algún instante una de ellas (al azar) pudo ser reforzada por algún mecanismo de amplificación autocatalítica. Los casos más estudiados de rompimiento espontáneo de la simetría se relacionan con procesos de cristalización y demás cambios de fase en condiciones varias que alejan los sistemas todo lo posible del equilibrio termodinámico.

Polimerización más allá de cierta longitud crítica en macromoléculas: partiendo de experimentos sobre la estadística de los procesos de formación de polímeros atácticos (aquellos que incluyen cadenas quirales aleatoriamente organizadas) en materiales sintéticos y biológicos, señala que, pasado cierto límite de polimerización, siempre se obtiene un material homoquiral por el incremento de complejidad de las cadenas formadas, que impide que se formen pares especulares que transformen el polímero en racémico.

Luz circularmente polarizada: debido a que la luz circularmente polarizada presenta un campo eléctrico que rota alrededor de su eje de propagación y éste puede hacerlo tanto en sentido horario como al contrario, ésta constituye un fenómeno quiral. Siendo así, ante ella las moléculas quirales reaccionan con especificidad y presentan diferentes intensidades de absorción (y coeficientes de extinción molecular) según la luz esté circularmente polarizada a izquierda o derecha, fenómeno que se conoce como dicroísmo y es aprovechado en la técnica analítica denominada dicroísmo circular. Teniendo en cuenta lo anterior, se ha propuesto que la fotólisis y/o la síntesis enantioselectiva (partiendo de reactivos racémicos o quirales que absorben luz UV) promovida por la presencia de este fenómeno quiral podría haber sido la causante inicial de un exceso enantiomérico. La hipótesis se basa en los resultados obtenidos en los diversos estudios, como el de Kuhn y Braun (1929), quienes mostraron que es posible una fotólisis parcial de una mezcla racémica al irradiarla con luz ultravioleta circularmente polarizada, originando así un exceso enantiomérico en el residuo de la mezcla irradiada. Otros trabajos, como los de Balavoine *et al.* (1974), Nordén (1977) y Flores *et al.* (1977), han mostrado, por ejemplo, dicho efecto con aminoácidos, pero muestran claramente cómo los porcentajes obtenibles son siempre muy bajos (cercaos al 2%), debido a que la diferencia entre los coeficientes de extinción molecular de los pares enantioméricos (factor de anisotropía g) es relativamente pequeña (Véase Tabla 3) y, por tanto, ambos enantiómeros son destruidos en modo semejante, creando sólo pequeños excesos enantioméricos (que concuerdan con los hallados en meteoritos, por ejemplo). La síntesis enantioselectiva es aún más rara y menos productiva. Además de los bajos porcentajes obtenibles, la limitación a moléculas cromóforas y la tendencia a anularse en buena medida los efectos si no se tiene una banda muy estrecha de luz UV (regla de la sumatoria de efectos de Kuhn-Condom) se encuentra la escasez de fuentes naturales de luz circularmente polarizada, de las cuales sólo se han observado limitados ejemplos en la Tierra (que tienden a anularse entre sí) y en nebulosas lejanas, y los que se teorizan en estrellas de neutrones, aún no comprobados.

Tabla 3: Factor de anisotropía (g) para algunos aminoácidos, medido a temperatura ambiente y longitudes de onda específicas (tomado de Meierhenrich, 2008).

Aminoácido	λ (nm)	g
Alanina	> 200	0.007
Alanina (pH 1)	213	0.029
Ácido Glutámico	> 200	0.008
Leucina (pH 2)	213	0.0244
Leucina (pH 1)	215	0.028
Tirosina	266	0.024

Superficies minerales: propone que la adsorción preferente de enantiómeros en las superficies cristalinas de minerales presentes en épocas primitivas, como cuarzo, calcitas (CaCO_3), arcillas, etc., pudieran haber iniciado la acumulación enantioselectiva de compuestos quirales.

En el caso del cuarzo, mineral con estructura cristalina no centrosimétrica –quiral– más abundante en la naturaleza, su capacidad para separar o resolver disoluciones racémicas ha sido bien comprobada. Trabajos como los de Tsuchida *et al.* (1935,) quien logró la resolución de sales de cobalto racémicas; pasando por Karagounis y Coumoulos (1938), quienes sugirieron que la adsorción asimétrica del cuarzo podía ser la responsable del origen de la quiralidad molecular, idea popularizada por el cristalógrafo Bernal (Bernal, 1949; 1951); y trabajos experimentales como los de Bonner y Kavasmaneck (1975), con muestras racémicas de alanina expuestas a fino polvo de D y L-cuarzo que muestran cómo son adsorbidas selectivamente, afianzaron la hipótesis. Sin embargo, como fue comprobado por Frondel (1978), examinando más de 27,000 cristales de cuarzo de distintas localidades, se sabe que existen tantos cristales de cuarzo de una quiralidad como de otra, lo que quiere decir que cualquier efecto global de adsorción o catálisis enantioselectiva sería anulado.

Ciertos minerales centrosimétricos pueden presentar numerosas superficies quirales (caras cristalinas especulares) en su estructura, las cuales se hallan balanceadas entre sí debido a la presencia de un centro de inversión en la misma, lo cual los transforma en minerales quirales como un todo. Es el caso de la calcita, el yeso monoclínico ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), los feldespatos (tecto y aluminosilicatos de sodio, potasio y calcio que constituyen más del 60% de la corteza terrestre) y algunas arcillas. Existen estudios diversos, como los de Hazen *et al.* (2001), que prueban que la capacidad de la calcita para separar enantiómeros y adsorber amino ácidos es incluso mucho mayor que la del cuarzo.

En el caso de las arcillas, a su comprobada capacidad para almacenar moléculas orgánicas y activar sus reacciones, algunos autores (Degens *et al.*, 1970; Jackson, 1971; Bondy y Harrington, 1979) añaden la propiedad de interacción estereoselectiva con las moléculas quirales, lo que conlleva a

un reconocimiento quiral de las moléculas enantioméricas. Sin embargo, estos resultados son cuestionados por otros autores, que dudan de la validez de su protocolo experimental debido a la baja reproducibilidad de los experimentos (Jackson, *et al.*, 1979) y destacan la controversia de la aquiralidad cristalina de la arcillas (Brindley, 1961), pues aunque existen algunas con cristales centrosimétricos (como la montmorillonita) y éstos presentan múltiples facetas quirales, en conjunto se hallan balanceadas dentro de cada cristal, dando un efecto global aquiral, lo que dificulta justificar teóricamente ningún tipo de interacción estereoselectiva con moléculas quirales que resulte en una capacidad de producir excesos enantioméricos significativos.

Debido a estos resultados contradictorios y los de otros estudios como los de Lahav (1999), Hazen y Sholl (2003), y De Yoreo y Dove (2004), se sigue considerando la viabilidad de esta hipótesis y se requieren de más pruebas.

Otras hipótesis de las que a la fecha se tiene menos evidencias han sido propuestas, como por ejemplo, se ha intentado en diversas ocasiones probar el efecto de fuerzas físicas quirales omnipresentes, como las *fuerzas electrodébiles* (una de las cuatro fuerzas fundamentales de la naturaleza según el Modelo Estándar de la física de partículas, de la cual los efectos más conocidos son los decaimientos beta de los neutrones en el núcleo atómico y la radioactividad), en virtud de su conocida *violación de la paridad*, que hace que sólo los componentes zurdos de las partículas de la materia interactúan. Sin embargo, los efectos esperables son tan pequeños que no han habido pruebas suficientes de efectos macroscópicos de este fenómeno (Kovacs y Garay, 1975).

La combinación de estas hipótesis y datos recavados con diferentes enfoques permiten construir escenarios más detallados que pudieran explicar hasta cierto punto el origen de la homoquiralidad. Por ejemplo, el exceso enantiomérico hallado en los meteoritos Murchison, Allende y Murray de L-aminoácidos sugieren la existencia de un elemento quiral en el espacio exterior. El descubrimiento de nanotubos de carbono quirales en el medio interestelar y en los meteoritos (como el Allende, Murchison y Murray) ha sugerido que además de actuar sobre los aminoácido y otras partículas biogénicas, la luz circularmente polarizada puede inducir estructuras quirales que sirvan de soporte a otras; es decir, la presencia de nanotubos de carbono en el medio interestelar refuerza la idea, y su formación y adhesión sobre la superficie de meteoritos permite tomarlos seriamente como candidatos para establecer estos espacios cuasiunidimensionales sobre los que puedan polimerizar aminoácidos con quiralidad opuesta a la del microtúbulo quiral; pudiendo estabilizar el exceso enantiomérico de L-aminoácidos, o por lo menos retrasar su racemización, producida por la fotólisis antes descrita.

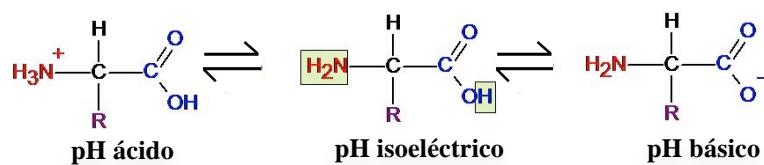
Una vez que se ha logrado un desequilibrio significativo en una mezcla racémica, favoreciendo la predominancia de uno de los enantiómeros sobre el de quiralidad opuesta, este ligero desequilibrio inicial puede ser amplificado a valores muy altos de pureza óptica gracias a reacciones químicas o sustratos que sean sensibles a sustratos de una quiralidad específica, dando como producto de la reacción una molécula con la misma quiralidad que la empleada para el inicio de ésta. A esta reacción, o serie de ellas, que emplean una molécula quiral como catalizador de la reacción para originar productos moleculares con la misma quiralidad se le denomina autocatálisis, y dado que sólo genera moléculas de la misma quiralidad que la molécula empleada al inicio, se le llama enantioselectiva, y puede generar valores altos del exceso enantiomérico a partir de valores bajos (Baddeley, 2009).

5. Los aminoácidos: *bloques de construcción de la vida*

Los aminoácidos son los monómeros que conforman las proteínas, polímeros fundamentales en los organismos vivos (que en materia de evolución química cobran aún mayor relevancia pues a ellas pertenecen las enzimas, catalizadores específicos de reacciones químicas que se cree debieron existir desde muy temprano en el proceso evolutivo [Meierhenrich, 2008]). Además de participar en la síntesis de proteínas, son precursores de muchas moléculas orgánicas de bajo peso molecular, como nucleótidos, porfirinas, cabezas de lípidos y coenzimas (Zubay, 2000).

Estructuralmente son moléculas orgánicas con un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), lo que las hace *anfóteras*, es decir, que al ionizarse pueden comportarse como ácidos o bases, según el medio. Presentan actividad óptica (excepto la glicina, que carece de carbono quiral), y en los organismos vivos se presentan fundamentalmente en su forma L (aunque se conocen algunos ejemplos de organismos en los que las formas D se encuentran presentes en pequeñas cantidades [Meierhenrich, 2008]). En el caso de ser proteinogénicos, son L- α -aminoácidos, es decir, con los grupos amino y carboxilo unidos a un mismo átomo de carbono (carbono α), al cual también se unen un hidrógeno y una cadena carbonada (grupo R) de estructura variable (polar, apolar, aromática, ácida o básica), que determina su identidad y propiedades particulares (Véase Figura 6).

Figura 6: Estructura química de los α -aminoácidos y su comportamiento anfotérico.

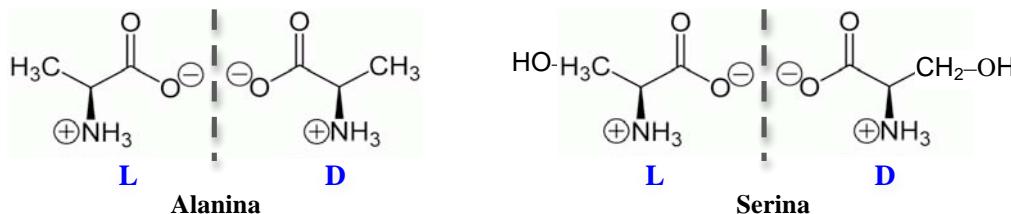


Existen cientos de aminoácidos diferentes, pero solo 22 forman parte de las proteínas (20 en el caso de organismos eucariotas) y tienen codones específicos en el código genético.

La unión de varios aminoácidos, mediante enlaces peptídicos (reacciones de condensación entre el grupo amino de un aminoácido y el carboxilo de otro que genera un enlace amida y libera agua) da lugar a cadenas llamadas péptidos o polipéptidos, que se denominan proteínas cuando la cadena polipeptídica supera una cierta longitud (entre 50 y 100 residuos aminoácidos, dependiendo de los autores) o la masa molecular total supera las 5000 una y, especialmente, cuando tienen una estructura tridimensional estable y definida.

Para efectos del estudio con arcilla, se seleccionaron 2 aminoácidos: alanina y serina, el primero apolar y el segundo polar (Véase Figura 7). Ambos se consideran prebióticos, pues han sido identificados en materia interestelar (Meierhenrich, 2008), su síntesis es relativamente sencilla y se considera pudieron tener importancia, junto con la glicina, aspartato, glutamato, prolina y cisteína en el proceso de evolución química (Zubay, 2000).

Figura 7: Estructura química de los aminoácidos seleccionados para el estudio.



La alanina es el aminoácido más pequeño después de la glicina y se clasifica como alifático e hidrófobico. Al igual que la serina, es no esencial para el ser humano (es decir, el cuerpo puede sintetizarlo, y por tanto no es necesario consumirlo) pero ambos son de gran importancia, pues son proteinogénicos. La alanina participa en los ciclos metabólicos de la glicólisis, gluconeogénesis y ácido cítrico, mientras que la serina participa en la biosíntesis de purinas y pirimidinas, es precursora de aminoácidos como la glicina, la cisteína en plantas y el triptófano en las bacterias, metabolitos primarios y secundarios como los esfingolípidos, las fosfatidilserinas, la etanolamina y sus derivados, la colina y sus derivados, el ácido fólico, la enterobactina, y otros).

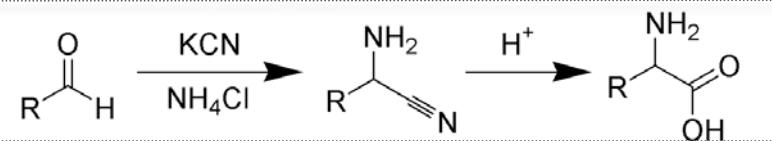
a. Síntesis abiótica de aminoácidos

La primera síntesis abiogénica de aminoácidos en condiciones plausiblemente prebióticas fue llevada a cabo por Miller en 1953, en su experimento con descargas eléctricas aplicadas a

una mezcla de CH_4 , H_2 , H_2O y NH_3 , donde además de aminoácidos se generaron otras moléculas orgánicas. Posteriormente, análisis en el meteorito Murchison revelaron la presencia de algunos de esos compuestos en concentraciones semejantes, lo que dio pie a considerar que ambas síntesis ocurrían bajo los mismos mecanismos (Oró *et al.*, 1990; Strickberger, 2000).

En 1957 Miller demostró que el mecanismo de reacción que se lleva a cabo en estas condiciones es la condensación de Strecker, donde HCN y un aldehído (formados por las descargas eléctricas, calor o radiación ionizante a partir de los gases presentes en la mezcla, como por ejemplo: $\text{N}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_3$; $\text{CH}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{HCN}$; $\text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCOH}$) se condensan en presencia de amonio para generar un aminonitrilo, que posteriormente se hidroliza (Véase *Figura 8*).

Figura 8: Síntesis de Strecker para aminoácidos.



Mediante esta reacción puede obtenerse la alanina, y si se combina glicina con formaldehído, puede obtenerse serina (Strickberger, 2000).

Otras rutas sintéticas han sido propuestas por diversos autores, que incluyen la hidrólisis de polímeros generados por condensación de HCN con NH_4CN (Oró *et al.*, 1990). Todas generan aminoácidos racémicos.

Así mismo, las ventanas hidrotermales han sido propuestas como sitios de reacción donde pudieron originarse los aminoácidos (Hennet *et al.*, 1992; Takano *et al.*, 2003a; 2003c; 2004a; Proskurovsky *et al.*, 2008), pero al igual que en el caso de la síntesis de aminoácidos en atmósfera levemente reductora –como la que ahora se considera más probable que existiera en la Tierra primitiva, a diferencia de la fuertemente reductora propuesta por Miller en sus experimentos–, donde se tiene CO_2 como fuente de carbono en vez de CH_4 , la producción de aminoácidos se ve severamente mermada, por la escasa producción de HCN (Kasting y Brown, 1998; Miller, 1998), lo que lleva a plantear la necesidad de hallar otros mecanismos plausibles para la síntesis de aminoácidos en las condiciones prebióticas de la Tierra primitiva (Meierhenrich, 2008).

En las últimas décadas se han efectuado numerosos estudios sobre la síntesis abiótica y en ocasiones asimétrica en ambientes que simulan la Tierra primitiva y, en particular, el espacio interestelar (Sarker *et al.*, 2012; Elsila *et al.*, 2007; Maurette, 2006; Kobayashi *et al.*, 1999; Brinton *et*

al., 1998; Briggs *et al.*, 1992). Los diferentes métodos para tal fin van desde simulaciones en laboratorio, a análisis de cometas y meteoritos y búsqueda de moléculas orgánicas en el planeta Marte (Meierhenrich, 2008). Entre ellos, aquellos que han buscado simular la producción de excesos enantioméricos en aminoácidos mediante fuentes de radiación ionizante – circularmente polarizada y no– han mostrado resultados diversos, no siempre confirmados de un estudio a otro, y en los que fundamentalmente, los excesos enantioméricos medidos son muy pequeños y caen muchas veces dentro del error experimental e instrumental de las técnicas aplicadas (Takahashi *et al.*, 2009; Schwell, 2007; Takano *et al.*, 2007; Nuevo *et al.*, 2007; 2006; Schwell *et al.* 2006; Takahashi *et al.*, 2005; Nuevo, 2005; Meierhenrich y Thiemann, 2004; Pizzarello y Weber, 2004; Muñoz-Caro *et al.*, 2004; Takano *et al.*, 2004b; 2003b; Klánová *et al.*, 2003; Kuan *et al.*, 2003; 2002; Brack *et al.*, 2002; Bernstein *et al.*, 2002; Woon, 2002; Griesbeck y Meierhenrich, 2002; Meierhenrich *et al.*, 2001; Cronin y Pizzarello, 1999; Zagórski y Gladysz, 1994), y que incluyen variables diversas que hacen en ocasiones difícil la comparación de los resultados y no cubren aún la inmensa gama de posibles escenarios que podrían haber hecho posible el surgimiento de éste fenómeno, de tal forma que se sigue haciendo necesaria investigación en este campo.

B. Objetivos

1. General:

- Determinar la capacidad de dos superficies minerales distintas (montmorillonita de sodio y meteorito Allende) para concentrar y proteger selectivamente alguno de los enantiómeros de los aminoácidos seleccionados (alanina y serina), bajo condiciones específicas de pH, radiación ionizante y oxidantes que simulen un ambiente plausible para la evolución química, tanto dentro como fuera de la Tierra primitiva.

2. Específicos:

- Determinar la capacidad de adsorción y desorción de las superficies minerales seleccionadas para cada par enantiomérico analizado.

- Trazar las curvas de descomposición por la radiación gamma de cada par enantiomérico en ausencia de las superficies minerales y determinar el efecto de éstas al estar presentes durante la irradiación.
- Comparar los porcentajes de cada enantiómero resultantes tras ser sometidos a diferentes conjuntos de condiciones (pH, dosis de radiación, superficie mineral).
- Establecer los sitios de adsorción principales de las moléculas seleccionadas en la montmorillonita de sodio.

C. Justificación

La comprensión de los procesos físico-químicos que precedieron al origen de la vida requiere de la elucidación de mecanismos eficientes para la selección, concentración y organización de moléculas simples que pudieran dar origen a macromoléculas bioquímicamente importantes, por lo que constituye uno de los retos principales en el estudio de la etapa de evolución química del Sistema Solar.

Así mismo, entre las incógnitas relativas al origen de la vida destaca siempre el origen de la quiralidad. Esto se debe a que todos los organismos vivos conocidos hasta la fecha poseen bloques de construcción con una quiralidad específica, lo que conduce a pensar en ésta no sólo como una característica fundamental de la vida, sino como una que debió adquirirse previamente a su desarrollo.

Entre las hipótesis que tratan de explicar la aparición de esta cualidad, se ha investigado la posibilidad de la participación de las superficies minerales como superficies concentradoras selectivas de moléculas orgánicas quirales, como los aminoácidos, que pudieran conducir a la homoquiralidad biológica; sin embargo, estudios con resultados contrapuestos sacan a relucir que no se tienen aún suficientes datos que permitan afirmar o rechazar completamente la hipótesis.

Existiendo clara evidencia geológica de la presencia de arcillas durante el período de evolución prebiótica y teniendo en cuenta sus características estructurales, se les puede considerar idóneas para realizar simulaciones de ambientes primitivos, en los que moléculas que se sabe prebióticas, como ciertos aminoácidos, pueden servir para estudiar estos procesos evolutivos. Al mismo tiempo, el emplear otras superficies minerales como meteoritos para el estudio, permite considerar ambientes extraterrestres en las simulaciones, así como los posibles escenarios evolutivos en que fenómenos semejantes pudieron llevarse a cabo.

En vista de lo anterior, y de que la interacción entre minerales, radiación ionizante y su efecto sobre moléculas quirales ha sido un tema poco explorado, tanto en trabajos de química de radiaciones como en investigaciones de origen de la vida, donde los estudios suelen tratarlos por separado o

enfocarse en las arcillas como agentes catalíticos, esta investigación busca ampliar la información existente sobre el papel que ciertas superficies minerales pudieron haber jugado para la evolución de la homoquiralidad en moléculas orgánicas prebióticas como los aminoácidos, al ser expuestos a fuentes externas de radiación ionizante.

De esta forma, el proyecto realizado permite, en primer lugar, apoyar con más datos experimentales los estudios previos. En segundo lugar, añade la radiación ionizante como una variable más a considerar en los estudios, con lo que es posible establecerse la capacidad de las superficies minerales para proteger (y no sólo concentrar) enantioselectivamente los aminoácidos. En tercer lugar, el análisis de aminoácidos pertenecientes a diferentes grupos químicos existentes (polares y apolares) permite correlacionar su capacidad de ser adsorbidos y sobrevivir determinadas dosis de radiación gamma dentro de superficies minerales, con la concentración en que son hallados en estudios prebióticos, según los cuales, los de características ácidas y apolares predominan en concentración frente a los polares y básicos. Finalmente, la metodología empleada en los experimentos concuerda con la que se ha seguido en otros estudios afines realizados dentro del mismo grupo de investigación, lo que permite comparar resultados entre ellos, y en lo futuro, permitiría generalizar conclusiones.

Así, la importancia de esta propuesta de investigación radica en analizar la interacción entre el mineral y un tipo específico de moléculas prebióticas de gran importancia biológica, dentro de un escenario primitivo plausible y acorde con la información actual.

D. Hipótesis

La presencia de superficies minerales, bajo condiciones específicas de irradiación gamma, temperatura y pH que simulan ambientes plausibles durante el período de evolución química de la Tierra, puede promover la acumulación de un exceso enantiomérico en disoluciones de sustancias orgánicas simples, como las de aminoácidos, por procesos combinados de adsorción preferente.

III. Materiales y Métodos

A. Materiales

1. Reactivos

- Aminoácidos grado reactivo (99%, SIGMA[®]): D, L y DL-alanina, D, L y DL-serina, (D, L y DL-fenilalanina, ácido aspártico, ácido málico y L-alanina-2-d para ensayos adicionales).
- Montmorillonita de sodio (SWy-1, obtenida del Depósito de Minerales Arcillosos de “Clay Minerals Society Source” en el Departamento de Geología de la Universidad de Missouri, Columbia, USA).
- Meteorito Allende (proporcionado por el Instituto de Geología de la UNAM).
- Olivino pulverizado (proporcionado por el Instituto de Geología de la UNAM).
- Ácido clorhídrico –HCl– concentrado grado reactivo (38.4%, Baker Analyzed[®]).
- Hidróxido de sodio –NaOH_(s)– en lentejas para análisis (99%, MERCK[®]).
- Bromuro de hexadeciltrimetilamonio –CTAB, del inglés Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide– (98%, SIGMA[®]).
- Trifosfato de pentasodio –Na₅P₃O₁₀– (98%, SIGMA[®]).
- Peróxido de hidrógeno –H₂O₂– (30%, Baker Analyzed[®]).
- Metanol grado HPLC (Burdick & Jackson[®] ACS/HPLC Certified Solvent).
- Ácido nítrico –HNO₃– fumante (>90%, Sigma-Aldrich[®]).
- Ácido sulfúrico –H₂SO₄– concentrado grado reactivo (95-98%, Sigma-Aldrich[®]).
- Resina de intercambio catiónico (Dowex[®]50).
- Argón_(g).
- Agua tridestilada (obtenida por el método de Donnell y Sangster, 1970, *Véase Anexo A*).

2. Equipo

- Material ordinario de laboratorio: vasos de precipitados, matraces aforados, micropipetas, pipetas, erlenmayers, tubos de ensayo de vidrio con tapón de rosca, tubos para centrífuga, espátulas, mangueras, pinzas, gradillas, papel parafilm, papel pH, etc..
- Equipo de filtración para los disolventes del cromatógrafo HPLC (membranas de Nylon 66, de 0.45 µm x 47 mm, 08D01604, SUPELCO[®]).
- Irradiador gamma (Gammabeam 651 PT) con ⁶⁰Co como fuente radiactiva.
- Acelerador de iones pesados HIMAC (Heavy Ion Medical Accelerator) para proporcionar un haz de carbono de 290 MeV/u.

- Instrumental analítico:
 - Balanza analítica (Adventurer, Ohaus).
 - Horno desecador (Single-Wall Transit Oven, BlueM Electric Company).
 - Horno de vacío (Squaroid, Lab-Line).
 - Agitador vortex (Cole-Parmer touch Mixer, model 4721-20).
 - Agitador 3D (Multi Tube Rotator, Lab-Line).
 - Centrífuga (Beckman Coulter, Allegra 64R).
 - Potenciómetro (Equipar S.A. Model Pax 9000).
 - Cromatógrafo de líquidos –HPLC, del inglés, High-Performance Liquid Chromatography– (Perkin-Elmer Series 200 LC pump).
 - Columna quiral Chirobiotic®T (ASTEC®_Sigma-Aldrich®, 5 µm, 15 x 4.6 cm).
 - Detector de luz dispersa –ELSD, del inglés Evaporating Light Scattering Detector– (Alltech® 3300 / software Pick-Simple).
 - Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica –EPR, del inglés Electron Paramagnetic Resonance– (JEOL JES-TE300 / Jeol software ES-IPRITS/TE), del Instituto de Química e la UNAM.
 - Difractómetro de rayos X (difractómetro doble, Siemens D5000, perteneciente a la Unidad de Servicio y Apoyo a la Investigación y la Industria –USAII– de la Facultad de Química de la UNAM).

B. Procedimiento experimental

Existen muchos probables microambientes planteados para la evolución química dentro y fuera de la Tierra, con muchas variables que pudieron jugar un papel fundamental en el desarrollo de moléculas orgánicas complejas. En vista de lo anterior, para el presente estudio se eligieron dos posibles ambientes prebióticos, tanto terrestres como extraterrestres: las interfases mineral/disolución acuosa y los aminoácidos en estado sólido, y para cada uno se eligió un conjunto específico de variables a controlar.

En el caso de las simulaciones en medio acuoso, las variables consideradas fueron pH de la disolución, concentración de la muestra, tipo y dosis de radiación y ausencia de oxígeno, aplicándose tal como se han manejado en estudios previos realizados por el grupo de investigación donde se desarrolló este trabajo, con el fin de tener datos comparables para posteriores estudios que integren los resultados de las diferentes investigaciones.

De este modo, se consideró el efecto del pH del medio, haciendo énfasis en pH 2, que se supuso y luego se comprobó experimentalmente que, como en el caso de otras moléculas orgánicas pequeñas, es el más propicio para las adsorciones de los aminoácidos. Este pH ha sido propuesto en estudios previos como plausible en microambientes terrestres de pH extremo (Walker, 1985).

La concentración de las muestras se fijó, como en estudios previos (Guzmán-Marmolejo, 2006; Meléndez-López, 2008; Aguilar-Ovando y Negrón-Mendoza, 2010), en 0.001 M, considerándose apropiada para hacer cuantificaciones con el equipo disponible y ajustándose a la capacidad de intercambio catiónico de la arcilla empleada (101 miliequivalentes de Na^+ /100 g montmorillonita [Perezgasga, 1996]).

Como fuente de radiación se utilizaron los rayos γ de 1.17 y 1.33 MeV proveniente de barras de ^{60}Co recubiertas de acero (que absorben las partículas β que emite la fuente), dentro de una cámara de irradiación industrial (Gammabeam 651 PT). Se seleccionó radiación gamma por ser un tipo de radiación plausible para el ambiente planteado (proveniente de elementos radiactivos y rayos cósmicos). Se descartó el uso de partículas α por el bajo poder de penetración que éstas tienen (pues se plantearon experimentos usando minerales que podrían haber frenado las partículas), y de igual modo se descartó el uso de partículas β , debido a que existe una hipótesis asociada a éstas que trata de explicar el origen de la homoiralidad, y no se deseaba incluir este factor en la investigación. Como un experimento adicional, se empleó una fuente de iones de carbono acelerados (HIMAC) en la irradiación de muestras sólidas, como una aproximación a los posibles efectos de partículas aceleradas presentes en el espacio exterior y las producidas en la atmósfera por acción de los rayos cósmicos. Las dosis aplicadas son altas para lo que pudiera esperarse en ambientes terrestres, sin embargo, representan una aproximación al efecto de dosis más bajas por muy largos períodos de tiempo y pueden proporcionar una idea de los efectos que pudieron tener sobre la materia en los ambientes primitivos planteados.

El escenario prebiótico supuesto, en éste y otros trabajos del grupo de investigación, carece de oxígeno, por lo que a las muestras se aplicó argón gaseoso para reemplazar el oxígeno.

1. Lavado de cristalería

Toda la cristalería no volumétrica fue lavada aplicando el protocolo para eliminación de materia orgánica (Albarrán, 1982; Draganić y Draganić, 1978):

- Se lavó con jabón y agua todo el material.
- Se sumergió la cristalería en mezcla sulfonítrica caliente (HNO_3 fumante / H_2SO_4 concentrado, 1:3) por 3 horas.

- Se enjuagó la cristalería con agua corriente, agua destilada y agua tridestilada.
- Se empacó la cristalería en papel aluminio y secó en una mufla a 300 °C por 24 horas.

2. Preparación de disoluciones de aminoácidos

Se prepararon disoluciones acuosas de los aminoácidos en concentración 1×10^{-2} M, aplicando, en el caso de la fenilalanina, calor moderado para facilitar el proceso. De las anteriores se tomaron las alícuotas necesarias para preparar disoluciones de concentración 1×10^{-3} M, cuyos pH se ajustaron antes de aforar, de acuerdo a la prueba a efectuarse, agregando HCl.

Todas las disoluciones fueron almacenadas en un refrigerador a 10 °C.

3. Análisis de disoluciones patrón

Se determinaron las condiciones adecuadas para separar y detectar mediante la técnica de HPLC/ELSD cada par enantiomérico de los estándares de alanina y serina, ensayando para ello distintos solventes y flujos hasta encontrar los adecuados. Posteriormente se analizaron las disoluciones de concentración 1×10^{-3} M de los aminoácidos. En todos los casos se emplearon 20 μL de la muestra inyectados en una columna Chirobiotic®T, empleando un detector de luz dispersa (ELSD).

Adicionalmente se evaluó la estabilidad de los aminoácidos a las condiciones de pH de los experimentos, para descartar que éstas pudieran modificar los resultados independientemente. Para ello se prepararon disoluciones racémicas con pH entre 2 y 10 y se les monitoreó durante 10 días (período máximo en el que se empleaba la misma solución para experimentos relacionados, con el fin de minimizar errores por contaminación biológica).

4. Preparación de minerales:

El meteorito y el olivino fueron triturados manualmente en un mortero de ágata, hasta transformarles en polvo fino. Posteriormente, estos minerales y la arcilla empleada en los experimentos de adsorción fueron lavados con disolución de peróxido de hidrógeno al 6%, a 50°C y en agitación constante (procedimiento estándar en análisis de suelos [García y Fernández, 1969]), para eliminar por oxidación la materia orgánica con la que pudieran estar contaminados, llevando a cabo el procedimiento hasta que no se observó más emisión de gas de la mezcla. Tras la oxidación, los polvos se lavaron exhaustivamente con agua tridestilada y se decantaron, dejándoles secar en un horno de alto vacío a temperatura ambiente.

Se efectuaron análisis por difracción de rayos X de polvos a los tres minerales, para comprobar que no sufriesen cambios importantes por el tratamiento, y en especial, en el caso de la arcilla, con el objetivo de comprobar no hubiesen cambios en su estructura laminar (ensanchamiento del canal interlaminar) ni modificaciones visibles en su patrón de difracción.

Con arcillas lavadas y secas se prepararon porciones especiales de arcilla bloqueada químicamente, unas bloqueadas en los canales interlaminares y otras en las orillas, siguiendo el procedimiento descrito por Perezgasga (1996):

a. Preparación de arcilla bloqueada con CTAB: *bloqueo de canales*

Se preparó una disolución etanólica de CTAB adecuada para bloquear en un 200% teórico todos los sitios activos de 10 gramos de montmorillonita de sodio (calculados considerando que ésta posee teóricamente una capacidad de intercambio catiónico de 101 meq de sodio por cada 100 g de arcilla), con la finalidad de asegurar que sus canales interlaminares estuvieran totalmente bloqueados.

Para ello se pesaron 7.26 g de CTAB y se diluyeron en 100 mL de EtOH. A esta disolución se agregó lentamente y con agitación constante la arcilla hasta obtener una mezcla homogénea que se mantuvo en agitación a 100 rpm durante 24 horas. Despues se decantó y se enjuagó tres veces con 100 mL de agua tridestilada y desionizada, se dejó sedimentar y se decantó nuevamente. Se centrifugó y tras descartar el sobrenadante, se secó el sedimento en un horno a 50 °C durante 12 horas. El producto fue analizado por difracción de rayos X de polvos para verificar la obstrucción de los canales.

b. Preparación de arcilla bloqueada con $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$: *bloqueo de orillas*

Se preparó una disolución de trifosfato de pentasodio 0.1 M con agua tridestilada y desionizada, y se colocó en contacto con la arcilla en agitación constante por 24 horas, tras las cuales ésta se enjuagó por triplicado con agua tridestilada y desionizada y se decantó, centrifugó y secó en horno a 50 °C durante 12 horas. Posteriormente se analizó mediante difracción de rayos X de polvos.

5. Pruebas de adsorción

Con el fin de determinar si existe una adsorción preferente hacia algún enantiómero en las superficies minerales en estudio, se efectuaron experimentos de adsorción de DL, L y D-alanina y serina sobre la arcilla, mineral de meteorito y olivino preparados, a diferentes valores de pH (entre 2 y 10), y con diferentes tiempos de adsorción (de 5 a 120 min).

El procedimiento se repitió para cada analito 15 veces en las condiciones más favorables halladas, y por triplicado en las otras, efectuando la siguiente secuencia:

- Se pesó 0.1000 ± 0.0003 g mineral pulverizado.
- Se agregó 3 mL de disolución del aminoácido a cada uno de dos tubos de ensayo para centrífuga.
- Se adicionó el mineral a uno de los tubos y se les agitó en un vortex para homogeneizar la mezcla (el otro tubo se usó como control).
- Se midió la acidez de la disolución y se reajustó a un pH particular con HCl o NaOH.
- Una vez ajustado el pH, cada tubo se colocó en un agitador 3D durante un período específico (entre 5 y 120 min).
- Tras la agitación, se centrifugaron los tubos a 21,000 G durante 35 min y se separó el sólido del sobrenadante, siendo éste último el empleado para los análisis de estas pruebas.

Una vez adsorbido el aminoácido, se trataron los sobrenadantes de las muestras para permitir su análisis mediante la técnica seleccionada, siendo necesario un tratamiento previo para proteger la columna cromatográfica y el detector. Debido a que la columna de HPLC a emplear trabaja en un intervalo limitado de pH (3.8 - 6.8) y a que la detección resultaba afectada por la presencia de iones Na^+ , provenientes de la arcilla o del NaOH adicionado para ajustar el pH, se desarrolló experimentalmente el método, en el cual, primero se agregan cantidades medidas de NaOH para hacer virar el pH de la muestra a 10 (arriba del $\text{pK}_{\text{a}2}$ de la alanina = 9.71 y de la serina = 9.15), para luego agregar una resina de intercambio catiónico (Dowex® 50), capaz de adsorber los iones sodio, y posteriormente reajustar el pH de la solución a 5 con HCl, para que la muestra, una vez filtrada, pueda ser introducida en el cromatógrafo.

Utilizando los datos de las áreas de pico bajo las curvas en los cromatogramas de cada muestra, corregidos por variaciones en los volúmenes de ácido y base agregados y las pequeñas diferencias en pesos de las muestras de mineral, se calcularon los porcentajes adsorbidos de cada enantiómero sobre cada mineral, partiendo de la concentración del aminoácido en disolución antes y después de ponerla en contacto con el mineral, estableciéndose el intervalo típico de porcentajes del proceso de adsorción en las condiciones más favorables.

Para determinar los sitios de adsorción en la arcilla se efectuaron dos tipos de pruebas: 1) análisis de difracción de rayos X de polvos de la arcilla sin bloquear, antes y después del proceso de adsorción de DL-alanina y DL-serina a pH 2 y 6 (que se hallan alrededor de los valores de pK1 y pI de la DL-alanina y DL-serina y se seleccionaron por ser los que mostrarían una clara variación

de acuerdo al efecto del pH del medio); y 2) análisis por HPLC/ELSD de experimentos de adsorción sobre las arcillas químicamente bloqueadas preparadas previamente, a pH 2 y 6.

a. Análisis por difracción de rayos X de polvos de arcilla sin bloquear antes y después del proceso de adsorción

Se efectuaron análisis de rayos X de difracción de polvos a las arcillas que adsorbieron los DL-aminoácidos a pH 2 y 6. Para ello, tras separárseles del sobrenadante empleado en el análisis de adsorción se les secó en horno a 25 °C y se les molió mecánicamente en un mortero. Los análisis fueron efectuados en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAII) de la UNAM (para detalles sobre el método empleado, *Véase Anexo B*).

b. Adsorción sobre arcillas químicamente bloqueadas (análisis por HPLC/ELSD)

Se efectuó el mismo procedimiento descrito anteriormente para los experimentos de adsorción de ambos aminoácidos en disolución a pH 2 y 6, empleando en este caso, las arcillas químicamente bloqueadas preparadas previamente.

6. Pruebas de desorción

La capacidad de las superficies minerales para liberar los compuestos adsorbidos en forma intacta resulta relevante en el contexto de evolución química, puesto que amplía las posibilidades de reacción (y evolución) que las moléculas concentradas en ellas pudieran tener, al trasladarles a medios y condiciones distintos a aquellos en los que se generaron y fueron adsorbidas.

Empleando la misma técnica que para las adsorciones, se examinó la capacidad de los aminoácidos en cuestión para ser desorbidos por los minerales, modificando los valores de pH (entre 2 y 10) de las disoluciones en que se introdujo el mineral con el aminoácido adsorbido. El procedimiento se repitió para cada muestra, por triplicado, efectuando la siguiente secuencia:

- Se adsorbió cada aminoácido en la superficie mineral (a por hallarse éste como condición más favorables en las pruebas de adsorción) y se determinó el porcentaje adsorbido, tras lo cual se descartó el sobrenadante.
- Se agregó 3 mL de agua tridestilada (previamente ajustada a uno de los pH seleccionados entre 2 y 10) al mineral sedimentado en cada tubo.
- Se agitó cada tubo en un vortex y se reajustó el pH de la mezcla.
- Cada tubo se colocó en un agitador 3D por 45 min y se centrifugó durante 35 min a 21,000 G.

- La disolución se trató con el método establecido anteriormente para poder ser inyectada en la columna (ajuste de pH y eliminación de cationes metálicos usando resina) y luego se analizó mediante HPLC/ELSD en las mismas condiciones que en el experimento anterior.

Se practicó el proceso completo de desorción a una muestra de mineral sin aminoácido, para analizarla como blanco.

7. Experimentos de irradiación

Se efectuaron experimentos de irradiación de dos tipos: 1) aminoácidos en disolución acuosa (en presencia y ausencia de las superficies minerales), y 2) en estado sólido puros. Para todos los casos se empleó una fuente de rayos γ de ^{60}Co (1.17 y 1.33 MeV) a diferentes dosis (de 0 kGy al límite observado experimentalmente en el que el porcentaje de aminoácido remanente en disolución es menor a 1% –91 kGy–) y se analizaron las muestras tras la irradiación mediante HPLC/ELSD y EPR.

Con ellos se pretendía determinar la resistencia de estas moléculas a la radiación ionizante y examinar, en el caso de los experimentos en solución acuosa, la capacidad de los minerales para protegerlos y concentrarlos, haciendo énfasis en la detección de cualquier grado de quirioselectividad.

a. Experimentos de irradiación en disolución acuosa:

Se determinó primero la curva de descomposición de cada enantiómero de los aminoácidos y sus mezclas racémicas en ausencia de arcilla, exponiendo las disoluciones a la fuente de rayos γ y variando el tiempo de irradiación para obtener dosis cada vez mayores, hasta que el aminoácido remanente fuera menor al 1% (91 kGy). Se hizo la gráfica de la concentración del aminoácido (determinada mediante la técnica establecida de HPLC/ELSD) contra la dosis de irradiación.

El tratamiento general de cada muestra fue el siguiente:

- Se tomaron 3 mL de cada disolución de aminoácido y se colocaron en tubos de ensayo.
- Se burbujeó argón dentro de las disoluciones durante 5 min (con ayuda de una micropipeta limpia para cada uno) y se taparon inmediatamente los tubos de ensayo, evitando que entrara oxígeno en las muestras.
- Se colocó cada tubo en una posición específica de la cámara del irradiador (siempre la misma para cada tipo de muestra) y se expusieron a la fuente de ^{60}Co durante un período determinado. Cada posición seleccionada en el irradiador presenta una intensidad de

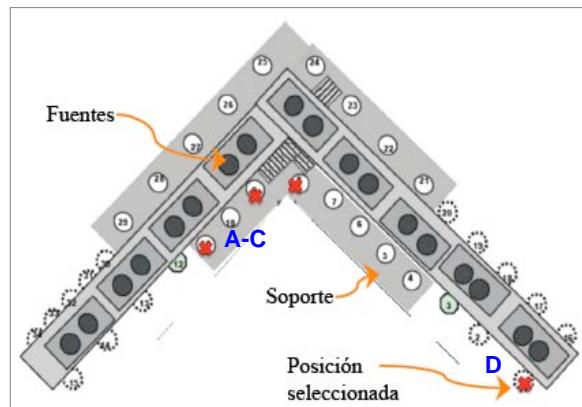
dosis específica (Véase *Tabla 4, Figura 9*), determinada en colaboración con la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, mediante el método de Fricke Modificado (Spinks y Woods, 1990). Debido a estas pequeñas diferencias y al paso del tiempo (que conlleva el decaimiento radiactivo de las fuentes), en los experimentos realizados a las muestras que fueron irradiadas se aplicaron pequeñas variaciones a los tiempos de irradiación para normalizar la dosis recibida por cada una.

Tabla 4: Intensidad de dosis de irradiación en la cámara del Gammabeam 651 PT.

Posición	Intensidad de Dosis (Gy/min)*
A	216.0 – 152.1
B	216.1 – 152.1
C	216.6 – 152.5
D	91.2 – 64.2

*Agosto 2011 – Abril 2014

Figura 9: Esquema de la disposición de las muestras dentro de la cámara del irradiador.



Adicionalmente se efectuó un experimento de irradiación de DL-alanina a pH 2 (por ser el pH de un hipotético microambiente en el que la adsorción podría ser máxima) empleando una razón de dosis menor a la de los experimentos anteriores (91 Gy/min en vez de 216 Gy/min), con el fin de evaluar si existía alguna influencia de este parámetro sobre el comportamiento del sistema.

Después se ensayó irradiar los aminoácidos adsorbidos en arcilla, exponiéndolos el tiempo determinado en el experimento anterior como necesario para destruirlos en más del 99% en ausencia del mineral (91 kGy). Tras desorberlos, el sobrenadante fue analizado mediante HPLC/ELSD para establecer si los compuestos sobrevivieron a la irradiación.

El tratamiento de estas muestras fue:

- Se adsorbieron los aminoácidos en las condiciones establecidas como óptimas en las curvas de adsorción (pH 2, 45 min).

- Se burbujeó argón dentro de las disoluciones durante 5 min (con ayuda de una micropipeta limpia para cada uno) y se taparon inmediatamente los tubos de ensayo, evitando que entrara oxígeno en las muestras.
- Se colocó cada aminoácido dentro de la cámara del irradiador en la misma posición que en el experimento anterior, y se expusieron a la fuente de ^{60}Co .
- Se retiraron los tubos de la cámara y se agitaron en el vortex durante 30 seg.
- Se trasladó cada muestra a un tubo de plástico para centrífuga y se les centrifugó durante 35 min a 21,000 G.
- Se eliminó el líquido sobrenadante de los tubos y se efectuó el procedimiento de desorción al pH óptimo según los experimentos de desorción efectuados anteriormente (pH 8).
- Los productos desorbidos se centrifugaron 35 min a 21,000 G y se separaron los sobrenadantes, descartándose los minerales.
- Se trajeron las muestras para ser introducidas en la columna cromatográfica (ajustando pH y eliminando cationes metálicos usando resina) y se analizaron los sobrenadantes por HPLC/ELSD.

Se practicó el proceso completo de irradiación y desorción a muestras de mineral sin aminoácido, para analizarlas como blanco.

b. Experimentos de irradiación en sólido:

Se irradiaron muestras de 0.1 g de aminoácidos sólidos pulverizados en un mortero de ágata dentro de tubos de vidrio a una dosis fija (13 kGy) y se analizaron alícuotas de 20 mg mediante EPR (para detalles sobre el método empleado, *Véase Anexo C*) en busca de diferencias en el comportamiento de los radicales formados por los enantiómeros y las mezclas racémicas.

Como parte de una breve estancia doctoral en la universidad de Yokohama, Japón, se efectuaron pruebas de irradiación con un haz de iones de carbono acelerados de 290 MeV/u (provenientes del Heavy Ion Medical Accelerator –HIMAC–, en Chiba, Japón) a muestras sólidas de alanina y serina, tanto puras como mezcladas homogéneamente con arcilla (arcilla/aminoácido, 95:5), con una dosis media de 12.5 kGy. Tras la irradiación se efectuaron análisis de EPR (bajo las mismas condiciones y con un equipo idéntico al de la UNAM).

VI. Resultados

A. Análisis de disoluciones patrón

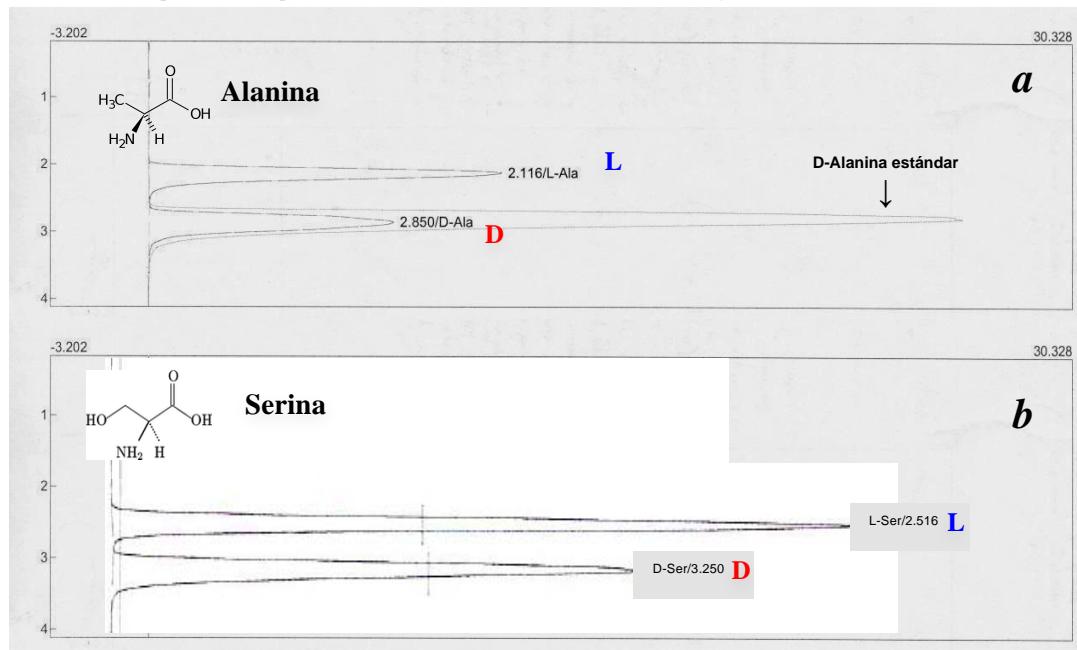
En la *Tabla 5* se muestran las condiciones específicas de análisis mediante la técnica de HPLC/ELSD, empleando la columna quiral Chirobiotic®T, halladas para los aminoácidos en el estudio y en la *Figura 10* los cromatogramas típicos obtenidos.

Tabla 5: Condiciones experimentales comprobadas para el análisis de alanina y serina por HPLC/ELSD.

Aminoácido	PROCESO		t_r (min)	
	Separación	Detección	L	D
Alanina	Columna: Chirobiotic®T Fase móvil: metanol/agua (70:30) Flujo: 1 mL/min (isocrática)	Temperatura: 40°C Flujo de gas (N ₂): 1.5 L/min Ganancia: 4 (isotérmica)	2.12	2.85
Serina	Columna: Chirobiotic®T Fase móvil: metanol/agua (85:15) Flujo: 1 mL/min (isocrática)	Temperatura: 41°C Flujo de gas (N ₂): 1.3 L/min Ganancia: 4 (isotérmica)	2.52	3.25

Fuente: datos experimentales.

Figura 10: Cromatogramas obtenidos por HPLC/ELSD bajo las condiciones analíticas ensayadas en los experimentos para disoluciones racémicas de **a**) alanina y **b**) serina.



Fuente: datos experimentales.

En la *Tabla 6* se muestran los resultados del monitoreo por HPLC/ELSD de las disoluciones de estándares de aminoácidos racémicos tras 10 días de haberse preparado y mantenerse en refrigeración. Se presentan los resultados como los porcentajes de cada enantiómero en las mezclas racémicas en cada día observado. No se detecta racemización ni contaminación bacteriana (que ocasionaría disminución del enantiómero L en las disoluciones).

Tabla 6: *Estabilidad de las disoluciones de DL-alanina y DL-serina durante 10 días, comprobadas por HPLC/ELSD.*

Muestra	Dia	Relación porcentual de L/D enantiómeros en disolución									
		ph 2		ph 4		ph 6		ph 8		ph 10	
		L	D	L	D	L	D	L	D	L	D
DL-Alanina	1	48.9	51.1	48.6	51.4	50.2	49.8	49.6	50.4	50.4	49.6
	5	50.2	49.8	50.6	49.4	49.3	50.7	49.7	50.3	49.3	50.7
	10	49.8	50.2	50.1	49.9	50.4	49.6	50.6	49.4	49.1	50.9
Media		49.6	50.4	49.8	50.2	50.0	50.0	50.0	50.0	49.6	50.4
Desviación estándar		0.7		1.0		0.6		0.6		0.7	
Intervalo de confianza (95%)		0.8		1.2		0.7		0.6		0.8	
DL-Serina	1	50.4	49.6	49.5	50.5	51.1	48.9	50.9	49.1	49.0	51.0
	5	50.8	49.2	49.9	50.1	49.8	50.2	49.3	50.7	48.3	51.7
	10	49.7	50.3	50.5	49.5	50.8	49.2	49.0	51.0	48.1	51.9
Media		50.3	49.7	50.0	50.0	50.6	49.4	49.7	50.3	48.5	51.5
Desviación estándar		0.6		0.5		0.7		1.0		0.5	
Intervalo de confianza (95%)		0.6		0.6		0.8		1.2		0.5	

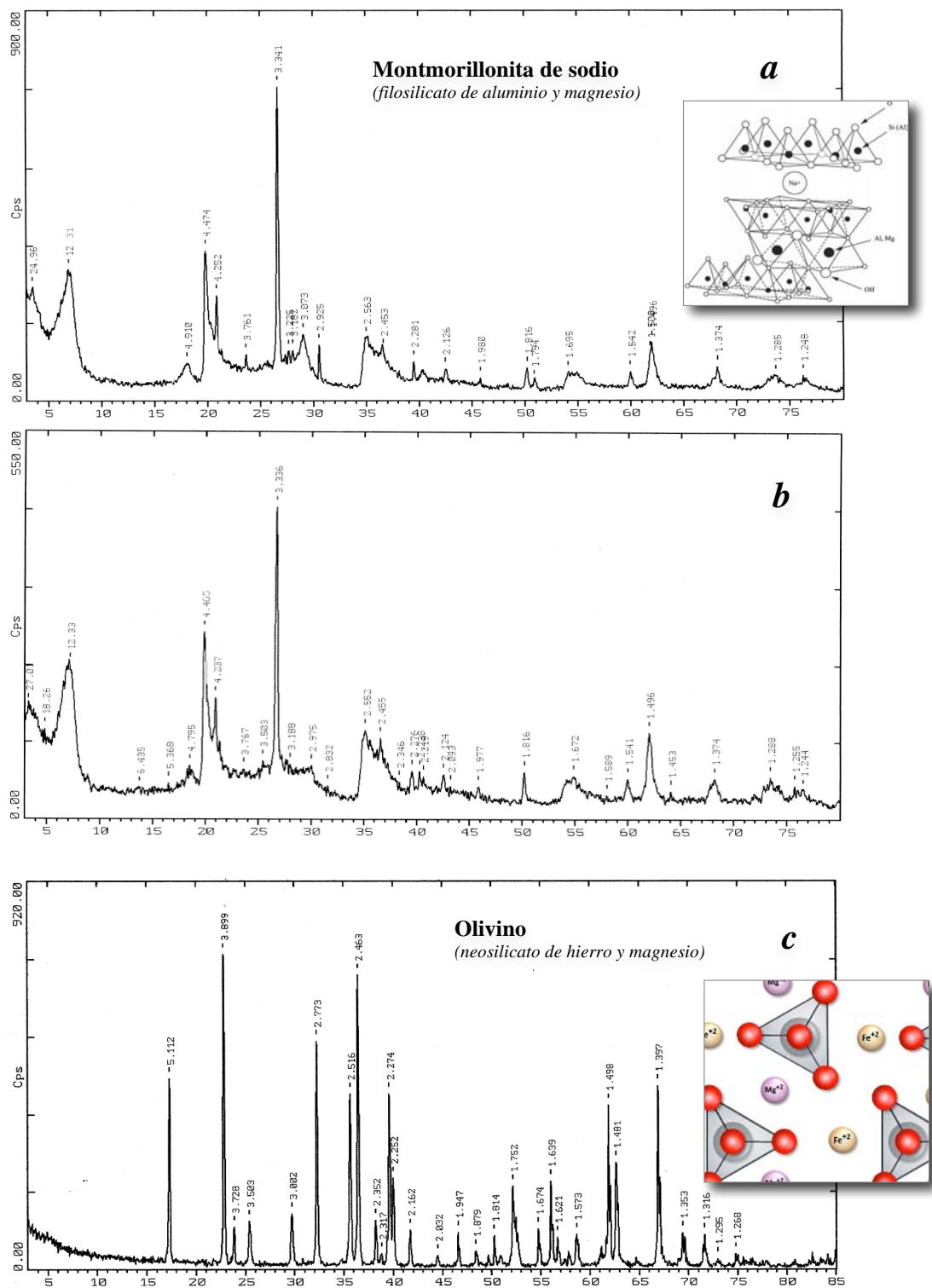
Fuente: datos calculados sobre experimentales.

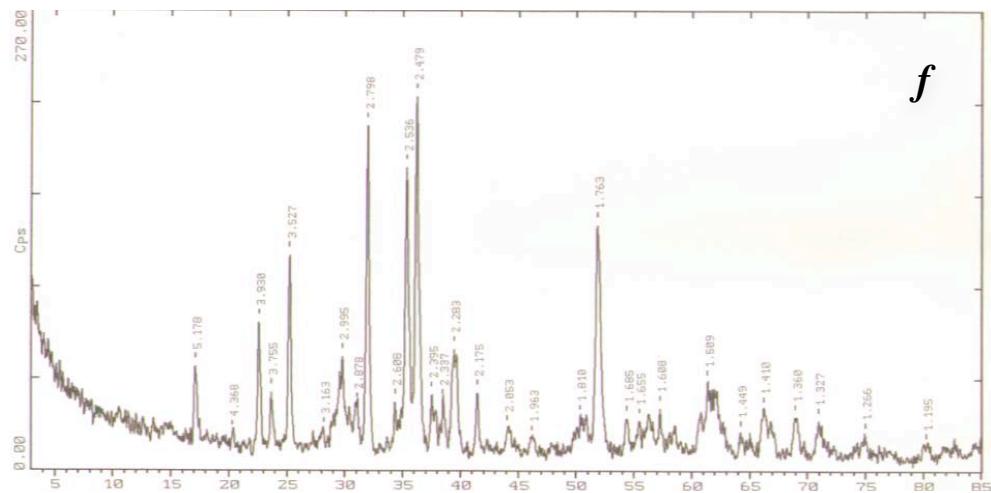
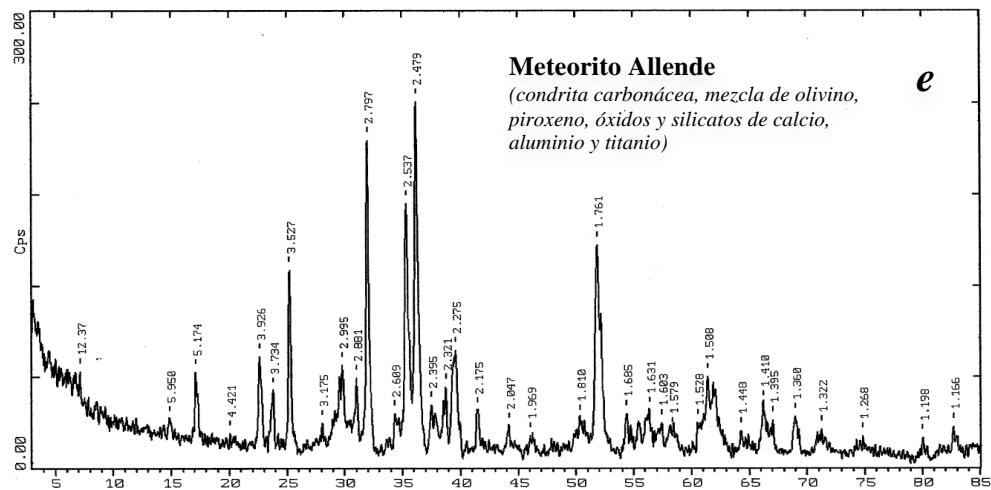
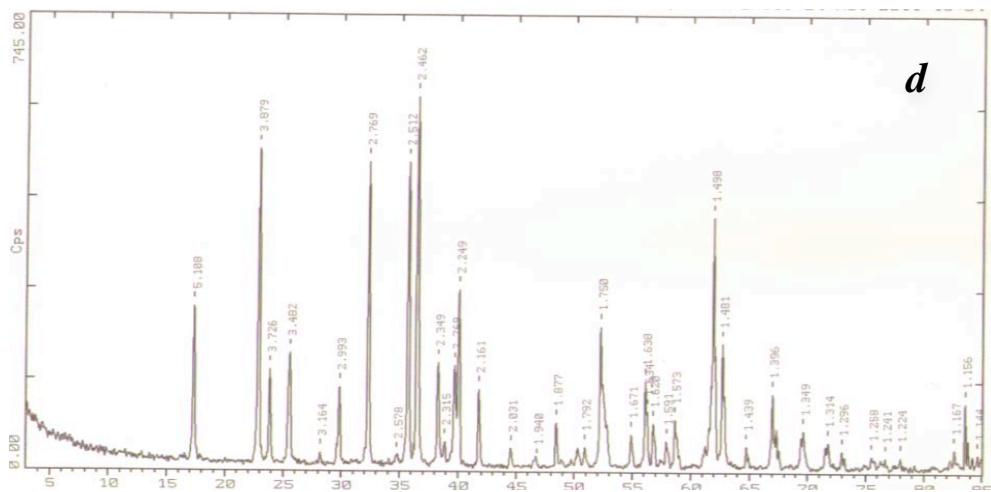
Es de notar que el intervalo de confianza máximo alrededor de la media es $\pm 1.2\%$, de manera que las muestras racémicas mantienen un equilibrio de los enantiómeros que oscila entre 48% y 52% de cada uno.

B. Análisis y preparación de minerales:

Con la finalidad de eliminar la materia orgánica contaminante de los minerales a utilizar, se les sometió a lavado con peróxido de hidrógeno (procedimiento estándar empleado en análisis de suelos). Se tomaron los espectros de difracción de rayos X de polvos antes y después del lavado para determinar si éste producía algún cambio significativo en la estructura de los minerales, y como se muestra en los incisos *a, b, c, d, e* y *f* de la *Figura 11*, no se observó modificación alguna.

Figura 11: Espectro de difracción de rayos X de polvos de minerales pretratada con H_2O_2 : montmorillonita de sodio **a**) antes del lavado y **b**) después del lavado; olivino **c**) antes del lavado y **d**) después del lavado; meteorito Allende **e**) antes del lavado, y **f**) después del lavado,

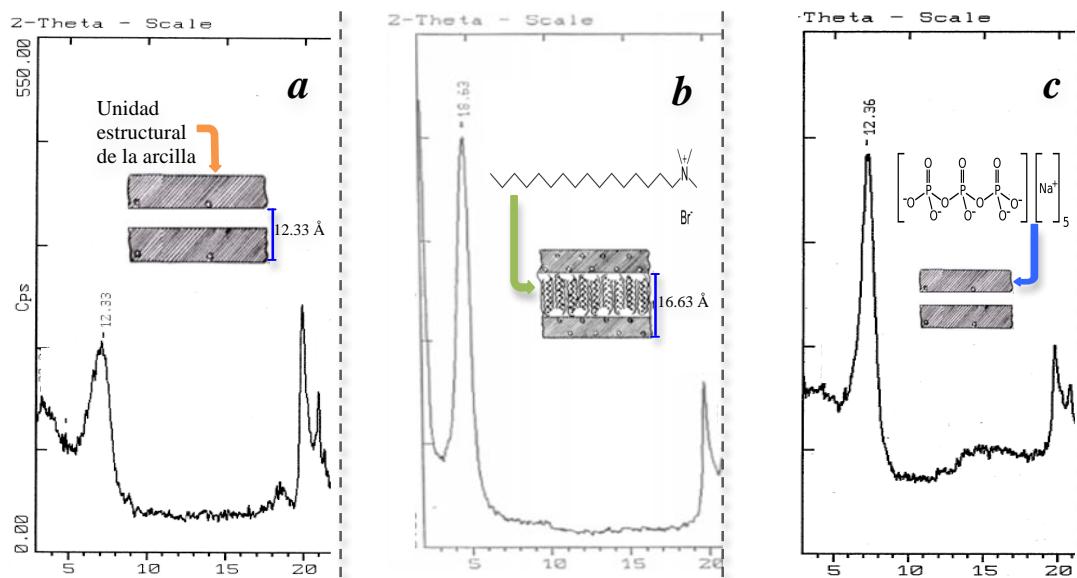




Fuente: datos experimentales.

De la arcilla lavada se tomó una porción y se sometió a tratamientos químicos específicos (con CTAB y $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) para bloquear los sitios de adsorción dentro y fuera del canal interlaminar de la estructura tridimensional del mineral. Así, para comprobar los resultados de la modificación se realizó un análisis de difracción de rayos X de polvos de las arcillas tratadas. En la *Figura 12* se muestra el segmento característico de los espectros de la montmorillonita de sodio que señala la apertura del canal interlaminar tanto para las arcillas tratadas con CTAB y $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, como para la arcilla sin tratar.

Figura 12: Espectro de difracción de rayos X de polvos de montmorillonita de sodio pretratada con H_2O_2 :
a) arcilla sin tratar, b) arcilla tratada con CTAB, y c) arcilla tratada con $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$.



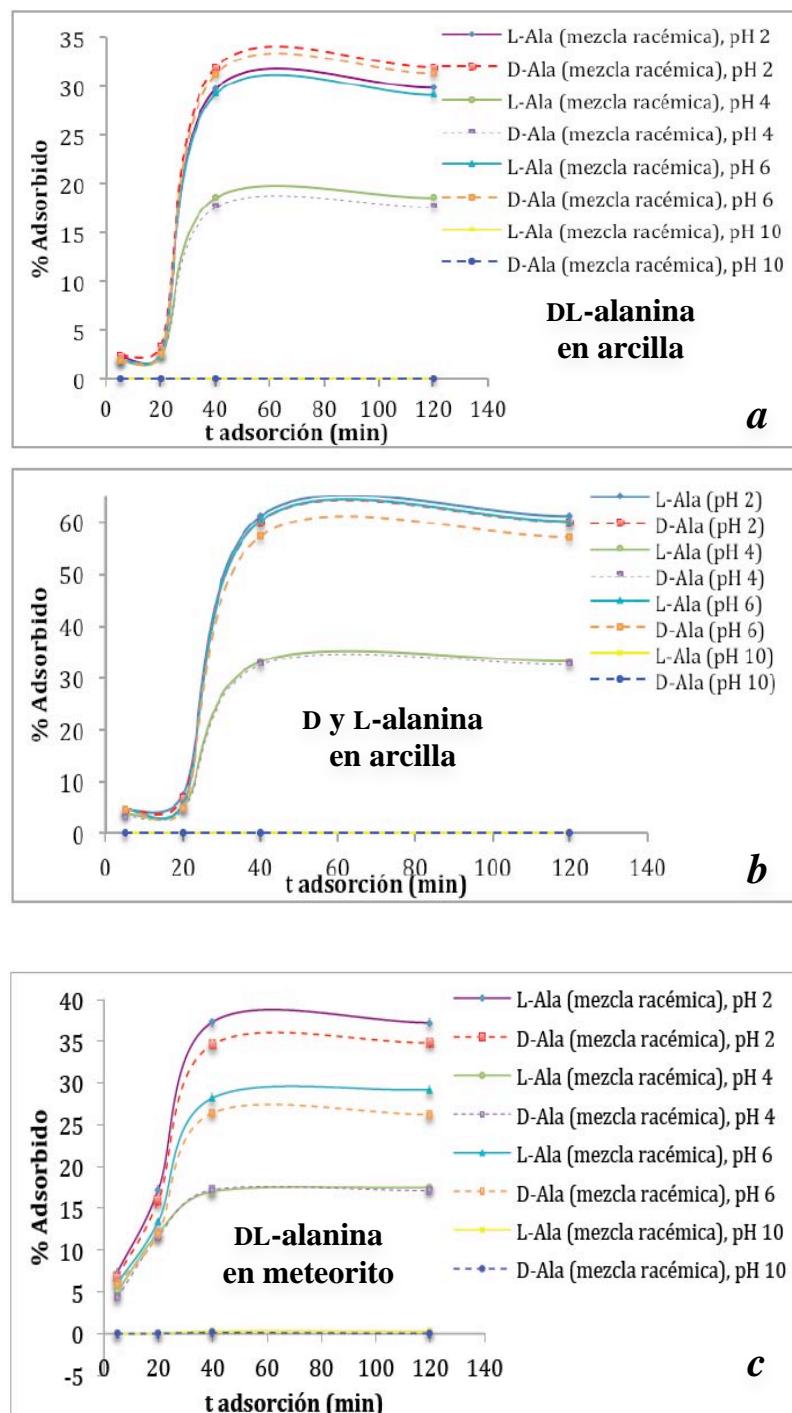
Fuente: datos experimentales.

En el inciso b de la *Figura 12* se observa el ensanchamiento del canal interlaminar producido por la introducción del CTAB en el mismo, mientras que la adición de fosfatos no produce cambio en el espectro, según muestra en el inciso c.

C. Pruebas de adsorción:

Mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y utilizando una columna quiral (Chirobiotic®T), acoplada a un detector de luz dispersa (ELSD) se evaluó, a distintos valores de pH (entre 2 y 10) y variando los períodos de adsorción (entre 5 y 120 min), la adsorción de L, D y DL-alanina y serina sobre montmorillonita de sodio, meteorito Allende y olivino. Utilizando los datos bajo las áreas de los picos en cada muestra se calcularon los porcentajes adsorbidos de cada enantiómero sobre cada mineral. En las *Figuras 13* y *14* se muestran las curvas de adsorción.

Figura 13: Curvas de adsorción de DL, D y L-alanina en arcilla, meteorito y olivino a distintos valores de pH y distintos tiempos de adsorción: a) DL-alanina en arcilla, b) D-alanina y L-alanina en arcilla, c) DL-alanina en meteorito Allende, d) D-alanina y L-alanina en meteorito Allende, e) DL-alanina en olivino.



Arcilla + alanina

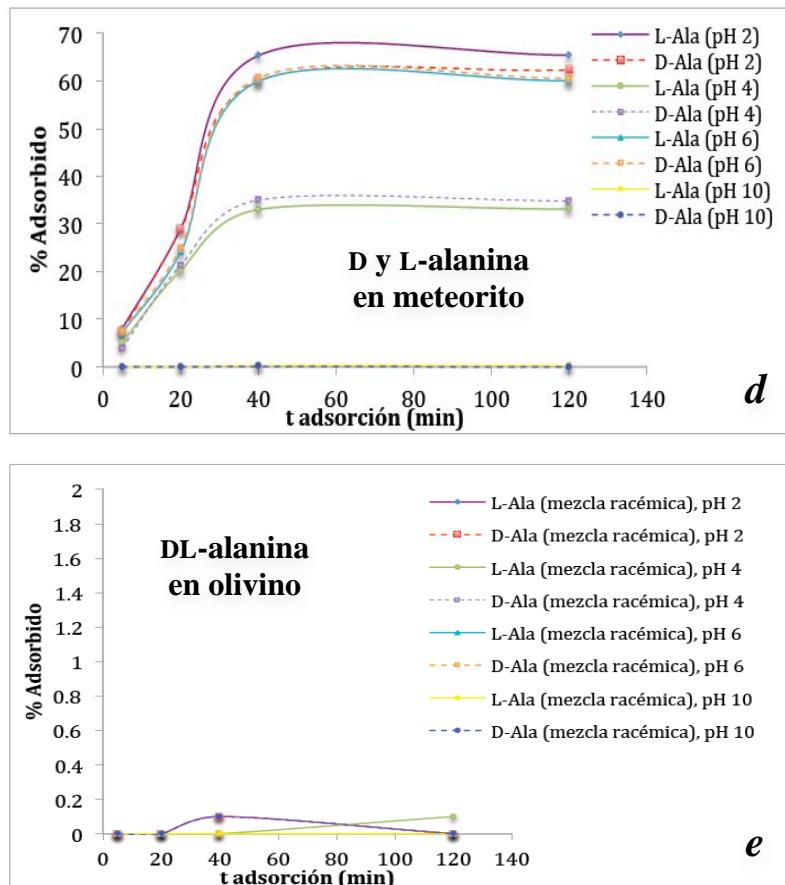
Diferencia máxima observada entre los % de adsorción de un par enantiomérico (L/D) = 2.9 %

Intervalo de confianza (95%) del experimento de alanina en arcilla = $\pm 4.1\%$

Meteorito + alanina

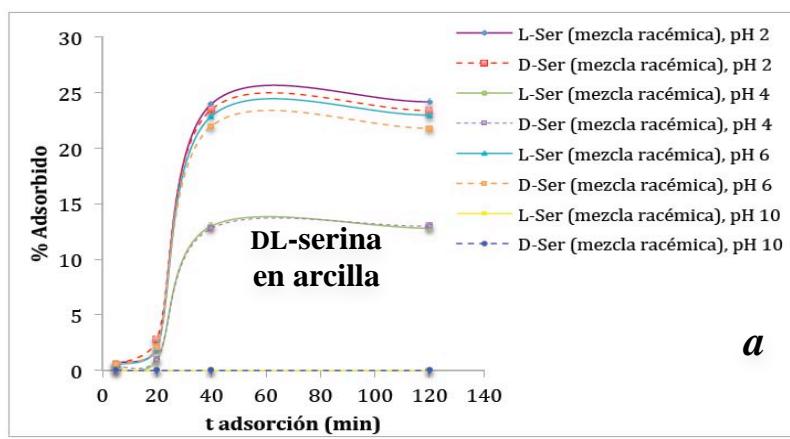
Diferencia máxima observada entre los % de adsorción de un par enantiomérico (L/D) = 2.7 %

Intervalo de confianza (95%) del experimento de alanina en arcilla = $\pm 3.8\%$



Fuente: datos calculados sobre experimentales.

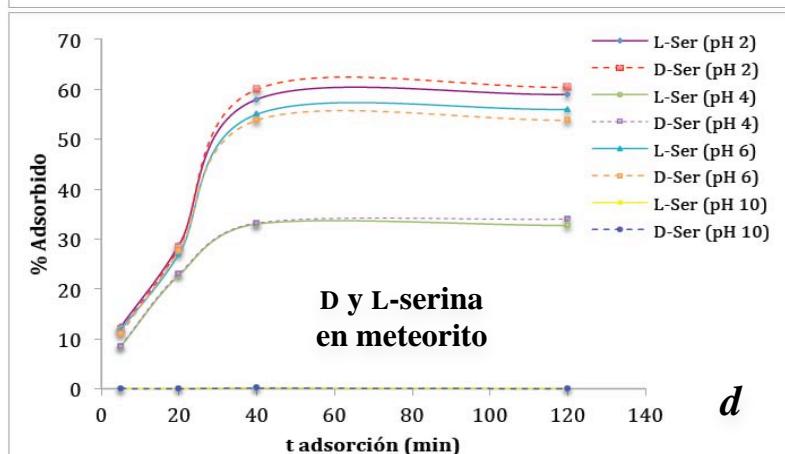
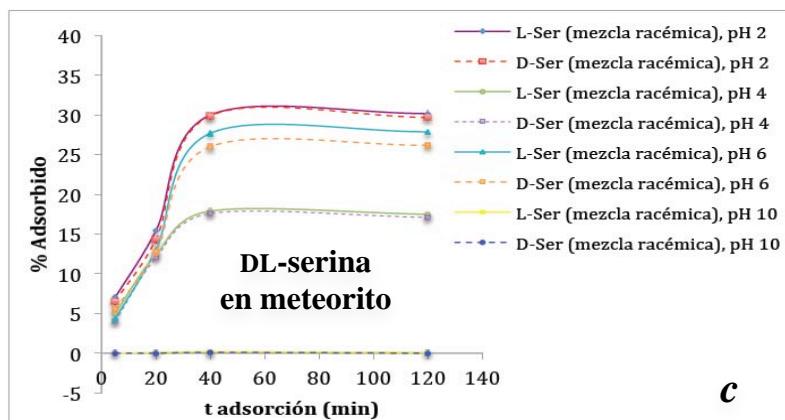
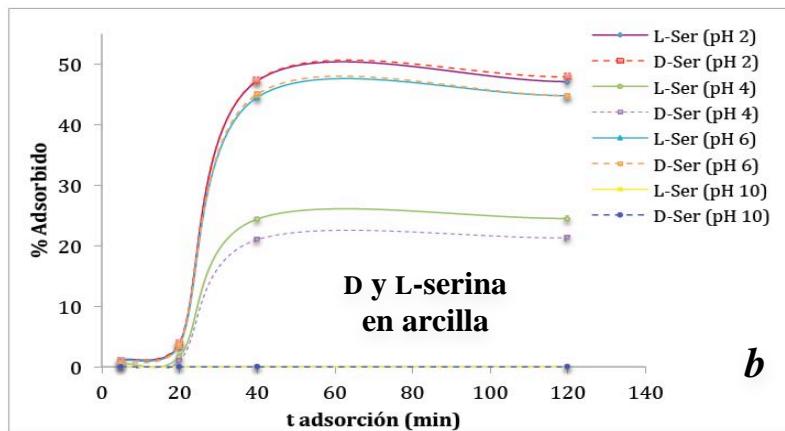
Figura 14: Curvas de adsorción de DL, D y L-serina en arcilla, meteorito y olivino a distintos valores de pH y distintos tiempos de adsorción: a) DL-serina en arcilla, b) D-serina y L-serina en arcilla, c) DL-serina en meteorito Allende, d) D-serina y L-serina en meteorito Allende, e) DL-serina en olivino.



Arcilla + serina

Diferencia máxima observada entre los % de adsorción de un par enantiomérico (L/D) = 2.4 %

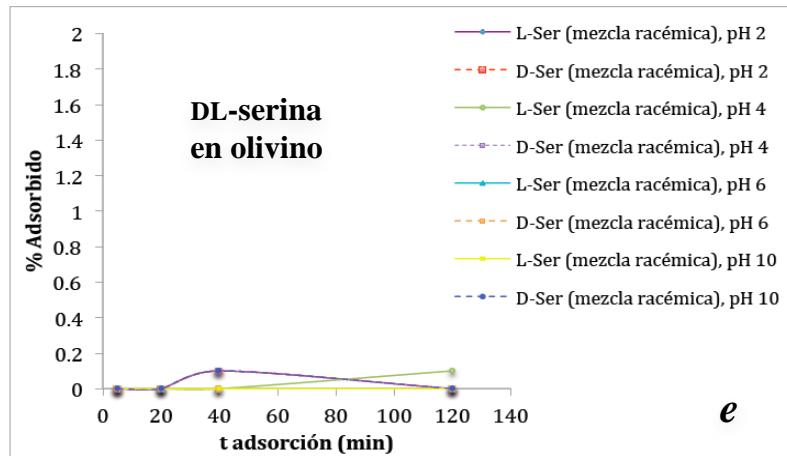
Intervalo de confianza (95%) del experimento de alanina en arcilla = $\pm 4.3\%$



Arcilla + serina

Diferencia máxima observada entre los % de adsorción de un par enantiomérico (L/D) = 2.2 %

Intervalo de confianza (95%) del experimento de alanina en arcilla = $\pm 3.7\%$



Fuente: datos calculados sobre experimentales.

Se encontró para ambos aminoácidos que las mezclas racémicas y los enantiómeros separados se adsorben de manera similar y con rapidez, alcanzando su más alto porcentaje tras 40 minutos de contacto entre la disolución y las superficies minerales. Así mismo, los resultados señalan un mayor porcentaje de adsorción sobre la superficie del meteorito, frente a la observada en arcilla al mismo valor de pH, y en general, mayor adsorción de alanina que de serina.

Sobre el olivino no se observó adsorción alguna, y por ello se le descartó de los experimentos posteriores.

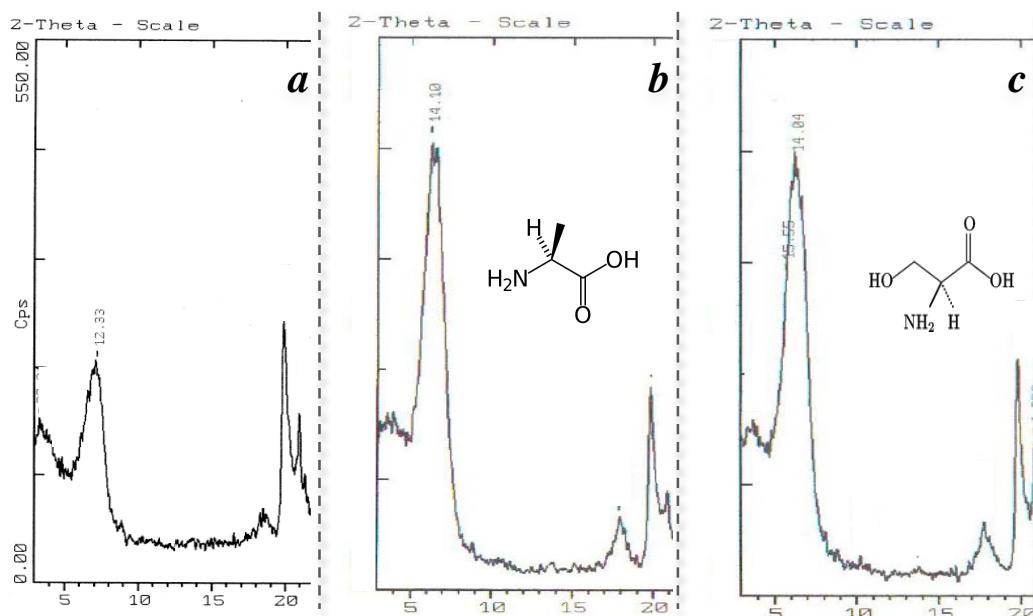
El mayor porcentaje de adsorción ocurre, para ambos aminoácidos, a pH 2 (alrededor de sus valores de pK_1 –2.33 para la alanina y 2.21 para la serina–), seguido de una adsorción similar a pH 6 (cercano a sus pH isoeléctricos –6.11 en la alanina y 5.68 en la serina–). Sobre pH 10 se observó descomposición de las muestras.

Aún cuando en algunos experimentos se observa una ligera tendencia a la mayor adsorción de un enantiómero (el L en varios casos), el análisis estadístico (aplicando t de student) de la repetición sistemática del experimento bajo condiciones controladas, muestra que la diferencia entre los porcentajes de adsorción de los pares enantioméricos (alrededor de 2.5% para el conjunto de experimentos) no es significativa, pues cae dentro de los intervalos de confianza calculados para los experimentos.

1. Sitio de adsorción de los aminoácidos dentro de la estructura tridimensional de la montmorillonita de sodio:

En los incisos *a*, *b* y *c* de la *Figura 15* se muestra, el segmento característico del espectro de difracción de rayos X de la montmorillonita de sodio que señala la apertura del canal interlaminar de la estructura tridimensional de esta arcilla. En cada gráfica se compara el corrimiento del pico patrón de arcilla pura contra el obtenido de arcilla en la que se adsorbió un aminoácido en particular. Estos análisis se efectuaron a muestras de arcillas con aminoácidos adsorbidos a pH 2, por haberse hallado éste como el medio que maximiza la adsorción, siendo más sencillo apreciar el cambio en el difractograma. El corrimiento del pico patrón de la serina es ligeramente menor que el de la alanina, pues se relaciona directamente con la cantidad de material que entra dentro del canal interlaminar de la arcilla, y en este caso, corrobora lo observado mediante HPLC/ELSD (Véase inciso *a* de Figuras 13 y 14).

Figura 15: Espectro de difracción de rayos X de polvos de montmorillonita de sodio: *a*) arcilla pura, *b*) arcilla + DL-alanina y *c*) arcilla + DL-serina.



Fuente: datos experimentales.

La *Tabla 7* muestra los resultados de las pruebas de adsorción sobre arcillas pretratadas para bloquear selectivamente los canales interlaminares (con CTAB) o los bordes de la estructura tridimensional de la arcilla (con $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$), analizadas por HPLC/ELSD.

Tabla 7: Porcentaje de adsorción de DL-alanina y DL-serina en arcillas tratadas con CTAB (bloqueo químico de canal interlaminar) y $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (bloqueo químico de bordes de la estructura) a pH 2 y 6.

MUESTRA	pH	% ADSORBIDO			
		L-alanina	D-alanina	L-serina	D-serina
DL-aminoácido + arcilla tratada con CTAB	2	0.0	0.0	0.0	0.0
	6	17.3	18.6	14.2	13.6
DL-aminoácido + arcilla tratada con $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	2	22.3	21.2	16.3	16.0
	6	12.1	13.5	7.4	7.2

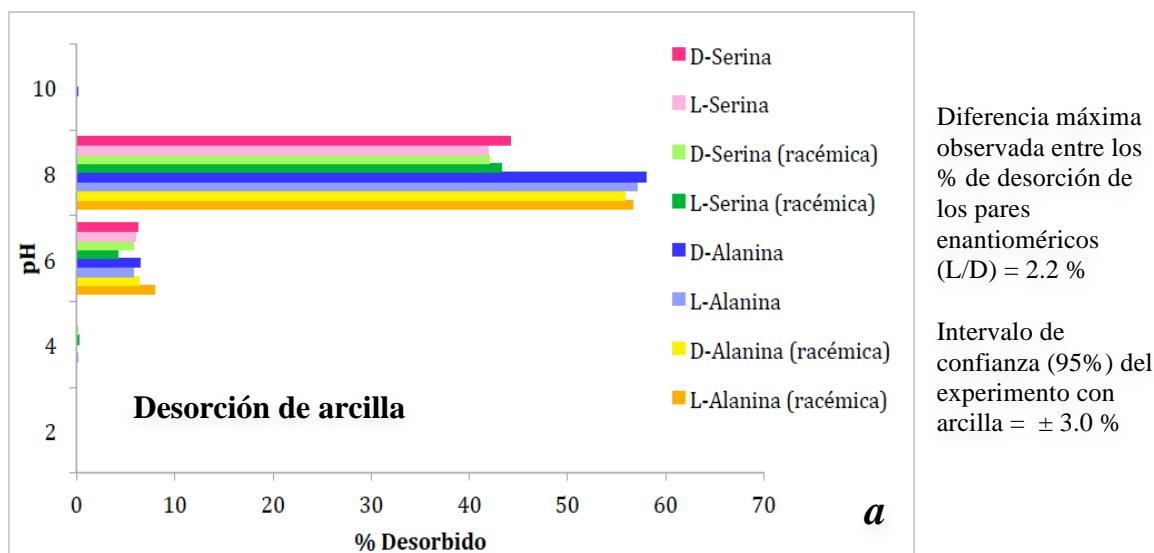
Fuente: datos calculados sobre experimentales.

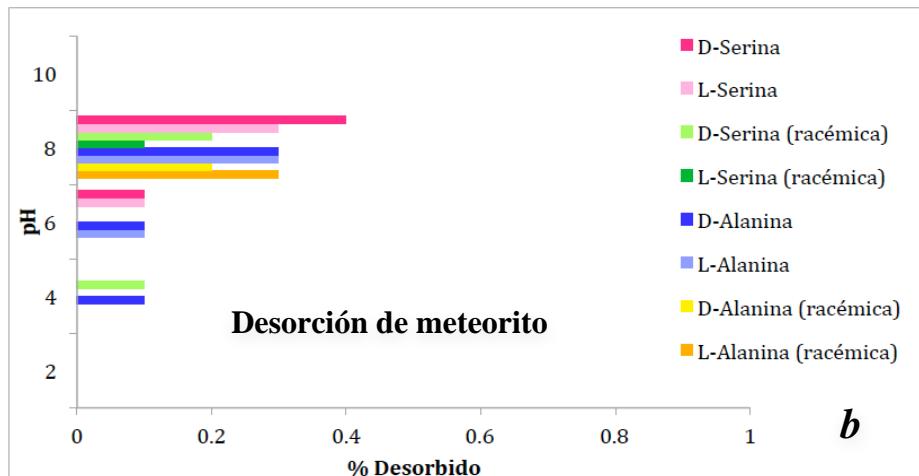
Se observa que cuando los aminoácidos están totalmente protonados (a pH 2) y el canal interlaminar está ocupado, no hay adsorción, mientras que cuando se hallan parcialmente protonados (en su forma zwiteriónica, a pH 6), ocurre adsorción parcial tanto dentro como fuera del canal.

D. Pruebas de desorción:

En la *Figura 16* se muestran los resultados de los experimentos de desorción de DL, L y D-alanina y serina adsorbidos por arcilla y meteorito a diferentes valores de pH (2, 4, 6, 8 y 10).

Figura 16: Porcentajes de desorción de DL, L y D-alanina y serina a diferentes valores de pH: a) desorción de arcilla, b) desorción de meteorito Allende.





Fuente: datos calculados sobre experimentales.

En el caso del mineral de meteorito no fue posible en la mayoría de los experimentos extraer los aminoácidos mediante la técnica aplicada, obteniéndose ocasionalmente porcentajes menores al 1%. En el caso de la arcilla, para ambos aminoácidos, la desorción ocurre en porcentajes similares sin diferencia entre mezclas racémicas y enantiómeros puros.

A pH 2 y 4 no hay prácticamente desorción, y a pH 10 se observa descomposición de la muestra. A pH 6 la desorción es baja (< 10% para ambos aminoácidos) y pH 8 se obtienen porcentajes promedio de 43% y el 57% para la DL-serina y la DL-alanina, respectivamente. Una vez más, las diferencias entre enantiómeros caen dentro del intervalo de confianza del experimento, por lo cual resultan no significativas.

Los porcentajes fueron calculados sobre las áreas de los picos de los aminoácidos, registradas en cada cromatograma, tomando en cuenta el porcentaje de aminoácido adsorbido previamente. Se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Desorbido} = [A_{\text{desorbido}} / (A_T - A_{\text{no adsorbido}})] \times 100$$

Donde,

$A_{\text{aa desorbido}}$ = área de pico de aminoácido desorbido (lectura final del experimento de desorción)

A_T = área de pico del estándar de aminoácido empleado en la adsorción (equivalente al 100% de material, es el área total)

$A_{\text{no adsorbida}}$ = área de pico de aminoácido no adsorbido durante el experimento de adsorción que precede a la desorción (es la lectura que se obtiene cuando se hacen los experimentos de adsorción). Recuérdese que:

$$A_{\text{adsorbida}} = A_T - A_{\text{no adsorbida}} \quad y$$

$A_{\text{adsorbida}}$ equivale al A_T del experimento de desorción (es el nuevo 100%).

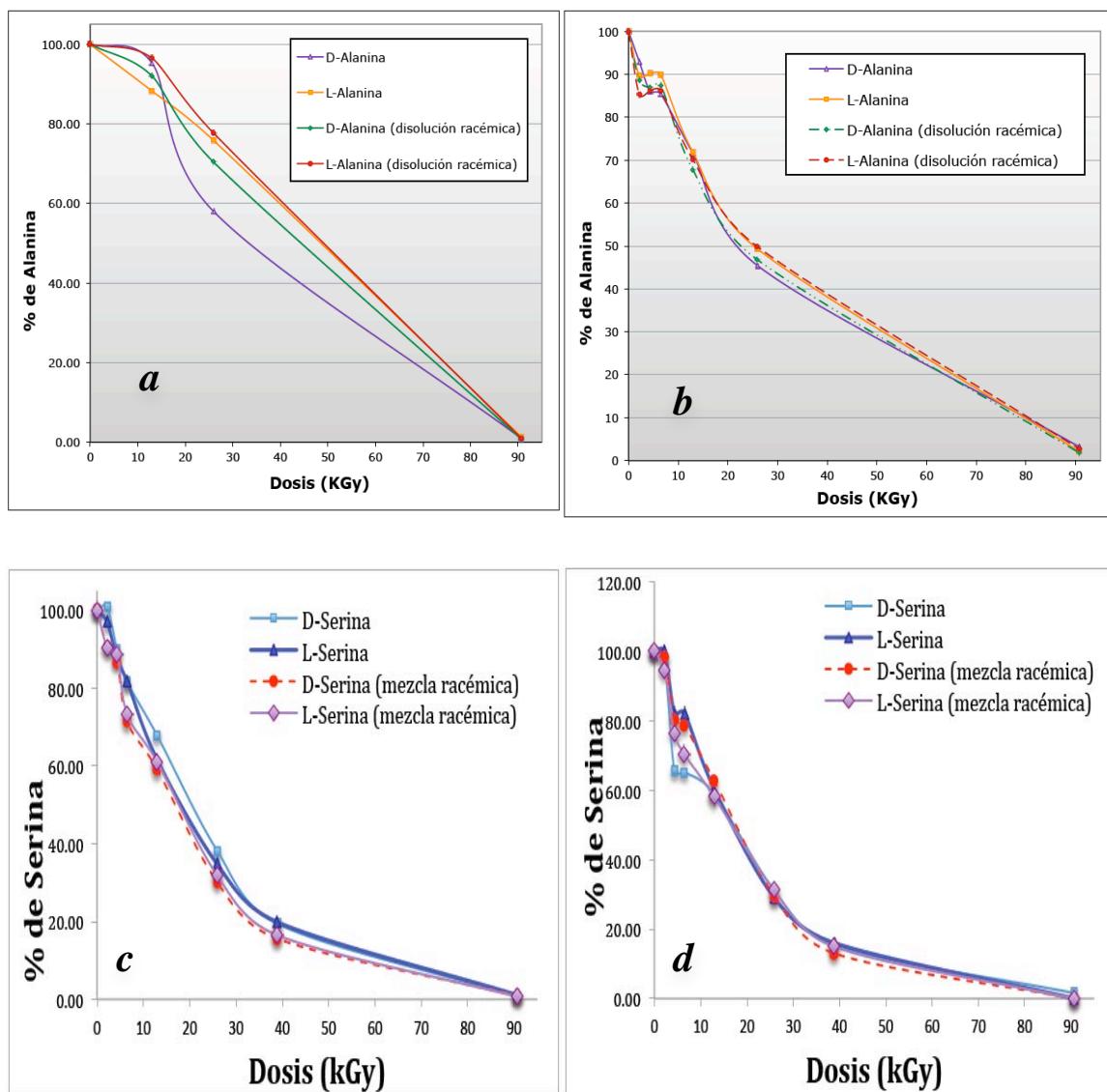
Al no lograrse la desorción del meteorito, se descarta éste de los experimentos posteriores.

E. Experimentos de irradiación

1. Experimentos en disolución acuosa: análisis por HPLC/ELSD

En la *Figura 17* se muestra la curva de descomposición de las disoluciones de alanina y serina en sus formas racémicas y enantioméricas puras, al ser irradiadas en ausencia de minerales a diferentes dosis, tanto a pH 2 como a pH 6. Se presentan los datos promedio de 15 repeticiones de los experimentos.

Figura 17: Curvas de descomposición de DL, D y L-alanina y serina en disolución acuosa 0.01 M por efecto de la radiación gamma: a) alanina (pH 6), b) alanina (pH 2), c) serina (pH 6) y d) serina (pH 2).



Fuente: datos calculados sobre experimentales.

Para ambos aminoácidos se determinó la casi total destrucción sobre los 91 KGy. La tendencia general observada muestra a la L-alanina como ligeramente más resistente a la radiación ionizante, en especial cuando es irradiada en disoluciones enantioméricamente puras y a pH neutro. En el caso de la serina las tendencias son similares, aunque las diferencias entre enantiómeros son aún menores y la descomposición ocurre más aprisa, tanto en medio ácido como en medio neutro, a diferencia de lo que ocurre en la irradiación de alanina.

A pesar de que los datos brutos observados muestran esa ligera tendencia a favor de la mayor resistencia de la L-alanina a la radiación ionizante (sobre todo a dosis cercanas a los 25 kGy), en general, el análisis estadístico (aplicando *t* de student) de las diferencias entre los enantiómeros señala, como en el caso de las adsorciones sobre arcilla, que éstas caen dentro del intervalo de confianza del método ($\pm 9.7\%$), y por tanto son no significativas (la máxima diferencia observada es de 8.3%).

Con el fin de comprobar la influencia de la razón de dosis aplicada a las muestras se ensayaron dos diferentes a una disolución estándar de alanina, como se ilustra en la *Tabla 8*. Los resultados mostraron que no hay cambios significativos y no hay un efecto por la razón de dosis.

Tabla 8: Porcentaje remanente de DL-alanina en disoluciones irradiadas con ^{60}Co a dos diferentes razones de dosis, en ausencia de arcilla y a pH 2.

MUESTRA		Dosis (kGy)	Razón de Dosis (Gy/min)	% de alanina remanente tras la irradiación
DL-alanina	L	26	91.15	52.8
	D			58.7
	L	216.00	56.3	56.3
	D			56.9

Fuente: datos calculados sobre experimentales.

Finalmente, se efectuó un ensayo de irradiación de alanina en presencia de arcilla, aplicando una dosis de 91 kGy, para determinar la capacidad de protección que brinda el mineral a esta clase de compuestos frente a la radiación ionizante. Se observó que la presencia del mineral disminuye drásticamente el daño que sufre el aminoácido por acción de la radiación gamma (Véase *Tabla 9*), manteniendo (pero no amplificando) la tendencia previamente observada entre las concentraciones de las distintas especies enantioméricas, en este caso, un mayor porcentaje de L-alanina.

Tabla 9: Porcentaje remanente de L, D y DL-alanina y serina tras irradiación con ^{60}Co , en presencia y ausencia de Montmorillonita de sodio a pH 2.

MUESTRA		% Remanente tras irradiación (Dosis = 91 kGy)			
		L-Ala	D-Ala	L-Ser	D-Ser
DL-aminoácido	Sin arcilla	2.7	1.8	1.1	1.3
	Con arcilla	73.8	62.9	66.0	69.2
L-aminoácido	Sin arcilla	2.1		0.8	
	Con arcilla	54.5		39.0	
D-aminoácido	Sin arcilla		3.2		1.2
	Con arcilla		45.8		34.6

Fuente: datos calculados sobre experimentales.

2. Experimentos de irradiación en sólido: análisis por EPR

Como pruebas adicionales sobre el comportamiento de los enantiómeros de los aminoácidos frente a la radiación gamma se realizaron análisis de Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR) a muestras sólidas de D, L, y DL-alanina y serina.

Aún cuando en investigaciones previas se han determinado los productos de radiólisis de algunos aminoácidos por esta técnica, en particular de la alanina, por ser empleada como dosímetro, no se cuentan con estudios que comparen los espectros de los enantiómeros y mezclas racémicas de estos compuestos.

En el caso de la alanina se observan espectros con patrones muy semejantes entre si, como se observa en la *Figura 18*, pero con una disminución en la intensidad de los picos (que representa la cantidad de los radicales observables) en el espectro de la mezcla racémica. Así mismo, se observa una muy pequeña diferencia (cercana al 1%) en las cantidades de las especies radicales formadas, tendiendo a producir más radicales la D-alanina, como se nota al comparar las intensidades de algunos picos en los espectros obtenidos para cada muestra (Véase *Figura 18* y *Tabla 19*).

Figura 18: Espectros de EPR de DL, D y L-alanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).

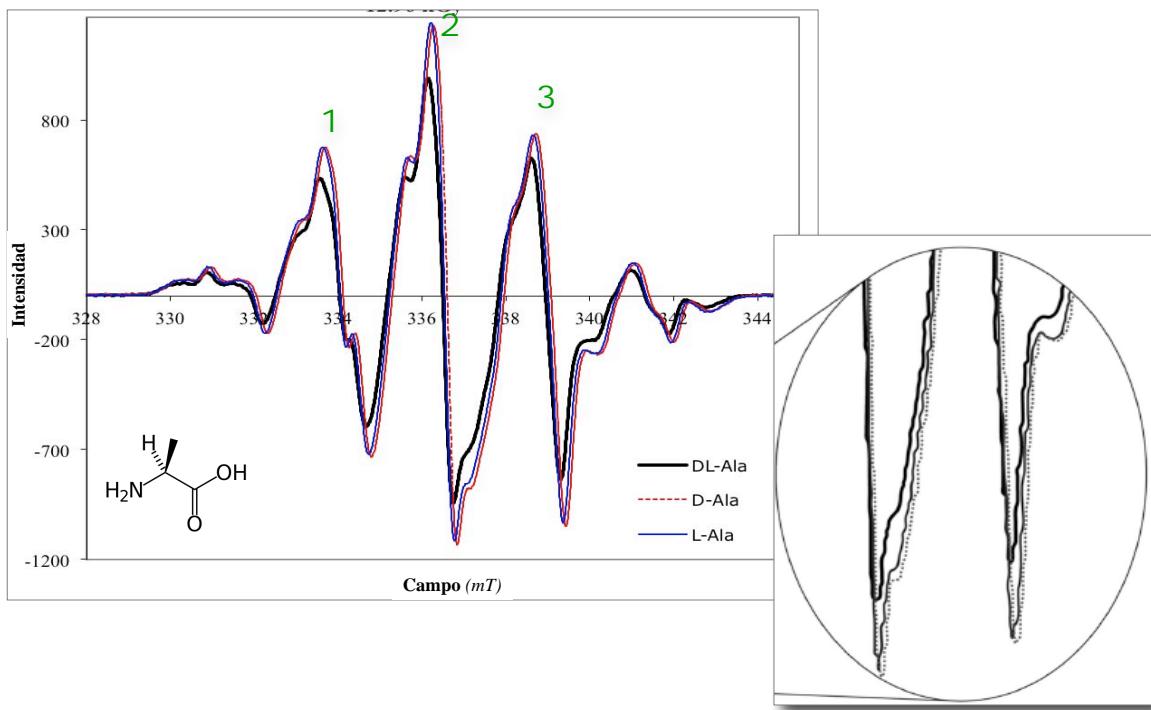


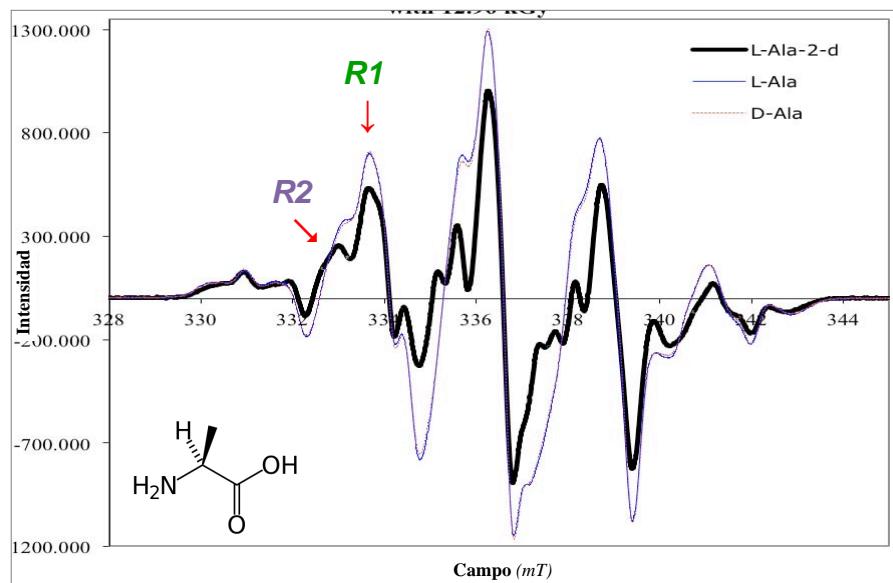
Tabla 10: Diferencias porcentuales entre las concentraciones de radicales presentes en la L, D y DL-alanina sólida tras irradiación con ^{60}Co (12.96 kGy), calculadas para los 3 picos más intensos de sus espectros de EPR.

PICO	DIFERENCIAS PORCENTUALES		
	entre D y L	entre D y DL	entre L y DL
1	0.95	20.32	19.55
2	0.36	18.19	17.89
3	1.20	18.12	17.12

Fuente: datos calculados sobre experimentales.

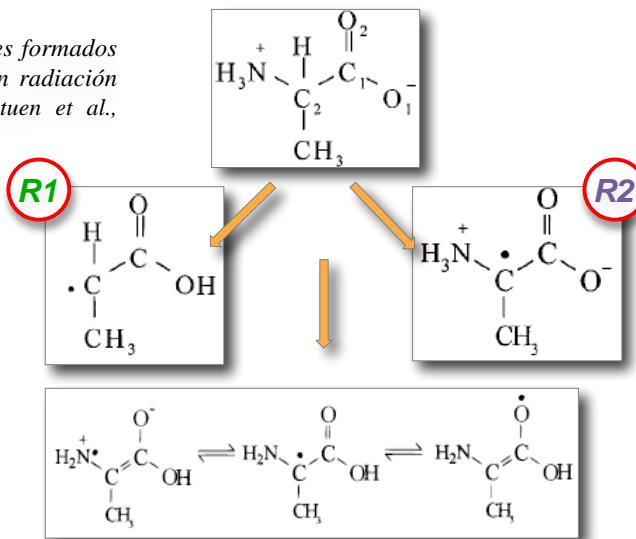
Con la intención de aclarar el patrón de EPR observado, se efectuaron experimentos de irradiación sobre L-alanina deuterada en la posición 2 (Véase Figura 19). El espectro permite distinguir cuando menos el patrón de EPR de dos de los radicales principales formados por la irradiación, el del producto de desaminación (**R1** en la gráfica) y el del radical formado por la pérdida del protón alfa (**R2** en la gráfica), según se corrobora en la literatura (Véase Figura 20 [Sagstuen *et al.*, 1997]). Al estudiar detenidamente el espectro de los enantiómeros L y D, se observa que las sutiles diferencias encontradas entre ambos se hallan principalmente en los picos que corresponden al radical **R2**.

Figura 19: Espectros de EPR de D, L y L-alanina-2-d sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).



Fuente: datos experimentales.

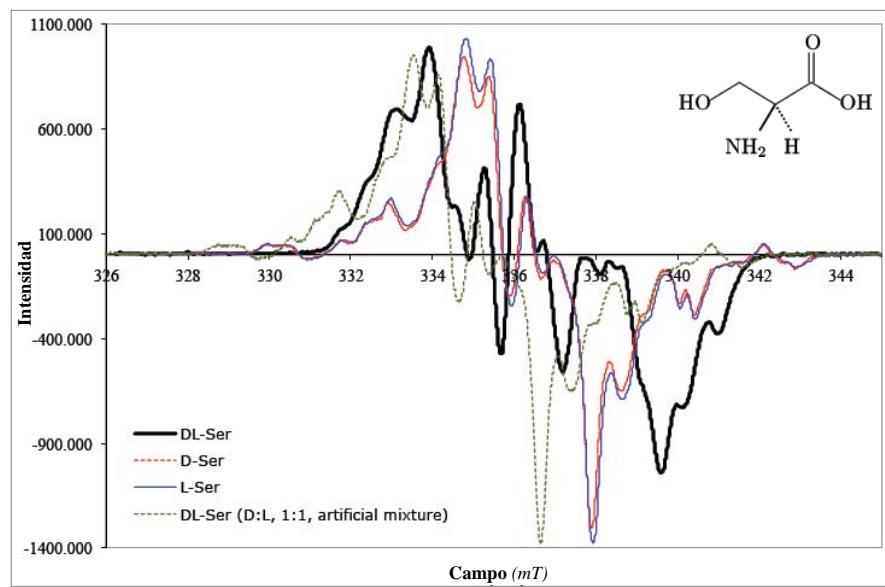
Figura 20: Principales radicales formados por irradiación de alanina con radiación ionizante (modificado de Sagstuen *et al.*, 1997).



El espectro de EPR obtenido para la mezcla racémica de serina, tomado inmediatamente después de la irradiación, es distinto al observado para los enantiómeros puros (Véase Figura 21).

Las diferencias entre los espectros de los enantiómeros en la serina parecen señalar una ligera mayor estabilidad del enantiómero D, contrario a lo ocurrido en los experimentos de irradiación de alanina. Al efectuarse el estudio de la serina a diferentes potencias, se observó que está compuesto de la combinación de más de tres radicales, cuya estructura no se trató de elucidar por escapar a los objetivos del trabajo.

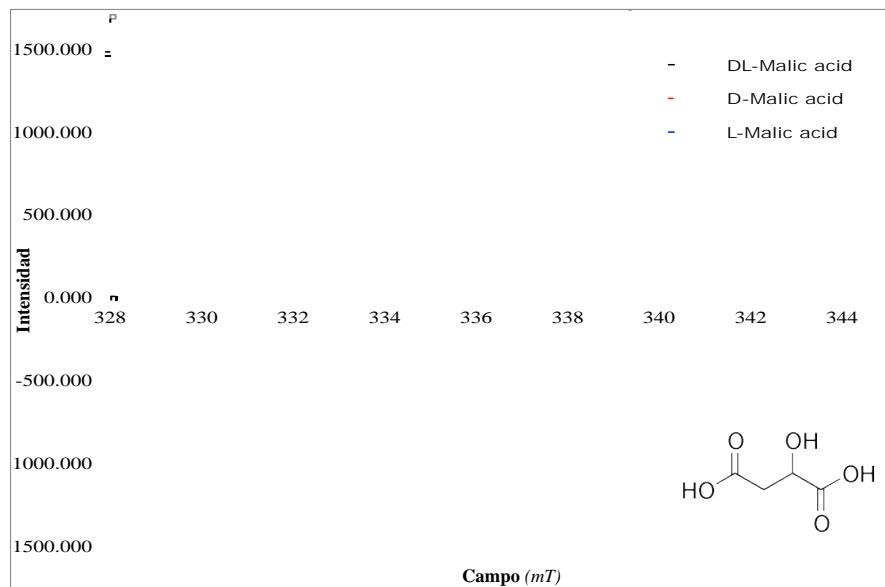
Figura 21: Espectros de EPR de D, L y DL-serina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).



Fuente: datos experimentales.

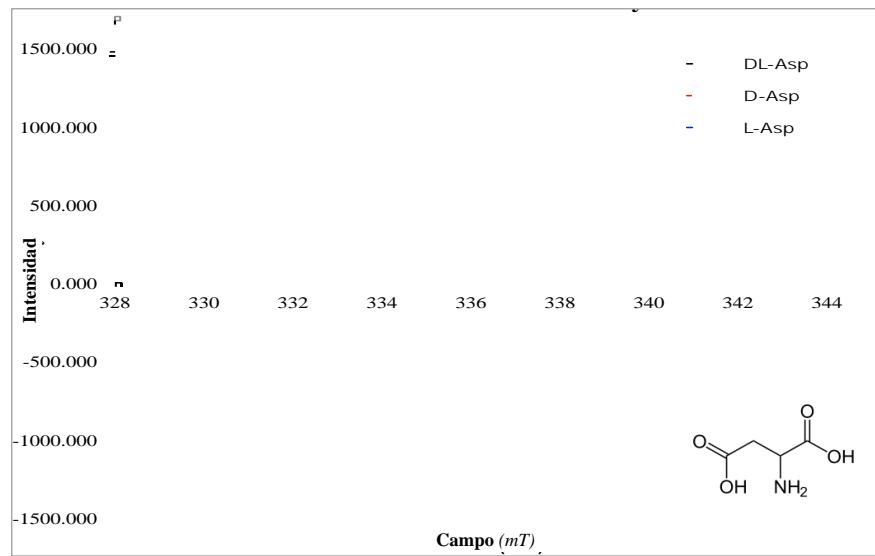
Para comprobar si la diferencia entre el comportamiento de los patrones de EPR de la alanina y la serina es única, se efectuaron análisis de EPR a muestras de fenilalanina – $\text{PhCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, un aminoácido aromático–, ácido aspártico – $\text{HOOCCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, un aminoácido ácido– y ácido málico – $\text{HOOCCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, un ácido dicarboxílico– (Véase Figura 22, 23 y 24).

Figura 22: Espectros de EPR de D, L y DL-ácido málico sólido irradiado con ^{60}Co (12.96 kGy).



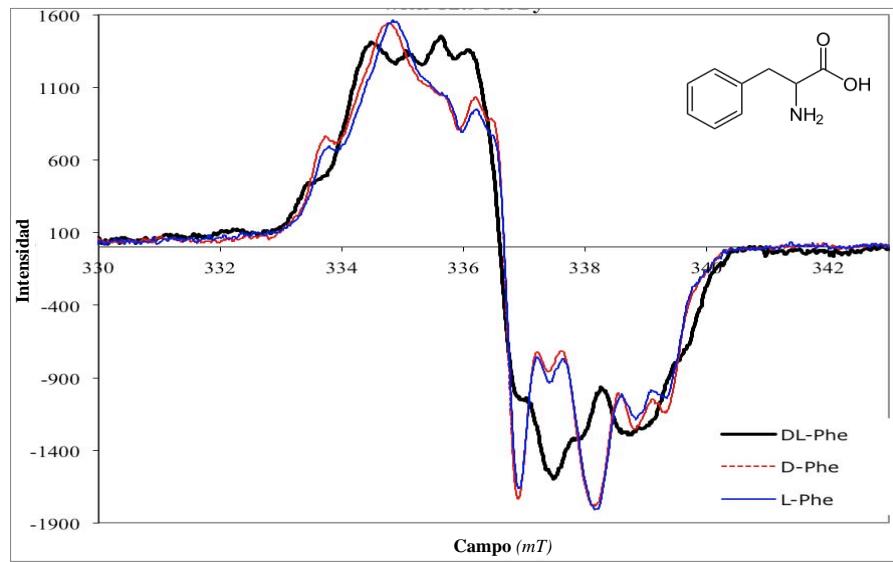
Fuente: datos experimentales.

Figura 23: Espectros de EPR de D, L y DL-ácido aspártico sólido irradiado con ^{60}Co (12.96 kGy).



Fuente: datos experimentales.

Figura 24: Espectros de EPR de DL, D y L-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy).

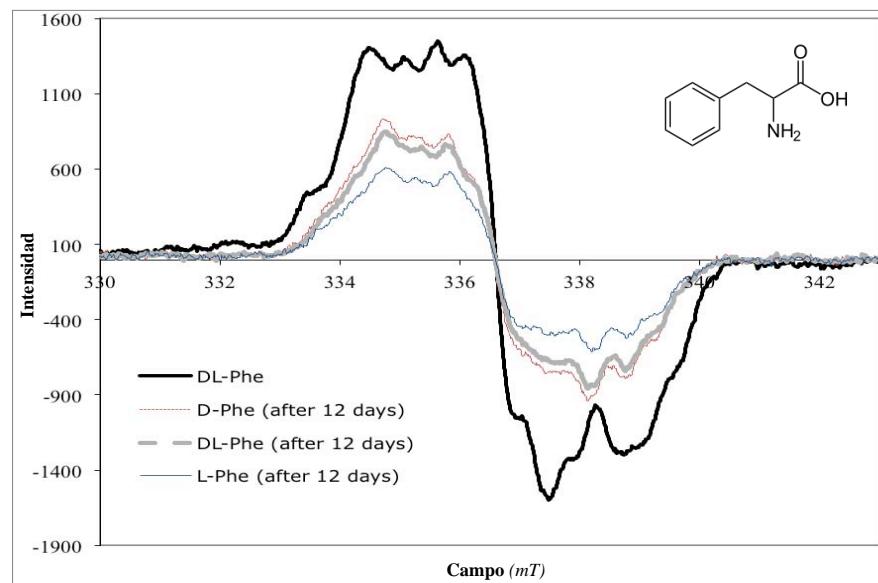


Fuente: datos experimentales.

El ácido málico se comporta como la alanina, en el sentido de que los espectros de la mezcla racémica y enantiómeros puros muy semejantes entre sí (mismo patrón) y el enantiómero D forma más radicales que el L, pero a diferencia de la alanina, en el ácido málico la mezcla racémica parece menos resistente a la radiación, pues forma más radicales. El ácido aspártico y la fenilalanina se muestran como la serina, con patrones significativamente distintos entre las muestras racémicas y sus enantiómeros separados.

Las muestras de fenilalanina analizadas nuevamente tras 12 días de haber sido irradiadas, muestran patrones más semejantes entre sí (racémicas con enantiómeros puros), y más parecidos al de la muestra DL inicial (Véase Figura 25).

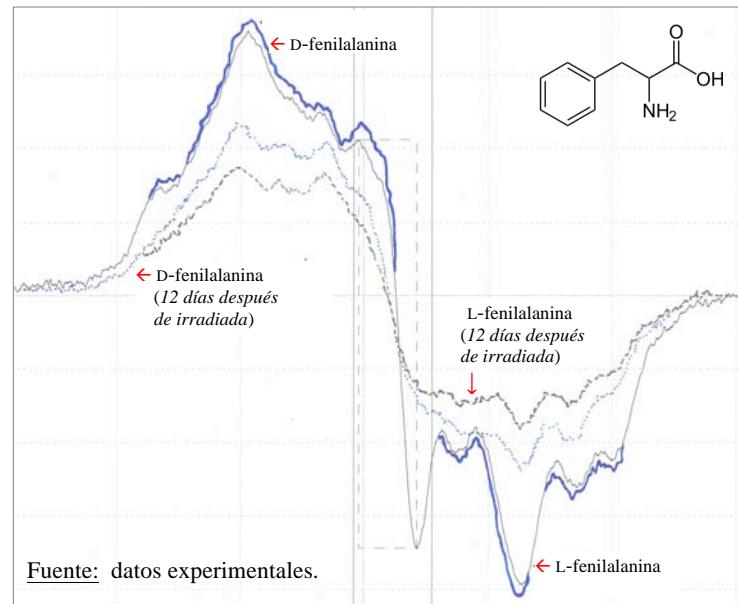
Figura 25: Espectro de EPR de DL-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy) analizada inmediatamente después de la irradiación, comparado con los de DL, L y D-fenilalanina analizados 12 días más tarde.



Fuente: datos experimentales.

Se observan, así mismo, diferencias entre las concentraciones de los radicales que forman los enantiómeros, siendo mayor la cantidad de radicales formada por la D-fenilalanina (como en el caso de la alanina). Dicha diferencia entre el comportamiento de los enantiómeros se incrementan con el paso del tiempo (Véase Figura 26).

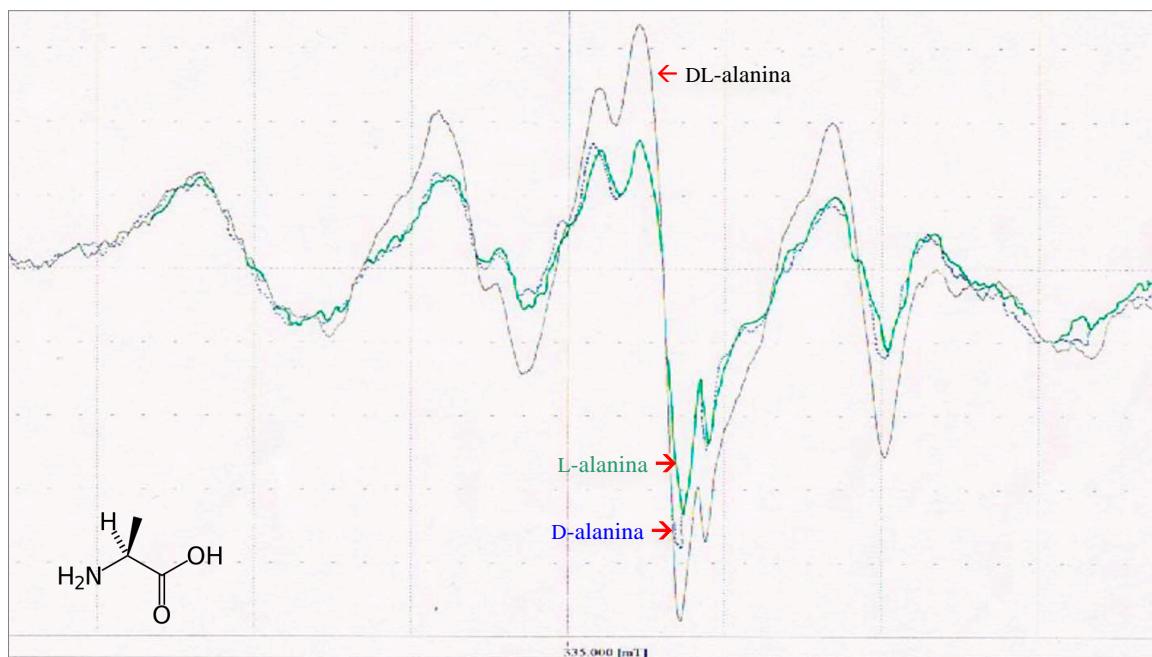
Figura 26: Espectros de EPR de la D y L-fenilalanina sólida irradiada con ^{60}Co (12.96 kGy) analizadas inmediatamente después de la irradiación y 12 días más tarde.



Debido a que se deseaba extender los resultados del estudio a fuentes de radiación distintas a la disponible en el ICN (rayos gamma de una fuente de ^{60}Co), se solicitó la estancia de investigación en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Yokohama, Japón.

Bajo la supervisión del Dr. Kensei Kobayashi se efectuó la irradiación de muestras sólidas de alanina y serina, puras y mezcladas con arcilla, con un haz de iones de carbono acelerados de 290 Me/u (provenientes del Heavy Ion Medical Accelerator –HIMAC–, en Chiba, Japón) con una dosis media de 12.5 kGy. Tras la irradiación se efectuaron análisis por resonancia paramagnética electrónica (EPR) de las muestras (Véase Figura 27 y 28), encontrándose resultados similares a los obtenidos con la irradiación con rayos gamma, en cuanto a que la pequeña diferencia en las estabilidades de los enantiómeros de la alanina (donde la forma D resulta ligeramente menos estable y forma más radicales) se mantiene con este tipo de radiación, la tendencia observada en los experimentos realizados en el Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) de la UNAM.

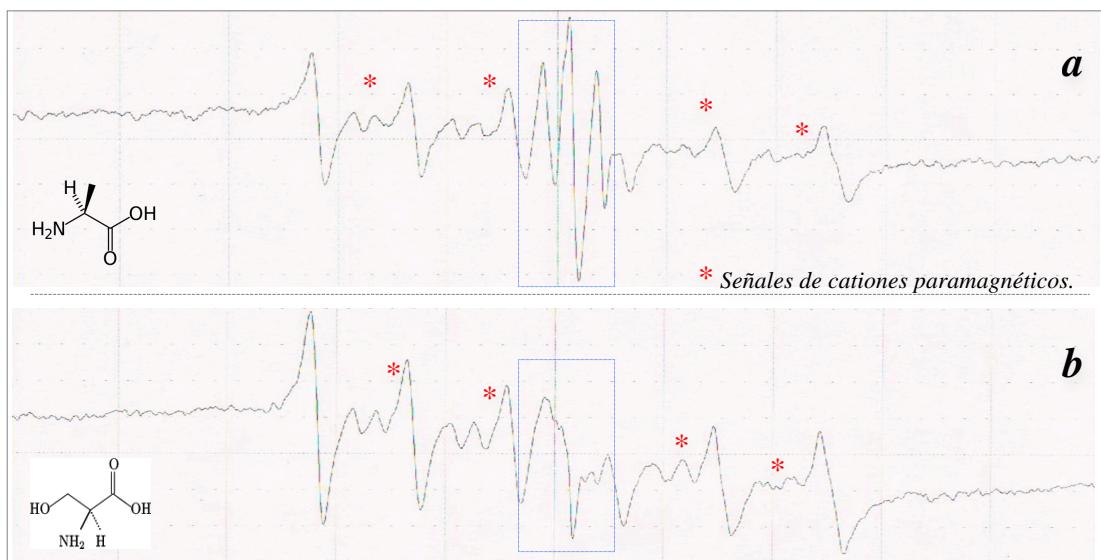
Figura 27: Espectros de EPR de D, L y DL-alanina sólida irradiadas con el haz de iones de carbono acelerados (12.5 kGy) en el HIMAC.



Fuente: datos experimentales.

A diferencia de lo observado en los espectros de la alanina irradiada con rayos gamma, la muestra racémica irradiada con iones acelerados presentan señales más intensas que las de los enantiómeros puros, lo que señalaría una mayor labilidad. Se requiere de más ensayos e investigación para confirmar y explicar el fenómeno.

Figura 28: Espectros de EPR de muestras sólidas de montmorillonita de sodio / aminoácido (95:5) irradiadas con el haz de iones de carbono acelerados (12.5 kGy) en el HIMAC: **a)** DL-alanina y **b)** DL-serina.



Fuente: datos experimentales.

Las señales alrededor del espectro de los aminoácidos son producidos por los cationes metálicos paramagnéticos presentes en la arcilla (manganese principalmente), y en ningún caso parecen modificar la señal de los radicales formados por los aminoácidos.

V. Discusión de Resultados

La primera parte del proceso experimental consistió en preparar los materiales y verificar que cumplieran con las características necesarias para las pruebas a desarrollar, en particular, el carecer de materia orgánica que pudiera alterar los resultados. Así mismo, se buscó la técnica analítica más conveniente para el estudio.

Se seleccionó la cromatografía de líquidos con una fase estacionaria quiral y un detector de luz dispersa (ELSD), debido a que la utilización de la tradicional cromatografía de gases (CG), o el uso de cromatografía de líquidos (HPLC) con un detector de fluorescencia exigía la preparación de derivados (primero derivados volátiles y luego diasteroméricos para su separación en el caso de la CG, o bien derivatización hacia compuestos fluorescentes, para el detector de fluorescencia), lo cual se consideró introduciría más errores experimentales en las mediciones, y se esperaban, de antemano, diferencias pequeñas entre las muestras.

Las pruebas realizadas sobre estabilidad de los aminoácidos en disolución a un intervalo amplio de valores de pH (entre 2 y 10) durante el período de experimentación iban enfocadas a descartar que los resultados de las pruebas realizadas en presencia de los minerales fuesen efecto directo del pH de la disolución más que de la superficie mineral, y a detectar contaminación bacteriana, que podría haber alterado la concentración de las especies enantioméricas, pues las bacterias consumen L-aminoácidos, ocasionando su disminución en disoluciones que los contengan, lo cual introduciría error en los resultados. Las condiciones de los experimentos no eran suficientemente drásticas para ocasionar la inversión del carbono alfa, puesto que, como ha sido publicado en diversos estudios (Cohen y Chyba, 2000; Basiuk y Navaro-González, 1996; Nakaparksin *et al.*, 1970), esta requiere típicamente de altas temperaturas (superiores a 100 °C, por 18-22 horas en un medio con HCl 6 N, o 160-200 °C en medio alcalino), y/o tiempos extremadamente largos bajo condiciones ligeramente menos drásticas (por lo que pueden ser empleados para datación geocronológica [Schroeder y Bada, 1976; 1972]). En ningún caso se observó, mediante las técnicas aplicadas, descomposición o cambios mesurables en las proporciones de los enantiómeros en disolución, por lo que se emplearon en las siguientes pruebas, descartándose que cualquier resultado obtenido fuese consecuencia directa de las condiciones de trabajo. Se observó, sin embargo, que disoluciones guardadas por períodos de meses, aún en refrigeración, se ven atacadas por microorganismos, por lo que no se utilizaron estándares preparados con más de los 10 días comprobados de estabilidad.

Con los espectros de difracción de rayos X de los minerales, tomados antes y después del tratamiento para eliminación de materia orgánica por oxidación (con peróxido de hidrógeno), se

comprobó que no se alteró la estructura de estas superficies de madera significativa, y se consiguió retirar la mayor parte de la materia orgánica que pudiera ocasionar error en las mediciones posteriores.

Del mismo modo, mediante difracción de rayos X de polvos, se comprobó que las arcillas tratadas químicamente para las pruebas de identificación de sitios de adsorción de los aminoácidos poseían las características esperadas. El espectro de difracción de la arcilla bloqueada con CTAB, comparado con el espectro de difracción de la arcilla sin bloquear, muestra corrimiento en el pico característico que señala el ancho del canal interlaminar en la estructura tridimensional de la arcilla, indicando cómo éste se ensancha por la introducción de las moléculas de CTAB, las cuales ingresan en virtud de su carga positiva, que se ve atraída a las cargas negativas en el canal y bloquean estos sitios para otras moléculas. El espectro permanece sin variación significativa al adicionar el fosfato de sodio, pues éste se adhiere a los bordes de la estructura, y no dentro del canal, debido a la carga negativa de los grupos fosfatos que se ven atraídos por la superficie con cargas positivas en los bordes de las láminas de la arcilla. El pequeño ensanchamiento de 0.04 Å observado en el espectro de arcilla tratada con fosfatos se atribuye a alguna pequeña cantidad de agua que queda atrapada en el canal interlaminar.

A. Pruebas de adsorción y desorción

Se sabe, por estudios previos (como los de Guzmán-Marmolejo, 2006; Colín, 1999; Negrón-Mendoza *et al.*, 2010 y otros), que al igual que las bases nitrogenadas y otras moléculas orgánicas pequeñas, los aminoácidos pueden ser rápidamente adsorbidos por la montmorillonita de sodio a valores de pH bajos (cercanos a 2), por su capacidad de protonarse. Las diferencias entre la capacidad de adsorción de estas moléculas a distintos pH se relacionan con las estructuras de sus especies dominantes en cada medio, debido a que el mecanismo de adsorción principal en arcillas es el intercambio iónico (Lailach, *et al.*, 1968). Como se ha propuesto, a pH 2, cuando estas moléculas están protonadas, la adsorción está ocurriendo dentro del canal interlaminar de la arcilla, mediante intercambio iónico (quimisorción), mientras que a pH 6, cuando son neutras, ocurre alguna adsorción tanto fuera como dentro del canal, por formación de puentes de hidrógeno y atracciones débiles (fisisorción). Cuando el pH del medio rebasa ligeramente el pI de estos aminoácidos (alrededor de 6), la molécula rápidamente puede actuar como base y adherirse a las cargas positivas de las orillas de la estructura tridimensional de la arcilla. Los experimentos efectuados con arcillas pretratadas corroboran lo anterior. En particular, el espectro de difracción de rayos X de polvos de los aminoácidos adsorbidos en arcillas bloqueadas reflejan claramente el comportamiento de estos frente a la adsorción a diferentes pH. Cuando el canal está bloqueado, a pH 2, no hay adsorción, mientras que pH 6 se observa adsorción parcial (en orillas), y cuando están bloqueadas las orillas, a pH 2 la adsorción es máxima, mientras que a pH 6 decrece.

Los factores que afectan el fenómeno de adsorción de cada compuesto son específicos de cada molécula, pues abarcan desde sus valores de pK_a , fuerzas de van der Waals, fuerza iónica de la solución y fenómenos de co-adsorción, hasta impedimentos estéricos causados por la forma y tamaño de las moléculas (Negrón-Mendoza, *et al.*, 2010). Así, el que se observe menor adsorción de la serina en los minerales puede deberse a la presencia de su grupo $-\text{CH}_3\text{OH}$, que podría ocasionar algún tipo de empaquetamiento menos compacto dentro del canal interlaminar. En particular, es posible que se formen los octámeros que proponen Cooks *et al.* (2003), y de esta forma no puedan acomodarse apropiadamente dentro del canal interlaminar, como lo hace la alanina, que no forma enlaces fuertes entre sí.

Así mismo, existen otros mecanismos de adsorción que modifican el comportamiento de cada compuesto orgánico, de acuerdo a su estructura, como la formación de complejos con los contraíones presentes en el canal interlaminar de las arcillas (van Olphen, 1977), a lo que también podría ser más susceptible la serina por su grupo $-\text{OH}$, y por lo cual no se fija en la arcilla del mismo modo que la alanina (su porcentaje de adsorción es ligeramente menor). Una posibilidad más se encuentra en algún grado de adsorción cooperativa en estas moléculas (descrita típicamente para moléculas pequeñas en arcilla, tales como adenina, adenosina, uracilo y otras [Zubay, 2000]), que esté influenciado por la concentración de las mismas en el medio y ocasione las diferencias observadas.

Con respecto a la adsorción selectiva de los enantiómeros de aminoácidos en arcillas, las pruebas realizadas en esta investigación indican que no hay selectividad (pese a los resultados positivos señalados por Hazen y otros autores), o cuando menos no a un nivel cuantificable mediante los métodos utilizados. Es de hacer notar que debido a que se trabaja con materiales naturales y éstos no son totalmente homogéneos, se introduce más error experimental, de modo que, aunque para fines del experimento esta baja reproducibilidad de los eventos resulte problemática, en la naturaleza, esta variabilidad del material pudo en realidad aportar casuísticamente al proceso evolutivo.

El experimento demuestra la capacidad concentradora no quirioselectiva que las arcillas poseen para los aminoácido en general, aún cuando señala diferencias entre unos y otros. El hecho de que puedan ser concentrados dentro de la arcilla, resulta muy importante en el contexto de evolución química, puesto que se ha estimado que en la “sopa primigenia” propuesta por Oparín-Haldane, las moléculas de importancia biológica debieron hallarse en concentraciones sumamente bajas, entre 10^{-9} M y 10^{-11} M, lo que haría difícil que ocurrieran reacciones entre ellas (Shapiro, 1986). El que las moléculas se concentren dentro de la red del mineral permite plantear la posibilidad de que la proximidad entre las moléculas promoviera en algún momento y bajo condiciones particulares, la síntesis de compuestos más complejos o reacciones de polimerización.

Aún cuando se supone los océanos en la Tierra primitiva tuvieron valores de pH cercanos a 8 (Mosqueira *et al.*, 1996) y éstos han probado ser inadecuados para la adsorción en arcilla de varios compuestos orgánicos (como los aminoácidos en este caso), se ha propuesto que cuerpos de agua menores pudieron, gracias a su dinámica de flujos y evaporación, sufrir amplias variaciones de pH, inclinándose a medios ácidos por la formación de ácido carbónico y fórmico por adsorción de dióxido de carbono atmosférico en el agua (Walker, 1985). El descenso en el pH en esos microambientes podría haber favorecido la adsorción y concentración de estos compuestos orgánicos.

La nula adsorción de ambos aminoácidos sobre olivino aclara que la adsorción en el meteorito ocurre en los otros minerales que lo integran (piroxeno es su otro componente mayoritario). El olivino es una mezcla de minerales neosilicatos (tetraedros libres de silicio en una mezcla de cationes intercambiables), con fórmula general A_2SiO_4 . Posiblemente esa estructura tan poco definida repercute en la adsorción. Los piroxenos son aluminosilicatos de sodio, calcio, hierro y otros, cationes, dispuestos como cadenas simples de tetraedros de sílice, cuya fórmula general es $XY(Si, Al)_2O_6$ (donde "X" representa Na^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Li^{3+} o Mg^{2+} , e "Y" representa iones de menor tamaño como Cr^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} , F^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} o Ti^{2+}). Presentan una estructura más definida que posiblemente ayude a ordenar mejor las moléculas orgánicas en ella. Así, el meteorito, debido a que se encuentra formado de una amplia variedad de minerales con estructuras distintas, que típicamente ofrecen gran superficie para la interacción, puede acomodar en ella a moléculas pequeñas como los aminoácidos.

Una propiedad útil de las superficies minerales en los procesos de evolución química es la capacidad de liberar intactas las moléculas que adsorben, puesto que con ello permitirían que éstas se trasladaran a entornos con características distintas a los originales (pH, temperatura, salinidad, etc.), los cuales podrían haber resultados más favorables para su evolución. Por ello, se efectuaron las pruebas de desorción a cada aminoácido, a distintos valores de pH, observando su comportamiento en los distintos medios.

Se ensayó la desorción de los nucleósidos a pH 2, 4, 6, 8 y 10, valores seleccionados pensando en los probables ambientes terrestres primitivos. Las desorciones a pH bajos no son eficientes, pues los aminoácidos se hallan protonados y adheridos dentro de la arcilla. A pH altos los aminoácidos dejan de estar protonados y son liberados de la estructura cristalina de la arcilla, siendo reemplazados por agua y cationes intercambiables del medio. Sin embargo, a medida que se incrementa el pH, la arcilla libera Al^{3+} que tiende a formar complejos diversos, los cuales pueden atrapar a los aminoácidos e impedir su correcta recuperación. No se observó desorción enantioselectiva, pero sí una diferencia de más del 10% en cuanto a la recuperación de alanina frente a la serina. Esta diferencia, aunada con la

hallada en relación a la adsorción coinciden con el hecho de que la alanina sea uno de los aminoácidos hallados con mayor frecuencia y en mayor porcentaje en estudios prebióticos, siendo una posible explicación a éste hecho.

El que el porcentaje de recuperación no sea del 100%, y en particular, el que no se haya recuperado nada del meteorito, sugiere que el intercambio iónico no es el único mecanismo de adsorción, por lo que el cambio de pH no libera todas las moléculas que ingresaron. Posiblemente dentro del meteorito se formen más uniones por otros procesos (fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno, formación de complejos, etc.) o sufran transformaciones catalizadas por los minerales presentes en él, por lo que se requerían condiciones especiales para recuperar estas moléculas adsorbidas. Lo anterior sugeriría que este tipo de meteoritos jugaron un papel distinto al de las arcillas en el supuesto proceso de evolución química de la Tierra. Es de considerar que el meteorito Allende no es uno de los más ricos en moléculas orgánicas hallados, quizás en parte por la dificultad que se tiene para desorber estas moléculas de su estructura.

B. Experimentos de irradiación

Comparados con otras moléculas, los aminoácidos en disolución son considerablemente resistentes a la irradiación gamma anóxica en ausencia de arcilla, sobreviviendo dosis promedio de hasta 91 kGy antes de descomponerse totalmente. Éste es un dato importante, pues habla de la factibilidad de que estas moléculas pudieran formarse en ambientes primitivos y perdurar lo suficiente como para interactuar con otras o con superficies que les brindaran protección contra la radiación circundante.

Pese a las tendencias observadas en las curvas de descomposición por radiación gamma de los aminoácidos disueltos, que sugieren una mayor resistencia y estabilidad en los enantiómeros L de ambos aminoácidos, el análisis estadístico de los datos muestra que las diferencias son no significativas, puesto que caen dentro de los intervalos de confianza del proceso experimental. Lo anterior concuerda con lo esperado, pues en disolución no existe ninguna diferencia entre las moléculas de una y otra quiralidad, y siendo la radiación gamma aquiral, no debiera ocasionar destrucción quirioselectiva. Estas pruebas corroboran los resultados reportados por Zagórski y Gladysz (1994), quienes estudiaron previamente el comportamiento de la alanina en disolución frente a la radiación gamma mediante técnicas analíticas distintas (medición de concentración de amonio liberado). Su trabajo contradice otros previos que presentan resultados diversos, y en muchos casos, parciales, pues no contrastan enantiómeros y mezclas racémicas. Se decidió realizar estos ensayos para corroborar datos aplicando una técnica analítica más precisa (HPLC/ELSD), y sobre todo, para tenerlos de

referencia para las subsiguientes pruebas de irradiación en presencia de minerales, de las cuales no hay publicaciones previas. Se pretendía determinar si la combinación de ambas componentes del medio (superficies adsorbentes y radiación) podía ocasionar enriquecimiento enantiomérico, ya fuese de modo específico hacia una quiralidad particular, o de modo casuístico.

Los experimentos de irradiación de aminoácidos efectuados en presencia de arcillas demuestran la capacidad de las éstas para protegerlos. Como en el caso de otras moléculas orgánicas ya estudiadas, el efecto protector de la arcilla sobre los aminoácidos adsorbidos en ella puede explicarse como resultado de que ésta absorbe y dispersa a través de su estructura cristalina parte de la energía recibida de la fuente, al igual que lo hace el agua de la disolución. Con ello se disminuye la probabilidad de la ionización directa sobre los aminoácidos, lo que reduce la velocidad de degradación de las moléculas. Al mismo tiempo, al estar fijadas las moléculas en su sitio de adsorción, no pueden interactuar libremente con todo el medio, estando limitadas a reaccionar con especies vecinas. De esta forma, disminuyen las interacciones con los productos de radiólisis del agua (o efectos indirectos de la radiación), que son probablemente responsables en buena medida de la descomposición de las moléculas orgánicas (Guzmán-Marmolejo, 2006). Así mismo, al haber menor cantidad de agua en el canal interlaminar, disminuyen los productos de radiólisis alrededor de las moléculas orgánicas adsorbidas, como el ·OH, los cuales constituyen las especies más reactivas.

El resultado final del experimento revela que las arcillas sí tienen un efecto protector de los aminoácidos frente a la radiación ionizante, lo que en términos de evolución química constituye un hecho importante ante la posibilidad de que éstos se hubiesen formado en la Tierra primitiva, pues podrían haberse concentrado y protegido en esta clase de minerales, para más adelante formar estructuras más complejas, como se ha postulado en la teoría del mundo de ARN (Collins, 2005). Sin embargo, no se observa un efecto de amplificación de las diferencias quirales, con lo que se añade más evidencia que descarta tanto la enantioselectividad de la montmorillonita de sodio como la destrucción quirioselectiva de la radiación ionizante no polarizada.

A pesar de lo anterior, los experimentos de EPR realizados en la alanina sólida parecen mostrar la misma tendencia que los experimentos en disolución acuosa (mayor resistencia del enantiómero L a la radiación, observada como la formación de más radicales a partir del enantiómero D, que señalan su mayor labilidad), y en este caso, las diferencias son mesurables (aproximadamente del 1%), constantes y repetibles (aún variando la fuente de energía –rayos gamma o átomos de carbono acelerados–), a diferencia de lo publicado por Zagórski y Gladysz (1994), quienes señala no hallar diferencias significativas en los espectros.

El fenómeno se repite en el caso del ácido málico y la fenilalanina, pero ocurre al contrario en el caso de la serina y ácido aspártico, para los cuales se observa mayor estabilidad del enantiómero D.

Estudios de EPR efectuados en otros aminoácidos, como el ácido aspártico (Contineanu *et al.*, 2008) no reparan en las pequeñas diferencias entre enantiómeros, y se dedican más bien a la elucidación de las especies involucradas (tres en el caso del ácido aspártico, al igual que en el de la alanina). En este estudio no se intentó determinar las especies producidas por la radiólisis de la serina y demás aminoácidos, por hallarse fuera de los objetivos del trabajo. Únicamente en el caso de la alanina, se efectuó un ensayo con alanina deuterada en la posición 2, el cual permitió corroborar qué picos pertenecían a qué radical en los espectros obtenidos, confirmando lo publicado en la literatura (Sagstuen *et al.*, 2002), y fue útil para determinar en qué especie radicalar se hallan mayores diferencias entre los enantiómeros. Se encontró que las diferencias son de mayor magnitud en los picos que corresponden al radical formado por pérdida del protón α . De lo anterior se intuye que esa parte en la estructura de la alanina podría estar comprometida de modo distinto en el empaquetamiento cristalino de ambos enantiómeros, por lo que su pérdida ocurre en proporciones ligeramente diferentes.

Las diferencias entre los espectros de EPR de las muestras racémicas y sus enantiómeros puros han sido atribuídas a diferencias en la estructura cristalina (morfología, densidad y empaquetamiento) de las moléculas en ambos tipos de muestras (Zagórski y Gladysz, 1994; Contineau *et al.*, 2008), aunque no queda claro por qué son tan pronunciadas en algunos aminoácidos y tan leves en otros (diferencias que también se observan en los espectros IR registrados en la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología –NIST–, muy pronunciadas para la serina, por ejemplo). El resultado es que para algunos casos no es factible la comparación entre los espectros de EPR de las muestras racémicas y sus enantiómeros y no debiera descartarse que sus mecanismos de descomposición radiolítica procedan de formas un tanto distintas debido a este empaquetamiento diferente. Esto implicaría que la propia geometría de las moléculas y las particularidades de su entorno en el estado sólido podrían influenciar el comportamiento de los estereoisómeros.

Entre enantiómeros, las diferencias halladas parecían señalar pequeñas variaciones en el modo de interactuar de las moléculas con la radiación ionizante, sin que se haya determinado aún por qué. Se descartó estas diferencias fueran producto de contaminación del reactivo utilizando dos marcas diferentes del mismo en el caso de la fenilalanina, tras lo cual se obtuvieron los mismos resultados.

En el caso particular de este último aminoácido, se monitoreó la estabilidad de los radicales formados tras la irradiación, hallándose que éstos varían con el tiempo y que los espectros de los enantiómeros puros tienden a parecerse al de la mezcla racémica inicial, pero su descomposición ocurre a diferentes velocidades, generando mayores diferencias entre las formas D y L conforme pasa el tiempo. Este echo es relevante puesto que puede interpretarse como una genuina mayor labilidad de la

forma D, una situación que no puede observarse claramente con la alanina, por ejemplo, por su gran estabilidad a largo plazo (razón, entre otras, por la cual se le emplea como dosímetro). Sin embargo, sugiere la posibilidad de que en períodos muy largos durante la evolución de la Tierra (o del propio Sistema Solar), ese u otros aminoácidos pudieran haber sufrido el mismo fenómeno, generando algún exceso enantiomérico.

Las pruebas de irradiación realizadas a mezclas de aminoácidos con arcilla no muestran efecto alguno de ésta en el patrón observado, excepto por que la señal es muy baja, debido a que la arcilla absorbe parte de la radiación recibida, protegiendo en alguna medida a los aminoácidos, pese a no hallarse embebidos en ella. Así mismo, estos espectros muestran patrones de metales de transición paramagnéticos presentes en la arcilla (como hierro y magnesio). Las diferencias entre los espectros de los aminoácidos D y L ya registradas se mantienen, lo que indica que el mineral en sí mismo no ayuda a la amplificación de los excesos enantioméricos en forma mesurable.

VI. Conclusiones y Consideraciones Finales

Puesto que los procesos de evolución química que dieron origen a la vida, con todo y sus características de homoquiralidad, pudieron haber ocurrido tanto fuera como dentro de la Tierra, y dado que se han hallado compuestos orgánicos quirales en cuerpos celestes pequeños como meteoritos, cometas y partículas de polvo interestelar, es necesario considerar que estos compuestos debieran haber contado con un mecanismo de protección que permitiera prolongar su existencia hasta llegar a la superficie terrestre, ya sea en estado sólido o líquido, sobreviviendo a las condiciones hostiles del espacio exterior y del proceso de ingreso al planeta.

Se puede afirmar que las arcillas como la montmorillonita de sodio, funcionan como superficies concentradoras de aminoácidos, aunque no son claramente enantioselectivas. El hecho resulta importante porque indica que de haber existido estas moléculas u otras análogas durante el período de evolución química de la Tierra primitiva, éstas podrían haber interactuado entre sí al hallarse próximas unas a las otras, favoreciendo reacciones que condujeron al aumento de complejidad de los sistemas prebióticos.

Dicha capacidad concentradora es especialmente dependiente de la estructura de cada aminoácido y el pH del medio acuoso en que se lleve a cabo el proceso, según sugieren las variaciones en los porcentajes de adsorción y desorción de los distintos tipos de aminoácidos, en relación con las especies químicas dominantes en cada valor de pH. El mecanismo principal de adsorción para estas moléculas orgánicas es el intercambio iónico, aún cuando existen otros que proceden al mismo tiempo.

La adsorción de la alanina y la serina en montmorillonita de sodio es favorecida a pH ácido (alrededor de pH 2), y su desorción a pH neutro o ligeramente básico (alrededor de pH 8), puesto que el proceso ocurre dentro del canal interlaminar de la arcilla, que posee cargas negativas ocasionadas por la estructura tridimensional de este mineral. Las condiciones de pH requeridas por estos aminoácidos para su adsorción implicarían que ese proceso se llevó a cabo únicamente en microambientes de la Tierra primitiva, donde condiciones atmosféricas procuraron el incremento de la acidez en medios acuosos.

La mezcla de minerales que conforman el meteorito Allende permite la adsorción de aminoácidos simples, tanto polares como apolares, pero ésta ocurre por otros mecanismos aparte del intercambio iónico, lo que hace que su desorción resulte más compleja que en el caso de la arcilla, y por tanto, juegue un papel distinto a ésta en el supuesto proceso de evolución química de la Tierra. Dicha adsorción no ocurre sobre el olivino, uno de sus componentes mayoritarios.

Además de actuar como superficie concentradora, la montmorillonita de sodio presenta un efecto protector sobre los aminoácidos adsorbidos en ella. La causa de tal fenómeno se relaciona

probablemente con dos situaciones independientes: la capacidad de la arcilla de capturar parte de la energía que se aplica, disminuyendo los efectos ionizantes directos de la radiación, y la reducción del número de interacciones que pueda llevar a cabo cada molécula de aminoácido con los productos de radiólisis del agua (particularmente con el radical ·OH), al estar adsorbidas en un punto fijo dentro de la estructura cristalina del mineral.

La radiación gamma no produce destrucción enantioselectiva en los aminoácido disueltos, sin embargo, los experimentos de EPR efectuados dejan cabida a hacer más investigación en cuanto a posibles diferencias en el comportamiento de aminoácidos sólidos y otras moléculas orgánicas que pudieran actuar enantioselectivamente ante fuentes de radiación ionizante.

En conclusión, el mecanismo por medio del cuál una mezcla racémica, equilibrada y por lo tanto en desorden, puede perder este equilibrio y ordenarse para generar un exceso enantiomérico suficiente para disparar una reacción de amplificación autocatalítica, aún ha de ser teórica y experimentalmente respaldado. Además, a la ruptura de esta simetría le ha de seguir la racemización del sistema; por lo que un mecanismo que mantenga este sistema fuera del equilibrio debe ser igualmente considerado. Pese a que ninguna de las superficies minerales propuestas demostró abiertamente tener capacidad enantioselectiva, es de recalcar que la unión de varios factores que por sí sólos resultan muy débiles para desencadenar un fenómeno como el desarrollo de la homoquiralidad de determinadas moléculas biológicamente importantes, puede ser la clave que se busca para explicarla.

VII. Referencias Bibliográficas

- Aguilar-Ovando, E. y Negrón-Mendoza, A. (2010). Radiation chemistry approach to the study of sedimentary microenvironments as models for the protection of bio-organic molecules on the early Earth. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **286** (3): 637-642.
- Akabori, S. (1955). Asymmetric synthesis of amino acids and formation of fore proteins. *Kagaku*, **25**: 54-59.
- Akabori, S., Ogawa, K. y Sato, M. (1956). Introduction of side chains into polyglycine dispersed on solid surface I. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **29**: 608-611.
- Albarrán, G. (1982). Algunas Técnicas de Laboratorio en Química de Radiaciones de Soluciones Acuosas. Informe Técnico. Departamento de Química CEN-UNAM, 13pp.
- Arrhenius, S. (1908). *Worlds in the Making: The Evolution of the Universe*. Harper & Bros. N.Y., 134 pp.
- Avan, L (Ed.). (1973). *Ionographie*. Doin, París, 347 pp.
- Bada, J. y Lazcano, A. (2003). Prebiotic soup. Revisiting the Miller experiment. *Science*, **300**: 745-746.
- Baddeley, C. (2009). Giving surfaces a hand. *Nature Chemistry*, **11**: 345-346.
- Balavoine G., Moradpour A. y Kagan H. (1974). Preparation of chiral compounds with high optical purity by irradiation with circularly polarized light, a model reaction for the prebiotic generation of optical activity. *Jour. Am. Chem. Soc.*, **96** (16): 5152-5158.
- Basiuk, V. y Navarro-González, R. (1996). Behaviour of amino acids in hot environments containing silicate minerals. *Origins of Life & Evolution of the Biosphere*, **26** (3-5): 363.
- Bernal, J. (1949). The physical Basis of life. *Proceeding of the Physical Society*, **62A**: 537-558.
- Bernal, J. (1951). *The physical bases of life*. Routlege and Keegan Paul. Londres.
- Bernstein, M., Dworkin, J., Sandford, S., Cooper, G. y Allamandola, L. (2002). Racemic amino acids from the ultraviolet photolysis of interstellar ice analogues. *Nature*, **416**: 401-403.
- Bondy, S. y Harrington, M. (1979). L-Amino acids and D-glucose bind stereospecifically to a colloidal clay. *Science*, **203**: 1243-1244.
- Bonner, W., Kavasmaneck, P., Martin, F. y Flores, J. (1975). Asymmetric adsorption of DL-alanine hydrochloride by quartz. *Origins of Life*, **6**: 367.
- Brack, A., Baglioni, P., Borruat, G., Brandstätter, F., Demets, R., Edwards, H., Genge, M., Kurat, G., Miller, M., Newton, E., Pillinger, C., Roten, C. y Wäsch, E. (2002). Do meteorites of sedimentary origin survive terrestrial atmospheric entry? The ESA artificial meteorite experiment STONE. *Planet Space Sci.*, **50**: 763-772.
- Briggs, R., Ertem, G., Ferris, J., Greenberg, J., McCain, P., Mendoza-Gómez, C. y Schutte, W. (1992). Comet Halley as an aggregate of interstellar dust and further evidence for the photochemical formation of organics in the interstellar medium. *Orig. Life Evol. Biosphere*, **22**: 287-307.
- Brindley, G. (1961). Chlorite minerals. Capítulo 6. *En: In the X-ray identification and crystal structures of clay minerals*. 2a. Ed., Londres. Mineralogical Society, 242-296 pp.
- Brinton, K., Engrand, C., Glavin, D., Bada, J. y Maurette, M. (1998). A search for extraterrestrial amino acids in carbonaceous antarctic micrometeorites. *Orig. Life Evol. Biosphere*, **28**: 413-424.

- Cai, P., Hoang, K., Zhang, X. y Chen, H. (2005). Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an Afisol. *Soil Biology and Biochemistry*. **38**: 471-476.
- Chang, S. (1994). The planetary setting of prebiotic evolution. En: Early Life on Earth. Nobel Symposium No. 84. (Bengston eds.) Columbia U.P. New York, EUA, 10-23 pp.
- Chittenden, G. y Schwartz, A. (1976). Possible pathway for prebiotic uracil synthesis by photodehydrogenation, *Nature* 263, 350 pp.
- Chyba, C. y Sagan, C. (1992). Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature*, **355**: 125-132.
- Cohen, B. y Chyba, C. (2000). Racemization of meteoritic amino acids. *Icarus*, **145**: 272-281.
- Colín, G. (1999). Efectos de la presencia de la Montmorillonita de Na en la radiólisis de ácido succínico y sus posibles implicaciones en la evolución química. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Contineanu, M., Contineanu, I., Neacsu, A. y Perisanu, S. (2008). *Rev. Chim. (Bucharest)*, **59 (12)**: 1382-1386.
- Cooks, R., Nanita, C. y Takats, Z. (2003). Serine octamer reactions: indicators of prebiotic relevance. *Angewandte Chemie International Edition*, **42**: 3521-3523.
- Cooper, J., Miller, R. y Patterson, J. (1986). Trip Through Time: Principles of Historical Geology. Columbus: Merrill Publishing Company, 180 pp.
- Could, P. (1977). Atmospheric and Hidrosferic Evolution on the Primitive Earth. En: The Archean Search for the Begining. (Mc all G.J.H. ed.) Dowden Hutchinson & Ross Inc. EUA, 29-36 pp.
- Crick, F. y Orgel, L. (1973). Directed Panspermia. *Icarus*, **19**: 341-346.
- Cronin, J., Pizzarello, S. (1999). Amino acid enantiomer excesses in meteorites: Origin and significance. *Adv. Space Res.*, **23**: 293-299.
- Cronin, J. y Pizzarello, S. (1997). Enantiomeric excesses in meteoritic amino acids. *Science*, **275**: 951-955.
- Cruz-Castañeda, J. (2008). Reacciones en el ácido behénico inducidas con temperatura y radiación gamma adsorbido en una arcilla. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Dartnell, L. (2011). Ionizing Radiation and Life. Review Article. *Astrobiology*, **11**: 6, 551-582.
- Degens, E., Matheja, J. y Jackson, T. (1970). Template catálisis: Asymmetric polymerization of amino-acids on clay minerals. *Nature*, **227**: 492-93.
- De Yoreo, J. y Dove, P. (2004). Shaping crystals with biomolecules. *Science*, **306**: 1301-1302.
- Domínguez, J. y Schifter, I. (1992). Las arcillas: el barro noble. Colección. La Ciencia desde México, Número 109. Fondo de Cultura Económica. México. 96 pp.
- Donnell, J. y Sangster, D. (1970). Principles of Radiation Chemistry. American Elsevier Publishing Company, EUA, 176 pp.
- Draganić, I. (2005). Radiolysis of water: A look at its origin and occurrence in the nature. *Radiation Physics and Chemistry*, **72**: 181-186.
- Draganić, I. y Vujošević, S. (1998). Compounds Observed in Some Radiation Chemical Simulation Experiments Relevant to Prebiotic Chemistry, *Viva Origino* **26 (2)**: 85-101.

- Draganič, I. y Adloff, J. (1993). Radiation and Radioactivity on Earth and Beyond. 2a. Ed., Taylor & Francis, 368 pp.
- Draganič, I. y Draganič, Z. (1978). Radioactivity and Radiation-Chemistry on the Early Earth. Lectura plenaria en el Segundo Simposium de Química Nuclear, Radioquímica y Química de Radiaciones, México.
- Ehrenfreund, P. y Charnley, S. (2000). Organic molecules in the interstellar medium, comets, and meteorites: a voyage from dark clouds to the early Earth. *Annu Rev Astron Astrophys.* **38:** 427-483.
- Elsila, J., Dworkin, J., Bernstein, M., Martin, M. y Sandford, S. (2007). Mechanisms of amino acid formation in interstellar ice analogs. *Astrophys J.*, **660:** 911-918.
- Emsley, J. (1990). The Elements. Clarendon Press, Oxford, 300 pp.
- Engel, M. y Macko, S. (1997). Isotopic evidence for extraterrestrial non- racemic amino acids in the Murchison meteorite. *Nature*, **389:** 265-268.
- Flores J., Bonner W. y Massey G. (1977). Asymmetric photolysis of (R, S)-leucine with circularly polarized light. *Jour. Am. Chem. Soc.*, **99:** 3622-3625.
- Friebele, E., Shimoyama, A., Hare, P. y Ponnampерuma, C. (1981). Adsorption of amino acids enantiomers by Na-montmorillonite. *Origins of Life*. **11:** 173-184.
- Friedmann, N., Haverland, W. y Miller, S. (1971). Prebiotic synthesis of the aromatic and other amino acids. En: Chemical Evolution and the Origin of Life. Ed. R. Buvet, C. Ponnampерuma. Pp. 123-135. Amsterdam, North-Holland. 560 pp.
- Frondel, C. (1978). Characters of Quartz fibers. *American Mineralogy*, **63:** 17-27.
- García, J. y Fernández, G. (1969). Efectos producidos por la eliminación de materia orgánica con H₂O₂ en algunos minerales de la arcilla. *Bol. Soc. Esp. Cerám.*, **8 (5):** 535-554.
- Garzón, L. (1979). Radioactividad y medio ambiente. Univ. de Oviedo, Servicio de Publicaciones. 179 pp.
- Garzón, L. (1996). El origen de la vida: un nuevo escenario. Universidad de Oviedo, 253 pp.
- Garzón, L. y Garzón, M. (2001). Radioactivity as a significant energy source in prebiotic synthesis. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. **31:** 3-13.
- Goldanskii, V. y Kuzmin, V. (1988). Spontaneous mirror symmetry breaking in nature and the origin of life. *Zeitschrift fur Physikalische Chemie*, **269:** 216-274.
- Graf, G. y Lagaly, G. (1980). Interaction of clay minerals with adenosine-5-phosphates. *Clay and Clays Minerals*. **28:** 12-18.
- Greenberg, M. y Mendoza-Gómez, C. (1992). The seeding of life by comets. *Adv. Space Res.* **12 (4):** 169-180.
- Griesbeck, A. y Meierhenrich, U. (2002). Asymmetric photochemistry and photochirogenesis. *Angew Chem., Int. Ed.* **41:** 3147-3154; Asymmetrische Photochemie und Photochirogenese. *Angew Chem.*, **114:** 3279-3286.
- Guijarro, A. y Yus, M. (2009). The Origin of Chirality in the Molecules of Life: a revision from awareness to the current theories and perspectives of this unsolved problem. Published by *The Royal Society of Chemistry*, UK.

- Guzmán-Marmolejo, A. (2006). Simulación de microambientes primitivos: Radiólisis de bases púricas y pirimídicas en presencia de una arcilla. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Químicas. UNAM.
- Harvey, G., Degens, E. y Mopper, K. (1971). Synthesis of Nitrogen heterocycles on Kaolinite from CO₂ and NH₃. *Naturwissenschaften*, **12**: 624-25.
- Harvey, G., Mopper, K., y Degens, E. (1972). Synthesis of carbohydrates and lipids on kaolinite. *Chemical Geology*, **9 (1-4)**: 79-87.
- Hazen, R., Filley, T., y Goodfriend, G. (2001). Selective Adsorption of L- and D-amino acids on calcite: Implication for Biochemical Homochirality. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, **98 (10)**: 5487-5490.
- Hazen, R. y Scholl, D. (2003). Chiral selection on inorganic crystalline surfaces. *Nature Materials (Review)*, **2**: 367-374.
- Hazen, R. (2005). Genesis: Rocks, minerals and the geochemical origin of life. *Elements. An internacional magazine of mineralogy, geochemistry and petrology*. **1**: 135-137.
- Hennet, R. Holm, N. y Engel, M. (1992). Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: a perpetual phenomenon? *Naturwissenschaften*, **79**: 361-365.
- Jackson, T. (1971). Preferential Polymerization and Adsorption of L-Optical Isomers of Amino acids Relative to D-Optical Isomers on Kaolinite Templates. *Chemical Geology*, **7**: 295-306.
- Jackson, T.: Wellner, D., y Bondy, S. (1979). Stereospecific sorption of L-Amino Acids by Colloidal Clay. *Science*, **206**: 483.
- Joyce, G., Visser, G., van Boeckel, C., van Boom, J., Orgel, L., y van Westrenen, J. (1984). Chiral selection in poly(C)-directed synthesis of oligo(G). *Nature*, **310**: 602-604.
- Karagounis, G. y Coumoulos, G. (1938). A new method for resolving a racemic compound *Nature*, **142**: 162-163.
- Kasting, J. (1993). Evolution of the Earth's Atmosphere and Hidrosphere. En: *Organic Geochemistry*. (Engel, M.H. y Macko, eds.) Plenum Press. EUA, 611-623 pp.
- Kasting, J. y Brown, L. (1998). The early atmosphere as a source of biogenic compounds. En: Brack, A. (Ed.) *The molecular origins of life – assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, Cambridge, 35-56 pp.
- Klabunovskii, E. (2012). Homochirality and its significance for biosphere and the origin of life theory. *Russian Journal of Organic Chemistry*, **48 (7)**: 881-901.
- Klánová, J., Klán, P., Heger, D. y Holoubek, I. (2003). Comparison of the effects of UV, H₂O₂/UV and γ-irradiation processes on frozen interstellar ices. *Photoch. Photobio. Sci.*, **2**: 1023-1031.
- Kobayashi, K., Tsuchiya, M., Oshima, T. y Yanagawa, H. (1990). Abiotic Formation of Aminoacids and Imidazol by Proton Simulated Primitive Earth Atmosphere, *Origins Life Evol. Biosphere*, **20**: 99-109.
- Kobayashi, K., Kaneko, T., Tsuchiya, M., Saito, T., Yamamoto, T., Koike, J. y Oshima, T. (1995). Formation of Bioorganic Compounds in Planetary Atmospheres by Cosmic Radiation, *Adv. Space Res.*, **15**: 127-130.
- Kobayashi, K., Sato, T., Kajishima, S., Kaneko, T., Ishikawa, Y. y Saito, T. (1997). Possible Complex Organic Compounds on Mars Simulated Primitive Earth Atmosphere, *Adv. Space Res.*, **19**: 1067-1076.
- Kobayashi, K., Kaneko, T., Saito, T. y Oshima, T. (1998). Aminoacid Formation in Gas Mixtures by High Energy Particle Irradiation, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **28**: 155-165.

- Kobayashi, K., Kaneko, T., Kouchi, A., Hashimoto, H., Saito, T. y Yamashita, M. (1999). Synthesis of amino acids in Earth orbit: Proposal. *Adv. Space Res.*, **23**: 401-404.
- Kovac, K. y Gray, A. (1975). Primordial origins of chirality. *Nature*, **254**: 538.
- Kuan, Y., Charnley, S., Huang, H., Tseng, W. y Kisiel, Z. (2003). Interstellar glycine. *Astrophys J.*, **593**: 848-867.
- Kuhn, W. y Braun, E. (1929). *Naturwiss.* **17**: 227-228.
- Lahav, N. (1999). Biogenesis: Theories of Life's Origin. Oxford University Press, New York, EUA, 259 pp.
- Lailach, G., Thompson, T. y Brindley, G. (1968). Adsorption of pyrimidines, purines and nucleosides by Co-, Ni-, Cu- and Fe (III)-montmorillonite. *Clays and Clay Minerals*, **16**: 295-301.
- Lazcano-Araujo, A. (1991). El Origen de la Vida. Evolución Química y Evolución Biológica. Trillas, México. 107 pp.
- Lazcano, A. (2000). El origen de la vida. Ed. Trillas, México.
- Lazlo, P. (1987). Chemical reactions on clays. *Science*, **235**: 473-477.
- Levine, J., Augustsson, T. y Natarajan, M. (1982). The Prebiological Paleoatmosphere: Stability and Composition. *Origins of Life*, **12**: 245-259.
- Lowe, D. (1994). Early environments: Constraints and opportunities for early evolution. En: *Early life on Earth. Nobel Symposium No. 84*. (Begstom eds.) Columbi U.P. New York, EUA, 24-35 pp.
- Luisi, P. (1998). About various definitions of life. *Origins of life & evolution of the biosphere*, **28**: 613-622.
- Maher, K. y Stevenson, J. (1988). Impact frustration of the Origin of Life. *Nature*, **331**: 612-614.
- Mason, S. (1992). Chemical Evolution: Origins of the elements, molecules and living-systems. Clarendon Press, Oxford, EUA, 317 pp.
- Maurette, M. (2006). Micrometeorites and the mysteries of our origins. Springer, Berlin Heidelberg. N.Y.
- Meierhenrich, U. (2008). Amino acids and the asymmetry of life. Advances in Astrobiology and Biogeophysics. Springer-Verlag, Berlin Heilderberg.
- Meierhenrich, U. y Thiemann, W. (2004). Photochemical concepts on the origin of biomolecular asymmetry. *Orig. Life Evol. Biosphere*, **34**: 111-121.
- Meierhenrich, U., Barbier, B., Jacquet, R., Chabin, A., Alcaraz, A., Nahon, L. y Brack, A. (2001). Photochemical origin of biomolecular asymmetry. En: Ehrenfreund, P., Angerer, O. y Battrick, B. (Eds.) Exo-/Astro-Biology. European Space Agency, ESA SP-496, Noordwijk, The Netherlands, 167-170 pp.
- Meléndez-López, A. (2008). Sitio de adsorción de guanina en montmorillonita de sodio. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México.
- Miller, S. (1998). The endogenous synthesis of organic compounds. En: Brack, A. (Ed.) The molecular origins of life – assembling pieces of the puzzle. Cambridge University Press, Cambridge, 59-85 pp.
- Miller, S. (1986). Current status of the prebiotic síntesis of small molecules. En: Molecular evolution of life. (Baltscheffsky, H., Jörnvall, H. y Rigler, R. eds.). Cambridge University Press. Cambridge, 5-11 pp.
- Miller S. y Orgel, L. (1974). The origins of life on the Earth. Prentice-Hall. New Jersey, EUA, 229 pp.

- Miller, S. (1953). A Production of aminoacids under possible primitive Earth conditions. *Science*, **117**: 528-529.
- Mosqueira, F., Albarrán, G. y Negrón-Mendoza, A. (1996). A review of conditions effecting the radiolysis due to ^{40}K on nucleic acid bases and derivatives adsorbed on clay minerals; Implications in prebiotic chemistry. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **26**:75-94.
- Muñoz-Caro, G., Meierhenrich, U., Schutte, W., Greenberg, J. y Thiemann W. (2004). UV-photoprocessing of interstellar ice analogs: Detection of hexamethylenetetramine-based species. *Astron Astrophys*, **413**: 209-216.
- Nakaparksin, S., Gil-av, E. y Oró, J. (1970). Study of the racemization of some neutral α -amino acids in acid solution using gas chromatographic techniques. *Analytical Biochemistry*, **33**: 374-382.
- Navarro-González, R., McKay, C. y Nna Mvondo, D. (2001). A possible nitrogen crisis for Archean life due to reduce nitrogen fixation by lighting. *Nature*, **412**: 61-64.
- Negrón-Mendoza, A. y Navarro-González, R. (1990). The irradiation of aqueous acetic acid-clay suspensions. *Origins of life and evolution of the biosphere*, **20**: 377-387.
- Negrón-Mendoza, A., Albarrán, G. y Ramos-Bernal, S. (1992). El papel de las arcillas en la etapa prebiótica de la Tierra. En: Maubert, A.M. y Bosch, P. Segundo Taller Iberoamericano sobre Tamices Moleculares, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para desarrollo. México, 144-153 pp.
- Negrón-Mendoza, A. y Albarrán, G. (1993). Chemical Effects of Ionizing Radiation and Sonic Energy in the context of Chemical Evolution. En: Chemical Evolution: Origin of Life. (Ponnampерuma, C. y Chela-Flores, J. Eds). A.DEEPAK Publishing, 235-237 pp.
- Negrón-Mendoza, A., Albarrán, G., y Ramos-Bernal, S. (1996). Clay as natural catalyst in Prebiotic Processes. En: Chemical Evolution: Physics of the Origin and Evolution of Life. (Chela-Flores, J. y Raulin, F. Eds.) Kluwer, Academic Publishers, Holanda, 97-106 pp.
- Negrón-Mendoza, A., Ramos-Bernal, S. y Mosqueira, F. G. (2010). The role of clay interactions in chemical evolution. En: *Astrobiology: emergence, search and detection of life*, (Basiuk, V. A. ed.). American Scientific Publishers, EUA, 213-235 pp.
- Nixon, S. y Cockell, C. (2015). Nonproteinogenic D-amino acids at millimolar concentrations are a toxin for anaerobic microorganisms relevant to early Earth and other anoxic planets. *Astrobiology*, **15**(3): 238-246.
- Noffke, N., Christian, D., Wacey, D. y Hazen, R. (2013). Microbially induced sedimentary structures recording an ancient ecosystem in the ca. 3.48 billion-year-old dresser formation, Pilbara, Western Australia. *Astrobiology J.*, **13 (12)**: 1103-24.
- Nordén B. (1977). Was photoresolution of amino acids the origin of optical activity in life. *Nature*, **266**: 567-568.
- Nuevo, M. (2005). Photolysis of interstellar ices and production of organic molecules: Laboratory simulations (en francés). Ph.D. thesis, Université de Paris-Sud.
- Nuevo, M., Meierhenrich, U., Muñoz-Caro, G., Dartois, E., d'Hendecourt, L., Deboffle, D., Auger, G., Blanot, D., Bredehöft, J. y Nahon, L. (2006). The effects of circularly polarized light on amino acid enantiomers produced by the UV irradiation of interstellar ice analogs. *Astron. Astrophys.*, **457**: 741-751.
- Nuevo, M., Meierhenrich, U., d'Hendecourt, L., Muñoz-Caro, G., Dartois, E., Deboffle, D., Thiemann, W., Bredehöft, J. y Nahon, L. (2007). Enantiomeric separation of complex organic molecules produced from irradiation of interstellar/circumstellar ice analogs. *Adv. Space Res.*, **39**: 400-404.

- Oró, J. y Kimball, A. (1961). Synthesis of purines under possible primitive Earth conditions. Adenine from hidrogen cyanide. *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**: 217-227.
- Oró, J., Miller, S., y Lazcano, A. (1990). The Origin and Early Evolution of Life on Earth. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, **18**: 317-56.
- Oró, J., Milss, T. y Lazcano-Araujo, A. (1992). The cometary contribution to Prebiotic Chemistry. *Adv. Space Res.*, **12 (4)**: 33-41.
- Owen, T. (1985). Life as a Planetary Phenomenon. *Origins of Life*, **15**: 221-234.
- Perezgasga, L. (1996). Estudio sobre la adsorción de bases púricas y pirimídicas, y sus correspondientes derivados de ribosa en montmorillonita de sodio, en el contexto de Origen de la vida. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM.
- Perezgasga, L., Serrato-Díaz, A., Negrón-Mendoza, A., Galán, L. y Mosqueira, F. (2005). Sites of adsorption of adenine, uracil, and their corresponding derivatives on sodium montmorillonite. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, **35**: 91-110.
- Pizzarello, S. y Weber, A. (2004). Prebiotic amino acids as asymmetric catalysts. *Science*, **303**: 1151.
- Pizzarello, S., Zolensky, M. y Turk, K. (2003) Nonracemic isovaline in the Murchison meteorite: Chiral distribution and mineral association. *Geochim Cosmochim Acta*, **67**: 1589-1595.
- Ponnamperuma, C. y Molton, P. (1981). El Origen de la Vida. *Información Científica y Tecnológica*. **3**: 7-33.
- Ponnamperuma, C., Shimoyama, A. y Friebel, E. (1982). Clay & the origin of life. *Origins of life*, **12**: 9-40.
- Proskurowski, G., Lilley, M., Seewald, J., Früh-Green, G., Olson, E., Lupton, J., Sylva, S. y Kelley, D. (2008). Abiogenic hydrocarbon production at Lost City hydrothermal field. *Science*, **319**: 604-607.
- Rao, M., Odom, D. y Oró, J. (1980). Clays in Prebiological Chemistry. *J. Mol. Evol.*, **15**: 317-331.
- Sagan, C. y Mullen, G. (1972). Earth and Mars: Evolution of Atmospheres and Surface Temperatures. *Science*, **177**: 52-56.
- Sagstuen, E., Hole, E., Heydari, M. y Malinen, E. (2002). Alanine radicals.2. Composite polycrystalline alanine EPR spectrum studied by ENDOR, thermal annealing and spectrum simulations. *Journal of Physical Chemistry A*, **106**: 8971-8977.
- Sagstuen, E., Hole, E., Haugedal, S. y Nelson, W. (1997). Alanine radicals: structure determination by EPR and ENDOR of single crystals X-irradiated at 295 K. *J. of Physical Chemistry A*, **101 (50)**: 9763-9772.
- Sarfati, J. (2010). Origin of life:the chirality problema. *Journal of Creation (formerly TJ)*, **12 (3)**: 263-266.
- Schidlowski, M., Appel, P., Eichmann, R. y Junge, C. (1979). Carbon isotope geochemistry of the 3.7×10^9 -yr-old Isua sediments, west Greenland: implications for the Archean carbon and oxygen cycles. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **43**: 189-199.
- Schroeder, R. y Bada, J. (1976). A review of the geochemical applications of the amino acid racemization reaction. *Earth-Science Reviews*, **12**: 347-391.
- Schroeder, R. y Bada, J. (1972). Racemization of isoleucine in calcareous marine sediments: kinetics and mechanism. *Earth and Planetary Science Letters*, **15**: 1-11.
- Schwell, M. (2007). Photochemistry of molecules of exobiology-interest in the far ultraviolet (en francés). *Habilitation, Université Paris 7, Denis Diderot*.

- Schwell, M., Jochims, H., Baumgärtel, H., Dulieu, F. y Leach, S. (2006). VUV photochemistry of small biomolecules. *Planet Space Sci.*, **54**: 1073-1085.
- Serrato, A. (1996). Estudios de evolución química sobre la adsorción de adenina y poli A en una arcilla. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 59 pp.
- Sillen, L. (1967). Master Variables and Activity Scales. *En: Equilibrium Concepts in Natural Water Systems, Advances in Chemistry Series No. 67* (Gould, R.F. Ed.), Washington American Chemical Society, 45-56 pp.
- Sleep, N., Zahne, K., Kasting, J. y Morowitz, H. (1989). Annihilation of ecosystems by large asteroid impacts on the early Earth. *Nature*, **342**: 139-142.
- Solomon, D. (1968). Clay minerals as electron acceptors and/or electron donors in organic reactions. *Clays and Clay Minerals*, **16**: 31-39.
- Spinks, J. y Woods, R. (1990). An introduction to radiation chemistry. 3^a. Ed., A Wiley-Interscience Publication, New York, 592 pp.
- Stanley, S. (1999). Earth System History. New York: W.H. Freeman & Company.
- Strickberger, M. (2000). Evolution. 3^a. Ed. Jones and Bartlett Publishers International, UK, 722 pp.
- Takahashi, J., Shinojima, H., Seyama, M., Ueno, Y., Kaneko, T., Kobayashi, K., Mita, H., Adachi, M. y Katoh, M. (2009). Chirality emergence in thin solid films of amino acids by polarized light from synchrotron radiation and free electron laser. *Int. J. Mol. Sci.*, **10**: 3044-3064.
- Takahashi, J., Masuda, H., Kaneko, T., Kobayashi, K., Saito, T., Hosokawa, T. (2005). Photochemical abiotic synthesis of amino-acid precursors from simulated planetary atmospheres by vacuum ultraviolet light. *J. Appl. Phys.*, **98**: 024907.
- Takano, Y., Horiuchi, T., Kobayashi, K., Marumo, K. y Urabe, T. (2003a). Large enantiomeric excesses of L-form amino acids in deep-sea hydrothermal sub-vent of 156 °C fluids at the Suiyo Seamount, Izu-Bonin Arc, Pacific Ocean. *Chem Lett.*, **32**: 970-971.
- Takano, Y., Ushio, K., Kaneko, T. y Kobayashi, K. (2003b). Amino acid precursors from carbon monoxide in simulated interstellar dust ice mantle by UV irradiation at 10 K. *Chem. Lett.*, **32**: 612-613.
- Takano, Y., Sato, R., Kaneko, T., Kobayashi, K. y Marumo, K. (2003c). Biological origin for amino acids in a deep subterranean hydrothermal vent, Toyoha mine, Hokkaido, Japan. *Org Geochem*, **34**: 1491-1496.
- Takano, Y., Kobayashi, K., Yamanaka, T., Marumo, K. y Urabe, T. (2004a). Amino acids in the 308 °C deep-sea hydrothermal system of the Suiyo Seamount, Izu-Bonin Arc, Pacific Ocean. *Earth Planet Sci. Lett.*, **219**: 147-153.
- Takano, Y., Ohashi, A., Kaneko, T. y Kobayashi, K. (2004b). Abiotic synthesis of high-molecular-weight organics from an inorganic gas mixture of carbon monoxide, ammonia, and water by 3 MeV proton irradiation. *Appl. Phys. Lett.*, **84**: 1410-1412.
- Takano, Y., Takahashi, J., Kaneko, T., Marumo, K. y Kobayashi, K. (2007). Asymmetric synthesis of amino acid precursors in interstellar complex organics by circularly polarized light. *Earth and Planetary Science Letters*, **254**: 106-114.
- Tsuchida, R., Kobayashi, M. y Nakamura, A. (1935). Asymmetric adsorption of complex salts on quartz. *Journal of the Chemical Society of Japan*, **56**: 1339.

- Urey, H. (1952). On the early chemical history of the Earth and de origin of life. *En: Origins of life, the central concepts.* (Deamer, D. y G. Fleischaker. eds.) Jones and Barlett Publishers, N.Y., EUA, 83-95 pp.
- Van Olphen, H. (1977). An Introduction to clay colloid chemistry, For today technologist, geologist and soil scientist. John Wiley & Sons, EUA, 57-82 pp.
- Vega-Arreguín J. (1998). Síntesis Prebiótica de Compuestos Orgánicos Reducidos a partir de la Irradiación γ de formiatos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 56 pp.
- Walker, J. (1977). Origin of the Atmosphere: History of the release of volatiles from the solid Earth. *En: Chemical Evolution of the Early Precambrian.* (Ponnampерuma, ed.). Academic Press, EUA, 1-11 pp.
- Walker, J. (1985). Carbon dioxide on the early Earth. *Origins of life*, **16**: 117-127.
- Washington, J. (2000). The possible role of volcanic aquifers in prebiotic genesis of organic compounds and RNA. *Origins of life and evolution of the biosphere*, **30**: 53-79.
- Woon, D. (2002). Pathways to glycine and other amino acids in ultraviolet-irradiated astrophysical ices determined via quantum chemical modeling. *Astrophys. J.*, **571**: L177-L180.
- Yoshino, D., Hayatsu, R. y Anders, E. (1971). Origin of organic matter in early Solar System – III. Amino acids: Catalytic Synthesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **35 (9)**: 927-938.
- Zagórski, Z. y Gladysz, K. (1994). Response of D-, L- and DL- α -alanines to ionizing radiations. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **183 (2)**: 379-387.
- Zhang, G. y Sun, H. (2014). Racemization in reverse: evidence that D-amino acid toxicity on Earth is controlled by bacteria with racemases. *PLoS One* **9**, doi:10.1371/journal.pone.0092101.
- Zubay, G. (2000). Origins of Life on the Earth and in the Cosmos. 2a. Ed. Academic Press, EUA. 564 pp.

VIII. Anexos

A. Obtención de agua tridestilada (Donnell y Sangster, 1970)

Se conectan en secuencia tres equipos de destilación con columnas de Vigraux y condensadores. En el primer balón se coloca una solución de 1 g KMnO₄ + 1 g NaOH / 1 L de agua bidestilada, en el segundo 0.5 mL H₂SO₄ + 1 g K₂Cr₂O₇ / 1 L de agua bidestilada, en el tercero sólo se destila nuevamente el agua sin reactivo alguno.

Este procedimiento elimina toda la materia orgánica presente en el agua (Albarrán, 1982).

B. Difracción de rayos X de polvos: *método analítico aplicado*

El procedimiento aplicado a las muestras en polvo fue: “Difracción de rayos X por el método de polvos para la Identificación de compuestos policristalinos”.

Las muestras se montaron en portamuestras de vidrio, utilizando el método: “montaje de polvo en una cavidad”, y se analizaron en un difractómetro SIEMENS D5000, utilizando radiación K α de Cu ($\lambda_0 = 1.5406 \text{ \AA}$), a 35 kV, 30 mA, durante 58 min, en un intervalo de $3^\circ < 2\theta < 80^\circ$. Se utilizó la base de datos “International Centre for Diffraction Data, Powder Diffraction File” (ICDD-PDF) para la identificación de la arcilla.

C. Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR): *método analítico aplicado*

Los análisis de EPR fueron realizados en el Instituto de Química de la UNAM. Muestras de $20 \pm 0.1 \text{ mg}$ (las variaciones en peso se normalizaron posteriormente en los resultados obtenidos, puesto que la intensidad de las señales es proporcional a la masa de la muestra) se colocaron en tubos de cuarzo a temperatura ambiente y se analizaron en un espectrofotómetro JEOL JES-TE300 operando en la banda X con una frecuencia de 100 kHz de modulación y cavidad cilíndrica en el modo TE011. La calibración externa del campo magnético se hizo con un gausímetro, Jeol ES-FC5.

Los ajustes del espectrómetro para todos los espectros fueron los siguientes: centro del campo: $335 \pm 10 \text{ mT}$; potencia de microondas: 1 mW; frecuencia de microondas: 9.44 GHz; ancho de modulación: 0.079 mT; constante de tiempo: 0.1 s; amplitud: 160; tiempo de barrido: 120 s; 1 scan.

Los espectros EPR se registraron aplicando la primera derivada al espectro.

IX. Artículo Publicado

Stability of alanine in a high radiation field, adsorbed onto solid surfaces

E. Aguilar-Ovando · A. Negrón-Mendoza

Received: 16 September 2014 / Published online: 2 November 2014
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2014

Abstract The aim of this work was to study the stability of alanine in a high radiation field, in the presence of a mineral surface, as a possible phase for chemical evolution processes that might have occurred on the primitive Earth or in extraterrestrial environments. For these purposes, the behavior of D-, L- and DL-alanine adsorbed onto solid surfaces (olivine, Allende meteorite and a clay mineral) under irradiation was studied. The results showed that alanine was adsorbed onto the surfaces as a function of pH, and its yield of decomposition by gamma radiation in mineral suspension was lower than that obtained by irradiating the system without the solid surface.

Keywords Alanine · Chemical evolution · Gamma radiation · Solid surfaces · Clay minerals · Olivine

Introduction

Chemical evolution is the process through which simple compounds generate organic compounds that are essential for the development of life. The study of chemical evolution provides insights into the steps that preceded the appearance of life. Life on Earth has been proposed to have arisen rapidly after appropriate conditions were present [1].

The presence of extraterrestrial organic compounds in small bodies in the solar system, such as carbonaceous chondrites, asteroids, interplanetary dust particles (IDPs) and comets, is a critical aspect of the chemical evolution process in the universe [1, 2]. These bodies comprise

different classes of molecules, many of which are common biochemical compounds, such as amino acids and their precursors, carboxylic acids and nucleic acid bases [3]. These compounds may be carried to Earth by several pathways, but safe delivery requires that the compounds be sufficiently stable to persist in hostile environments, either in aqueous solution or in a dry state.

Extraterrestrial bodies are exposed to various types of high-energy radiation, mainly in the form of cosmic rays (high-speed particles), ultraviolet (UV) and gamma photons [4]. In these bodies, the presence of minerals and other solid surfaces may also influence the behavior of organic molecules by acting as catalysts, concentrators or protecting agents [5]. Some of these postulates have been extensively studied, for example the adsorption of important molecules [6]. However, not much related to the protection role of clays has been done. In the primitive Earth and in small bodies, the most relevant minerals were carbonates, sulfides and in particular clays and silicates [5].

Some properties and structural characteristics of smectite clays and olivine

The clay mineral (hydrated layered silicates) and olivine (a magnesium iron silicate) occur naturally in abundance. Allende meteorite is a carbonaceous condrite with, large calcium–aluminum-rich inclusions, which is among the oldest objects formed in the solar system. It has different minerals, predominantly olivine and pyroxene.

Smectite clays, like Na-montmorillonite are hydrated silicates forming from gradual chemical weathering of rocks, usually silicate bearing. The unit cell consists in sheets of tetrahedral (T) coordinated silicates and sheets of octahedral alumina or magnesia (O) [7]. Electrokinetics studies showed that above pH 2, clays present a negative

E. Aguilar-Ovando · A. Negrón-Mendoza (✉)
Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional
Autónoma de México (UNAM), 04510 Mexico, DF, Mexico
e-mail: negron@nucleares.unam.mx

charge in the space between the silica layers, which is called interlamellar space. The origin of these negative charges is due to lattice imperfections, broken bonds and isomorphic substitution [7].

Olivine (a magnesium iron silicate) is a common mineral in the Earth's subsurface but weathers quickly on the surface to form serpentine. Mg-rich olivine has also been discovered in meteorites [8, 9], the Moon, Mars [10], in the dust of comet Wild 2, and within the core of comet Tempel 1 [11].

Irradiated clays, such as sodium-montmorillonite, have been shown to enhance some chemical reactions by a bias mechanism [4, 6]. In addition, studies of interstellar matter have revealed the presence of complex organic molecules that may also act as surfaces for abiotic processes.

Amino acids are excellent biomarkers in the search for life in the universe, particularly on Mars, because they are part of one of the most important biological polymers: proteins. In a planetary surface environment, the accumulation of organic compounds is important for chemical evolution, and determining how they behave under high-energy irradiation and their lifetimes has applications for space exploration. Chemical evolution has been simulated under possible conditions of the primitive Earth [1]. In support of these studies, investigations into alternative routes for the synthesis of organic compounds and the survival of molecules in a hostile environment similar to that found in small bodies of the solar system and on planetary surfaces exposed to a high flux of radiation, such as the surface of Mars, are important [4].

The aim of this work was to study the contribution of solids (particularly clays) as possible protectors of adsorbed alanine irradiated with high radiation doses (in solution and dry) and to determine the stability of alanine under these conditions. Laboratory experiments were conducted under various pH values, temperatures and levels of irradiation to simulate a strong radiation field in the early Earth or an extraterrestrial environment.

Experimental procedures

The experimental work was divided into three parts: (a) adsorption/desorption, (b) determination of adsorption sites and (c) irradiation.

Preparation of samples

Two sets of aqueous solutions of D-alanine, L-alanine and the racemic mixture DL-alanine (1×10^{-2} mol L $^{-1}$) were prepared (Sigma Chemical Co., USA). All of them were prepared at different pH values (2, 4 and 6) in an oxygen-free atmosphere (by using argon gas to eliminate the

oxygen in the solutions and then sealing the flasks). In other sets of samples, 0.1 g of solid surface was added to the amino acid dissolution: a clay mineral (Na $^{+}$ montmorillonite), Allende meteorite or olivine. Other experiments were performed irradiating solid alanine (as a powder and in thin films) at different temperatures (298, 198 and 77 K). One experiment was conducted with deuterium-labeled alanine (L-alanine-2-d).

Analysis

We performed the adsorption and desorption tests on the solid surface by evaluating changes in the pH of the amino acid solutions in the presence and absence of finely divided minerals using high-performance liquid chromatography (HPLC) with a chiral column (Chirobiotic T $^{\circ}$) coupled to an evaporative scattered-light detector (ELSD). The solid phase was analyzed by X-ray and electron spin resonance (EPR) at 298 and 77 K. For EPR, we used the conditions specified by Negrón-Mendoza et al. [12]. We determined the binding sites by analyzing the X-ray diffraction patterns of the clay after the adsorption process and by chemically blocking the clay's active sites (interlamellar channel and the edges) according to method of Perezgasga et al. [13].

Irradiation

Irradiation was performed with a ^{60}Co gamma source at a fixed dose rate (216 Gy min $^{-1}$, Gy = 1 J kg $^{-1}$). The dose interval was 0–91 kGy. The experiment was performed 15 times to confirm the repeatability of the results. The doses were evaluated by ferrous sulfate–cupric sulfate dosimeter [14].

Results and discussion

Adsorption

A higher percentage of adsorption was observed on the surface of the Allende meteorite than on the surface of the clay at the same pH value. For both minerals, we observed a slightly higher percentage of adsorption of the L enantiomer when the pure enantiomers were evaluated; however, this difference was within the statistical error of the measurements. No adsorption was observed on olivine. Table 1 summarizes these results. There is a debate about the preferential adsorption of D and L forms by clay minerals, some authors claim that the layered structure of clays could allow them to selectively adsorb one or the enantiomers, but in this work the difference was minimal.

On Na $^{+}$ montmorillonite all samples of alanine (D and L as pure enantiomers, and DL as a racemic mixture) were

Table 1 Adsorbed % of DL-alanine in three different mineral surfaces

Sample	Adsorbed %	
	L-Alanine	D-Alanine
Clay	3.36	2.51
Allende meteorite	17.20	15.89
Olivine	0.00	0.00

Table 2 Remaining percent of alanine after irradiation

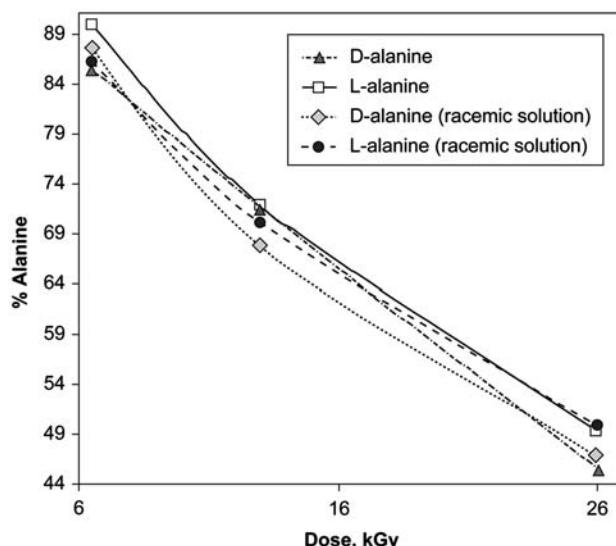
Sample	Treatment	% remaining of alanine (dose 91 kGy)	
		L-Alanine	D-Alanine
DL-Alanine	With clay	3.49	2.47
	Without clay	73.76	62.85
L-Alanine	With clay	2.56	
	Without clay	54.45	
D-Alanine	With clay		3.32
	Without clay		45.84

adsorbed. The greatest adsorption occurred at pH 2 (near the alanine pK_1 of 2.33), and similar adsorption was observed at pH 6 (near the alanine pI of 6.11). At basic pH levels, adsorption was very low.

Binding site

Sodium montmorillonite's structure has two types of binding sites: negatively charged interlamellar channel and positively charged edges of the crystal. Adding specific reagents it is possible to selectively occupy any of these sites, chemically blocking these positions.

At acidic pH levels, the active sites of the clay mineral were selectively blocking with an organic cation. These experiments were performed with clay treated with hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA) that is a channel-blocking agent [13]. The results of these experiments showed that alanine was not adsorbed at pH 2 and therefore it binds to the interlamellar channel. Another set of experiments was carried out with clay treated with pentasodium triphosphate ($Na_5P_3O_{10}$), which is an edge-blocking agent. The results showed that alanine was adsorbed. At pH 2, the dominant alanine species is the protonated form, which interacts with the negatively charged binding sites in the interlamellar channel. When the experiment is performed at pH 6, the dominant species is the zwitterion, which has a net charge of zero but contains a positive charge (in the amino group) and a negative charge (in the carboxylic group); therefore, some adsorption occurs. At basic pH levels, the dominant species is the anionic form, which results in low adsorption.

**Fig. 1** Decomposition of D-, L- and DL-alanine in aqueous solution as function of irradiation dose

Irradiation results

Under irradiation, the remaining amount of alanine in solution without clay was low, and at 91 kGy, almost all of the amino acid was transformed into smaller radical fractions by the attack of radical species formed by water radiolysis (H and OH radicals). Despite this large degree of radical decomposition, racemization was not observed in the aqueous samples. Table 2 summarizes these results.

The L-alanine samples in thin films irradiated in solid state showed low decomposition, for example, samples irradiated at 6.3 kGy and at different temperatures (298, 195 and 77 K) showed that the 98 % of alanine remains without change. Figure 1 shows the decomposition of the aqueous solutions of alanine by gamma radiation.

The irradiation of the samples in the presence of clay decreased the extent of decomposition, and the stability of alanine was lightly higher in these systems. This is important for the chemical evolution studies because clays not only were accumulated on the surface, but also became suspended in the primitive ocean. This increased stability is important for the survival of this type of biomolecule. For example, researchers have reported that, on Mars, the dose rate is on the order of 3×10^{-5} kGy year $^{-1}$ at a depth of 2.5 m and that glycine (the simplest amino acid) would have a half-life of 1×10^{10} years [4]. Therefore, at the shielding depth, space radiation will not substantially degrade the amino acids, and clays and other mineral surfaces may have contributed preventing decomposition.

Because of practical reasons related to the experimental conditions used and the kind of ionizing radiation

Fig. 2 EPR spectra for solid D, L and DL-alanine irradiated at 12.96 kGy at 298 K

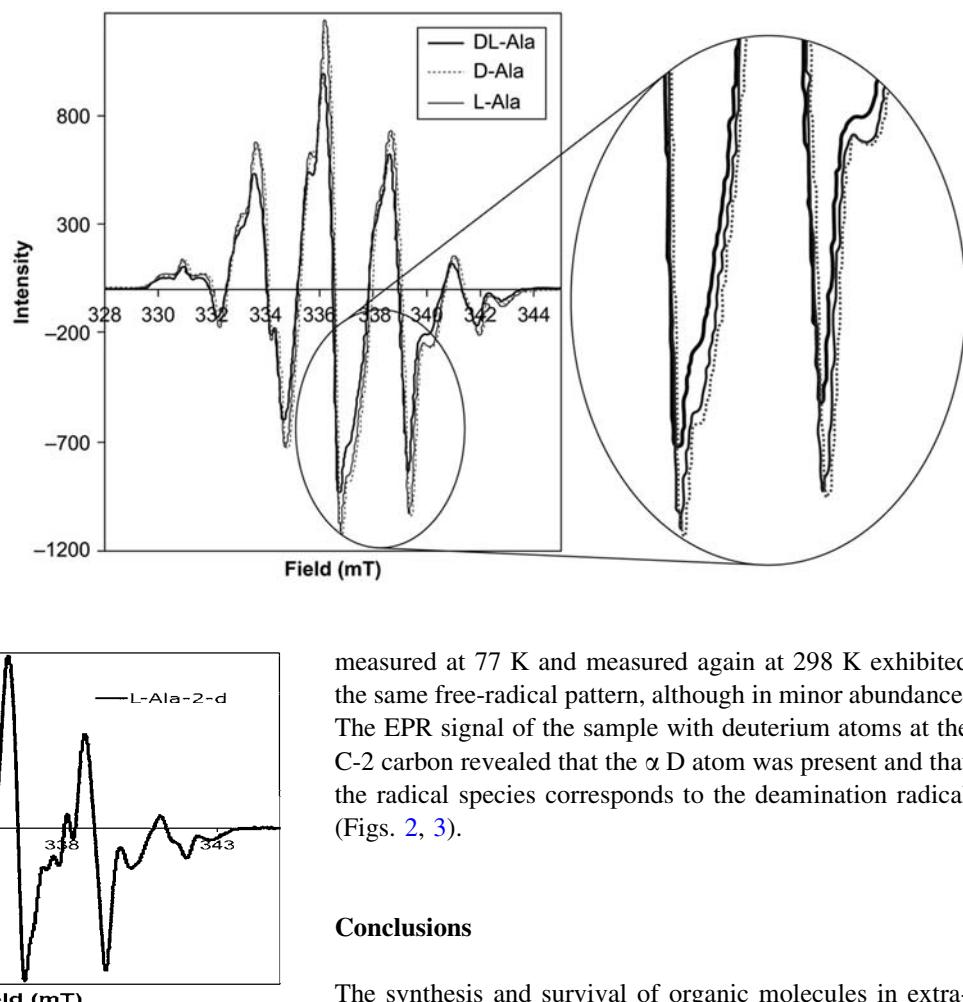


Fig. 3 EPR spectra for solid L-alanine-2-d irradiated at 12.96 kGy

available, the dose rate applied in this experiments is very high compared with the one supposed for the early Earth. However, assuming that the dose rate does not affect largely the results, this experiments act as kind of an accelerated experiment that reproduces the processes occurred in the early Earth during a very long period of time (the accumulation of dose occurred during that long time).

In comets, IDPs and carbonaceous chondrites, alanine has been identified in the solid phase or in frozen form. Although it is a simple organic compound, alanine exhibits a complex radiation behavior in the solid state due to the formation of various radicals, which can be measured by EPR spectroscopy [12]. To study the stability of solid alanine, we analyzed samples by EPR to determine the types of radicals formed by the irradiation of the amino acids and their fate. A very slight difference can be observed between the spectra of the D and L enantiomers. A sample irradiated at 12.96 kGy at 77 K, immediately

measured at 77 K and measured again at 298 K exhibited the same free-radical pattern, although in minor abundance. The EPR signal of the sample with deuterium atoms at the C-2 carbon revealed that the α D atom was present and that the radical species corresponds to the deamination radical (Figs. 2, 3).

Conclusions

The synthesis and survival of organic molecules in extra-terrestrial bodies is a subject of interest in chemical evolution. Small bodies, such as comets, carbonaceous chondrites and IDPs, contain abundant organic compounds formed in extraterrestrial environments; these compounds could have been supplied to the primitive Earth before the origin of life. To resist strong radiation fields, these compounds must have been stable under those conditions or may have been protected from external sources of energy, by mechanisms like adsorption onto a solid surface. Efficient surfaces for the adsorption of alanine include the components of meteorites, such as in the Allende meteorite, and Na^+ montmorillonite. The irradiation experiments in the present study demonstrated that the presence of the mineral drastically decreased the damage caused to alanine by gamma radiation, with a high percentage of recovery. Clay protects against the incident γ -radiation.

The observed general tendency indicates that L-alanine is slightly more resistant to ionizing radiation, particularly when it is irradiated in enantiomerically pure solution. This behavior was also observed when the solid alanine was irradiated at 298, 195 and 77 K (simulating extraterrestrial conditions), and slight differences in the EPR spectra of

L-alanine and D-alanine were observed. All conditions analyzed by the different techniques revealed that the difference between D- and L-alanine is very small within the experimental error. However, this difference might have been amplified by time for other mechanisms. These results demonstrate the important role of minerals in chemical evolution processes, particularly as protectors of amino acids against external sources of energy.

Acknowledgments This work was supported by PAPIIT Grant IN110712-3 and CONACYT Grant No. 168579/11. We thank M. Sc. B. Leal, F. García, and C. Camargo for their technical assistance. EAO thanks the support from CONACYT for a fellowship and the “Posgrado en Ciencias Químicas, UNAM”. We thank to the reviewers.

References

1. Colín M, Negrón-Mendoza A, Ramos S (2009) *Int J Astrobiol* 9:279–288
2. Ehrenfreud P, Charnley BS (2000) *Annu Rev Astron Astrophys* 38:427–483
3. Elsila JE, Glavin DP, Dworkin JP (2009) *Meteorit Planet Sci* 44:1323–1330
4. Dartnell LR, Desorgher L, Ward JM, Coates AJ (2007) *Biogeosciences* 4:545–558
5. Negrón-Mendoza A, Ramos-Bernal S, Mosqueira G (2005) *Int J Astrobiol* 3:295–300
6. Negrón-Mendoza A, Ramos-Bernal S, Mosqueira FG (2010) In: Basiuk V (ed) *Astrobiology: emergence, search and detection of life*. American Scientific Publishers, Los Angeles, pp 214–233
7. Swartzen-Allen SL, Matijevic E (1974) *Chem Rev* 74:385–400
8. Hoefen TM et al (2003) *Science* 302:627–630
9. Rubin AE (1984) *Am Mineral* 69:880–888
10. Rubin AE (1997) Mineralogy of meteorite groups. *Meteorit Planet Sci* 32:231–247
11. Hanner MS, Bradley JP (2004) In: Feston MC, Keller HU, Weaver HA (eds) *Comets II*. University of Arizona Press, Tucson, pp 555–564
12. Negrón-Mendoza A, Uribe RM, Ramos S, Camargo C, Gómez-Vidales V (2012) *Appl Radiat Isot* 71:61–65
13. Perezgasga L, Serrato A, Negrón A, de Pablo L, Mosqueira FG (2005) *Orig Life Evol Biosph* 35(2):91–110
14. Draganic ID, Draganic ZD (1971) *The radiation chemistry in water*. Academic Press, New York