



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**RADIÓLISIS DE BASES NITROGENADAS COMPLEMENTARIAS Y SU CO-
ADSORCIÓN EN ARCILLAS: IMPLICACIONES EN QUÍMICA PREBIÓTICA**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. JESSICA RAMÍREZ CARREÓN

TUTOR:

DRA. ALICIA NEGRÓN MENDOZA
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., mayo 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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

**RADIÓLISIS DE BASES NITROGENADAS COMPLEMENTARIAS Y
SU CO-ADSORCIÓN EN ARCILLAS: IMPLICACIONES EN QUÍMICA
PREBIÓTICA**

**T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q. JESSICA RAMÍREZ CARREÓN



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., mayo 2018

La presente tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Evolución Química del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM

Avances de los resultados obtenidos fueron presentados en el 52° Congreso Mexicano de Química, 36° Congreso Nacional de Educación Química gracias al apoyo del Posgrado en Ciencias Químicas:

“Radiólisis de adenina, uracilo y timina adsorbidas y co-adsorbidas en Na-Montmorillonita y Fe-Montmorillonita: relevancia en evolución química”. Puerto Vallarta, Jalisco.

Septiembre 2017

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y al Posgrado en Ciencias Químicas por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en esta gran Institución y por los apoyos otorgados.

A la Facultad de Ciencias por las oportunidades de crecimiento académico y profesional.

Al CONACyT por la beca otorgada (595223) durante la maestría y al apoyo del proyecto DEGAPA-IN111116 para la realización del proyecto.

A la Dra. Alicia Negrón, por recibirme en su laboratorio, por el apoyo y la disposición en la elaboración de este proyecto. Por su tiempo y conocimientos.

A mis sinodales: Dr. Germinal Cocho, Dr. Juan Manuel Navarrete, Dr. Emilio Bucio, Dra. Guadalupe Cordero y Dr. Alejandro Heredia por tomarse el tiempo de leer mi tesis y por sus enriquecedoras aportaciones.

A la Q. F. B. Claudia Camargo por todo su apoyo, paciencia y consejos a lo largo del desarrollo experimental del proyecto. Por cuidarnos y consentirnos.

A los trabajadores de la Unidad de Irradiación, en especial al Mtro. Benjamín Leal por su disposición y apoyo en la irradiación de las muestras.

A todo el personal que labora en el ICN y que mantiene las instalaciones siempre en óptimas condiciones.

A todos los miembros pasajeros y de planta del Laboratorio de Evolución Química que de alguna u otra forma contribuyeron en la realización de este trabajo, en especial a Adriana Meléndez, Jorge Cruz y Saúl Villafañe. Gracias por compartir conmigo su conocimiento y experiencia. Gracias a todos por los buenos ratos.

A Rogelio Jiménez, por tu pensamiento crítico, tus explicaciones y aportaciones a este trabajo. Por enseñarme la ciudad, acercarme al arte y abrir mi mente. Gracias por enriquecer esta experiencia y compartirla conmigo.

A Sandra, Olga, Jacqueline y Guille.

*Gracias por su incansable e incondicional
apoyo y por cuidar de mí siempre.*

CONTENIDO

Contenido.....	1
Índice de tablas.....	3
Índice de figuras.....	4
Resumen.....	6
1 Antecedentes	
1.1 Estudio del origen de la vida.....	7
1.2 La Tierra primitiva.....	9
1.2.1 La atmósfera.....	9
1.2.2 Los océanos.....	10
1.2.3 Las fuentes de energía.....	11
1.3 Las bases nitrogenadas.....	13
1.4 Las arcillas.....	16
1.4.1 Estructura química y propiedades.....	17
1.4.2 La montmorillonita y el origen de la vida.....	19
2 Planteamiento del problema.....	22
3 Objetivos.....	23
4 Procedimiento experimental	
4.1 Experimentos de adsorción	
4.1.1 Tiempo de agitación del sistema arcilla-base.....	24
4.1.2 Efecto del pH en la adsorción.....	24
4.1.3 Desorciones.....	24
4.1.4 Adsorciones en Na ⁺ -montmorillonita con el canal interlaminar y las orillas bloqueadas.....	24
4.2 Experimentos de radiólisis	
4.2.1 Radiólisis en disolución acuosa.....	25
4.2.2 Radiólisis en suspensión.....	25
4.2.3 Radiólisis en fase sólida.....	25
4.3 Análisis por HPLC-UV.....	26
5 Resultados	
5.1 Experimentos de adsorción	
5.1.1 Tiempo de agitación del sistema arcilla-base.....	28
5.1.2 Efecto del pH en la adsorción.....	30
5.1.3 Desorciones.....	30
5.1.4 Adsorciones con Na ⁺ -montmorillonita con el canal interlaminar y las orillas bloqueadas.....	31

5.2 Experimentos de radiólisis	
5.2.1 Radiólisis en disolución acuosa.....	33
5.2.2 Radiólisis en suspensión.....	36
5.2.3 Radiólisis en fase sólida.....	37
5.3 Análisis por HPLC-UV.....	38
6 Discusión de resultados	
6.1 Experimentos de adsorción.....	39
6.2 Experimentos de radiólisis.....	47
6.3 Implicaciones en Química Prebiótica.....	49
7 Conclusiones.....	51
8 Referencias.....	52
9 Apéndices	
9.1 Interacción de la radiación con la materia.....	62
9.2 Obtención de agua tridestilada.....	65
9.3 Limpieza del material de vidrio.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Fuentes de energía disponibles en la Tierra hace 4.0 Ga.....	11
Tabla 1.2 Fuentes radiactivas de la Tierra primitiva (4 Ga).....	12
Tabla 1.3 Interacciones arcilla-molécula orgánica observadas en procesos de adsorción.....	20
Tabla 5.1 Porcentajes de adsorción de las bases nitrogenadas (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ a pH 2) en Na ⁺ -montmorillonita bloqueada en el canal y orillas.....	33
Tabla 5.2 Valores G para las dosis de radiación utilizadas y G ₀	35
Tabla 5.3 Rendimientos radiolíticos (G) para disoluciones expuestas a 1.1 eV mL ⁻¹ en diferentes condiciones	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1 a) estructura química de la pirimidina y la purina. b) estructura química de las bases nitrogenadas presentes en el DNA y el RNA.....	13
Fig. 1.2 Apareamiento de bases (adenina-timina) por puentes de hidrógeno.....	14
Fig. 1.3 Equilibrios tautoméricos de las bases nitrogenadas.....	15
Fig. 1.4 Bloques de construcción de las arcillas.....	17
Fig. 1.5 Representación gráfica de una arcilla tipo 2:1.....	17
Fig. 1.6 Estructura de la montmorillonita $M_x(Al_{2-y}Mg_y)Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot nH_2O$	18
Fig. 4.1 Diagrama de los experimentos realizados.....	27
Fig. 5.1 Porcentajes de adsorción en la Na^+ -montmorillonita obtenidos a diferentes tiempos de agitación utilizando disoluciones 10^{-4} mol L^{-1} a pH 2.....	28
Fig. 5.2 Porcentajes de adsorción de las bases nitrogenadas en Fe (III)-montmorillonita...29	
Fig. 5.3 Porcentajes de adsorción en la Na^+ -montmorillonita a diferentes valores de pH.....	30
Fig. 5.4 Porcentajes de adsorción en la Fe (III)-montmorillonita a diferentes valores de pH.....	31
Fig. 5.5 Porcentajes de recuperación de las bases nitrogenadas en Na^+ -montmorillonita.....	32
Fig. 5.6 Porcentajes de desorción de adenina, timina y uracilo en Fe (III)-montmorillonita.....	32
Fig. 5.7 Moléculas destruidas por dosis de radiación, utilizada de los sistemas individuales (a) y de los sistemas complementarios (b).....	34
Fig. 5.8 Porcentajes de recuperación de las bases adsorbidas en Na^+ -montmorillonita después de irradiar.....	37
Fig. 5.9 Porcentajes de desorción de las bases adsorbidas en Na^+ -montmorillonita irradiadas en fase sólida.....	38
Fig. 6.1 Diagrama de distribución de especies de la adenina.....	41

Fig. 6.2 Diagrama de distribución de especies de la timina.....	42
Fig. 6.3 Diagrama de distribución de especies del uracilo.....	43
Fig. 6.4 Posibles complejos formados en la coadsorción de adenina y timina (Lailach y Brindley, 1969).....	45
Fig. 9.1 Esquema general del Gammabeam 651 PT.....	62
Fig. 9.2 Diagrama de decaimiento del ^{60}Co	63
Fig. 9.3 a) efecto fotoeléctrico. b) dispersión de Compton. c) producción de pares.....	64
Fig. 9.4 Ecuación química general de la radiólisis del agua.....	64

RESUMEN

En 1951, John D. Bernal propuso que, por características como su arreglo ordenado y su gran capacidad de adsorción, los minerales arcillosos debieron haber intervenido en el desarrollo de la aparición de la vida en la Tierra desempeñando la función de concentradores de moléculas orgánicas, moldes durante la polimerización y protectores contra la radiación solar. Después de su propuesta, muchos grupos de investigación se dieron a la tarea de comprobar las cualidades que Bernal les atribuyó a las arcillas.

El propósito de este trabajo fue estudiar la adsorción y coadsorción de sistemas de bases nitrogenadas complementarias (adenina, timina y uracilo), en montmorillonita de sodio y hierro (III) como posible medio de concentración; además se evaluó la capacidad de protección de las arcillas frente a dosis altas de radiación ionizante.

Para ello, se realizaron experimentos de adsorción a valores de pH de 2, 4, 6 y 9 con ambos tipos de arcillas, tanto de los sistemas individuales como de los complementarios (adenina-timina y adenina-uracilo). Con el fin de estudiar el mecanismo por el cual se lleva a cabo la adsorción, también se utilizó Na⁺-montmorillonita bloqueada en el canal interlaminar y en las orillas. Finalmente, disoluciones de las bases nitrogenadas fueron expuestas a bajas dosis de radiación para determinar su estabilidad en medio acuoso; posteriormente se irradiaron las arcillas en suspensión y en estado sólido con las nucleobases adsorbidas utilizando campos altos de radiación gamma. Para conocer algún cambio en la estructura de las moléculas causado por la adsorción o la radiación, se llevó a cabo la desorción de las bases en condiciones fuertemente alcalinas. Todas las muestras fueron analizadas por cromatografía de líquidos acoplada a un detector UV.

Los resultados muestran que los valores de pH ácidos favorecen la adsorción por intercambio catiónico de las bases capaces de protonarse; la adsorción en pares aumenta la retención de las pirimidinas, presuntamente por los puentes de hidrógeno que forman las bases complementarias. Si el catión intercambiable del canal interlaminar de la arcilla es un metal de transición, el pH alcalino incrementa la adsorción de purinas y pirimidinas por formación de complejos. En disolución acuosa y en concentraciones diluidas (10^{-4} mol L⁻¹) las bases nitrogenadas no sobreviven a dosis superiores a los 2 kGy, mientras que adsorbidas en las arcillas la dosis aumenta a 280 kGy, siendo mayor la recuperación en los sistemas en estado sólido. En general, las purinas presentan mayor estabilidad que las pirimidinas frente a la radiación ionizante debido a la resonancia de su estructura. Los resultados preliminares demuestran el papel concentrador y protector de las arcillas, sin embargo, más estudios se requieren para detallar a fondo las interacciones del sistema base-arcilla-radiación y explorar una posible actividad catalítica capaz de dirigir reacciones químicas.

1 ANTECEDENTES

“Hoy en día, cuando ha sido estudiada con todo detalle la organización interna de los seres vivos, tenemos razones más que fundadas para considerar que, más tarde o más temprano, lograremos reproducir artificialmente esa organización y demostrar así directamente que la vida no es sino una forma especial de existencia de la materia. Los éxitos alcanzados últimamente por la biología soviética nos permiten confiar en que esa creación artificial de seres vivos muy sencillos no solo es posible, sino que se conseguirá en un futuro no muy lejano” .

Alexander I. Oparin, 1924.

1.1 Estudio del origen de la vida

A través de los años, las ideas de cómo pudo haber surgido la vida en la Tierra han evolucionado a la par del desarrollo de la humanidad; siendo así, los filósofos fueron los primeros en ocuparse de este problema, principalmente desde dos puntos de vista: el idealismo y el materialismo.

Aristóteles postulaba que la materia por sí sola estaba inanimada y que era una *fuerza vital, alma o psique* la que le daba vida. Mientras que los materialistas, representados por Tales de Mileto, Anaxímenes y Pitágoras sugerían que la vida era producto de la combinación de los elementos existentes conocidos (en ese entonces aire, fuego, agua y tierra).

De la corriente del materialismo surge la teoría de la generación espontánea la cual perduró en la comunidad científica hasta el siglo XVII, cuando personajes como Francesco Redi (1664), Lázaro Spallanzani (1769) y Louis Pasteur (1861) demostraron que la vida proviene de organismos vivos ya existentes (De Kruift, 2013).

Por su parte, ya en la primera década del siglo XX, Svante Arrhenius apoyó la hipótesis de la panspermia al estudiar posibles mecanismos de transporte de la materia viva en el medio interestelar; sin embargo, Henri Becquerel refutaría sus estudios al aseverar a partir de sus experimentos con radiación UV y bacterias que el medio interestelar debería ser estéril. Tiempo después se demostró que las bacterias no son tan sensibles a la radiación UV, únicamente sufren un proceso de inactivación que puede ser fácilmente revertido (Wickramasinghe, 2003).

Pero el estudio del origen de la vida no tomaría un carácter científico formal hasta 1924 y 1929 cuando Alexander I. Oparin y John Haldane, respectivamente y de manera individual, sugieren la existencia de una etapa previa a la aparición de la vida, la evolución química.

En esta etapa se llevaría a cabo la síntesis abiótica de materia orgánica cuya complejidad iría aumentando a través de procesos fisicoquímicos bajo condiciones geológicamente y astronómicamente primitivas hasta originar a las moléculas que hoy se consideran importantes para la vida (Negrón-Mendoza y Albarrán, 1993).

Así, los científicos de la época comenzaron a realizar reacciones químicas en ambientes que simulaban las condiciones de la Tierra primitiva, por ejemplo, Melvin Calvin y colaboradores, irradiaron CO_2 en disolución acuosa en un ciclotrón obteniendo ácido fórmico (Garrison, 1951).

Sin embargo, fue Stanley Miller (1953) quien daría más fuerza a esta hipótesis al lograr sintetizar ácido aspártico, ácido α -aminobutírico, glicina, α y β - alanina, entre otros, a partir de CH_4 , NH_3 , H_2O e H_2 aplicando descargas eléctricas con el fin de simular la atmósfera primitiva propuesta por Urey (1952).

Otro experimento relevante en el crecimiento de esta área fue la síntesis de adenina a partir de HCN llevada a cabo por Juan Oro y Kimball (1961).

A partir de entonces, muchos autores comenzaron a proponer sus hipótesis sobre en cuál época situar a la evolución química, así como las condiciones que imperaban en la Tierra en ese momento para proponer procesos que pudieron culminar en la producción de moléculas relevantes para la vida.

Una de las propuestas que cambió el rumbo de la búsqueda del origen de la vida fue la participación de los minerales. Si bien en 1932, A. L. Herrera sugirió que la "arena" pudo ser la base de la vida debido a sus resultados experimentales, fue John D. Bernal (1951), quien de manera formal, inicio el desarrollo de estudios que involucraban a los minerales, al señalar que estos, particularmente las arcillas, pudieron haber desempeñado un papel clave en el origen de la vida debido a sus características *e.g.* su arreglo ordenado, su gran capacidad de adsorción de moléculas orgánicas y por ende de concentrarlas, su habilidad de servir como moldes en la polimerización y su capacidad de actuar como escudos ante la radiación.

Existen innumerables trabajos que incluyen la participación de los minerales en experimentos de evolución química; por mencionar sólo algunos, están los que estudiaron su posible rol en el desarrollo en la homoquiralidad de la vida (Degens *et al.*, 1970; Yamagishi, 1985;

Avetisov *et al.*, 1991); otros los ocuparon para catalizar reacciones de condensación y generar oligómeros (Ferris *et al.*, 1993, 1996, 2002; Ertem y Ferris, 2000; Ertem *et al.*, 2010); entre los autores que han estudiado la adsorción de moléculas de importancia biológica en diferentes superficies minerales se encuentran Friebele *et al.* (1981), Negrón-Mendoza *et al.* (2010), Baú *et al.* (2011), Carneiro *et al.* (2011), Zaia (2012) y Hashizume (2015), entre muchos más.

1.2 La Tierra primitiva

La vida debió surgir al final del eón Hadeano, cuando la Tierra ya estaba lo suficientemente fría para tener agua en estado líquido y antes de la aparición de las evidencias fósiles más antiguas hasta ahora encontradas *i.e.* los zircones de 4.1 Ga de Jack Hills, Australia (Bell *et al.*, 2015), los sedimentos de Isua, Groenlandia de 3.75 Ga (Nutman, 2016), los microfósiles de 3.3-3.5 Ga encontrados en Barberton, Sudáfrica (Walsh, 1992; Westall *et al.*, 2001) y los del cratón de Pilbara, Australia (3.48 Ga, Djokic *et al.*, 2017).

Por lo anterior, el periodo de la evolución química suele situarse dentro del intervalo de tiempo entre los 4.0 y los 3.5 Ga; los fundadores de esta teoría, Oparin y Haldane, señalaron que este proceso debió durar millones de años, aunque autores más recientes (Lazcano y Miller, 1994) señalan que el origen y evolución temprana de la vida pudo ocurrir en un lapso de 10 millones de años.

Considerando esto, los experimentos de química prebiótica ¹ tratan de averiguar los procesos que pudieron haber llevado a la formación de las moléculas necesarias para la vida bajo las condiciones que imperaban en la Tierra en ese momento.

1.2.1 La atmósfera

De acuerdo con la teoría más ampliamente aceptada, aunque aún en debate, la atmósfera terrestre pasó por tres etapas:

1. Atmósfera primordial (Eón Hadeano de 4.56 a 4.0 Ga)

Inicialmente constituida por las especies presentes en la nebulosa que dio origen al sistema solar: H, He, CH₄, NH₃, N₂, CO₂ y H₂O. Al final del eón, la actividad volcánica incrementó la concentración de CO₂ en la atmósfera y la superficie de la Tierra ya estaba lo suficientemente fría para permitir la condensación del agua. El H y He desaparecieron rápidamente debido al bajo campo gravitacional de la Tierra (Walker, 1977).

¹ Química prebiótica: estudio de como las moléculas orgánicas se formaron y autoorganizaron para dar origen a la vida en la Tierra o en otro lado (Cleaves, 2012).

2. Atmósfera secundaria (Eón Arqueano de 4.0 a 2.5 Ga)

Las precipitaciones y la aparición de cuerpos de agua comienzan a disolver a los gases aun presentes (NH_3 , CO_2 , SO_2), dando paso a la formación de compuestos nitrogenados y minerales carbonatados. Aparecen las primeras formas de vida anaeróbica y las cianobacterias (~3.5-3.4 Ga). La concentración de N_2 aumenta al 75% y la de CO_2 a 15% (Rye *et al.*, 1995).

3. Atmósfera terciaria (Eón Proterozoico de 2.5 a 0.54 Ga).

El O_2 , producido por los organismos fotosintéticos, la fotólisis y la radiólisis del agua, es ocupado primero en la formación de óxidos metálicos, en las llamadas formaciones de hierro bandeadas (Gran Oxidación ~2.4-2.0 Ga). Cuando comienza a haber un exceso de O_2 disuelto (~1.85-0.85 Ga) la vida aerobia prolifera (Stanley, 1999).

Una etapa adicional es la comprendida de los 0.54 Ga a la actualidad, en la cual tanto el nivel de oxígeno como el de nitrógeno alcanzan sus concentraciones actuales de 21 y 78% respectivamente (Algeo e Ingall, 2007).

Con base en lo anterior, la mayoría de los experimentos de química prebiótica se realizan en ausencia de oxígeno, ya que se considera que su presencia en el ambiente fue posterior a las primeras formas de vida.

1.2.2 Los océanos

El origen de las aguas oceánicas y sus características en la Tierra primitiva son temas controvertidos con los que la comunidad científica no ha llegado a algún acuerdo. Los zircones de Jack Hills, Australia son la pista más antigua sobre la aparición de las mismas al menos hace 4.4 Ga (Wilde *et al.*, 2001). Las teorías sobre su origen consideran que el agua pudo haber estado presente en los planetésimos rocosos (*i.e.* condritas carbonáceas) o en los planetésimos congelados (*i.e.* núcleos cometarios) que se unieron para dar origen a la Tierra (Pinti, 2005); aunque también dichos cuerpos pudieron incorporarse después al impactarse en la superficie terrestre (Mottl *et al.*, 2007).

Ya que el agua es un elemento imprescindible para la vida, la mayoría de los sistemas prebióticos se realizan en disolución acuosa y para ello es necesario tratar de semejar las propiedades que en ese entonces tenían los cuerpos de agua. Sin embargo, simular la compleja matriz que representan los océanos, y llevar a cabo experimentos reproducibles y confiables es una tarea ardua. Es por eso que se hacen experimentos que permitan conocer

el efecto que una propiedad tiene sobre un sistema determinado *e.g.* la salinidad en la adsorción de bases nitrogenadas y sus respectivos nucleósidos en minerales (Villafañe, 2017).

El pH de una disolución afecta los equilibrios de especiación, solubilidad y sorción (*e.g.* la saturación de los minerales carbonatados y la estabilidad de los minerales de la corteza terrestre) por lo que es una variable siempre importante de considerar. El modelo más reciente (Halevy y Bachan, 2017) sobre el valor de pH de los océanos del Arqueano toma en cuenta la presión parcial de CO₂ existente en ese momento y los equilibrios de solubilidad de los minerales de la corteza concluyendo que la abundancia de CO₂ debió ser el factor que definía el pH dándole un valor de entre 6 y 7.5. No obstante, se realizan experimentos en un amplio intervalo de pH para conocer lo mejor posible el comportamiento de un sistema.

1.2.3 Las fuentes de energía

En la Tabla 1.1 se enlistan las fuentes de energía que se considera estuvieron presentes en la Tierra hace 4.0 Ga.

Tabla 1.1 Fuentes de energía disponibles en la Tierra hace 4.0 Ga

Fuente	Flujo (J a ⁻¹ m ⁻²)	Intensidad (J a ⁻¹ m ⁻³)
Radiación solar		
UV total	1.40 X 10 ⁸	1.20 X 10 ⁴
UV (λ < 150)	7.10 X 10 ⁴	5
Descargas eléctricas	1.70 X 10 ⁵	14
Rayos cósmicos	60	5.00 X 10 ⁻³
Viento solar	8.00 X 10 ³	0.7
Ondas de choque	4.60 X 10 ⁴	4
Volcanes	6.00 X 10 ³	0.5
Radiactividad	1.17 X 10 ⁵	1.17 X 10 ²

Modificado de Garzón y Garzón (2001)

Para que una fuente de energía sea considerada útil dentro del marco de la evolución química deben tomarse en cuenta su abundancia y disponibilidad, así como su eficiencia para producir reacciones y no descomponer a los productos formados (Lemmon, 1969; Miller

et al., 1976; Bar-Num y Chang, 1983). La radiación solar UV y las descargas eléctricas son las más utilizadas en los experimentos similares al de Miller (1953).

El uso de radiactividad emitida por los radionúclidos que han estado presentes en la Tierra desde su formación (Tabla 2.2) es tema de debate ya que aunque se han irradiado sistemas con partículas ionizantes y se han encontrado resultados viables (Garrison *et al.*, 1951; Palm y Calvin, 1962, Ponnampereuma *et al.*, 1963; Draganic y Vujosevic, 1998), para algunos autores no es un tipo de energía factible debido a que los rendimientos son generalmente bajos, sobre todo en condiciones reductoras (Chyba y Sagan, 1992); a la descripción poco realista de las fuentes radiactivas en la corteza del Arqueano (Miller, 1976) y a la dificultad de emular las condiciones de los ambientes primitivos en un laboratorio (Garzón y Garzón, 2001).

Otros autores sostienen que el aporte de radiación debió ser más importante en la litosfera que en los océanos y que dentro de los minerales los cambios químicos provocados por esta serían muy limitados (Albarrán y Collins, 1998).

Tabla 1.2 Fuentes radiactivas de la Tierra primitiva (4 Ga)

Radionúclido	$t_{1/2}$ (años)	Abundancia actual (ppm)	Abundancia hace 4 Ga (ppm)	Energía en arcillas (Gy año ⁻¹)	Energía en océanos (Gy año ⁻¹)
²³⁸ U	4.47×10^9	2.7	5	6.1×10^{-9}	1.98×10^{-9}
²³⁵ U	0.70×10^9	0.02	2	-	-
²³² Th	14.05×10^9	10	12	6.9×10^{-4}	1.42×10^{-6}
⁴⁰ K	1.28×10^9	3	26	1.75×10^{-2}	2.5×10^{-9}

Modificado de Garzón y Garzón (2001) y Mosqueira *et al.* (1996)

Sin embargo, la interacción de la radiación con el agua genera especies radicales muy reactivas (ver apéndice 9.1) que pudieron reaccionar con las moléculas orgánicas presentes en el medio y generar cambios relevantes para la evolución química (Castillo-Rojas *et al.*, 1985; Albarrán *et al.*, 1988; Negrón-Mendoza *et al.*, 1988). Una estimación con la energía calculada proveniente del ⁴⁰K en arcillas oceánicas señala que, un kg de mineral pudo haber provocado la transformación de 1.8×10^{-7} moles de moléculas orgánicas en un lapso de 1000 años (Mosqueira *et al.*, 1996).

La radiación ionizante no solo proviene de los radionúclidos primordiales, sino también de los rayos cósmicos que bombardean constantemente a la Tierra formando radionúclidos cosmogénicos de vidas medias más cortas *e.g.* ¹⁴C (Navarrete y Cabrera, 1993). La ubicuidad

de la radiación ionizante tanto en la Tierra como en el medio interestelar la convierten en una variable de interés en la evaluación de los posibles escenarios tanto terrestres como extraterrestres, que pudieron contribuir en el origen de la vida (*e.g.* radiólisis de las aguas oceánicas y simulación de hielos cometarios; Draganić, 2004).

1.3 Las bases nitrogenadas

Una base nitrogenada es una molécula orgánica que contiene nitrógeno, cuyo par de electrones libres le confiere un comportamiento químico básico. También son llamadas nucleobases pues constituyen el bloque principal en la estructura de los ácidos nucleicos *i.e.* del ácido desoxiribonucleico (DNA) y del ácido ribonucleico (RNA).

Se clasifican principalmente en dos tipos: las pirimidinas y las purinas, y reciben estos nombres por su similitud con la pirimidina y la purina (Fig. 1.1 a). Ambos tipos son moléculas no polares y planas. Las primeras están formadas por un anillo heterocíclico de seis miembros y en las segundas el anillo pirimídico está fusionado a un imidazol. Aunque están ampliamente distribuidas en la naturaleza, se reconocen cinco principales por su presencia en el DNA y RNA y por su participación en los procesos energéticos de la célula (Fig. 1.1 b).

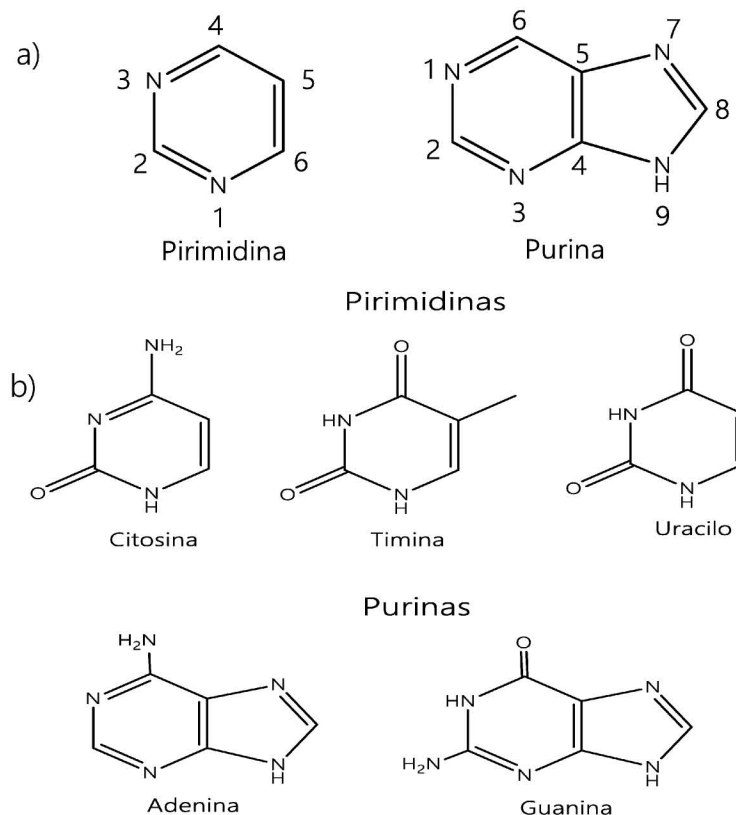


Figura. 1.1 a) estructura química de la pirimidina y la purina. b) estructura química de las bases nitrogenadas presentes en el DNA y RNA.

Erwin Chargaff se dio cuenta que, en muestras de material genético de la misma especie, la proporción de bases púricas y pirimídicas presentes siempre era 1:1 (Carey, 2000), pero fueron Watson y Crick (1953) quienes propusieron que esto se debía a la complementariedad estructural que la guanina tiene con la citosina, la adenina con la timina (en el DNA) y con el uracilo en el RNA. Considerando varios arreglos de enlaces de hidrógeno, llegaron a la formación de pares adenina-timina y guanina-citosina a través de enlaces de puente de hidrógeno (Fig. 1.2). Este descubrimiento fue la pieza clave que les permitió proponer su estructura de doble hélice que más tarde permitiría el entendimiento del proceso de replicación.

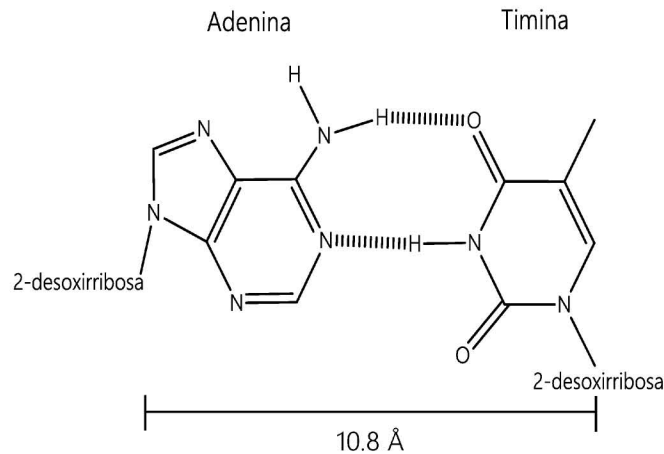


Figura. 1.2 Apareamiento de bases (adenina-timina) por puentes de hidrógeno.

Las pirimidinas y las purinas son prácticamente planas y en general, presentan el comportamiento químico de un compuesto aromático. Las cinco bases nitrogenadas pueden existir en al menos dos formas tautoméricas (Fig. 1.3): la adenina y la citosina pueden estar en la forma amino o imino, y la guanina, la timina y el uracilo como lactamas (forma ceto) o lactimas (forma enol); ambos tautómeros están en equilibrio, sin embargo, la amina y la lactama son más estables y por lo tanto predominan bajo las condiciones encontradas en la mayoría de las células (Horton *et al.*, 2006).

Las posiciones N1 de la adenina, C2 y N3 de la citosina, N1, C6 y el grupo amino en C2 de la guanina y C2 y C4 de la timina son aceptores de hidrógenos, mientras que los grupos amino de la adenina y citosina y N3 actúan como donadores de hidrógenos. A través de estas posiciones las bases complementarias adenina-timina o adenina-uracilo, y guanina-citosina se aparean formando dos y tres enlaces por puente de hidrógeno, respectivamente. En la formación de nucleósidos, las pirimidinas se enlazan por N9 y las purinas por N1 a una pentosa.

Los sitios preferenciales de protonación son los átomos de nitrógeno pertenecientes al anillo, de manera que la adenina tiene un $pK_{a1}= 4.15$ correspondiente a la protonación de N1 (Clowney *et al.*, 1996) y un $pK_{a2}=9.8$ cuando N9 pierde su protón. De acuerdo con Ganguly y Kundu (1993), los valores de pK_a asociados a la timina (9.86) y al uracilo (9.36) corresponden a la desprotonación del grupo carbonilo en C2 cuando se encuentra en forma de lactima.

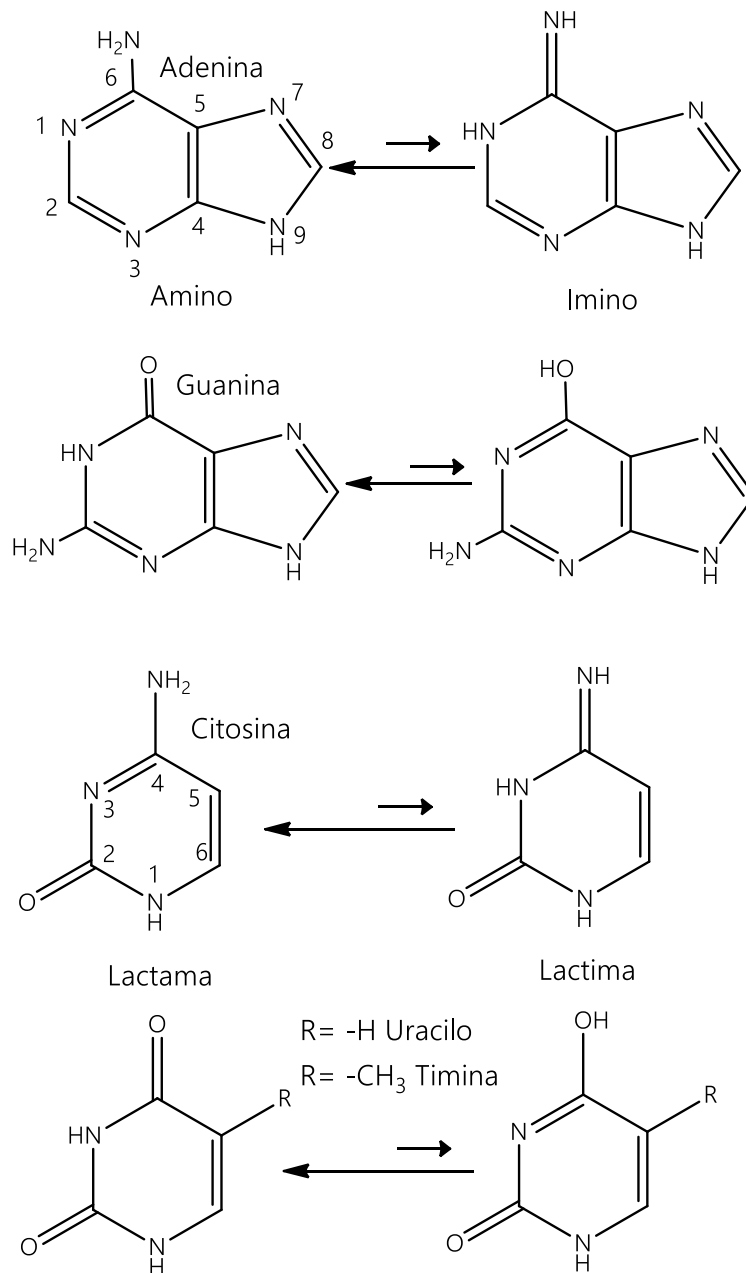


Figura. 1.3 Equilibrios tautoméricos de las bases nitrogenadas

El descubrimiento de la formación del enlace peptídico en la síntesis de proteínas en los ribosomas catalizada por el RNA y no por enzimas proteicas (Ban *et al.*, 2000) le dio fuerza a la hipótesis del “mundo del RNA”, la cual estipula que el desarrollo de la vida en la Tierra ocurrió a través de la replicación del RNA, es decir, que este apareció antes que el DNA y las proteínas. Con base en este modelo, los principales experimentos de química prebiótica que involucran bases nitrogenadas incluyen modelos de síntesis abiótica de las nucleobases contenidas en el RNA a partir de moléculas sencillas de existencia factible en la Tierra primitiva *e.g* HCN (Oró, 1961) y formamida (Barks *et al.*, 2010; Ferus *et al.*, 2012, 2014) utilizando diversas fuentes energéticas. La detección de aminoácidos y bases nitrogenadas en cometas y meteoritas ha derivado en la propuesta de rutas sintéticas de estos compuestos considerando las condiciones de estos cuerpos como las bajas temperaturas (Menor-Salván *et al.*, 2009).

Se estima que la concentración de las moléculas orgánicas importantes para la vida era de alrededor de 10^{-9} mol L⁻¹, concentración muy baja para que ocurrieran reacciones de polimerización de aminoácidos o nucleobases (Shapiro, 1986; Hulett, 1969), sin mencionar que la formación de proteínas y ácidos nucleicos a partir de sus monómeros no es favorable en ambientes acuosos. Entonces, fue necesario introducir un elemento más a la mezcla de reacción: las superficies minerales.

1.4 Las arcillas

La palabra arcilla viene del griego “*argilla*” la cual deriva de “*argo*” que significa blanco debido al color de la caolinita, la arcilla con la que se hacían cerámicos (Rautureau *et al.*, 2017); antes de dar una definición de arcilla, cabe mencionar que ésta ha cambiado a través de los años y que depende del estado del arte en ese momento, así como de la disciplina que la describa. Para la geología, una arcilla es un material de gran recurrencia y de tamaño de grano fino (< 2 µm) presente en la superficie de la Tierra o cerca de la superficie de ella que se forma en las interfaces entre la corteza terrestre y la atmósfera, hidrósfera y biosfera como resultado de la alteración mecánica y/o química de las rocas (Rautureau *et al.*, 2017).

1.4.1 Estructura química y propiedades

Las arcillas están formadas por hojas de tetraedros de Si coordinados al O unidos por las esquinas y de hojas octaédricas de Al coordinados al O que se unen por los bordes. Las hojas octaédricas pueden ser de dos tipos: dioctaédricas cuando por cada tres octaedros de Al existe una vacancia; y las hojas trioctaédricas en la que los espacios están completamente ocupados pero por Mg (II) (Fig. 1.4).

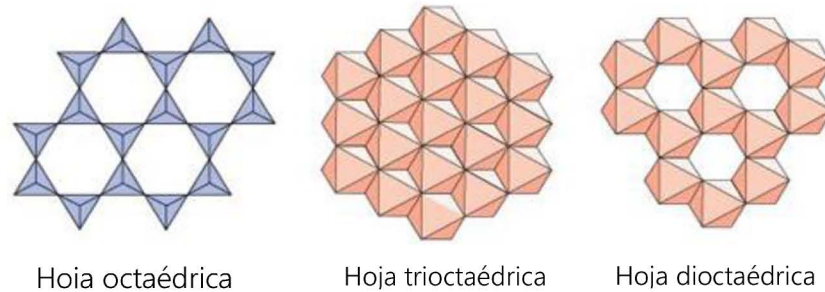


Figura. 1.4 Bloques de construcción de las arcillas. Tomada de www.open.edu

Es posible que átomos de magnesio reemplacen al aluminio en las hojas dioctaédricas o que el aluminio ocupe el sitio del Mg en las hojas trioctaédricas; este hecho se conoce como sustitución isomórfica y es el responsable de la carga negativa permanente de las arcillas; también puede ocurrir en las hojas tetraédricas.

Cuando se apila una hoja tetraédrica con una octaédrica para formar una lámina se dice que la arcilla es del tipo 1:1 (e.g. caolinita); las arcillas 2:1 son aquellas formadas por dos hojas de Si en los extremos y una hoja aluminíca octaédrica en medio (Fig 1.5).



Figura. 1.5 Representación gráfica de una arcilla tipo 2:1
Tomada de www.open.edu

Al espacio que existe entre lámina y lámina se le conoce como canal interlamilar y es aquí donde diferentes especies cargadas positivamente (e.g. K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , agua, moléculas orgánicas) se introducen para compensar la carga negativa provocada por la sustitución isomórfica. La presencia de estos iones y su fácil sustitución por otras especies les otorga a las arcillas una de las propiedades de mayor explotación: su capacidad de intercambio catiónico (Guggenheim, 2017).

En la Fig. 1.6 se observa la estructura de la arcilla utilizada en los experimentos de este trabajo; la montmorillonita es una arcilla 2:1 dioctaédrica del grupo de las esmectitas y entre sus principales propiedades se pueden mencionar las siguientes:

- Tamaño de partícula coloidal (~ 1 nm)
- Área superficial específica grande (~ 500 - 760 $m^2 g^{-1}$)
- Carga superficial moderada (~ 0.2 - 0.6)
- Gran capacidad de intercambio catiónico poco dependiente del pH (~ 80 - 120 meq/100g arcilla)
- Moderada capacidad de intercambio aniónico dependiente del pH
- Abundancia de grupos reactivos en su superficie
- Abundantes en la superficie terrestre y presentes en suspensión en aguas superficiales
- Resistencia a la corrosión

(Tamura *et al.*, 1996; Carbajal de la Torre *et al.*, 1997; Bargaya y Lagaly, 2013).

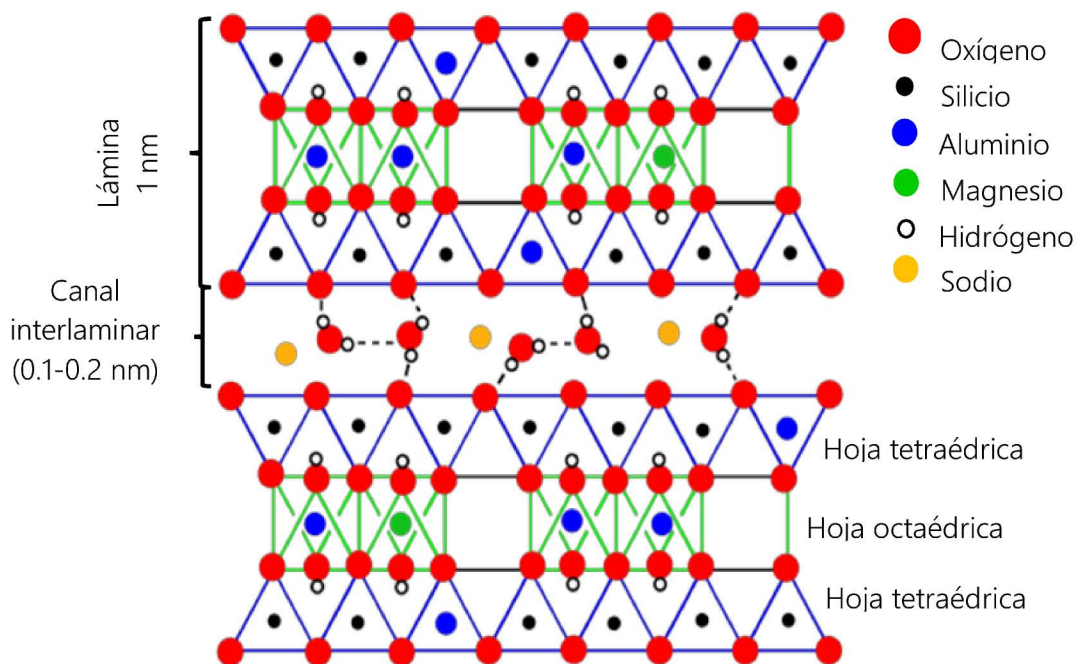


Figura. 1.6 Estructura de la montmorillonita $M_x(Al_{2-y}Mg_y)Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot nH_2O$
Tomada de: <https://employees.csbsju.edu/>

Estas características le han dado un papel protagónico en los últimos años en una gran variedad de aplicaciones *e.g.* catálisis, industria cerámica, purificación de agua (Carbajal de la Torre *et al.*, 1997), tratamiento de residuos radiactivos (Cadene *et al.*, 2005), industria fármaco-cosmética, refinamiento de azúcar etc. (Hartwell, 1965).

1.4.2 La montmorillonita y el origen de la vida

Como se mencionó anteriormente, la propuesta de John D. Bernal (1951) abrió la pauta para que se comenzaran a realizar experimentos de química prebiótica involucrando superficies minerales. La montmorillonita es una de las superficies minerales más ocupadas debido a que su existencia data alrededor de los 3.8 Ga (Rao *et al.*, 1980), periodo en el que se estima ocurrió la evolución química.

La baja concentración a la que se estima estaban las moléculas orgánicas en la Tierra primitiva condujo a la idea de que su adsorción en las arcillas pudo haber sido un mecanismo de concentración que facilitara su reacción tanto con ellas mismas como con el mineral; además, las arcillas también pudieron haber fungido como escudo protector frente a las condiciones hostiles del medio *e.g.* altos índices de radiación UV ionizante, temperaturas superiores a los 80°C, medios ácidos o básicos, etc. o bien catalizar las reacciones de polimerización. En este trabajo sólo se explora su papel como concentradores y medios de protección ante la radiación gamma.

La IUPAC (1990) define a la adsorción como el incremento en la concentración de una sustancia disuelta sobre una interfaz sólida, líquida o gaseosa debido a la operación de fuerzas superficiales. Los mecanismos de adsorción en arcillas con diferentes cationes intercambiables de una gran variedad de moléculas orgánicas han sido ampliamente estudiados; en la Tabla 1.3 se mencionan las principales interacciones observadas entre la montmorillonita y algunas moléculas orgánicas de interés biológico.

Cabe mencionar que la naturaleza del catión intercambiable que se encuentre dentro del canal interlamilar de la arcilla determina en gran medida las características del mecanismo del proceso de adsorción; a resaltar i) el poder protonador de la arcilla (entre más electronegativo sea el metal, más propensas serán las moléculas de agua que lo rodean de donar un H⁺); ii) si la coordinación de la molécula orgánica al metal será directa o a través de puentes de agua y iii) la neutralización de cargas positivas de metales polivalentes con moléculas aniónicas (Mortland, 1970).

Tabla 1.3 Interacciones arcilla-molécula orgánica observadas en procesos de adsorción

Molécula orgánica	Condiciones de adsorción	Interacciones observadas	Referencias
Ácidos carboxílicos	pH ácido	-Adsorción en el canal interlaminar de la forma disociada. -El estado de hidratación y la carga del catión intercambiable determina si la interacción es por puentes de agua o por complejación directa.	Arlidge y Anderson 1962; Bingham <i>et al.</i> , 1965; Law y Kunze, 1966; Yariv <i>et al.</i> , 1966; Kodama, 1968.
Aminoácidos y proteínas	pH < $pH_{\text{isoeléctrico}}$ pH neutro	-Intercambio catiónico con el metal presente en el canal interlaminar. -Si la arcilla es ácida, puede protonar a la especie y el intercambio catiónico domina. -Interacción de los dipolos del aminoácido con la superficie cargada de la arcilla y con el catión intercambiable. -La adsorción de las proteínas se favorece con el aumento del peso molecular; la forma y la constante dieléctrica de estas también influyen.	Greenland <i>et al.</i> 1965a, 1965b; Cloos <i>et al.</i> , 1966; Fripiat <i>et al.</i> , 1966.
Purinas, pirimidinas y nucleósidos	pH ácido	-Cuando la molécula está protonada, la adsorción se da por intercambio catiónico en arcillas con metales alcalinos, alcalinotérreos y de transición. -A pH alcalinos domina la formación de complejos con metales de transición. -La coadsorción favorece la retención de especies que presentan nula adsorción por si solas.	Lailach <i>et al.</i> , 1968a y b; Mortland 1968; Lailach y Brindley 1969; Doner y Mortland, 1969.

Con el fin de conocer la influencia del catión intercambiable en el proceso de adsorción y en la radiólisis de las bases nitrogenadas, en este trabajo se utilizaron montmorillonitas de Na^+ y Fe (III) ya que el sodio es el catión soluble más abundante en el océano contemporáneo (~ 10,600 ppm) y el Fe (III) (~ 0.01 ppm) (Mosqueira *et al.*, 1996) representa el metal de transición soluble más abundante.

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo las moléculas inorgánicas que había en la Tierra en su nacimiento, se transformaron en moléculas orgánicas de gran complejidad que eventualmente dieron origen a organismos vivos?

Grosso modo esta es la pregunta a la que la Química Prebiótica intenta dar respuesta, sin embargo, para responderla se deben hacer un sinnúmero de consideraciones, por ejemplo: ¿en qué periodo de la edad de la Tierra surgió la vida? ¿Cuáles eran las condiciones que imperaban en ese momento (temperatura, gases atmosféricos, fuentes de energía, características de los cuerpos de agua)? ¿Cuáles fueron las moléculas a partir de las cuáles surgieron todas las demás? Una vez formadas, ¿cómo lograron sobrevivir a las hostilidades del medio? Si inicialmente estas moléculas estaban muy dispersas, ¿cómo fue que se juntaron para poder reaccionar entre sí hasta polimerizarse? ¿Cómo alcanzaron el alto nivel de autoorganización estructural? ¿Qué determinó la homociralidad de la vida? y en cuanto más nos acercamos al límite con la biología, las cosas se ponen más difíciles de explicar.

Teniendo esto en cuenta y con los antecedentes arriba descritos, se plantearon los siguientes objetivos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Estudiar la adsorción y coadsorción de las bases nitrogenadas complementarias: adenina, timina y uracilo en Na^+ -montmorillonita y Fe(III) -montmorillonita como posible mecanismo de concentración de moléculas orgánicas en la Tierra primitiva, así como el papel protector de las arcillas frente a campos altos de radiación ionizante.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar el tiempo en el que la adsorción de las bases nitrogenadas en las arcillas alcanza el equilibrio.
- Analizar el efecto del pH en la adsorción de la adenina, timina y uracilo.
- Encontrar las condiciones óptimas de desorción de las bases nitrogenadas para analizar algún posible cambio posterior a la sorción o a la presencia de radiación ionizante.
- Llevar a cabo experimentos de adsorción con Na^+ -montmorillonita bloqueada en el canal y en las orillas para conocer el sitio preferencial de adsorción.
- Exponer a las arcillas con las bases nitrogenadas adsorbidas a dosis altas de radiación ionizante tanto en estado sólido como en suspensión.
- Evaluar la estabilidad de las bases nitrogenadas en solución acuosa a diferentes dosis de radiación, variaciones de pH y concentración.

4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

4.1 Experimentos de adsorción

4.1.1 Tiempo de agitación del sistema arcilla-base

Se prepararon disoluciones acuosas 10^{-4} mol L⁻¹ a pH 2 de adenina (Sigma-Aldrich, EE. UU.), timina (Sigma-Aldrich, EE. UU.), uracilo (Sigma-Aldrich, EE. UU.), adenina-timina y adenina-uracilo, de las cuales, alícuotas de 3 mL fueron agregadas de manera individual a tubos de centrífuga con 100 mg de Na⁺-montmorillonita (Repositorio de arcillas minerales de la Universidad de Missouri, EE. UU.) o Fe (III)- montmorillonita (preparada por el grupo de trabajo bajo el procedimiento publicado en Cruz-Castañeda *et al.*, 2017).

Con el fin de evitar la aglomeración de la arcilla, y para que la adsorción ocurriera de manera homogénea, la mezcla primero se agitó durante 10 s con vórtex para luego continuar con el proceso de agitación en un agitador orbital (Lab-Line Instruments Inc., EE. UU.) a 200 rpm en intervalos de tiempo de 2 a 10 min.

4.1.2 Efecto del pH en la adsorción

Se siguió el procedimiento anterior utilizando las mismas disoluciones 10^{-4} mol L⁻¹ pero a pH 4, 6 y 9 y agitando durante 5 min a 200 rpm en el agitador orbital.

4.1.3 Desorciones

Para detectar algún posible cambio estructural en las bases nitrogenadas provocado por la interacción de la sorción, las muestras de arcilla con bases adsorbidas se mezclaron con 3 mL de KOH (J. T. Baker, EE. UU.) 0.01 mol L⁻¹ a pH 11 y se agitaron durante 30 min a 200 rpm. Previó a la desorción, las muestras de arcilla se liofilizaron (Labconco, EE. UU.) y molieron procurando obtener una mezcla de tamaño fino y homogéneo.

4.1.4 Adsorciones en Na⁺-Montmorillonita con el canal interlaminar y las orillas laminares bloqueadas

Con el fin de conocer en qué parte de la arcilla se adsorbe la mayor cantidad de base nitrogenada, el proceso de adsorción (3 mL de cada disolución con 100 mg de arcilla y 5 min de agitación a 200 rpm) se realizó utilizando disoluciones de adenina, timina, uracilo, adenina-timina y adenina-uracilo 10^{-4} mol L⁻¹ a pH 2 y Na⁺- montmorillonita con el canal

interlaminar bloqueado al 100 % con HDTMA (bromuro de hexadeciltrimetilamonio, por sus siglas en inglés) y Na⁺-montmorillonita con las orillas laminares bloqueadas con trifosfato de pentasodio (Na₅P₃O₁₀). El procedimiento de bloqueo de la arcilla y su caracterización fue elaborado por Meléndez-López (2008).

4.2 Experimentos de radiólisis

4.2.1 Radiólisis en disolución acuosa

Para realizar la curva de dosis-respuesta, alícuotas de disoluciones de adenina, timina, uracilo, adenina-timina y adenina-uracilo 10⁻⁴ mol L⁻¹ a pH 2 fueron expuestas a la radiación gamma en una fuente de ⁶⁰Co (Gammabeam PT 651, Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, ver apéndice 9.1). Las dosis utilizadas fueron 1.1, 1.7 y 2.3 kGy.

El efecto del pH en la radiólisis en disolución acuosa fue evaluado irradiando disoluciones 10⁻⁴ mol L⁻¹ a pH 6 y 10 a una dosis irradiación de 1.7 kGy.

El efecto de la concentración se evaluó irradiando disoluciones 0.005 mol L⁻¹ a pH 2 a una dosis de 1.70 kGy.

En todos los casos, la irradiación se llevó a cabo en tubos de cultivo con tapón de rosca sellados con teflón y el volumen de las alícuotas fue de 3 mL; previo a la irradiación, el O₂ atmosférico fue removido purgando las muestras con Ar durante 30 min.

4.2.2 Radiólisis en suspensión

Muestras de 100 mg de arcilla (Na⁺ o Fe (III) montmorillonita) y 3 mL de disolución acuosa 10⁻⁴ mol L⁻¹ a pH 2 de los sistemas ya mencionados, se agitaron durante 5 min a 200 rpm y después de burbujearse con Ar por 30 min, se expusieron a dosis de 95, 190 y 280 kGy. Posterior a la irradiación, se analizó tanto el sobrenadante como el residuo de la desorción (§ 4.1.3 Desorciones).

4.2.3 Radiólisis en fase sólida

Después de realizar el procedimiento de adsorción bajo las condiciones señaladas en la sección anterior, las muestras se centrifugaron para separar el sobrenadante y analizarlo, mientras que la arcilla se liofilizó y molió para irradiarla a 95, 190 y 280 kGy. Finalmente, se realizó la desorción (§ sección 4.1.3) de las bases para corroborar el efecto protector de las arcillas frente a la radiación ionizante.

4.3 Análisis por HPLC-UV

El análisis de todas las muestras se realizó por cromatografía de líquidos de alta resolución en un equipo Dionex Ultimate 3000 UHPLC⁺ (Thermo Scientific, EE. UU.) acoplado a un detector de longitud de onda variable con una columna Halo® C18 (4.6 mm X 50 mm, 2.7 µm).

Las condiciones del análisis fueron las siguientes:

- Fase móvil: 98% de acetato de amonio 0.1 mol L⁻¹ pH 4.5 y 2% Metanol: H₂O (80:20)
- Flujo: 0.5 mL min⁻¹ (presión ≈ 1800 psi)
- Temperatura: 25 °C
- Longitud de onda: 260 nm

La disolución amortiguadora se preparó utilizando acetato de amonio y ácido acético glacial (J. T. Baker, EE. UU.), metanol grado HPLC (Honeywell, EE. UU.) y agua desionizada ultrapura (Milli Q, Merck Millipore, Alemania). Previo a la introducción de la fase móvil en el equipo, ésta se filtró con membranas de nylon 66 de 0.45 µm X 0.47 mm (Sigma-Aldrich, EE. UU.) y se introdujo en el sonicador (Branson 1200, Branson, EE. UU.) durante 15 min.

Para conocer la longitud de onda de mayor absorbancia de las bases nitrogenadas, disoluciones 10⁻⁴ mol L⁻¹ a pH 2 de cada una fueron leídas en un equipo de espectrofotometría UV-Vis Cary 100 Scan (Agilent Technologies, EE. UU.).

CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

- Todas las disoluciones empleadas en los experimentos de la sección 5.1 se realizaron con agua desionizada ultrapura (Milli Q, Merck Millipore, Alemania).
- Para los experimentos de radiólisis (sección 5.2) se empleó agua tridestilada, la cual se obtuvo siguiendo el procedimiento de Donell y Sangster (1970) (Apéndice 9.2). Dichos autores también sugirieron un método de limpieza para el material de vidrio, el cual se detalla en el apéndice 9.3.
- Para las disoluciones ácidas se utilizó HCl 0.01 mol L⁻¹ y para las básicas KOH 0.01 mol L⁻¹; el pH de todas las disoluciones preparadas se midió con un potenciómetro Orion® Versa Star Pro® (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) y con papel pH (Whatman, Sigma-Aldrich, EE. UU.).

- Las muestras con arcilla se centrifugaron (Allegra 64R, Beckman Coulter, EE. UU.) a 25,000 rpm durante 30 min para separar el sobrenadante y analizarlo por HPLC-UV.
- Cada experimento se realizó por triplicado.

En la Fig. 4.1 se muestra un diagrama general del procedimiento experimental llevado a cabo.

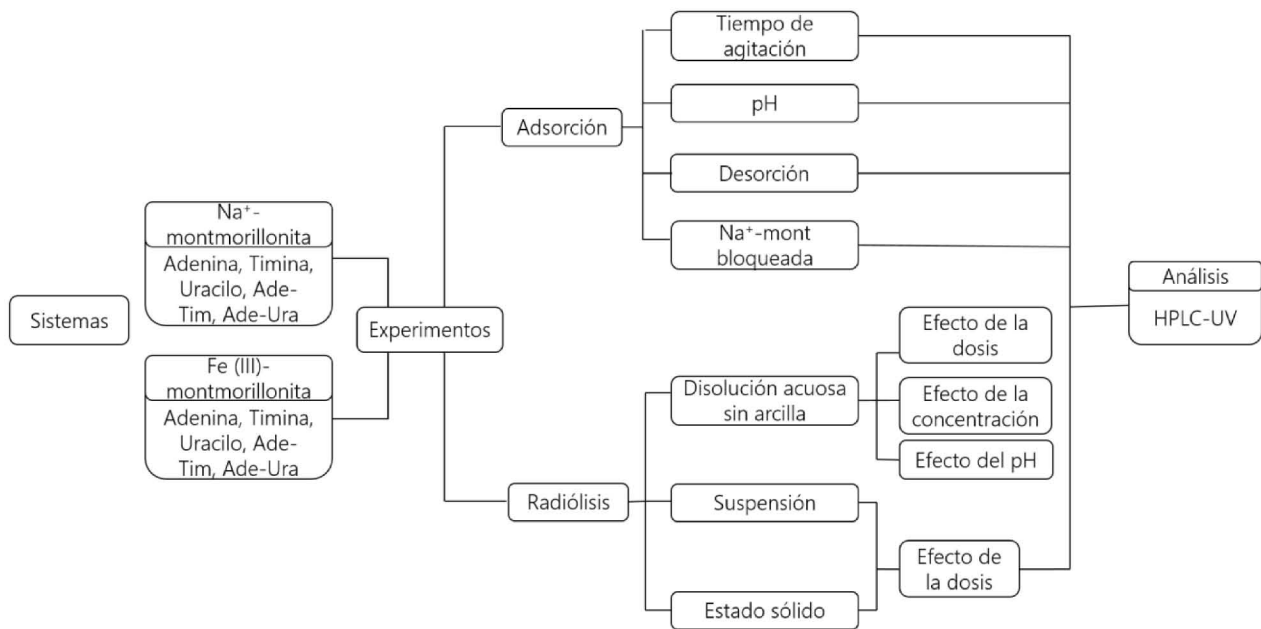


Figura 4.1 Diagrama de los experimentos realizados para el estudio de la adsorción de adenina, timina y uracilo en montmorillonita de Na⁺ y Fe (III) y su radiólisis con radiación gamma

5 RESULTADOS

5.1 Experimentos de adsorción

5.1.1 Tiempo de agitación del sistema arcilla-base

En la Fig. 5.1 se observan los porcentajes de adsorción obtenidos a diferentes tiempos de agitación tanto de los sistemas individuales como de los sistemas de bases nitrogenadas complementarias utilizando Na^+ -montmorillonita. En general, la adenina se adsorbe en su totalidad en ambos sistemas ($99.91 \pm 0.13 \%$), mientras que la timina pasa de adsorberse un $19.42 \pm 1.36 \%$ a coadsorberse en un $31.63 \pm 2.66 \%$; por su parte el $8.51 \pm 1.039 \%$ del uracilo adsorbido aumenta a $13.52 \pm 0.68 \%$ cuando hay adenina presente. En todos los sistemas el equilibrio se mantiene constante después de los 2 min de agitación, sin embargo, se decidió agitar durante 5 min los experimentos subsiguientes por fines prácticos.

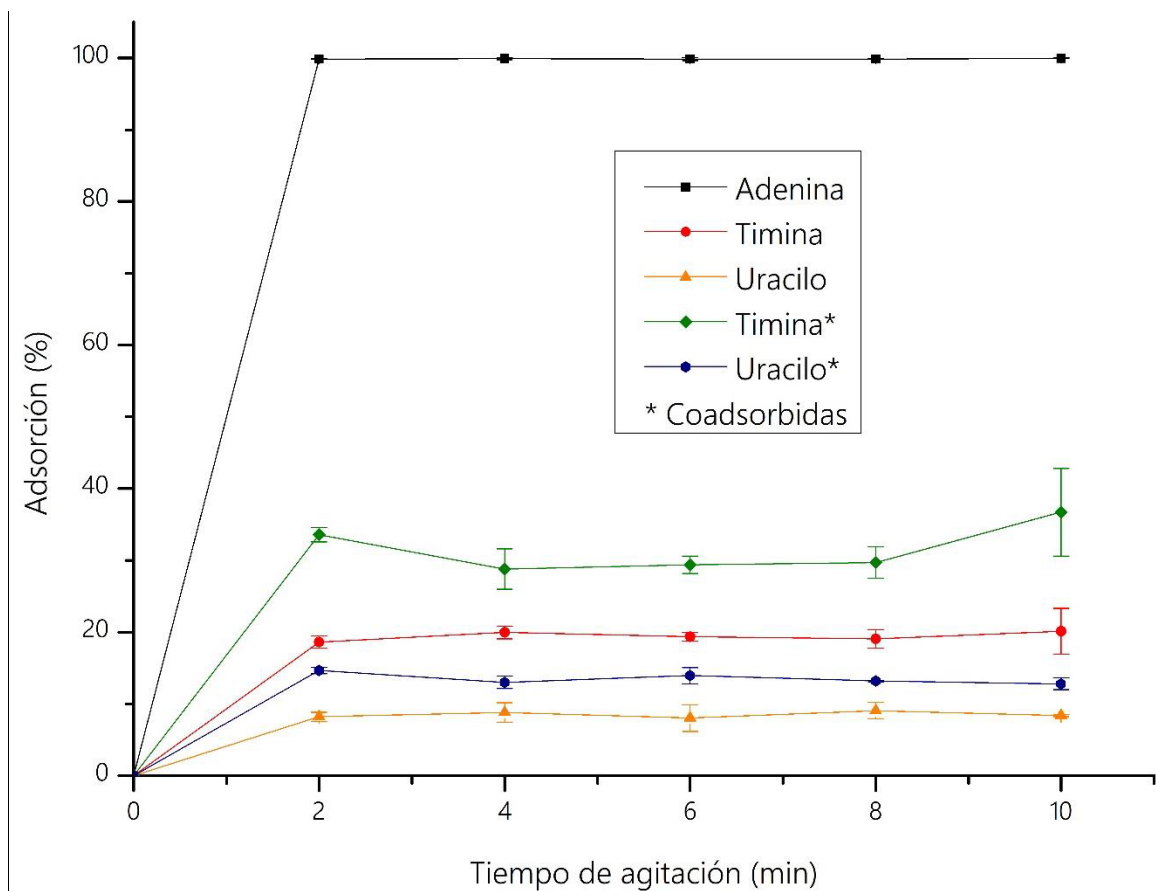


Figura 5.1 Porcentajes de adsorción en la Na^+ -montmorillonita obtenidos a diferentes tiempos de agitación utilizando disoluciones $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a pH 2

Con la Fe (III)-montmorillonita (Fig. 5.2) los porcentajes de adsorción de la timina y el uracilo son más altos, $24.51 \pm 2.033 \%$ y $8.92 \pm 0.76 \%$, respectivamente. Con la adenina en disolución, la timina se coadsorbe en un $61.37 \pm 2.17 \%$ y el uracilo $26.54 \pm 1.03 \%$. La adenina repite el comportamiento observado con la Na^+ -montmorillonita al adsorberse por completo cuando la arcilla tiene Fe (III) en el canal interlamilar. El máximo nivel de adsorción de las bases nitrogenadas se mantiene constante después de los 2 min de agitación.

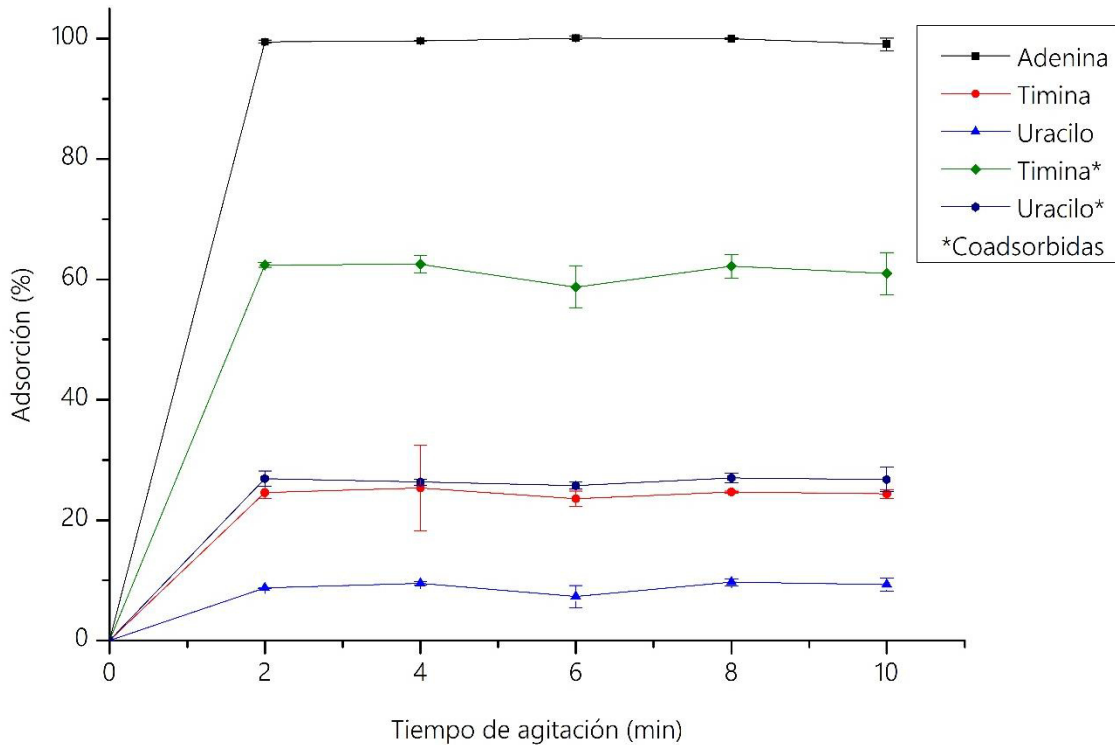


Figura 5.2 Porcentajes de adsorción de las bases nitrogenadas en Fe (III)-montmorillonita

5.1.2 Efecto del pH en la adsorción

Con la Na⁺-montmorillonita se observa una disminución en los porcentajes de adsorción de todas las especies, siendo prácticamente nulo a pH 9 para las pirimidinas (Fig. 5.3).

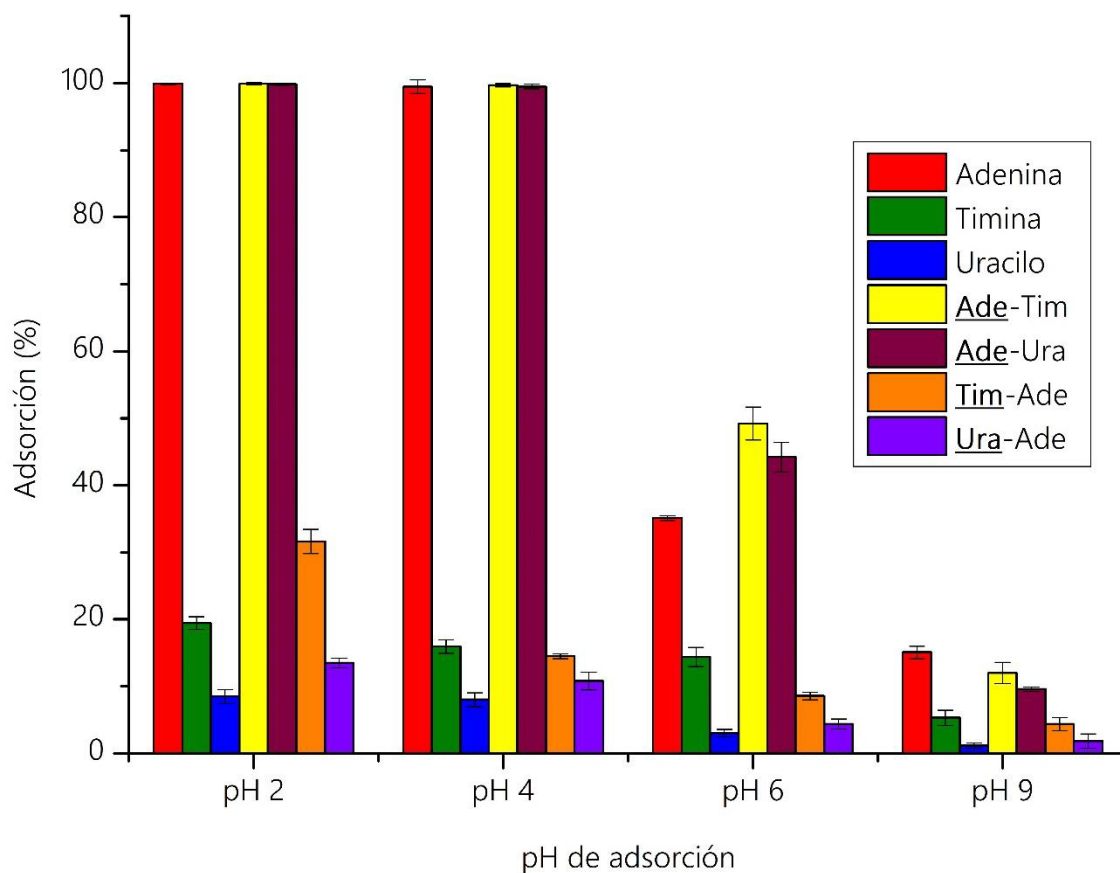


Figura 5.3 Porcentajes de adsorción en la Na⁺-montmorillonita a diferentes valores de pH. En los sistemas binarios la especie graficada es la que aparece subrayada y en negritas

Cuando la adsorción se realiza sobre Fe (III)-montmorillonita, los valores de pH alcalinos favorecen la retención de la timina y el uracilo, alcanzando un porcentaje de adsorción máximo a pH 9 de 53.84 ± 4.50 y 15.11 ± 2.14 %, respectivamente. La adenina se adsorbe por completo en todo el intervalo de pH estudiado y con su presencia, la timina y el uracilo alcanzan los valores máximos de sorción a pH 9 (74.59 ± 2.30 % y 41.35 ± 4.66 %, respectivamente).

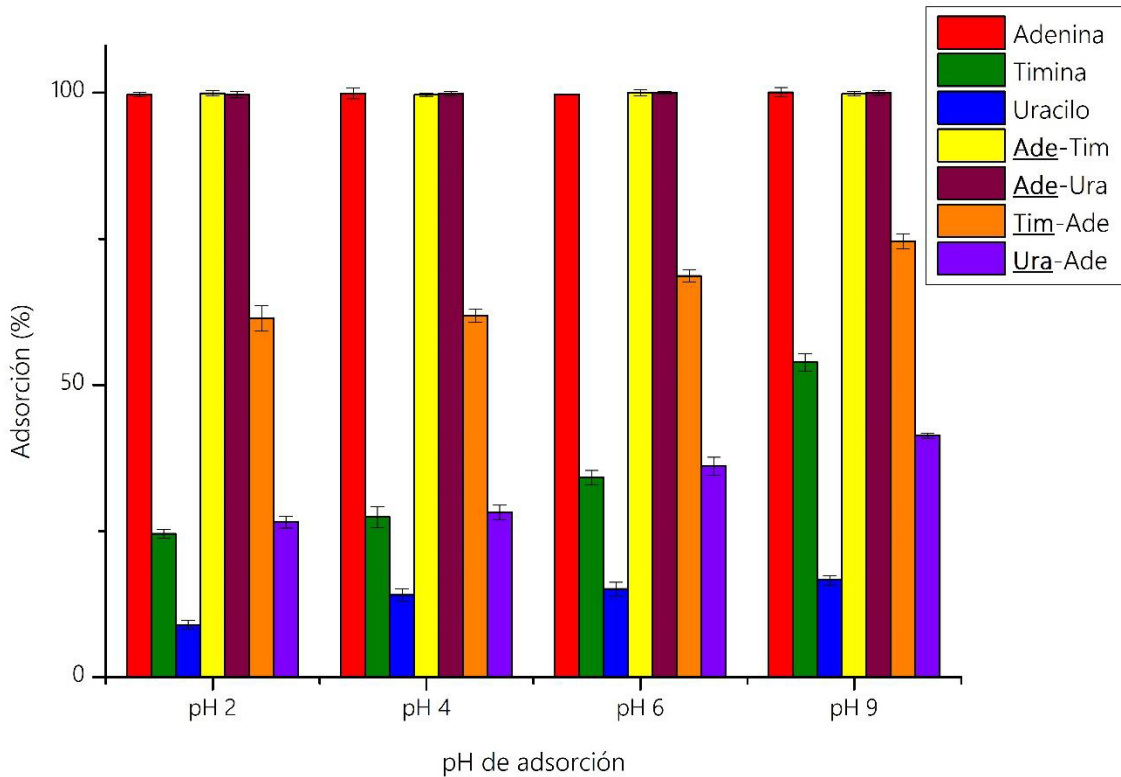


Fig. 5.4 Porcentajes de adsorción en Fe (III)-montmorillonita a diferentes valores de pH. En los sistemas binarios la especie subrayada es la representada en la gráfica

5.1.3 Desorciones

Los porcentajes de recuperación de adenina, timina y uracilo adsorbidos en Na^+ -montmorillonita se encuentran entre el 87 y 95 % siendo ligeramente mayores en los sistemas individuales que en los complementarios (Fig. 5.5).

Con la Fe (III)-montmorillonita (Fig. 5.6) los porcentajes de desorción oscilan entre el 89 y el 99 % repitiendo la misma tendencia de obtener una mayor recuperación en los sistemas individuales.

Ya que los porcentajes de recuperación fueron altos, no se consideró repetir el procedimiento de desorción más de una vez.

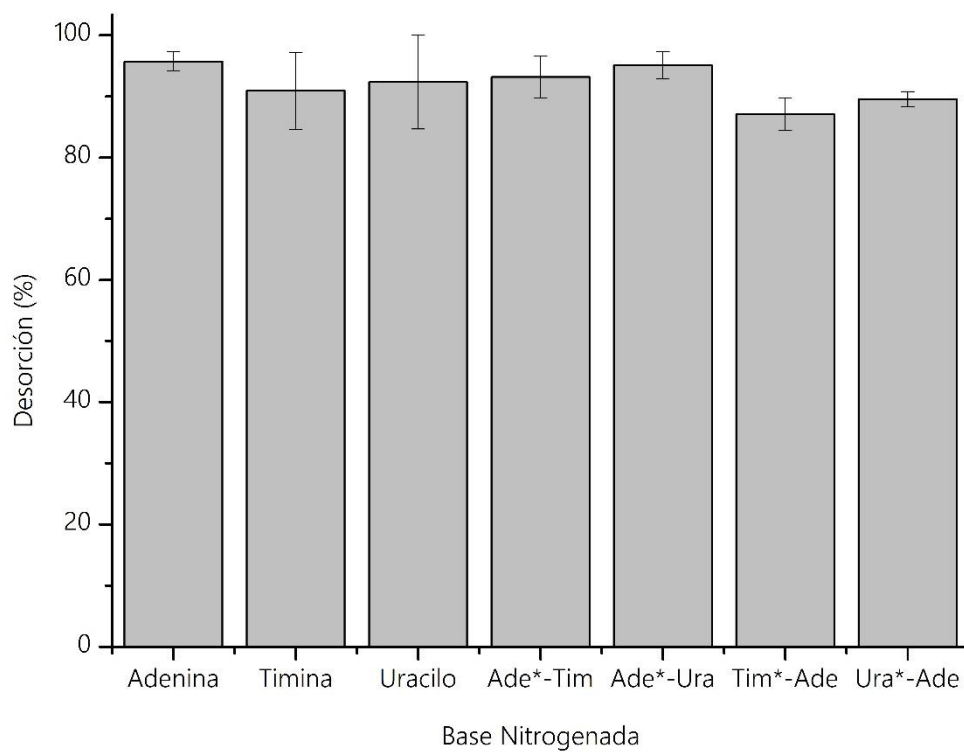


Figura 5.5 Porcentajes de recuperación de las bases nitrogenadas adsorbidas en Na⁺-montmorillonita. En los sistemas binarios se representa la base resaltada con *

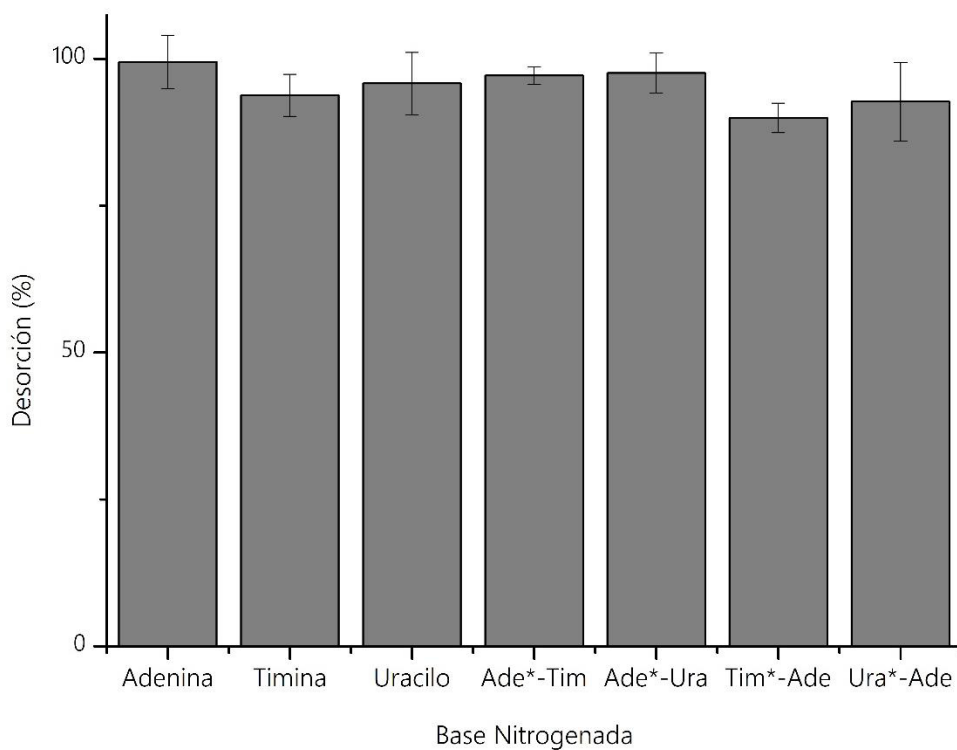


Figura 5.6 Porcentajes de desorción de adenina, timina y uracilo en Fe(III)-montmorillonita. En los sistemas binarios la especie marcada con * es la que se representa en la gráfica

5.1.4 Adsorciones en Na⁺-Montmorillonita con el canal interlaminar y las orillas laminares bloqueadas

Los experimentos realizados con la Na⁺-montmorillonita bloqueada con HDTMA y Na₅P₃O₁₀ revelaron que el canal interlaminar es el sitio donde se adsorbe la mayor cantidad de todas las bases nitrogenadas tanto de manera individual como coadsorbidas. De acuerdo con los resultados obtenidos, la adsorción en las orillas no supera el 4% de la adsorción total (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Porcentajes de adsorción de las bases nitrogenadas (10⁻⁴ mol L⁻¹ pH 2) en Na-mont bloqueada en el canal y orillas

Base nitrogenada	Na ⁺ - montmorillonita	Na ⁺ - montmorillonita- HDTMA	Na ⁺ - montmorillonita- Na ₅ P ₃ O ₁₀
Adenina	99.17 ± 0.8257	37.55 ± 0.4594	95.62 ± 0.1456
Timina	17.62 ± 1.733	3.04 ± 1.2780	16.90 ± 1.8528
Uracilo	4.68 ± 0.2345	2.96 ± 0.01513	3.80 ± 0.1575
Adenina*	99.65 ± 0.2153	38.92 ± 0.6294	99.13 ± 0.4
Timina*	28.00 ± 1.765	4.62 ± 1.0746	24.57 ± 1.9661
Uracilo*	12.49 ± 0.4650	4.00 ± 0.7576	10.29 ± 1.30

5.2 Experimentos de radiólisis

5.2.1 Radiólisis en disolución acuosa

En las Fig. 5.7a se indican las moléculas destruidas por eV de energía aplicado por mL de disolución 10⁻⁴ mol L⁻¹ a pH 2 de cada una de las bases nitrogenadas. En la Fig. 5.9b aparecen los resultados de irradiar las disoluciones adenina-timina y adenina-uracilo.

Tanto en los sistemas individuales como en los binarios, la adenina presenta una mayor estabilidad frente a la radiación ionizante; sin embargo, su comportamiento de degradación se diferencia del de las bases pirimídicas, pues aunque éstas tienen un número superior de moléculas destruidas por unidad de energía, éste se ve poco afectado al aumentar la dosis de radiación *i.e.* casi la totalidad de las moléculas de timina y uracilo son destruidas desde la primera dosis de radiación utilizada; en cambio la degradación de la adenina se da paulatinamente al ir suministrando cada vez más energía. Cuando se irradia en pares, las bases se protegen mutuamente ya que se observa una disminución en la cantidad de

moléculas destruidas a las mismas dosis de radiación que en los sistemas individuales; la cantidad de moléculas de adenina destruidas es mayor en presencia de timina.

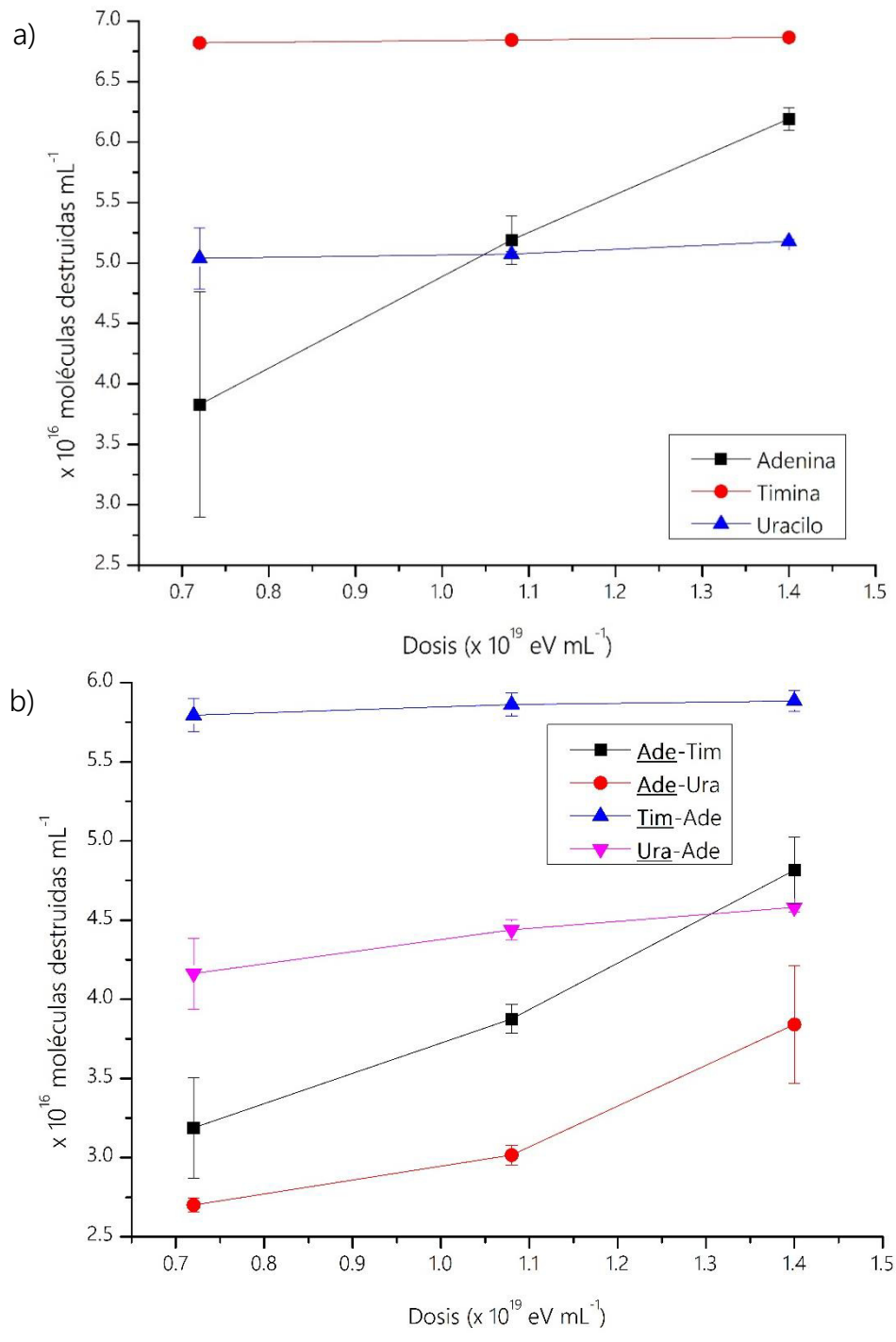


Figura 5.7 Moléculas destruidas por la dosis de irradiación utilizada de los sistemas individuales (a) y de los sistemas complementarios (b). En estos últimos, la especie subrayada es la que se representa en la gráfica

El rendimiento radiolítico o valor G se define como la cantidad de moléculas transformadas (destruidas o formadas) por cada 100 eV de energía y se utiliza para determinar la estabilidad de una molécula frente a la radiación ionizante. La ecuación (1) se utilizó para calcular los valores G de las especies irradiadas, donde C_i representa la concentración inicial en mol L⁻¹ de la muestra y C_f la concentración medida después de irradiar; Δ es el número de Avogadro 6.022×10^{23} moléculas mol⁻¹ y D es la dosis empleada en Gy.

$$G = \frac{(C_i - C_f) \cdot \Delta}{D \cdot 6.241 \times 10^{15} \text{ eV}} \quad (100) \quad (1)$$

La ordenada al origen de la gráfica de valores G vs dosis de radiación (eV mL⁻¹) representa G_0 o valor G estándar y entre menor sea, mayor resistencia a la radiación ionizante tiene una molécula. En la Tabla 5.2 se muestran los valores de G y G_0 calculados para los experimentos realizados a pH 2.

Tabla 5.2 Valores G para las dosis de radiación utilizadas y G_0 . En los sistemas complementarios el valor corresponde a la especie en negrita.

	Base /Dosis ($\times 10^{19}$ eV mL ⁻¹)	0.72	1.1	1.4	G_0
Sistemas individuales	Adenina	0.53	0.48	0.43	0.49
	Timina	0.95	0.63	0.48	0.71
	Uracilo	0.70	0.47	0.36	0.52
Sistemas complementarios	Ade-Tim	0.44	0.35	0.33	0.38
	Ade-Ura	0.37	0.28	0.27	0.31
	Tim-Ade	0.81	0.54	0.41	1.21
	Ura-Ade	0.64	0.41	0.29	0.46

Los valores de G obtenidos reflejan que la adenina es la más estable de las tres bases estudiadas en las condiciones dadas; en los sistemas complementarios se preserva mayor cantidad de ambas nucleobases.

La comparación de los valores G a pH 2, pH 6 y pH 10 (Tabla 5.3) muestran variaciones mínimas, lo que podría indicar que la destrucción de las moléculas es poco dependiente del pH; sin embargo, los productos formados podrían ser diferentes. Este trabajo se limita a evaluar el grado de descomposición de las moléculas, y no se realizaron experimentos para la identificación de los productos de la radiólisis.

El aumento de la concentración de las bases facilita su reacción con los radicales de la radiólisis del agua, lo cual incrementa el valor G.

Tabla 5.3 Rendimientos radiolíticos (G) para disoluciones expuestas a 1.1 eV mL^{-1} a diferentes condiciones. En los sistemas binarios, el valor corresponde a la especie en negrita.

		Sistemas individuales			Sistemas Complementarios			
		Adenina	Timina	Uracilo	Ade-Tim	Ade-Ura	Tim-Ade	Ura-Ade
10^{-4} mol L ⁻¹	pH 2	0.48	0.63	0.47	0.35	0.28	0.54	0.41
	pH 6	0.47	0.63	0.37	0.33	0.31	0.52	0.44
	pH 10	0.49	0.62	0.47	0.39	0.30	0.38	0.26
pH 2	0.005 mol L ⁻¹	2.70	3.60	2.70	1.57	0.32	2.17	2.07

5.2.2 Radiólisis en suspensión

Después de irradiar las suspensiones, estas se decantaron para analizar el sobrenadante mientras que el residuo sólido de la arcilla se liofilizó previo al proceso de desorción de las bases para su posterior análisis. Los cromatogramas de los sobrenadantes no presentaron los picos correspondientes a la adenina, timina o al uracilo a ninguna de las dosis empleadas, de manera que se consideró la completa descomposición de los remanentes en disolución, principalmente de la timina y el uracilo que presentan porcentajes de adsorción no mayores al 30%. Los resultados fueron los mismos con las dos arcillas empleadas.

En la Fig. 5.8 se muestran los porcentajes de recuperación de las bases desorbidas después de irradiar la Na⁺-montmorillonita. Cuando no se aplica radiación gamma, los porcentajes de recuperación de las moléculas adsorbidas supera el 87% mientras que para las muestras irradiadas el porcentaje de recuperación máximo para la adenina es del 85% y para la timina y el uracilo de ~ 20 % a $0.6 \times 10^{21} \text{ eV mL}^{-1}$. Esto puede ser debido a que la incidencia de la energía provoque algún cambio que fortalezca la unión arcilla-base dificultando su remoción, o bien, que los productos de radiólisis de las moléculas de agua que se introducen en el canal interlamilar a la par de las nucleobases aceleren su descomposición. En los sistemas complementarios, la adenina presenta mayores porcentajes de recuperación que disminuyen con el aumento de la dosis; la timina y el uracilo se descomponen por completo a la dosis más alta empleada ($1.7 \times 10^{21} \text{ eV mL}^{-1}$).

Con la Fe (III)-montmorillonita, solo las muestras individuales presentan porcentajes de recuperación apreciables, especialmente la adenina (96 % a 0.6×10^{21} , 72 % a 1.1×10^{21} y 65 % a $1.7 \times 10^{21} \text{ eV mL}^{-1}$); a la dosis de irradiación de $0.6 \times 10^{21} \text{ eV mL}^{-1}$ el porcentaje de desorción de la timina y el uracilo no superan el 15%. En los sistemas complementarios, las bases

pirimidicas muestran picos cercanos al límite de detección del equipo utilizado por lo que se consideró que no hubo recuperación, mientras que la adenina fue recuperada con porcentajes mayores al 80 % incluso a la dosis más alta empleada.

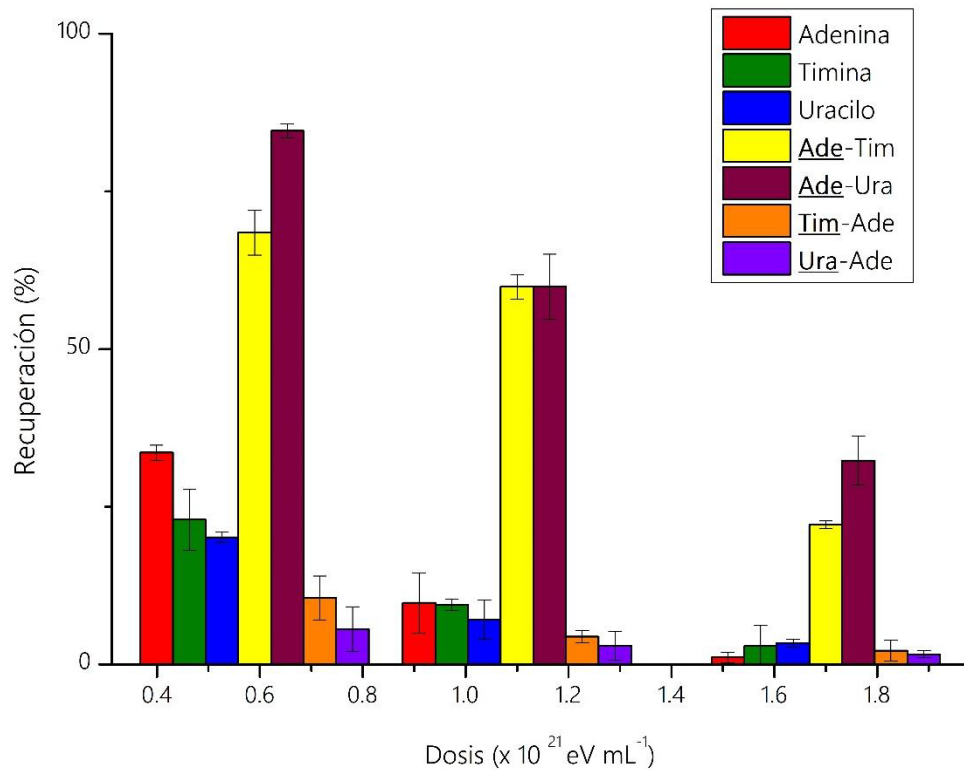


Figura 5.8 Porcentajes de recuperación de las bases adsorbidas en Na⁺-montmorillonita después de irradiar. En los sistemas binarios se representa la especie subrayada

5.2.3 Radiólisis en fase sólida

Tanto en los sistemas individuales como en los binarios adsorbidos en Na⁺-montmorillonita es posible recuperar más del 90 % de la adenina y alrededor del 30 % de timina y uracilo, porcentajes que disminuyen con el incremento de la dosis, pero siempre mayores comparados con la radiólisis en suspensión (Fig. 5.11).

Con Fe (III)-montmorillonita, a la dosis de 0.6×10^{21} eV mL⁻¹, los porcentajes de recuperación en los sistemas por separado de la adenina, la timina y el uracilo son del 83, 44 y 51 % y a la dosis más alta decrecen a 48, 24 y 35 %, respectivamente. En los sistemas binarios, más del 90 % de la adenina se recuperó a todas las dosis, mientras que los porcentajes de recuperación de la timina y el uracilo se encuentran entre el 50 y el 70 %.

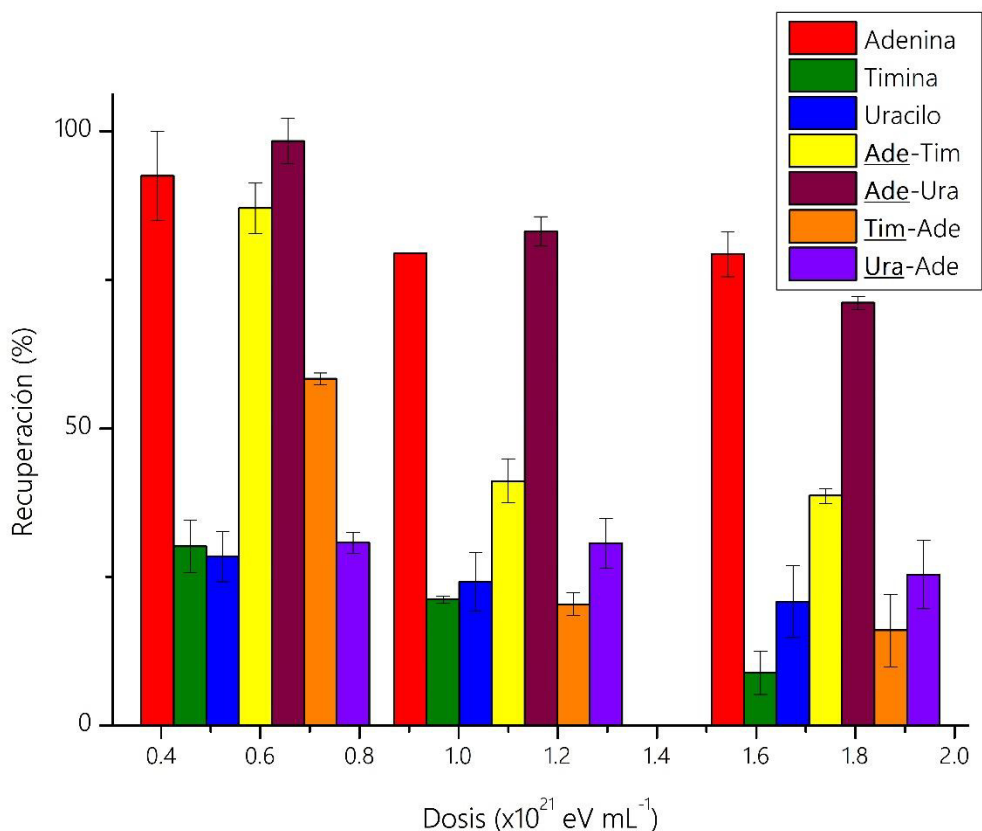


Figura 5.9 Porcentajes de desorción de las bases adsorbidas en Na- montmorillonita irradiadas en fase sólida.
En los sistemas binarios se representa la especie subrayada

5.3 Análisis por HPLC-UV

A pH 2 y a una concentración 10^{-4} mol L $^{-1}$, la adenina presentó un pico de máxima absorción a los 260 nm ($\epsilon \sim 13,400$ M $^{-1}$ cm $^{-1}$), la timina a 264 nm ($\epsilon \sim 7,900$ M $^{-1}$ cm $^{-1}$) y el uracilo a 258 nm ($\epsilon \sim 8,200$ M $^{-1}$ cm $^{-1}$), por lo que se decidió hacer todas las lecturas a 260 nm.

Los tiempos de retención fueron 1.467 ± 0.008 , 2.132 ± 0.006 y 2.508 ± 0.015 para el uracilo, la timina y la adenina, respectivamente. Los límites de detección oscilan entre 3×10^{-6} y 1×10^{-5} mol L $^{-1}$ y los de cuantificación entre 9×10^{-6} y 3×10^{-5} mol L $^{-1}$.

6 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Experimentos de adsorción

De acuerdo con Lailach *et al.* (1968a), el grado de adsorción de una molécula orgánica en la montmorillonita depende de i) el pH de la disolución, ii) las características de la molécula orgánica, particularmente su basicidad y constitución molecular (aromaticidad, masa y estructura molecular) y iii) el catión intercambiable presente en la arcilla. Considerando esto, propone los siguientes procesos:

- a) $R + H^+ \rightleftharpoons RH^+$
- b) $X - mont + RH^+ \rightleftharpoons RH - mont + X^+$
- c) $X - mont + H^+ \rightleftharpoons H - mont + X^+$
- d) $RH - mont + H^+ \rightleftharpoons H - mont + RH^+$
- e) $H - mont + R \rightleftharpoons RH - mont$
- f) $X - mont + R \rightleftharpoons RX - mont$

R= especie orgánica

X= catión intercambiable en el canal interlamilar

mont= montmorillonita

X-mont= complejo arcilla-catión intercambiable

Cuando el pH de la disolución es menor al pK_a de la molécula orgánica esta se protona (a), permitiendo el intercambio catiónico con el metal del canal interlamilar (b); también es posible que el metal intercambiable sea reemplazado por H^+ (c) otorgándole a la arcilla la capacidad de adsorber moléculas neutras (e). Sin embargo, cuando la concentración de protones es muy alta, estos ocuparán mayor número de sitios en la arcilla provocando una disminución en la sorción de la molécula orgánica (d).

Cuando el pH es mayor al pK_a pero menor de 7, los procesos b), c) y e) son los que predominan teniendo en cuenta que el pH de la disolución puede ser hasta dos unidades más alto que el del canal interlamilar (Lailach *et al.*, 1968a).

Finalmente, a valores de pH superiores de 7, la montmorillonita mantiene al catión intercambiable dentro del canal, lo que hace posible la reacción f) en la cual la molécula orgánica se puede coordinar directamente al catión intercambiable o bien a través de puentes de agua con las moléculas de la primera esfera de hidratación que rodean al catión (Hashizume *et al.*, 2010).

Entre las características propias de cada molécula que pueden influir en la sorción se pueden mencionar:

- La basicidad: entre más básica sea la molécula menos se adsorberá a pH altos.
- Aromaticidad: la presencia de electrones π de un anillo aromático, así como la deslocalización de carga puede favorecer la formación de complejos con los metales de transición o interacciones con los oxígenos de los tetraedros de silicio que favorezcan la retención de la molécula (Lailach *et al.*, 1968a).
- Masa molecular: las fuerzas de van der Waals se vuelven un factor importante en la sorción sobre todo con moléculas planas de gran tamaño. Pullman y colaboradores (1965) encontraron que la adsorción de cafeína a pH >7 se debe principalmente a la operación de estas fuerzas.
- Estructura molecular: los análisis de rayos X realizados por Lailach *et al.*, (1968a) revelaron que la principal razón por la que los nucleósidos presentan porcentajes de adsorción bajos comparados con los de las nucleobases es debido a que los primeros no presentan una estructura plana. Hashizume *et al.* (2010) encontraron que cuando la adenina, la citosina y el uracilo se adsorben por formación de complejos con el Mg^{2+} del canal interlaminar, hay una contracción en el ancho de éste, lo cual sugiere que las bases nitrogenadas se orientan paralelamente a la superficie del canal.

El último punto a considerar es la naturaleza del catión intercambiable; en general, el mecanismo de intercambio catiónico predomina con la presencia de metales alcalinos y alcalino-térreos, sobre todo a pH ácidos. Con metales de transición, la formación de complejos se vuelve importante, viéndose favorecida a pH alcalinos. Cuando se trata de metales duros (*e.g.* Cu^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}) la coordinación de la molécula al centro metálico será a través de puentes de agua, mientras que con los metales blandos (*e.g.* Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ag^{+}) la unión será directa (Lagaly *et al.*, 2013).

Se debe puntualizar que la adsorción de una especie orgánica sobre una determinada superficie mineral se lleva a cabo por una combinación de todos los factores y procesos arriba mencionados y que no pueden ser aislados para su estudio individual debido a la complejidad de los equilibrios participantes (Lailach *et al.*, 1968a).

Influencia del pH en la adsorción sobre Na-montmorillonita

El diagrama de distribución de especies de la adenina (Fig. 6.1) muestra el predominio de la molécula protonada en N1 hasta pH 3, lo cual sugiere que, en condiciones ácidas, el mecanismo de intercambio catiónico es el responsable de la adsorción de prácticamente la totalidad de la adenina en la Na⁺-montmorillonita. Con el aumento de pH, los porcentajes de adsorción de la adenina disminuyen considerablemente debido al predominio de la molécula neutra. Según el diagrama, a pH 9 las especies presentes son la II y la III (Fig. 6.1) lo cual significaría que la adenina no solo no se adsorbería sino que sería repelida por las cargas negativas permanentes de la arcilla, no obstante, se observó un porcentaje de adsorción cercano al 20 % lo cual puede ser debido a las interacciones de van der Waals que pueden ocurrir entre la adenina y la superficie o bordes de la arcilla (Perezgasca *et al.*, 2005), además de su coordinación a las moléculas de agua que rodean al catión intercambiable por puentes de hidrógeno.

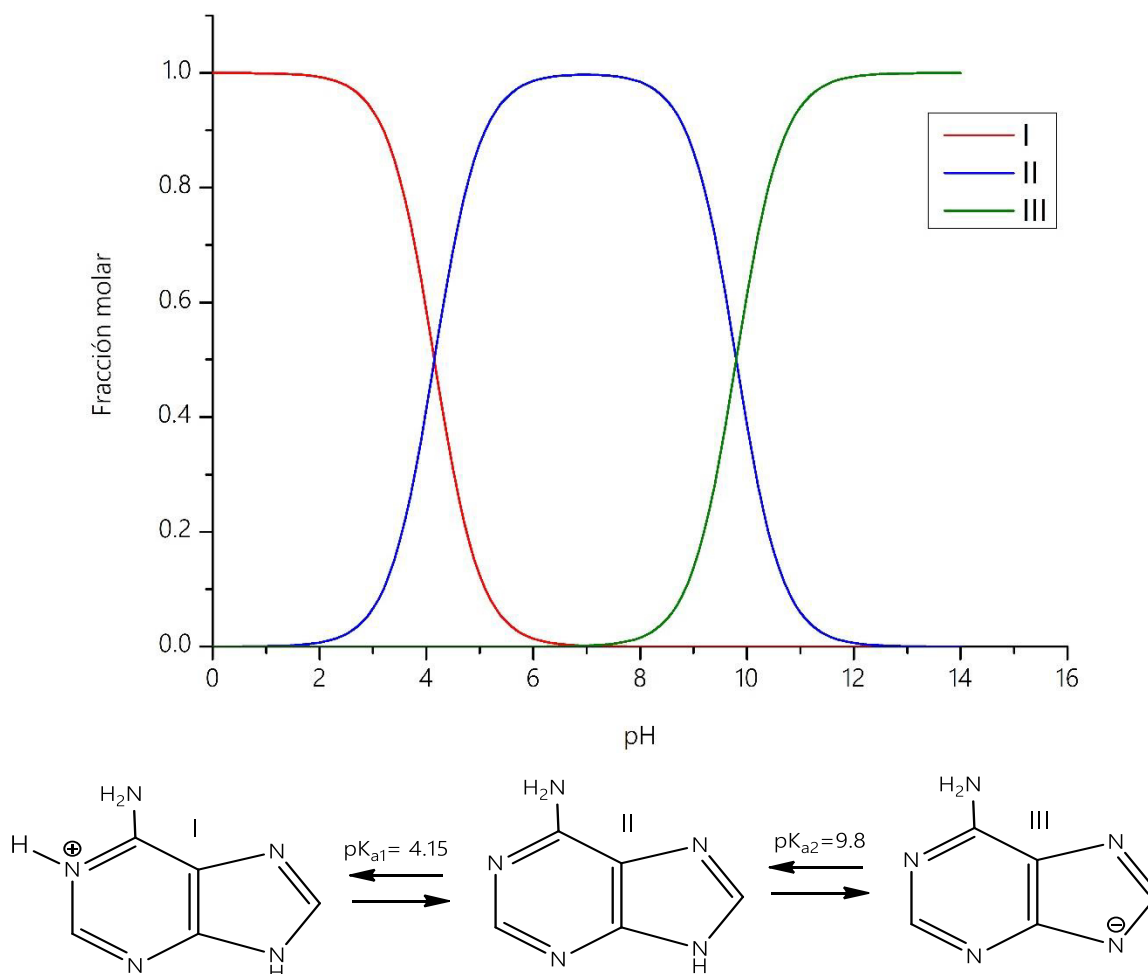


Figura 6.1 Diagrama de distribución de especies de la adenina

Los porcentajes de adsorción de la timina y el uracilo en Na⁺-montmorillonita no superaron el 20 y 10% respectivamente, esto puede ser atribuido a que en el intervalo de pH estudiado ambas moléculas son neutras (Fig. 6.2 y 6.3), lo cual sugiere que los bajos porcentajes de adsorción encontrados son debido a interacciones de van der Waals que no se ven tan favorecidas como con la adenina por la forma y menor masa molecular de las pirimidinas.

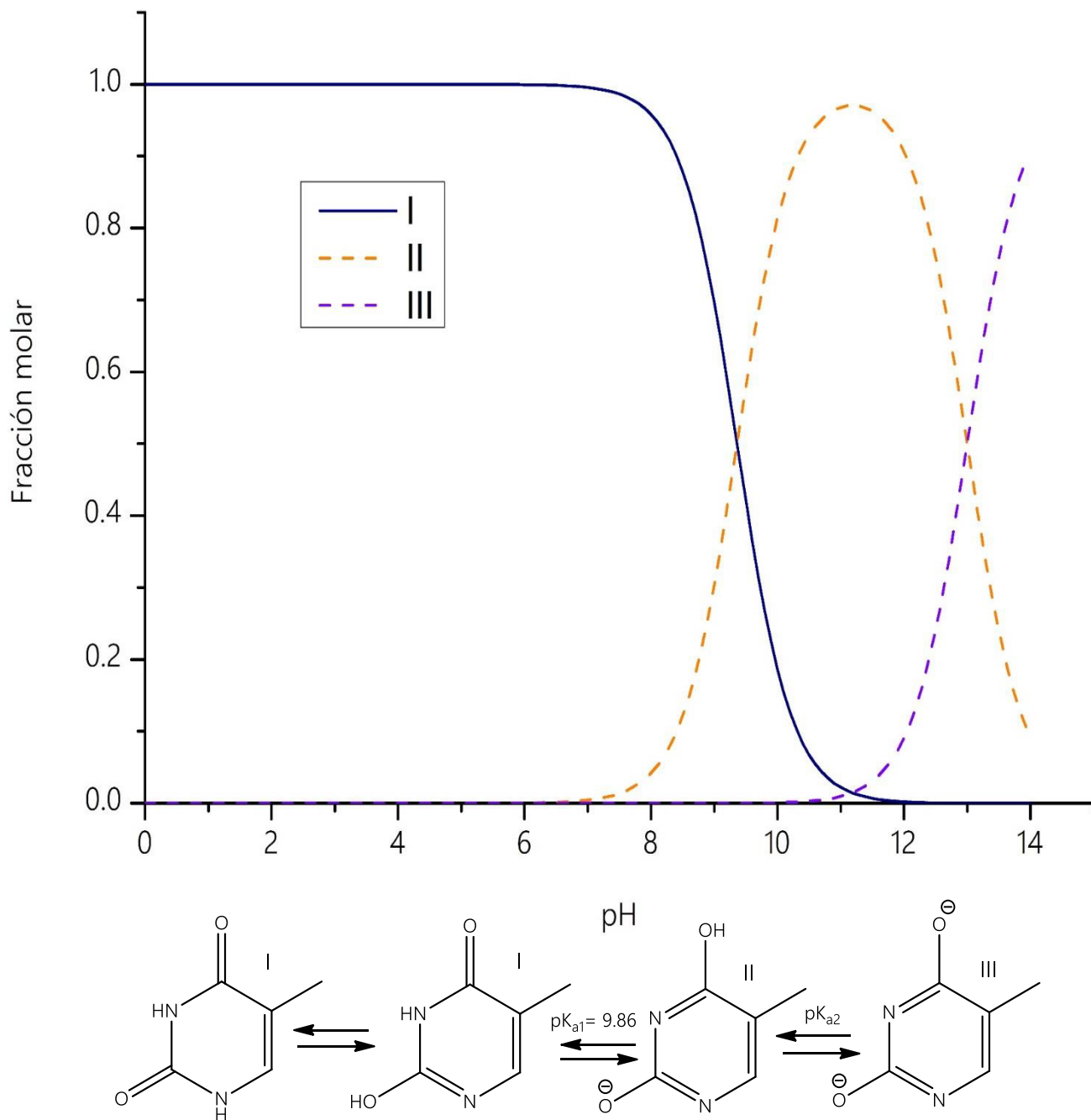


Figura 6.2 Diagrama de distribución de especies de la timina

En trabajos anteriores (Lailach *et al.*, 1968; Guzmán-Marmolejo, 2006) se consideró que la adsorción de estas especies era nula; aquí se indican los porcentajes de adsorción por estar dentro del límite de cuantificación del equipo utilizado para los análisis, además de los bajos valores de dispersión obtenidos en las mediciones.

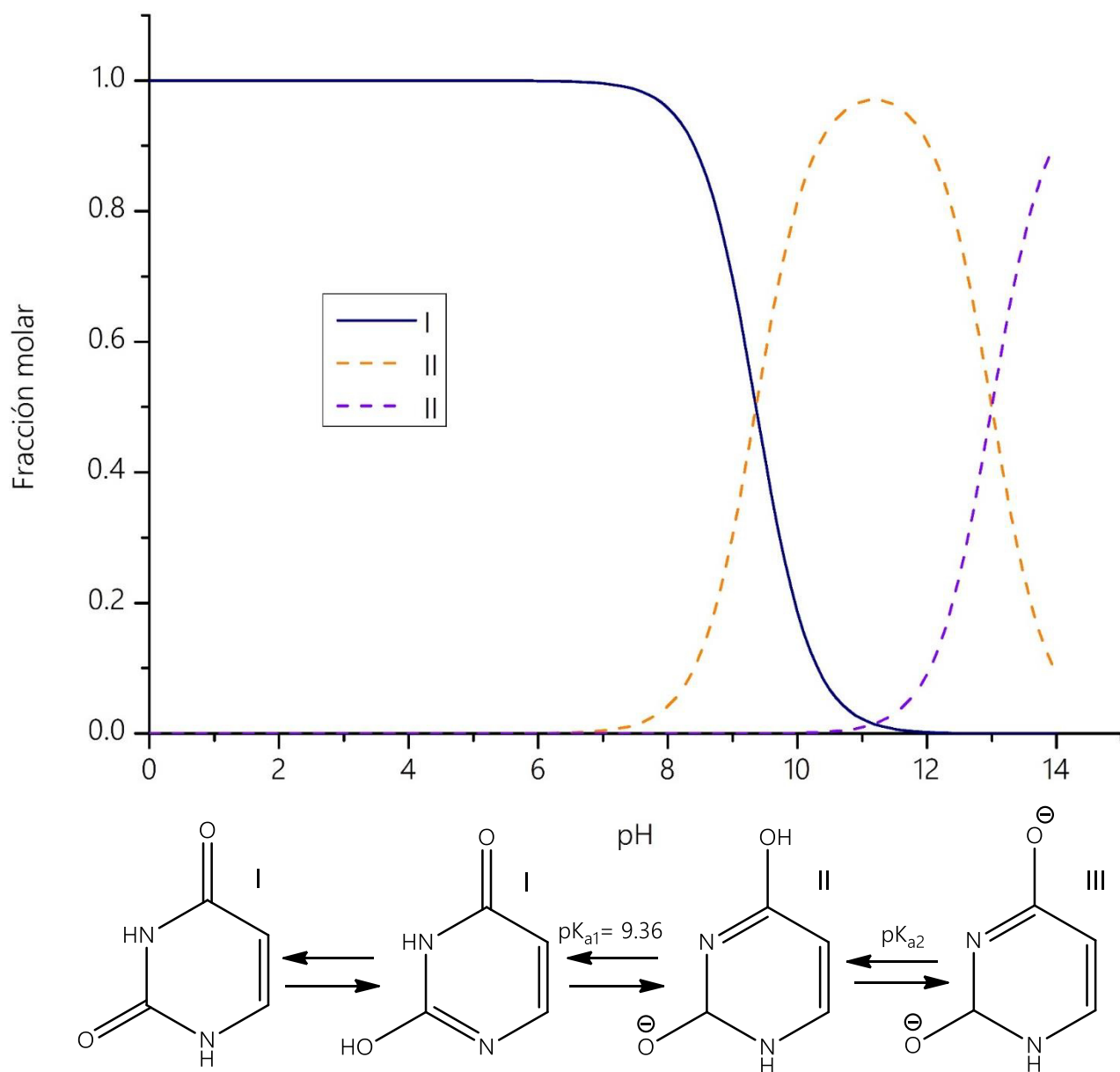


Figura 6.3 Diagrama de distribución de especies del uracilo

Experimentos de adsorción con Na⁺-montmorillonita con el canal y orillas bloqueadas

Los experimentos realizados con Na⁺-montmorillonita con el canal interlamilar bloqueado con HDTMA demuestran su protagonismo en la retención de las bases nitrogenadas al adsorber alrededor del 60 % de éstas. Por su parte, el bloqueo de las orillas reveló que no más del 5 % de las bases se adsorbe en este sitio. Meléndez-López (2008) y Perezgasca *et al.* (2005) estudiaron el sitio de adsorción de la guanina y de algunas nucleobases y sus derivados, respectivamente, encontrando resultados similares con algunas variaciones en los porcentajes de adsorción en el canal que van del 60 al 80 % y en las orillas (20-40 %). Estas variaciones en los valores publicados por diferentes autores son reflejo de lo heterogéneo que pueden llegar a ser este tipo de sistemas debido a la cantidad de variables que se tienen que controlar (*e. g.* tamaño de partícula, tiempo de agitación, disolventes empleados, concentraciones de las disoluciones, temperatura y tiempo de secado, procedimiento de lavado, analitos empleados, etc.). No obstante, los resultados coinciden en que el sitio mayormente responsable de la adsorción de las moléculas orgánicas es el canal interlamilar.

Influencia del pH en la adsorción sobre Fe (III)-montmorillonita

Con la Fe (III)-montmorillonita la adenina presentó porcentajes de adsorción cercanos al 100 % en todo el intervalo de pH estudiado, mientras que los porcentajes de adsorción de la timina y el uracilo alcanzaron un máximo a pH 9 del 50 y 15 %, respectivamente. Después de realizar las adsorciones y centrifugar el sobrenadante para su análisis, se observó que éste tenía una coloración rojiza apenas perceptible, lo cual indica que tuvo lugar el proceso de intercambio catiónico. El aumento del pH del sistema favorece la formación de complejos entre el Fe (III) y las nucleobases, siendo la posición N1 y el grupo -NH₂ en C6 de la adenina los sitios más propensos a complejarse (Lailach *et al.*, 1968b), aunque también se ha publicado la complejación en N7 sobre todo cuando N9 está sustituido (Ibañez *et al.*, 2011); las pirimidinas suelen unirse al centro metálico por N3 (Lailach *et al.*, 1968b).

Co-adsorción

Los experimentos de coadsorción de los sistemas adenina-timina y adenina-uracilo se realizaron a pH 2, 4, 6 y 9 con ambas arcillas, encontrando que a pH 2 la presencia de la

adenina aumenta un 10 % y 5% la cantidad adsorbida en Na⁺-montmorillonita de timina y uracilo, respectivamente. Con el incremento del pH, la adsorción de ambas especies disminuye hasta llegar a ser casi nula en el caso de las pirimidinas, pero mayor si se compara con los porcentajes registrados en los sistemas individuales.

Como se mencionó anteriormente, los pH alcalinos favorecen la formación de complejos entre el catión intercambiable y la nucleobase, hecho que también favorece la coadsorción pues a pH 9 se encontraron los porcentajes de retención más altos de la timina y el uracilo.

A pH ácidos la adenina se encuentra protonada y la timina y el uracilo neutras, mientras que a pH básicos es probable que algunas de las moléculas se encuentren negativamente cargadas, lo cual indica que deberían repelerse, sin embargo, el aumento en la sorción de las pirimidinas en presencia de la adenina evidencia que algún tipo de interacción que ocurre entre ellas favorece la adsorción.

Lailach y Brindley (1969) sugirieron la formación de enlaces de puente de hidrógeno entre la adenina protonada y la pirimidina neutra (Fig. 6.4). Los autores llegaron a esta hipótesis a partir de experimentos con timina y uracilo utilizando varias purinas como bases complementarias (adenina, 2,6-aminopurina, hipoxantina, purina, citosina y cafeína) a pH 2 con Na⁺- y Ca²⁺-montmorillonita, observando que solo con la adenina y la 2,6-aminopurina la timina y el uracilo de adsorbían apreciablemente.

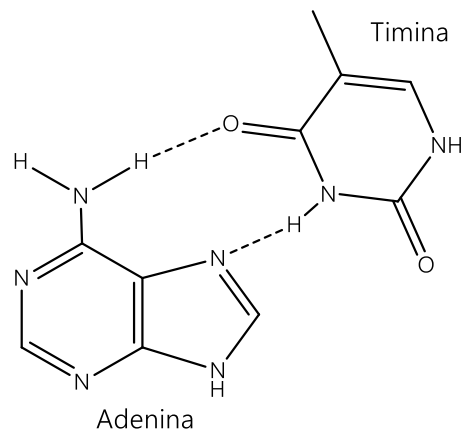


Figura 6.4 Posibles complejos formados en la coadsorción de adenina y timina (Lailach y Brindley, 1969)

Los resultados aquí obtenidos con la Na⁺-montmorillonita concuerdan con el modelo arriba descrito, ya que a pH 2 se da la máxima adsorción de la adenina, lo cual aumenta la probabilidad de que las bases se unan por puentes de hidrógeno. Con el aumento del pH, tanto la adenina como la timina y el uracilo pueden estar neutras o cargadas negativamente siendo repelidas por la superficie negativa del canal interlamilar. No obstante, a pH 9 se

registró un porcentaje mayor de coadsorción de timina y uracilo comparado con los porcentajes de adsorción individuales.

Aunque los porcentajes de adsorción de la timina y el uracilo aumentan significativamente con la alcalinidad del sistema, la presencia de adenina incrementa estos porcentajes en un 20% lo cual sugiere que la interacción entre las bases es lo suficientemente fuerte para vencer la repulsión cuando ambas bases están desprotonadas.

En cuanto a la forma en la que se dan los puentes de hidrógeno, aún hay interrogantes, ya que de acuerdo a los estudios hechos por Ts'o *et al.*, (1963, 1964; Chan, 1964; Schweizer, 1965) en disolución acuosa, las bases nitrogenadas complementarias se apilan verticalmente con una ligera superposición de los anillos, sin embargo, los estudios de rayos X hechos por Lailach y Brindley (1968) muestran una anchura del canal interlamilar correspondiente a un arreglo planar u horizontal de las bases en vez del apilamiento vertical.

Desorción

La desorción de las bases nitrogenadas también sigue el mecanismo de intercambio catiónico; la disolución de KOH 0.1 mol L⁻¹ empleada tenía un pH de 11, lo cual lleva a las bases adsorbidas a la neutralidad o bien a adquirir una carga negativa lo que facilita su sustitución por el K⁺ dentro del canal interlamilar. Con ambas arcillas se obtuvieron porcentajes de desorción superiores al 85 %, siendo ligeramente mayores en los sistemas individuales, lo cual podría indicar que la coadsorción fortalece la unión entre la superficie del mineral y las bases nitrogenadas.

Tiempo de agitación

El equilibrio de los sistemas estudiados es alcanzado rápidamente, lo cual, al menos para la adenina, es indicador de la gran afinidad que tiene con la montmorillonita. Aunque no se encontraron variaciones significativas en los porcentajes de adsorción después de los dos min de agitación, es recomendable agitar el sistema-arcilla base por al menos 1 h y verter la disolución en la arcilla de tal manera que esta no se aglomere para garantizar la homogeneidad de la adsorción de las moléculas en cuestión.

6.2 Experimentos de radiólisis

La radiólisis de una molécula orgánica en ambiente acuoso es un proceso complejo que depende de muchas variables como, por ejemplo, la concentración, el estado físico, pH, la estructura particular de la molécula, la dosis administrada, la intensidad de dosis, el tipo de radiación y la ausencia o presencia de oxígeno u otros gases, etc. (Mosqueira *et al.*, 1996). En este trabajo se realizó la radiólisis de la adenina, timina y uracilo en disolución acuosa en las condiciones en las que se llevó a cabo la adsorción (10^{-4} mol L⁻¹ y pH 2) con el fin de comparar su estabilidad estando libres en disolución y cuando están adsorbidas en una arcilla.

A una concentración tan diluida como es 10^{-4} mol L⁻¹ se requieren dosis muy bajas (teniendo en cuenta la capacidad de Gammabeam 651 PT, ver apéndice 9.1) para destruir la totalidad de las moléculas presentes en disolución. La estabilidad observada, en orden decreciente, frente a la radiación gamma fue adenina > uracilo > timina. Aunque en los sistemas complementarios se degradan menos moléculas de ambas bases que cuando están de manera individual, el sistema adenina-uracilo exhibe un menor número de moléculas destruidas que el de adenina-timina. La estabilidad de las purinas se atribuye al mayor número de estructuras resonantes comparada con las de las pirimidinas (Conlay, 1963).

Aunque la radiólisis de las purinas no ha sido tan estudiada como la de las pirimidinas y en este trabajo no se identificaron los productos obtenidos, varios autores coinciden en que la 8-hidroxiadenina es el producto predominante ya que su formación se ve favorecida por el ataque del radical $\bullet\text{OH}$ en C8 que es la posición con mayor densidad electrónica seguida por la posterior reducción u oxidación del radical formado (van Hemmen & Bleichrodt, 1971); también puede ocurrir la saturación del enlace N7-C8 a través del ataque del radical $\bullet\text{H}$, la desaminación de C6 (formación de hipoxantina) o la adición de un $-\text{NH}_2$ en C2 (formación de isoguanina; Conlay, 1963).

En cuanto a la radiólisis de la timina en ambiente anóxicos, la reacción más reportada es el ataque de $\bullet\text{OH}$ en la posición C5-C6 formando radicales que después dan *cis* y *trans* glicoles, hidroxidihidrotiminas y otros productos que terminan en la apertura del anillo y en la formación de formilpiruvilurea y urea; a pH alcalinos se favorece la abstracción de un protón del grupo $-\text{CH}_3$ en C5 con la posterior formación de 5-hidroximetil uracilo (Infante *et al.*, 1973a). La presencia de O_2 no altera los productos obtenidos, solo su rendimiento y el mecanismo de formación.

Al igual que con la timina, el radical $\bullet\text{OH}$ ataca al enlace C5-C6 del uracilo, prefiriendo en un 82% la posición C5 (Schuchmann y von Sonntag, 1983). Los glicoles formados son más

inestables que los de la timina, sobre todo a pH alcalino en donde se transforman en ácido isobarbitúrico, ácido dialúrico, aloxano, dímeros del uracilo y formilurea (Infante *et al.*, 1973b).

Adsorbidas en las arcillas, las bases nitrogenadas soportan dosis mucho más altas de radiación sobre todo cuando no hay agua en el medio. Este hecho puede ser visto desde dos perspectivas: la primera, en la que se propone que las arcillas desempeñaron un papel como barrera protectora al mantener seguras a las moléculas dentro de ellas cuando la radiación ionizante provenía de un medio externo, o bien, como catalizadores cuando dentro de la estructura de la arcilla se encontraban isótopos radiactivos (^{40}K , ^{238}U , ^{232}Th) o metales de transición que pudieron haber participado en la formación de polímeros o en la síntesis de moléculas más complejas. En ambos casos, el primer papel que juega la arcilla es el de concentrador. Mosqueira y colaboradores (1996), considerando el área superficial específica de la montmorillonita y el ancho del canal interlamilar calculan el volumen interno adsorbido, lo cual, considerando diferentes porcentajes de adsorción permite llegar al factor de concentración correspondiente para cada especie. Así, para una concentración 1 mM de una molécula que se adsorbe 10 %, el factor de concentración es de 140, mientras que para una adsorción del 90 % es de 1300; de igual manera, Guzmán-Marmolejo (2006) calculó un factor de concentración de 470 para la adenina partiendo de una concentración 10^{-4} mol L $^{-1}$. Ya que se propone que la concentración inicial de las moléculas orgánicas en la Tierra primitiva era del orden de 10^{-9} M (Shapiro, 1986; Hulett, 1969), surge la necesidad de encontrar mecanismos que pudieron posibilitar la reacción entre ellas.

En cuanto a los cambios que la radiación ionizante provoca en la arcilla, la información es muy limitada; algunos autores sugieren alteraciones en la cristalinidad, área superficial, tamaño de partícula y en la capacidad de intercambio catiónico, así como efectos paramagnéticos (Clozel, 1994; Corbett *et al.*, 1963); el efecto más publicado es la reducción del Fe (III) estructural al Fe (II) por la acción del radical $\bullet\text{H}$ producido por la radiólisis del agua del canal interlamilar (Drago *et al.*, 1976; Gournis *et al.*, 2000; Plötze *et al.*, 2003), proceso que se favorece con la presencia de moléculas orgánicas adsorbidas en el canal (Gournis *et al.*, 2000); también se producen rupturas de los enlaces Fe-O, Si-O y Al-O que provocan cambios en la carga eléctrica de la arcilla (Plötze *et al.*, 2003) y migraciones de iones pequeños como el H^+ y el Li^+ a las posiciones octaédricas vacantes (Gournis *et al.*, 2000); sin embargo, concluyen que la influencia de la radiación ionizante en las propiedades fisicoquímicas de las arcillas es débil y que su estructura es estable incluso a altas dosis (~ 700 – $2,000$ kGy; Plötze *et al.*, 2003; Negrón-Mendoza *et al.*, 2002).

Comparando los porcentajes de recuperación de las bases nitrogenadas en ambos tipos de arcilla, se aprecia que a medida que la dosis aumenta estos disminuyen, siendo mayores en

fase sólida. Los porcentajes de desorción de las pirimidinas en suspensión con Fe (III)-montmorillonita son ligeramente menores que los de Na⁺-montmorillonita, lo cual podría ser causado por alguna reacción redox entre las nucleobases y el Fe (III), como lo sugirió Gournis *et al.* (2000). Por su parte, con la adenina se encontraron porcentajes de supervivencia mayores en suspensión con la montmorillonita férrica que con la sódica. En estado sólido las nucleobases mostraron mayor resistencia a la radiación gamma adsorbidas en Fe (III)-montmorillonita. Es necesario realizar más estudios para determinar la influencia del catión intercambiable en la protección o degradación de moléculas orgánicas adsorbidas en las arcillas tipo 2:1, así como experimentos que permitan determinar el mecanismo por el cual las arcillas resisten la aplicación de grandes cantidades de energía.

6.3 Implicaciones en Química Prebiótica

Las condiciones que imperaban en la Tierra primitiva durante el desarrollo de la vida, e incluso la fecha exacta del surgimiento de esta, son temas ampliamente debatidos que, con el progreso de las herramientas científicas y los nuevos descubrimientos, cada vez tienen más propuestas, como, por ejemplo, la búsqueda de los ingredientes necesarios para la vida o el desarrollo de la vida fuera de la Tierra mediante la simulación de ambientes extraterrestres (*e.g.* núcleos cometarios, Marte, Titán, etc.). Pese al gran número de propuestas, la mayoría de los escenarios de la Tierra primitiva hasta ahora planteados, involucran la presencia de agua líquida, océanos con mayor salinidad y un pH ligeramente menor al actual (5-7; Westall *et al.*, 2002), temperaturas superficiales entre los 70 y 80 °C, condiciones evaporíticas en las zonas litorales (de Ronde, 1997), poco o nulo O₂ atmosférico y un gran flujo de energía a través de la actividad volcánica e hidrotermal de la Tierra, la radiación UV, los impactos de asteroides, etc.

Si se considera cada una de estas condiciones y se suma la cantidad de moléculas orgánicas que pudieron ser importantes en el desarrollo de la complejidad de la vida, resultan innumerables sistemas imposibles de estudiar, razón por la cual, se plantean experimentos sencillos, con sistemas que involucren la menor cantidad de variables posibles a la vez para ir siguiendo la pista poco a poco.

Los experimentos aquí presentados se realizaron con el propósito de simular un mecanismo de concentración de moléculas orgánicas de relevancia biológica (bases nitrogenadas) por medio de su adsorción en montmorillonita, una arcilla de distribución ubicua que se forma mediante la precipitación de aluminosilicatos en cristales de tamaño micrométrico y que ha

sido ampliamente utilizada en el área debido a su capacidad catalítica en la polimerización del RNA (Ferris y Ertem, 1993; Ferris *et al.*, 1996; Ferris, 2002) así como en la formación de membranas lipídicas (Perry, 2011).

Si bien las condiciones ácidas en las que se ve más favorecida la adsorción no corresponden al pH que se cree tenían los océanos en ese momento, pudieron haber existido microambientes que tuvieran pH más bajos, por ejemplo, aquellos que presentaran ciclos de evaporación (Mortland y Raman, 1968; Frenkel, 1974) o contuvieran cationes que incrementaran la acidez de la arcilla (Mortland, 1970). Banin *et al.* (1985) sugirieron ambientes en los que se exhalaban fumarolas de gases ácidos sobre las arcillas; no obstante, la evidencia fósil refuerza que la vida surgió en ambientes hostiles como los pozos termales (Djokic *et al.*, 2017), además en 2011, Pérez-Jiménez y colaboradores reconstruyeron versiones primitivas (4.2 -3.5 Ga) de la enzima tiorredoxina de los tres dominios (eucarya, bacteria y archaea), para someterla a temperaturas superiores a los 32 °C y a pH ácidos, encontrando que la versión antigua es más eficiente bajo estas condiciones que la moderna, lo cual sugiere que en sus inicios, estas enzimas se desempeñaban en ambientes ácidos con temperaturas elevadas, adaptándose paulatinamente a superficies con temperaturas inferiores y a la neutralidad del medio que hoy impera en la Tierra.

El potasio es un elemento ampliamente distribuido sobre la Tierra, presente en casi todos los tipos de rocas, principalmente en sedimentarias y filosilicatos. Aunque su isótopo radiactivo, el ^{40}K , tiene una abundancia de sólo el 0.0117 %, éste decae a ^{40}Ar emitiendo un rayo gamma de 1.46 MeV. Mosqueira *et al.* (1996) calcularon una razón de dosis de $1.75 \times 10^{-2} \text{ Gy año}^{-1}$ proveniente del ^{40}K presente en minerales arcillosos y una cantidad de 1.8×10^{-7} moles de moléculas transformadas por kg de arcilla en un lapso de 1000 años, lo cual para las concentraciones tan bajas que había en la Tierra primitiva, debió ser significativo. Es por eso que en este trabajo se evaluó el efecto de la radiación ionizante en los sistemas acuosos y en los arcillosos, encontrando que los radicales provenientes de la radiólisis del agua son capaces de transformar una sola molécula en múltiples especies, mientras que, en fase sólida, las moléculas permanecen inalteradas a pesar de grandes flujos de energía altamente penetrante.

7 CONCLUSIONES

Se estudió la adsorción de bases nitrogenadas complementarias en arcillas para evaluar el papel de estas como agentes concentradores y protectores de moléculas orgánicas de relevancia biológica en escenarios de la Tierra primitiva.

Las observaciones principales fueron las siguientes:

- Con Na⁺-montmorillonita, la adenina se adsorbe por completo a valores de pH inferiores a su pK_a, mientras que la timina y el uracilo se adsorben pobremente en todo el intervalo de pH. El mecanismo principal mediante el cual se lleva a cabo la adsorción es el intercambio catiónico.
- La Fe (III)-montmorillonita adsorbe la totalidad de la adenina tanto en pH ácidos como básicos y la adsorción de la timina y el uracilo se favorece con el aumento del pH. Con metales de transición en el canal interlamilar los pH alcalinos favorecen la formación de complejos entre el metal y la molécula orgánica.
- La interacción que se establece entre las nucleobases complementarias parece ser lo suficientemente fuerte para mejorar la adsorción de las pirimidinas.
- Frente a la radiación ionizante, la adenina presenta mayor estabilidad que las pirimidinas estudiadas. Las tres bases resistieron dosis más altas de radiación cuando se encontraban adsorbidas en las arcillas, especialmente cuando se irradió en fase sólida.

Los resultados preliminares del trabajo demuestran el papel protector de las arcillas frente a la radiación gamma y que la coadsorción pudo haber sido un mecanismo importante en la concentración de moléculas orgánicas en la Tierra primitiva; sin embargo, son necesarios más experimentos que permitan conocer mejor la interacción entre las moléculas orgánicas, las superficies minerales y la radiación ionizante. La identificación de los productos de radiólisis en presencia de arcillas, así como la naturaleza de los complejos formados con los metales de transición del canal interlamilar, permitiría explorar la propiedad catalítica que Bernal le atribuyó a las arcillas, así como también si poseen la capacidad de dirigir reacciones químicas.

8 REFERENCIAS

- Ahmad Mushtaq (2013). COBALT-60 production in PARR-1. Isotope Production Division, PINSTECH, Islamabad.
- Algeo, T. J. e Ingall, E. (2007). Sedimentary C_{org}:P ratios, Paleoccean ventilation, and Phanerozoic atmospheric pO₂. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 256: 130–155.
- Albarrán, G. y Collins, C. H. (1998). Radiolysis of carbonates and related organic systems. *Viva Origino*. 26: 117–126.
- Albarrán, G., Negrón-Mendoza, A., Treviño, C. y Torres, J. L. (1988). Role of ionizing radiation in chemical studies. *Radiation Physics and Chemistry*. 31: 821-823.
- Anderson, G. y Arlidge, E. Z. (1962). The adsorption of inositol phosphates and glycerophosphate by soil clays, clay minerals, and hydrated sesquioxides in acid media. *Journal of Soil Science*. 13: 216-224.
- Avetisov, V. A., Goldanskii, V.I., Kuz min, V. V. (1991). Handedness, origin of life and evolution. *Physiscs Today*. 44: 33-42.
- Ban, N., Nissen, P., Hansen, J., Moore, P.B. y Steitz, T.A. (2000). The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution. *Science*. 289: 905–920.
- Banin, A., Lawless, J. G., Mazzurco, J., Church, F. M y Oreberg, J. B. (1985). pH profile of the adsorption of nucleosides onto montmorillonite. *Origins of life*. 15: 89-101.
- Barks, H. L., Buckley, R., Grieves, G. A., Di Mauro, E., Hud, N. V. y Orlando, T. M. (2010). Guanine, adenine, and hypoxanthine production in UV-irradiated formamide solutions: Relaxation of the requirements for prebiotic purine nucleobase formation. *ChemBioChem* 11: 1240–1243.
- Bar-Num, A. y Chang, S. (1983). Photochemical reactions of water and carbon monoxide in Earth's primitive atmosphere. *Journal of Geophysical Research*. 88: 6662-6672.
- Baú, J. P. T., Carneiro, C. E. A., de Souza Jr., I. G., de Souza, C. M. D., da Costa, A. C. S., di Mauro, E., Zaia, C. T. B. V., Coronas, J., Casado, C., de Santana, H. y Zaia, D.A.M. (2011). Adsorption of adenine and thymine on zeolites: FT-IR and EPR spectroscopy and X-

ray diffractometry and SEM studies. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. 42: 19–29.

Bell, E. A., Boehnke, P., Harrison, T. M. y Mao, W. L. (2015). Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon. *PNAS early edition*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1517557112

Bergaya, F. y Lagaly, G. (2013). Chapter 1. General introduction: clays, clay minerals, and clay science. *Developments in Clay Science*. 5A. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-098258-8.00001-8>

Bernal, J. D. (1951). *The physical origin of life*. Routledge and Keegan Paul. Londres. 80 pp.

Bingham, F. T., Sims, J. R., y Page, A. L. (1965). Retention of acetate by montmorillonite. *Soil Science Proceedings Society of America*. 29: 670-672.

Cadene, A., Durand-Vidal, S., Turq, P. y Brendle, J. (2005). Study of individual Na-montmorillonite particle size, morphology and apparent charge. *Colloid and Interface Science*. 285: 719-730.

Carbajal de la Torre, G., Israde-Alántara, I., Espinosa-Medina, M.A., Serrato, J., Negrón-Mendoza, A., Ramos, S., Albarrán, G. y Reyes-Gasga, J. (1997). Structural Characterization of the montmorillonite clay nanometric particles. *Nanostructured Materials*. 9: 335-338.

Carey, F. A. (2000). *Organic Chemistry*. McGraw Hill. 4° ed. EE. UU. Pp. 1090-1103.

Carneiro, C. E. A., Berndt, G., de Souza Jr., I. G., de Souza, C. M. D., Paesano Jr., A., da Costa, A. C. S., di Mauro, E., de Santana, H., Zaia, C. T. B. V., Zaia, D. A. M. (2011). Adsorption of adenine, cytosine, thymine, and uracil on sulfide-modified montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and EPR spectroscopy and X-ray diffractometry studies. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. 41: 453–468.

Castillo-Rojas, S., Negrón-Mendoza, A., Draganic, Z. D. y Draganic, I. G. (1985). The radiolysis of aqueous solutions of malic acid. *Radiation Physics and Chemistry*. 26: 437-443.

Chan, S. I., Schweizer, M. P., Ts'o, P. O. P. y Helmkamp, G. K. (1964). Interaction and association of bases and nucleosides in aqueous solutions-III. *Journal of the American Chemical Society*. 86: 4182-4188.

- Chyba, C. F. 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.
- Cleaves, H. J. (2012). Prebiotic Chemistry: What we know, what we don't. *Evolution: Education and Outreach*. 5: 342–360.
- Cloos, P., Calicis, B., Fripiat, J. J. y Makay, K. (1966). Adsorption of amino-acids and peptides by montmorillonite. I. Chemical and X-ray diffraction studies. *Proceedings International Clay Conference Jerusalem 1966*. Heller, L., Weiss, A. (eds.). 1: 223–232.
- Clowney, L., Jain, S. C., Srinivasan, A. R., Westbrook, J., Olson, W., K. y Berman, H. M. (1996). Geometric parameters in nucleic acids: nitrogenous bases. *Journal of the American Chemical Society*. 118: 509–518.
- Clozel, B., Allard, T. y Muller, J. P. (1994). Nature and stability of radiation induced defects in natural kaolinites: new results and a reappraisal of published works. *Clays and Clay Minerals*. 42: 657–666.
- Conlay, J. J. (1963). Effect of ionizing radiation on adenine in aerated and de-aerated aqueous solutions. *Nature*. 197: 555–557.
- Corbett, W. J., Burson, J. H. y Young, R. A. (1963). Gamma-irradiation of kaolinite. *Clays and Clay Minerals*. 42: 344–355.
- Cruz-Castañeda, J., Meléndez-López, A. L., Ramos-Bernal, S y Negrón-Mendoza, A. (2017) Radiolysis of the Glycolaldehyde-Na⁺Montmorillonite and Glycolaldehyde-Fe³⁺-Montmorillonite Systems in Aqueous Suspension under Gamma Radiation Fields: Implications in Chemical Evolution. <https://doi.org/10.15415/jnp.2017.51013>
- Cruz-Zaragoza E. (1996). Diversos usos de la Fuente de rayos gamma de la UNAM. *Profesores al día*. "A 100 años de la radiactividad".
- Degens, E. T., Matheja, J. y Jackson, T. (1970). Template catalysis: asymmetric polymerization of amino-acids on clay minerals. *Nature*. 227: 492–493.
- De Kruift, Paul. (2013). *Cazadores de microbios*. Editores Nueva Fénix. pp. 17–33.
- Djokic, T. *et al.* (2017). Earliest signs of life on land preserved in Ca. 3.5 Ga hot springs deposits. *Nature Communications*. 8: 15263.

- Donell, O. y Sangster, J. H. (1970). *Principles of Radiation Chemistry*, Amsterdam, Edward Arnold.
- Doner, H. E. y Mortland, M. M. (1969). Intermolecular interaction in montmorillonites: NH-CO systems. *Clays and Clay Minerals*. 17: 265-270.
- Draganic, I. G., Bjergbakke, E., Draganic, Z. D. y Sehested, K. (1991). Decomposition of ocean waters by potassium-40 radiation 3800 Ma ago as a source of oxygen and oxidizing species. *Precambrian Research*. 52: 337-345.
- Draganic, I. J. y Vujosevic, S. I. (1998). Compounds observed in some radiation chemical simulation experiments relevant to prebiotic chemistry. *Viva Origino*. 26: 85-101.
- Draganic, I. (2004). Radiolysis of water: a look at its origin and occurrence in the nature. *Radiation Physics and Chemistry*. 72: 181-186.
- Drago, V., Saitovitch, E. B. y Danon, J. (1977). Mössbauer spectroscopy of electron irradiated natural layered silicates. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 39: 973-979.
- Ertem, G. y Ferris, J. P. (2000). Sequence- and regio-selectivity in the montmorillonite-catalyzed synthesis of RNA. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. 30: 411-422.
- Ertem, G., Steudel, A., Emmerich, K., Lagaly, G. y Schuhmann, R. (2010). Correlation between the extent of catalytic activity and charge density of montmorillonites. *Astrobiology* 10: 743-749.
- Ferris, J. P. (2002). Montmorillonite catalysis of 30-50 mer oligonucleotides: laboratory demonstration of potential steps in the origin of the RNA world. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. 32: 311-322.
- Ferris, J. P. y Ertem, G. (1993). Montmorillonite catalysis of RNA oligomer formation in aqueous solution. A model for the prebiotic formation of RNA. *Journal of the American Chemical Society*. 115: 12270-12275.
- Ferris, J. P., Hill Jr., A. R., Liu, R. y Orgel, L. E. (1996). Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature*. 381: 59-61.
- Ferus, M. et al. (2015). High-energy chemistry of formamide: A unified mechanism of nucleobase formation. | www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1412072111

- Ferus M. et al. (2014). High-energy chemistry of formamide: A simpler way for nucleobase formation. *Journal of Physical Chemistry A*. 118: 719–736.
- Frenkel, M. (1974). Surface acidity of montmorillonites. *Clay and Clays Minerals*. 22: 435-441.
- Friebele, E., Shimoyama, A., Hare, P. E. y Ponnampereuma, C. (1981). Adsorption of amino acid enantiomers by Na-montmorillonite. *Origin of Life*. 11: 173–184.
- Fripiat, J. J., Cloos, P., Calicis, B. y Makay, K. (1966). Adsorption of amino acids and peptides by montmorillonite. II. Identification of adsorbed species and decay products by infrared spectroscopy. *Proceedings International Clay Conference Jerusalem 1966*. Heller, L., Weiss, A. (eds.). 1: 233-245.
- Ganguly, J. y Kundu, K. K. (1993). Protonation/deprotonation energies of uracil, thymine and cytosine in water from e.m.f. /spectrophotometric measurements. *Canadian Journal of Chemistry*.
- Garrison, W. M., Morrison, D. C., Hamilton, J. G., Benson, A. A. y Calvin, M. (1951). Reduction of carbon dioxide in aqueous solutions by ionizing radiation. *Science*. 114: 416-418.
- Garzón, L. y Garzón, M. L. (2001). Radioactivity as a significant energy source in prebiotic synthesis. *Origins of life and evolution of the Biosphere*. 31: 3-13.
- Gournis, D., Mantaka-Marketou, A. E., Karakassides, M. A. y Petradis, D. (2000). Effects of γ irradiation on clays and organoclays: a Mössbauer and XRD study. *Physics and Chemistry of Minerals*. 27: 514-521.
- Greenland, D. J. (1965a). Part I. Mechanisms of interaction between clays and defined organic compounds. *Soils Fertility*. 28: 415-425.
- Greenland, D. J. (1965b). Interactions between clay and organic compounds in soils. Part 2. Adsorption of soil organic compounds and its effects on soil properties. . *Soils Fertility*. 28: 521-532.
- Guggenheim, S. (2017). Introduction to the properties of clay minerals. Department of Geological Sciences, University of Illinois at Chicago.
- Guzmán-Marmolejo, A. (2006). Simulación de microambientes primitivos: radiólisis de las bases púricas y pirimidicas en presencia de una arcilla. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Químicas, UNAM.

- Hartwell, J. M. (1965). The diverse uses of montmorillonite. *Clay Minerals*. 6: 111.
- Hashizume, H. (2015). Adsorption of nucleic acid bases, ribose, and phosphate by some clay mineral. *Life*. 5: 637-350.
- Herrera, A. L. (1932). La Plasmogenia. Nueva Ciencia del Origen de la Vida. Redacción y Administración Luis Morole,44, Valencia. Pp. 17.
- Horton, H. R., Moran, L. A., Gray Scrimgeour, K., Perry, M. D. y Rawn, J. D. (2006). Principles of Biochemistry. Pearson Prentice Hall. 4° ed. Pp. 585-587.
- Infante, G. A., Jirathana, P., Fendler, J. H. y Fendler, E. J. (1973a). Radiolysis of pyrimidines in aqueous solutions. Part I.- Product formation in the interaction of e^-_{aq} , $\bullet H$, $\bullet OH$ and $\bullet Cl_2^-$, with thymine.
- Infante, G. A., Jirathana, P., Fendler, J. H. y Fendler, E. J. (1973b). Radiolysis of pyrimidines in aqueous solutions. Part II.- Product formation in the interaction of e^-_{aq} , $\bullet H$, $\bullet OH$ and $\bullet Cl_2^-$, with uracil.
- IUPAC (1990). Glossary of atmospheric chemistry terms. Pp. 2171.
- Kodama, H., y Schnitzer, M. (1968). Effect of interlayer cations on the adsorption of a soil humic compound by montmorillonite. *Soil Science*. 106: 73-74.
- Lailach, G. E. y Brindley, G. W. (1969). Specific co-adsorption of purines and pyrimidines by montmorillonite (Clay-organic studies XV). *Clays and Clay Minerals*. 17: 95-100.
- Lailach, G. E., Thompson, T. D. y Brindley, G. W. (1968a). Absorption of pyrimidines, purines, and nucleosides by Li-, Na-, Mg-, and Ca-montmorillonite (Clay-organic studies XII). *Clays and Clay Minerals*. 16: 285-293.
- Lailach, G. E., Thompson, T. D., y Brindley, G. W. (1968b). Absorption of pyrimidines, purines, and nucleosides by Co-, Ni-, Cu-, and Fe(III)-montmorillonite (Clay-organic studies XIII). *Clays and Clay Minerals*. 16: 295-301.
- Law, J. P., Jr., y Kunze, G. W. (1966). Reactions of surfactants with montmorillonite: Adsorption mechanisms. *Soil Science Proceedings Society of America*. 30: 321-327.
- Lazcano-Araujo, A. y Miller, S. L. (1994). How long did it take for life to begin and evolve to cyanobacteria? *Journal of Molecular Evolution*. 39: 549-554.

- Lemmon, R. M. (1969). Chemical Evolution. *Chemical Reviews*. 70: 95:109.
- Meléndez- López, A. L. (2008). Sitio de adsorción de guanina en montmorillonita de sodio. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- Menor-Salvón, C., Ruiz-Bermejo, M., Guzmán, I. M., Osuna-Esteban, S. y Veintemillas-Verdaguer, S. (2009). Synthesis of Pyrimidines and Triazines in Ice: Implications for the Prebiotic Chemistry of Nucleobases. *Chemistry an European Journal*. 15: 4411-4418.
- Miller, S. (1953). Production of aminoacids under possible Primitive Earth conditions. *Science*. 117: 528-529.
- Miller, S. L., Urey, H. C. y Oró, J. (1976). Origin of organic compounds on Primitive Earth and in meteorites. *Journal of Molecular Evolution*. 9: 59-72.
- Mortland, M. M. (1968). Pyridinium-montmorillonite complexes with ethyl N, N-Di-n-propylthiolcarbamate (EPTC). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 16: 706-707.
- Mortland, M. M. (1970). Clay organic complexes interactions. Michigan State University. Pp. 75-114.
- Mortland, M. M. y Raman, K. V. (1968). Surface acidity of smectites in relation to hydration, exchangeable cation and structure. *Clays and Clay Minerals*. 16: 393-398.
- Mosqueira, F. G., Albarrán, G. y Negrón-Mendoza, A. (1996). A review of conditions affecting the radiolysis due to ^{40}K on nucleic acid bases and their derivatives adsorbed on clay minerals: implications in Prebiotic Chemistry. *Origins of life and Evolution of the Biosphere*. 26: 75-94.
- Mottl, M., Glazen, B., Kaiser, R. y Meech, K. (2007). Water and Astrobiology. *Chemi-Erde-Geochemistry*. 67: 253-282.
- Navarrete, M. y Cabrera, L. (1993). Introducción al estudio de los radioisótopos. *Facultad de Química, UNAM*. Pp. 183-187.
- Nave, C. R. (2017). Hyperphysics. Georgia State University. <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/index.html>. Fecha de consulta: marzo 2017.
- Negrón, A., Ramos, S., Blumenfeld, A. L., Pacheco, G. y Fripiat, J. J. (2002). On the structural stability of montmorillonite submitted to heavy γ -irradiation. *Clays and Clay Minerals*. 50: 35-37.

- Negrón-Mendoza, A., Albarrán, G., Treviño, C. y Torres, J. L. (1988). Applications of radio and radiation chemistry to chemical evolution studies. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 124: 281-288.
- 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*. C. Ponnampereuma y L. Chela-Flores (Eds). A Deepak Publishing Hampton, Va. Pp. 235-237.
- Negrón-Mendoza, A., Ramos-Bernal, S. y Mosqueira, F. G. (2010). The role of clay interactions in chemical evolution. In: Basiuk, V.A. (Ed.), *Astrobiology: Emergence, Search and Detection of Life*. American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, USA, pp. 213–235.
- Nutman, A. P., Bennett, V. C., Friend, C. R. L., Van Kranendonk, M. J. y Chivas, A.R. (2016). Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700 million-year-old microbial structures. *Nature*. 537: 535-538.
- Oró, J. y Kimball, A. P. (1961). Synthesis of purines under possible primitive Earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 94: 217-227.
- Palm, C. y Calvin, M. (1962). Primordial Organic Chemistry. I. Compounds resulting. *Journal of the American Chemical Society*. 84: 2115–2121.
- Perezgasca, L., Serrato-Díaz, A., Negrón-Mendoza, A., De Pablo Galán, A. y Mosquera F. G. (2005). Sites of adsorption of adenine, uracil, and their corresponding derivatives on sodium montmorillonite. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*. 35: 91-110.
- Pérez-Jiménez, R. , Inglés-Prieto, A., Zhao, A., Sánchez-Romero, I., Alegre-Cebollada, J. et al. (2011). Single-molecule paleoenzymology probes the chemistry of resurrected enzymes. *Nature Structural & Molecular Biology*. 18: 592-597.
- Perry, C. (2011). Clay-armored bubbles may have formed first protocells. Cambridge MA: Harvard University: EurekAlert!
- Pinti, D. (2005). The origin and evolution of the oceans. *Lectures in Astrobiology*. 1: 83-112.
- Plötze, M., Kahr, G. y Hermanns-Stengele, R. (2003). Alteration of clay minerals-gamma-irradiation effects on physicochemical properties. *Applied Clay Science*. 23: 195-202.
- Ponnampereuma, C., Lemmon, R. M., Mariner, R. y Calvin, M. (1963). Formation of adenine by electron irradiation of methane, ammonia and water. *Proceedings of the National Academy of Sciences US*. 49: 737–740.

- Pullman, B., Claveire, P. y Caillet, J. (1966). van der Waals-London interactions and the configuration of hydrogen-bonded purine and pyrimidine pairs. *Proceedings of the National Academy of Sciences US*. 55: 904-912.
- Rao, M., Odom, D. G. y Oró, J. (1980). Clays in prebiological chemistry. *Journal of Molecular Evolution*. 15: 317-331.
- Rautureau, M., de Sousa, Figueiredo-Gomes, C., Liewig, N. y Katouzian-Safadi, M. (2017). Chapter 2: Clay and Clay Mineral Defitinions. *Clays and Health*. Pp. 5-31. DOI 10.1007/978-3-319-42884-0_2
- Rye, R., Kuo, P. H. y Holland, H. D. (1995). Atmospheric carbon dioxide concentrations before 2.2 billion years ago. *Nature*. 378: 603-605.
- Schweizer, M. P., Chan, S. I., y Ts'o, P. O. P. (1965). Interaction and association of bases and nucleosides in aqueous solutions- IV. *Journal of the American Chemical Society* 87: 5241-5247.
- Stanley, Steven M. (1999). *Earth System History*. New York: W.H. Freeman and Company. p. 323.
- Tamura, H., Katayama, N. y Furuichi, R. (1996). Modeling of ion-exchange reactions on metal oxides with the Frumkin Isoterm. 1. Acid-base and charge characteristics of MnO₂, TiO₂, Fe₃O₄ y Al₂O₃ surfaces and adsorption affinity of alkali metal ions. *Environmental Science and Technology*. 30: 1198.
- Ts'o, P. O. P., Melvin, I. S., y Olsen, A. C. (1963). Interaction and association of bases and nucleosides in aqueous solutions. *Journal of the American Chemical Society*. 85: 1289-1296.
- Ts'o, P. O. P. y Chan, S. I. (1964). Interaction and association of bases and nucleosides in aqueous solutions –II. *Journal of the American Chemical Society*. 86: 4176-4181.
- Urey, H. C. (1952). *The planets: Their Origin and Development*. New Heaven Yale University Press. 245 pp.
- Van Hemmen, J. J. y Bleichrodt, J. F. (1971). The decomposition of adenine by ionizing radiation. *Radiation Research*. 46: 444-456.
- Villafañe-Barajas, S. A. (2017). Estudios de sorción y estabilidad de componentes de ácidos nucleicos en ambientes primitivos: Relevancia en Química Prebiótica. Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM.

- Schuchmann, M. N. y von Sonntag, C. (1983). The radiolysis of uracil in oxygenated aqueous solutions. A study by product analysis and pulse radiolysis. *Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 1*. II: 1525-1531.
- Walker, J. C. G. (1977). Evolution of the Atmosphere. En: Kasting, J. F. (1993). Evolution of the Earth's atmosphere and hydrosphere: Hadean to Present. Engel M. H. *et al.* (Eds). Plenum Press, New York.
- Walsh, M. M. (1992). Microfossils and possible microfossils from the early Archean Onverwacht Group, Barberton Mountain Land, South Africa. *Precambrian Research*. 54: 271-293.
- Watson, J. D. y Crick, F. H. C. (1953). Molecular Structure of nucleic acids. *Nature*. 171: 737-738.
- Westall, F., de Wit, M., Dann, J., van der Gaast, S., de Ronde, C. E. J. y Gerneke, D. (2001). Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally influenced shallow water sediments, Barberton greenstone belt, South Africa. *Precambrian Research*. 106: 93-116.
- Wickramasinghe, C. (2003). Panspermia according to Hoyle. *Astrophysics and Space Science*. 285: 535-538.
- Wilde, S. A., Valley J. W., Peck W. H. y Graham C. M. (2001). Evidence from detrital zircons for the existence of continental crust and oceans on the Earth 4.4 Gyr ago. *Nature*. 409: 175-8.
- Yamagishi, A. (1985). Chromatographic resolution of enantiomers having aromatic groups by an optically active clay-chelate adduct. *Journal of the American Chemical Society*. 107:
- Yariv, S., Russell, J. D. y Farmer, V. C. (1966). Infrared study of the adsorption of benzoic acid and nitrobenzene in montmorillonite. *Israel Journal of Chemistry*. 4: 201-213.
- Zaia, D. A. M. (2012). Adsorption of amino acids and nucleic acid bases onto minerals: a few suggestions for prebiotic chemistry experiments. *International Journal of Astrobiology II*. 4: 229-234.

9 APÉNDICES

9.1 Interacción de la radiación con la materia

La unidad de irradiación del Instituto de Ciencias Nucleares (Fig. 9.1) utiliza barras de ^{60}Co como fuente radiactiva ya que este emite dos rayos gamma de 1.17 y 1.33 MeV de energía (Fig. 9.2). El Gammabeam 651 PT es un irradiador de uso semi-industrial de 46, 776 Ci, cuyo porta muestras en forma de "V" permite tener tasas de dosis variables, característica que lo hace principalmente útil en la investigación (Cruz-Zaragoza, 1996). El ^{60}Co se sintetiza artificialmente bombardeando ^{59}Co con una fuente de neutrones lentos (e.g. ^{252}Cf termalizado con agua o en un reactor tipo CANDU; Ahmad, 2013).

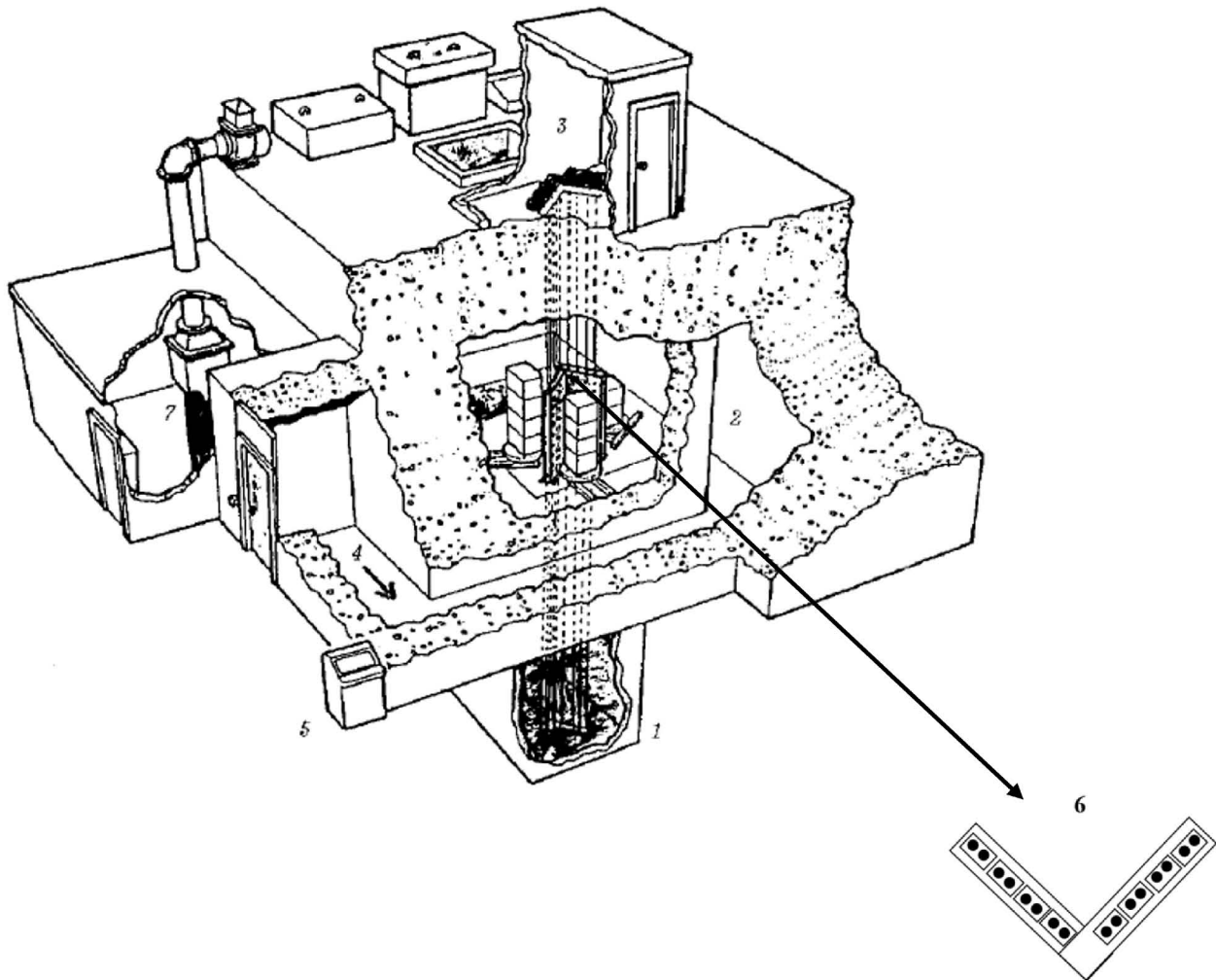


Fig. 9.1 Esquema general del Gammabeam 651 PT. 1) Alberca de almacenamiento de los lápices de ^{60}Co . 2) Cuarto de cámara de irradiación. 3) Mecanismo para el movimiento de las fuentes. 4) Laberinto de acceso a la cámara de irradiación. 5) Consola de control. 6) Portamuestras, cada punto representa una posición. 7) Cuarto de compresores de aire, filtro de aire, plata de purificación del agua de la alberca y tableros de control (Cruz-Zaragoza, 1996).

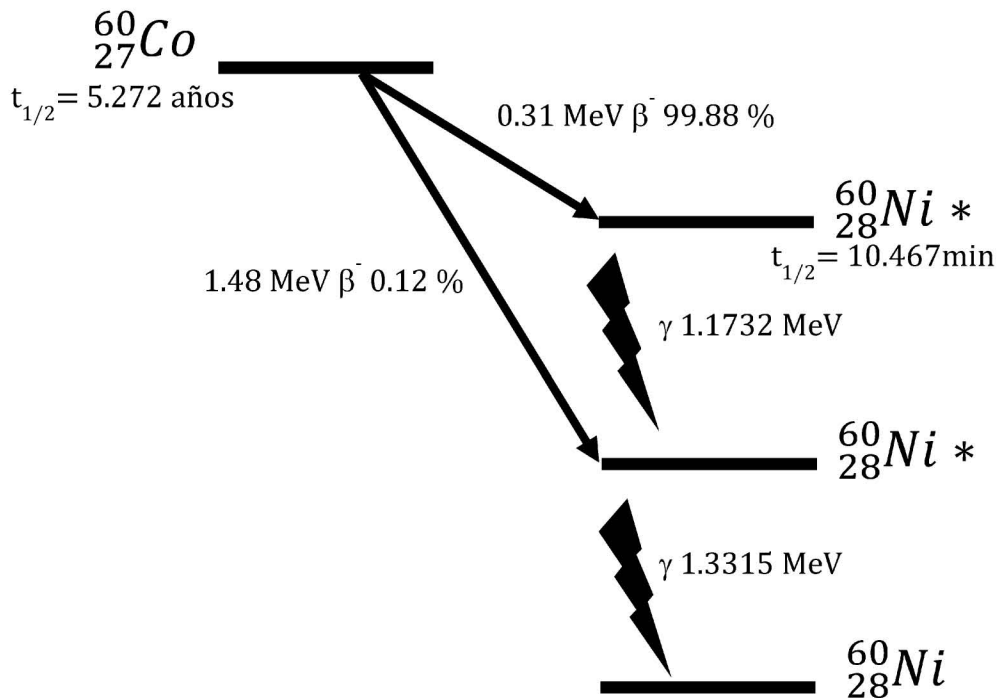


Fig. 9.2 Diagrama de decaimiento del ${}^{60}\text{Co}$

Los rayos gamma constituyen un ejemplo de radiación ionizante, lo cual significa que tienen tanta energía que ya no es posible para los átomos disiparla rotando, vibrando o por medio transiciones electrónicas, sino más bien los electrones se ven obligados a “abandonar” al átomo. Esto puede ocurrir a través de tres mecanismos principales (Nave, 2017):

- Efecto fotoeléctrico: en el primer paso, el fotón transfiere toda su energía a un electrón fuertemente unido al átomo y lo expulsa de éste, inmediatamente después el electrón choca con la materia que lo rodea y transfiere la energía (Fig. 8.3). Esta interacción sólo es posible cuando el fotón tiene la energía suficiente para vencer la energía de enlace y expulsar al electrón del átomo; la energía restante se convierte en energía cinética. Generalmente, los electrones expulsados son de niveles internos por lo que un electrón de niveles superiores “cae” para ocupar la vacancia emitiendo rayos X de longitud de onda característica.
- Dispersión de Compton: el fotón incidente transfiere solo parte de su energía a un electrón débilmente unido al núcleo (usualmente de niveles superficiales) mediante una colisión elástica. Después de la colisión, el fotón se propaga en una dirección distinta a la que incidió y con una longitud de onda menor que la longitud de onda del fotón incidente. Este es el principal evento que ocurre en la irradiación de compuestos orgánicos y en el agua.

- c) Producción de pares: cuando los fotones tienen una energía superior a 1.022 MeV, e interactúan con un núcleo pesado, la energía se convierte en materia y se producen dos partículas, un electrón y un positrón, cada una con una energía de 0.51 MeV.

En la Fig. 9.3 se muestra una representación gráfica de los tres tipos de interacciones.

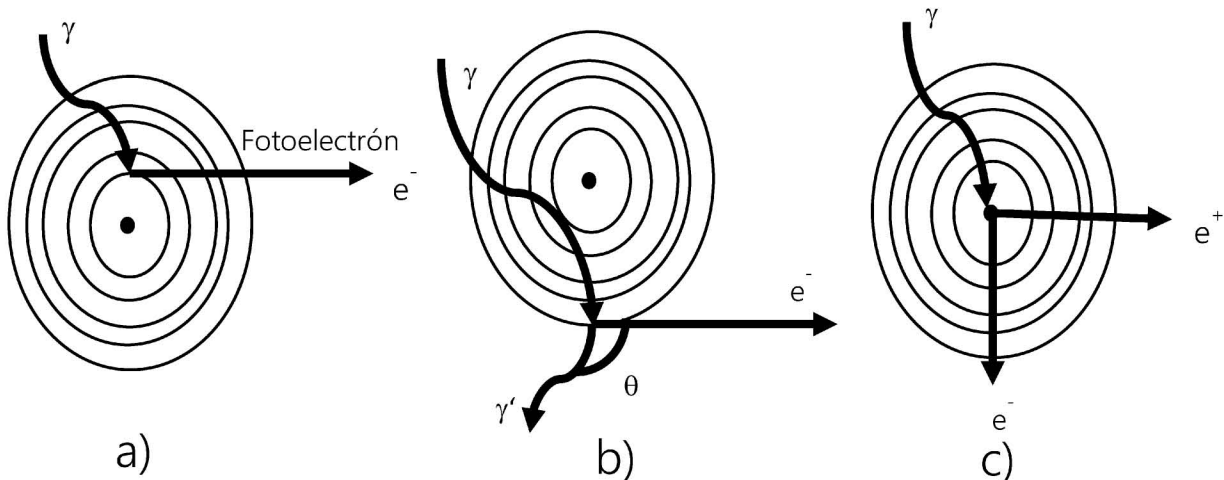


Fig. 9.3 a) Efecto fotoeléctrico. b) Dispersión de Compton y c) Producción de pares

La radiólisis es la disociación de moléculas provocada por la radiación ionizante; debido a los efectos que puede tener dentro del organismo, la radiólisis del agua ha sido ampliamente estudiada hasta el punto de considerar ambientes primitivos, pues algunos autores sugieren que el conjunto de reacciones y las especies formadas como resultado de la interacción del agua con radiación de alta energía pudo haber sido importante en el desarrollo de la vida e.g. al aportar oxígeno y especies oxidantes al medio (Draganic *et al.* 1991).

En general, las reacciones de radiólisis son muy complejas ya que se pueden llegar a formar muchas especies dependiendo de las condiciones (e.g. LET de la radiación, pH de la disolución, potencial redox, presencia o ausencia de O₂ u otros gases). En el caso del agua, se han publicado hasta 87 especies, no obstante, cuando se utiliza radiación con bajo LET, como la gamma y se desplaza el O₂ disuelto, solo algunas se consideran las especies principales (Fig. 9.4).

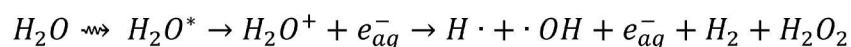


Fig. 9.4 Ecuación química general de la radiólisis del agua

9.2 Obtención de agua tridestilada

Con el fin de asegurar en la mayor medida posible la ausencia de impurezas orgánicas que pudieran alterar los resultados experimentales, el agua bidestilada se hace pasar primero en una disolución básica con 1 g de KMnO_4 y 1 g de NaOH y después por una disolución con 0.5 mL de H_2SO_4 concentrado y 1 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, ambas por cada litro de agua. Finalmente, el agua se destila una última vez antes de ser usada.

9.3 Limpieza del material de vidrio

Todo el material de vidrio utilizado en química de radiaciones debe ser sumergido en una mezcla caliente de HNO_3 y H_2SO_4 (1:3) durante al menos 7 h. Después de neutralizar el exceso de ácido con bicarbonato de sodio y agua bidestilada, el material se enjuaga con abundante agua tridestilada. Una vez seco, se envuelve en aluminio y se calienta a $300\text{ }^\circ\text{C}$ en una mufla por 12 h. Se recomienda no desenvolver del aluminio hasta el momento de utilizarlo.