



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

**MULTIFOTOIONIZACIÓN Y  
MULTIFOTODISOCIACIÓN DEL URACILO**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA  
Ing. ELADIO PRIETO ZAMUDIO

TUTOR:  
Dra. MARÍA DEL CARMEN CISNEROS GUDIÑO  
Instituto de Ciencias Físicas.

Ciudad Universitaria, CD. MX. Enero 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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

TEMA DE TESIS

**MULTIFOTOIONIZACIÓN Y  
MULTIFOTODISOCIACIÓN DEL URACILO**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA  
Ing. ELADIO PRIETO ZAMUDIO

TUTOR:  
Dra. MARÍA DEL CARMEN CISNEROS GUDIÑO

*Dedicado a  
mis padres y mi hermano*

# Agradecimientos

Agradezco a la Dra. Carmen Cisneros por haber dirigido este trabajo, al Dr. Ignacio Álvarez por darme la oportunidad de integrarme a su equipo de investigación, al Dr. Alfonso Guerrero por su infinita paciencia para resolver todas mis dudas, y en general a los tres por todas las charlas y experiencias que han compartido conmigo, a lo largo de mi estancia en el Instituto de Ciencias Físicas.

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional a lo largo de mi formación profesional, a mi hermano por darme el ejemplo que si te propones algo lo puedes lograr y les agradezco a ellos por motivarme siempre a seguir adelante.

A ti Luisa te doy las gracias por todo el apoyo que me has brindado, por estar a mi lado en todo este proceso, por preocuparte por mi y por todos los momentos que hemos compartido.

A mis amigos y compañeros Néstor, Monzón, Elías, Lydia, Claudia, Brenda, Alexis. por el apoyo y los consejos brindados.

Este trabajo fue posible gracias a los proyectos DGAPA IN104318 y IN102516.

Agradezco a CONACYT por la beca 619973 otorgada.

# Índice general

	Pág.
Índice de figuras	V
Índice de tablas	VIII
Resumen	IX
Abstract	X
Introducción	1
Objetivos	3
<b>1. Marco teórico</b>	<b>4</b>
1.1. Espectrometría de Masas Multifotónica . . . . .	6
1.1.1. Absorción UV-Vis . . . . .	7
1.1.2. Absorción Multifotónica . . . . .	11
1.2. Mecanismos de fragmentación . . . . .	19
1.3. Láser . . . . .	21
<b>2. Sistema experimental</b>	<b>24</b>
2.1. Introducción de la muestra . . . . .	24
2.1.1. Generación del haz molecular supersónico . . . . .	26
2.2. Zona de interacción de la muestra . . . . .	29
2.3. Tubo de vuelo . . . . .	30
2.3.1. Resolución del espectrómetro . . . . .	32
2.4. Registro y análisis de datos . . . . .	33
2.5. Sistema de vacío . . . . .	35
2.6. Sistema láser . . . . .	36
2.6.1. Q-switching . . . . .	37
2.6.2. Cavidad resonante . . . . .	37
2.6.3. Precauciones para trabajar con el láser . . . . .	38

<b>3. Presentación y discusión de resultados</b>	<b>40</b>
3.1. Identificación de fragmentos . . . . .	40
3.2. Efecto de la intensidad de radiación en la fragmentación del uracilo	44
3.3. Resolución experimental . . . . .	53
3.4. Absorción de fotones . . . . .	56
3.5. Representación de los procesos multifotónicos . . . . .	60
3.6. Mecanismos de fragmentación del uracilo . . . . .	63
<b>Conclusiones y recomendaciones</b>	<b>69</b>
<b>Apéndices</b>	<b>71</b>
<b>A. Gráficas para el cálculo del número de fotones</b>	<b>72</b>
<b>B. Espectros de masas del uracilo</b>	<b>76</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>80</b>

# Índice de figuras

1.1.	Molécula de uracilo . . . . .	6
1.2.	Transiciones electrónicas en moléculas poliatómicas . . . . .	8
1.3.	Fotodisociación directa . . . . .	9
1.4.	Esquemas de predisociación . . . . .	10
1.5.	Diagrama de intersección cónica entre el estado $\pi\pi^*$ y el estado $n\pi^*$ del uracilo. . . . .	11
1.6.	Absorción multifotónica. . . . .	12
1.7.	Cálculo del orden del proceso para la producción de $C_4H_4N_2O_2^+$ con una longitud de onda de 220 nm y una intensidad de $3-7 \times 10^5 W/cm^2$ . . . . .	14
1.8.	Esquema del método diagramático de la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo. . . . .	14
1.9.	Probabilidad de coherencia para: a) 2 fotones, b) 3 fotones y c) 4 fotones con una molécula de uracilo. . . . .	17
1.10.	Rupturas homolítica y heterolítica . . . . .	20
1.11.	Rearreglo McLafferty . . . . .	21
1.12.	Retro Diels-Alder . . . . .	21
1.13.	Fundamentos de láser: a) absorción de un fotón, b) emisión espontánea, c) emisión estimulada . . . . .	23
2.1.	Parte del laboratorio de FAMOE-UNAM donde se realizó el experimento . . . . .	24
2.2.	Contenedor de muestra envuelto con cinta de calentamiento . . . . .	25
2.3.	Expansión de las moléculas de uracilo en el skimmer . . . . .	28
2.4.	Espectrómetro de masas: 1.Válvula pulsada, 2.Placas de aceleración, 3.Detector, 4.Pre-amplificador, 5.Contador de señales, 6.Retardador, 7.Controlador de la Válvula, 8.Equipo de Cómputo, 9.Óptica, 10.Diafragma, 11.Láser, 12.Bombas turbomoleculares, 13 tubo de vuelo. . . . .	28
2.5.	Tubo de tiempo de vuelo: 1-placas de aceleración, 2-lente Eizel (foco), 3-placas xy, 4-detectores de microcanal y 5-placas de reflexión. . . . .	31
2.6.	Simulación de un espectro de masas para diferentes fragmentos . . . . .	32



2.7. Vista frontal de una placa de microcanales . . . . .	34
2.8. Bomba turbomolecular. . . . .	35
2.9. Lámpara ultravioleta: Se utiliza para calentar el interior de la cámara de ionización . . . . .	36
2.10. Sistema Q-switching . . . . .	37
3.1. Espectro obtenido a 355 nm con intensidad de $\approx 1,9x10^{10}W/cm^2$	41
3.2. Amplificación del espectro obtenido a 355 nm con intensidad de $\approx 1,9x10^{10}W/cm^2$ para la identificación de picos pequeños . . . .	41
3.3. Curva de calibración para los iones formados por absorción mul- tifotónica con una intensidad de $1,7x10^{10} W/cm^2$ . . . . .	42
3.4. Espectros obtenidos a 355 nm con diferentes intensidades de ra- diación. . . . .	45
3.5. Efecto de la intensidad del láser en el crecimiento de los picos. .	47
3.6. Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 13, 15, 17, 32$ ). . . . .	47
3.7. Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 2, 16, 24, 29$ ). . . . .	48
3.8. Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 25, 26, 27, 28$ ). . . . .	49
3.9. Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 1, 12, 14, 18$ ). . . . .	49
3.10. Comportamiento de la corriente iónica total al aumentar la in- tensidad del láser. . . . .	50
3.11. Comparación del porcentaje de la corriente iónica de cada ion con respecto de la corriente iónica total al aumentar la intensidad del láser. . . . .	52
3.12. Picos correspondientes al $H^+$ . . . . .	53
3.13. Picos correspondientes al $C^+$ . . . . .	53
3.14. Picos correspondientes al $N^+$ o $CH_2^+$ . . . . .	54
3.15. Picos correspondientes al $H_2O^+$ . . . . .	54
3.16. Efecto de la intensidad en la resolución de diferentes iones del espectro de masas del uracilo . . . . .	55
3.17. Resolución para diferentes iones del espectro de masas del uracilo	56
3.18. Cálculo del número de fotones para el ion de masa = 12 . . . . .	57
3.19. Cálculo del número de fotones para masa el ion de = 14 . . . . .	57
3.20. Cálculo del número de fotones para masa el ion de = 28 . . . . .	58
3.21. Diagrama de segundo orden para la absorción de dos fotones. . .	60
3.22. Diagramas de cuarto orden para la absorción de dos fotones. . .	61
3.23. Diagrama de tercer orden para la absorción de tres fotones. . . .	62
3.24. Diagramas de quinto orden para la absorción de tres fotones. . .	63

3.25. Espectro obtenido empleando ionización de impacto electrónico de 70 eV. . . . .	64
3.26. Mecanismo Retro Diels-Alder para el uracilo . . . . .	64
3.27. Rompimiento alterno para obtener el fragmento $C_3H_3NO$ . . . .	65
3.28. Disociación del ion $C_3H_3NO$ . . . . .	65
3.29. Mecanismo de fragmentación para la masa $HNCH_2^+$ . . . . .	66
3.30. Mecanismo de disociación para la obtención de H . . . . .	67
3.31. Mecanismos de disociación que producen H . . . . .	68

# Índice de tablas

1.1. Valor del parámetro de Keldish del presente trabajo. . . . .	19
2.1. Parámetros empleados para la adquisición del espectro de masas con el programa PTA 32. . . . .	35
3.1. Comparación de iones obtenidos en el uracilo por diferentes métodos . . . . .	43
3.2. Número de fotones para diferentes iones . . . . .	59
3.3. Simbología de los mecanismos de fragmentación . . . . .	63

# Resumen

En este trabajo se presentan los resultados de la multifotoionización y multifotodisociación del uracilo, empleando un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo-refletrón y utilizando radiación láser de longitud de onda de 355 nm e intensidad en el intervalo de  $10^9 - 10^{10} \text{ W/cm}^2$ , bajo estas condiciones no se identificó al ion molecular, lo cual indica disociación intensa del uracilo donde el fragmento de mayor masa identificado es  $m = 59$  y el ion de mayor intensidad en el espectro es el  $H^+$ , la producción intensa de este ion, fue propuesta por cálculos teóricos recientes. Además se presenta un efecto que no ha sido reportado en la producción de los iones  $H^+$ ,  $C^+$ ,  $N^+$  o  $CH_2^+$  y  $H_2O^+$  los cuales presentan tres picos en el espectro de masas, para la misma intensidad. Se calculó el número mínimo de fotones para la formación de los iones representativos en el espectro, donde se identificó una relación entre la producción de iones de mayor intensidad y que necesitan menor número de fotones para su formación, a excepción del ion de masa 14. También se identificó una relación entre el incremento de la densidad fotónica (número de fotones/unidad de volumen) y el incremento de la corriente iónica en el espectro de masas, así como la variación del porcentaje de contribución a la corriente iónica total de los fragmentos con masas 1, 12, 14, 16, 17, 28, 29 y 43. Se proponen algunos de los mecanismos de fragmentación para la producción de los iones detectados.

# Abstract

In this paper the results of the multiphotoionization and multiphotodissociation of uracil are presented, employing a time-of-flight mass spectrometer-reflectron and using laser radiation with a wavelength of 355 nm and intensity in the range of  $10^9 - 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Under these conditions the molecular ion was not identified, indicating the results an intense dissociation of the uracil where the fragment of greater mass identified is  $m = 59$  and the ion of greater intensity in the spectrum is  $H^+$ . The intense production of this ion, was proposed by the latest theoretical calculations. In addition, there is an effect on the production of the ions  $H^+$ ,  $C^+$ ,  $N^+$  or  $CH_2^+$  and  $H_2O^+$  which present three peaks in the mass spectrum, for the same intensity. It was calculate the minimum number of photons for the formation of representative ions in the spectrum, where a relationship between the production of higher intensity ions and the smaller number of photons was identified, except for the ion mass 14. It is also identified a relationship between the increase in photon density (number of photons/volume unit) and the increase of the ionic current in the mass spectrum , as well as the percentage variation of the contribution to the total ionic current of the fragments with masses 1, 12, 14, 16, 17, 28, 29 and 43. Some fragmentation mechanisms are proposed for the production of the detected ions.

# Introducción

El uso inconsciente de los recursos naturales para satisfacer las necesidades de la humanidad ha desencadenado catástrofes climáticas, entre ellas se encuentra el degaste de la capa de ozono provocado por las emisiones antropogénicas de clorofluorocarbonos y otras sustancias químicas a la atmósfera, que ha ocasionado que la radiación proveniente del Sol llegue con mayor intensidad hasta la superficie de la Tierra influyendo fuertemente en la salud humana y ecosistemas [1–7]. Los efectos de la radiación solar UV en los humanos ha sido un tema de gran interés en los últimos años debido a su importancia para la humanidad, por ejemplo: es necesaria para la producción de vitamina D, sin embargo; una exposición por tiempo prolongado puede tener efectos dañinos para la salud como la muerte celular, la mutagénesis, el fotoenvejecimiento y el cáncer [8, 9], especialmente a horas del mediodía cuando la intensidad de radiación incidente presenta su máximo [10]. A pesar de la fotoestabilidad que presentan los ácidos nucleicos que previene el daño de la luz solar [11], experimentalmente se ha demostrado que la exposición a la luz UV puede generar fotolesiones en el ADN [12] incluso a tiempo de exposición muy cortos. Para el estudio de la interacción de la radiación electromagnética con ADN y ARN es esencial conocer el comportamiento de sus unidades fundamentales (bases nucleicas) y a partir de éstas comenzar a evidenciar el tipo de procesos de ionización y disociación que pueden ocurrir en estructuras tan complejas [13].

Estudios recientes reportan el hallazgo de posibles purinas y pirimidinas provenientes del espacio exterior, que podrían haber jugado un papel muy importante en el desarrollo de la vida de nuestro planeta; estas moléculas conforman el esqueleto estructural de guanina-adenina y uracilo-timina-citosina respectivamente [14], además algunas nucleobases han sido encontradas en meteoritos [15] reforzando esta teoría. Con relación al origen de la vida en la Tierra existen registros geológicos que indican que ésta en sus inicios estaba basada en genomas de ADN y enzimas proteicas, pero se cree que estos fueron precedidos por una estructura más simple basada en ARN [16]. De ahí la importancia de realizar experimentos que permitan una mayor comprensión de estos fenómenos, lo que justifica la realización del presente trabajo, sobre la multifotodisociación y multifotoionización del uracilo, el cual se presenta de la siguiente manera:

En el primer capítulo se dan a conocer los fundamentos teóricos que sustentan el presente experimento, se explican las bases de la espectrometría de masas y se mencionan algunas de las técnicas utilizadas enfocándose principalmente en la espectrometría multifotónica. También se aborda la absorción UV describiendo los posibles procesos que se pueden desarrollar en la interacción de radiación-moléculas, explicando los diferentes mecanismos de disociación que pueden llevarse a cabo al ocurrir la absorción múltiple de fotones, lo que se relaciona con la intensidad de la radiación. Para representar este tipo de fenómenos se utiliza el método diagramático de la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo. Se da una breve introducción de los mecanismos de fragmentación en la espectrometría de masas y los fundamentos del funcionamiento del láser.

En el segundo capítulo se describe el sistema experimental, se explica con detalle el funcionamiento de las partes que lo conforman, incluyendo el manejo de la muestra, su introducción a la cámara de ionización y su coincidencia con el láser en la zona de interacción; describiendo ésta última. La explicación del experimento se hace siguiendo la trayectoria de los iones a través del tubo de tiempo de vuelo hasta su registro en el sistema de detección. Se destaca la importancia del sistema de vacío para la obtención de buenos resultados y se detalla el funcionamiento del láser utilizado como medio de ionización y disociación, así como las medidas de seguridad que se deben emplear para minimizar los riesgos. En este capítulo se definen los parámetros del experimento.

El tercer capítulo está enfocado al análisis e interpretación de resultados, primero se identifican todos los fragmentos observados en el espectro de masas y se les asignan los posibles átomos que los pueden formar, luego se analiza el comportamiento del crecimiento de la corriente iónica con respecto al incremento de la intensidad de radiación; posteriormente se presenta la resolución de los iones identificados y se discute el efecto de ésta en la interpretación de los resultados. Se calcula el número aproximado de fotones que absorbe la molécula para la producción de cada fragmento y de acuerdo a esto se representan los procesos ocurridos con el método diagramático de la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo y por último se proponen los mecanismos de fragmentación en las principales vías disociativas del uracilo de acuerdo a lo reportado anteriormente y lo observado en el presente experimento.

# Objetivo generales

Estudiar la multifotoionización y multifodisociación del uracilo

## Objetivos específicos

1. Identificar el efecto de la intensidad de radiación en la disociación del uracilo.
2. Registrar espectros de masas por tiempo de vuelo, TOF, para la fotoionización y fotodisociación multifotónica del uracilo.
3. Identificar las principales vías disociativas de la molécula de uracilo.
4. Revisar cálculos mecano-cuánticos que permite n interpretar algunos de los datos experimentales



# Capítulo 1

## Marco teórico

El estudio de la interacción radiación-materia es muy importante debido a la amplia gama de aplicaciones que tiene, tanto desde el punto de vista básico como aplicado. Por ejemplo, en la fabricación de dispositivos semiconductores, en el campo de la química y la física atmosférica [17]; además es gran interés para la astrofísica donde una de las principales preocupaciones es el efecto de la radiación espacial en los astronautas en las misiones de exploración del Sistema Solar [18].

Otro tema importante es el daño de la luz solar en el ADN causado por la radiación (UV) emitida por el sol que incluye las longitudes de onda en el intervalo de 100 a 400 nm, aunque existe evidencia que los mecanismos de daño pueden variar con la longitud de onda [19]. El oxígeno y el ozono de la atmósfera alta absorben completamente la radiación UVC (100-280 nm) y un 90 por ciento de UVB (280-315 nm). La radiación relevante para la salud humana y ecosistemas se encuentra en el intervalo UVA (315-400 nm) y también es dañina para ADN, lípidos y proteínas; aunque los mecanismos específicos aún no son claros [8, 20], por lo que comprender estos mecanismos se ha vuelto una necesidad. Se sabe que los fragmentos que resultan del rompimiento de las bases nucleicas generan daño posterior a los sistemas biológicos [15] debido a esto, los esfuerzos de los científicos en las últimas décadas se han enfocado en comprender estos procesos mejorando técnicas experimentales que permitan un mayor control de las variables del experimento, además de realizar cálculos teóricos simulando los experimentos para generar información relevante para la interpretación de resultados.

La espectrometría de masas por ionización multifotónica es una técnica que utiliza altas densidades de fotones para ionizar o fragmentar moléculas. Para este fin se emplean láseres de alta intensidad con lo que se logra la absorción multifotónica, que junto con el espectrómetro de masas permite el análisis de los fragmentos formados de acuerdo con su relación masa-carga. Entre las variables

que se pueden analizar se encuentra, el efecto de la intensidad del láser en la fragmentación de la molécula, la relación entre los cationes producidos y la longitud de onda, donde se tiene la oportunidad de encontrar estados resonantes de la molécula (REMPI), el efecto de la polarización de la luz en la disociación o ionización, entre otras. Para estudiar los efectos de la radiación UV/VIS se eligió la molécula de uracilo ( $C_4H_4N_2O_2$  (ver figura 1.1)), el cual juega un papel fundamental en la codificación, decodificación, regulación y expresión de genes [21]. Esta molécula forma parte de los ácidos nucleicos y es una de las cuatro bases nitrogenadas que integran al ARN, aunque también se puede encontrar en el ADN [22, 23]. Es importante mencionar que a pesar de compartir tres de sus cuatro bases nitrogenadas con el ADN tienen diferencias notables como que el uracilo reemplaza a la timina en el caso de ARN, la desoxirribosa es cambiada por ribosa y sólo se presenta en cadena lineal con excepción de algunos virus [24].

También se cree que el uracilo tuvo un papel importante en el origen y desarrollo de la vida en el planeta [16, 25] y existe la hipótesis de que esta molécula puede haber llegado del espacio exterior en meteoritos. Estudios realizados en 2012 muestran que la composición de la superficie de una de las lunas (Titán) que orbitan Saturno podría incluir uracilo. En 2009 la NASA realizó un experimento, simulando la radiación del espacio exterior lograron reproducir uracilo de pirimidinas expuestas a radiación UV [26]. Además estudios hechos en el meteorito de Murchison indican que estas moléculas ya estaban presentes en el Sistema Solar primitivo [27], generando un mayor impacto en la información que pueda obtenerse por medios experimentales, que ayuden a la comprensión de cómo esta molécula puede sobrevivir en el espacio a pesar de la radiación que recibe. Por estos motivos, es importante estudiar los efectos de la radiación UV sobre los ácidos nucleicos.

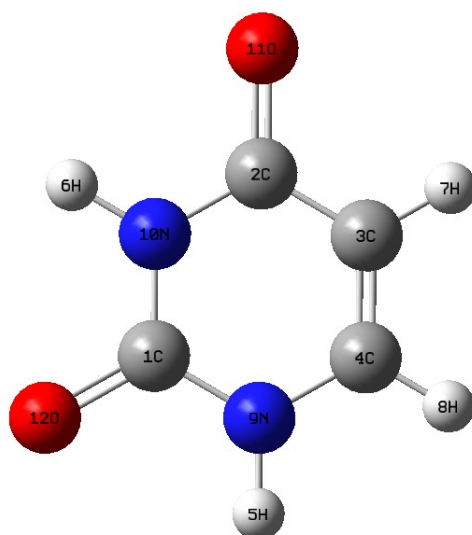


Figura 1.1: Molécula de uracilo

## 1.1. Espectrometría de Masas Multifotónica

La espectrometría de masas es una técnica analítica basada en la obtención de iones de una muestra utilizando diferentes medios ionizantes, que se emplea por ejemplo: en la industria alimentaria para el monitoreo de residuos de plaguicidas en alimentos [28], deducción de estructuras moleculares desconocidas, analítica ambiental, etc. La diversidad de métodos de ionización que existen y pueden ser utilizados dependen de las propiedades fisicoquímicas de la muestra, lo que genera un amplio intervalo de aplicación para la espectrometría de masas. Algunos de éstos son: ionización multifotónica (IMF), impacto electrónico (IE), bombardeo rápido de átomos (FAB), ionización por desorción láser con matriz asistida (MALDI) y análisis directo en tiempo real (DART), entre otras. Cada una posee ventajas y desventajas, su uso dependerá de la muestra que se quiere analizar.

En la espectrometría de masas multifotónica la muestra se introduce en fase gaseosa con una baja densidad a la zona de interacción, para que coincida en tiempo y espacio con el pulso láser, los iones son acelerados por un campo eléctrico y separados de acuerdo a su relación masa-carga ( $m/z$ ). En el caso de la multifotodisociación (MFD) y multifotoionización (MFI) UV/VIS éstas proporcionan información acerca de estados electrónicos de la molécula. También se pueden encontrar longitudes de onda que coincidan con los estados resonantes de las moléculas, empleando una variante de esta técnica llamada Resonance-enhanced multiphoton ionization (REMPI) [29]. Por otra parte, todas las técnicas de espectrometría antes mencionadas tienen como objetivo principal encontrar al ion molecular, sin embargo, eso no siempre es posible por

los grupos funcionales presentes en la molécula o en el caso de IMF, porque la absorción de los fotones puede llevar la molécula a un estado excitado disociativo evitando la ionización de la molécula original.

Los resultados obtenidos con un espectrómetro de masas empleado para el análisis e interpretación de resultados son espectros de masas, definidos como una representación bidimensional de la intensidad de señal contra la relación  $m/z$  [30], donde la intensidad de la señal, a veces es llamada picos. Éstos representan la abundancia de la especie iónica, y en la relación  $m/z$ :  $m$  se refiere a al número de masa del ion y  $z$  a la carga cuyo valor sólo puede ser un número entero.

### 1.1.1. Absorción UV-Vis

La interacción de la luz UV/VIS con la materia a nivel molecular puede producir diferentes procesos dependiendo de la energía de los fotones y de las moléculas con las que interactúen, logrando ionizar la molécula con un solo fotón si la energía es mayor o igual que el potencial de ionización (PI) o llevando la molécula a estados excitados o disociaciones si la energía del fotón es menor al PI, este caso es el de mayor interés para la espectrometría multifotónica que utiliza fotones de menor energía que el PI, por lo que se necesita la absorción múltiple para lograr ionizar o fragmentar una molécula. Antes de que cualquiera de estos dos fenómenos ocurra, la molécula presenta transiciones del estado fundamental a los estados excitados, si el suministro de energía (fotones) es continuo, sucederá la MFI o MFD de la molécula; surgiendo nuevas interrogantes: ¿qué sucederá primero la ionización o disociación?, ¿cuál enlace se rompe primero?, ¿cómo los fotones pueden romper los enlaces?, ¿cuál es la ruta de fragmentación que sigue la disociación?; para responder estas preguntas debemos empezar con los procesos primarios que tienen lugar en una absorción multifotónica, lo primero que sucede son las transiciones del estado basal a estados de mayor energía llamados “estados excitados”, estas transiciones involucran electrones  $\sigma$ ,  $\pi$  y  $n$  (no enlazantes) entre los cuales suceden las siguientes transiciones. Las transiciones que ocurren durante la interacción de radiación-materia con el uracilo pueden ser muy complejas, pero han sido reportadas algunas de ellas, de carácter  $\pi\pi^*$  y  $n\pi^*$  correspondiente al tipo 1 y 3 [31]. Aunque no se descarta que otras puedan suceder en el presente experimento, al tratarse de un proceso multifotónico.

- Tipo 1  $n \rightarrow \pi^*$ .
- Tipo 2  $n \rightarrow \sigma^*$ .
- Tipo 3  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

- Tipo 4  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .

el \* significa antienlazante.

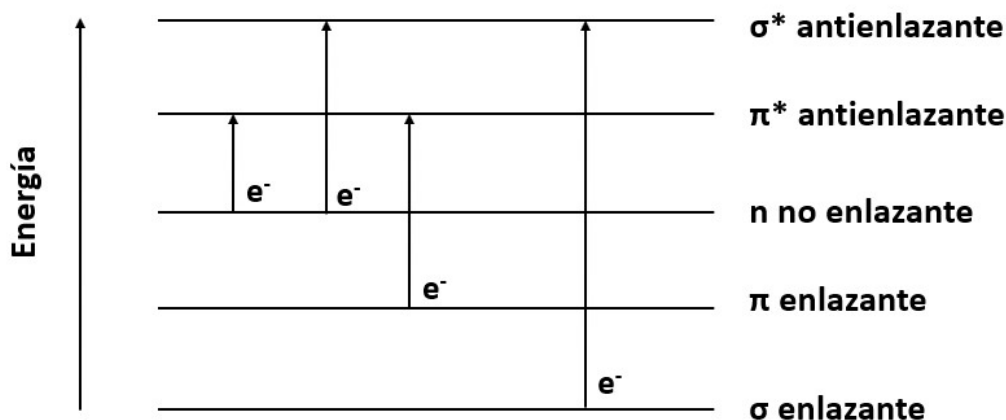


Figura 1.2: Transiciones electrónicas en moléculas poliatómicas

Las transiciones del tipo 4 son las que requieren mayor energía  $\lambda \simeq 125nm$  y por lo tanto las menos probables al utilizar fotones de 355 nm, seguidas de las tipo 2 que se presentan cuando  $\lambda \simeq 150-250nm$ , aunque estas últimas dependen de la disponibilidad de pares libres (igual que las del tipo 1), por último están las de los tipos 1 y 3 que son las que requieren menor energía  $\lambda \cong 200-700nm$  y las principales observadas en espectroscopía de moléculas orgánicas (figura1.2) [32]. Otro proceso que puede suceder es la transferencia de carga, la cual está involucrada con los mecanismos de fragmentación, para que esto suceda uno de los átomos debe ser aceptor de electrones y el otro donador. Después que la molécula alcanza un estado excitado y sigue absorbiendo n fotones de energía ( $h\nu$ ), pueden ocurrir los siguientes procesos, que, para fines representativos, se considerará una absorción bifotónica en una molécula diatómica conformada por los átomos A y B.

- Formación del estado excitado  $AB + nh\nu \rightarrow AB^*$ .
- Fotoionización del estado excitado  $AB^* + nh\nu \rightarrow AB^+ + e^-$ .
- Fotodisociación del estado excitado  $AB^* + nh\nu \rightarrow A + B^+ + e^-$ .

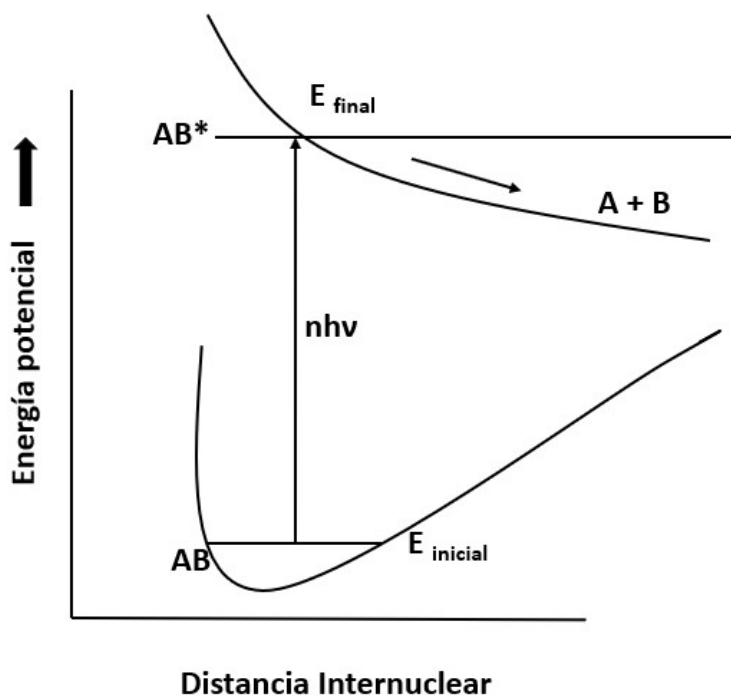


Figura 1.3: Fotodisociación directa

La disociación de las moléculas sucede cuando se rompen los enlaces de la molécula dando origen a nuevos productos; una forma de que esto suceda es por la absorción de fotón(es), siempre y cuando la energía absorbida supere la energía del enlace más débil, la energía restante del fotón es repartida entre los nuevos productos como energía traslacional y energía electrónica, vibracional y rotacional.

Al igual que existen diferentes tipos de transiciones, también existen diferentes tipos de fotodisociaciones, las cuales serán descritas a continuación. La más simple es la fotodisociación directa, que se presenta inmediatamente ( $10^{-13} - 10^{-15} s$ ) después de haber alcanzado un estado excitado repulsivo [33], en este caso no se encuentran barreras de potencial ni algún otro proceso que impida la fragmentación de la molécula, entonces el estado excitado repulsivo recorrerá la barrera de potencial, aumentando la distancia de enlace hasta que la molécula se disocie (ver figura 1.3). Por otra parte, existe la fotodisociación indirecta, donde sí hay una barrera de potencial que impide la fragmentación inmediata de la molécula (figura 1.4), alargando los tiempo de vida de los estados excitados y por lo tanto el tiempo de disociación, a intervalos  $\geq 10^{-12} s$  [33], éste tipo de fragmentación a su vez se clasifica como: *predisociación electrónica tipo I de Herzberg* (figura 1.4 (a)): una molécula se excita a un estado electrónico enlazante que no puede romperse por sí mismo, entonces sucede una transición de un estado enlazante a un estado electrónico repulsivo donde tiene lugar la fragmentación. *Predisociación vibracional tipo II de Herzberg* (figura 1.4 (b)): en este caso la molécula

alcanza un estado excitado resonante que se encuentra dentro de una barrera que obstruye el paso directo a un estado excitado repulsivo impidiendo la disociación, cruza la barrera por efecto túnel o por redistribución de la energía interna y entonces la disociación podrá completarse, la duración de este proceso dependerá del tiempo de tunelaje o de la redistribución de energía interna, además pueden ocurrir otros procesos de disociación, como la *reacción unimolecular tipo I*: la molécula se excita a un estado electrónico enlazante que decae a un estado electrónico inferior mediante un proceso no radiactivo alcanzando un nivel vibracional-rotacional altamente excitado que conduce a la disociación de la molécula. *reacción unimolecular tipo II* es similar al tipo I sólo que el estado cuántico altamente excitado se encuentra en el estado electrónico fundamental.

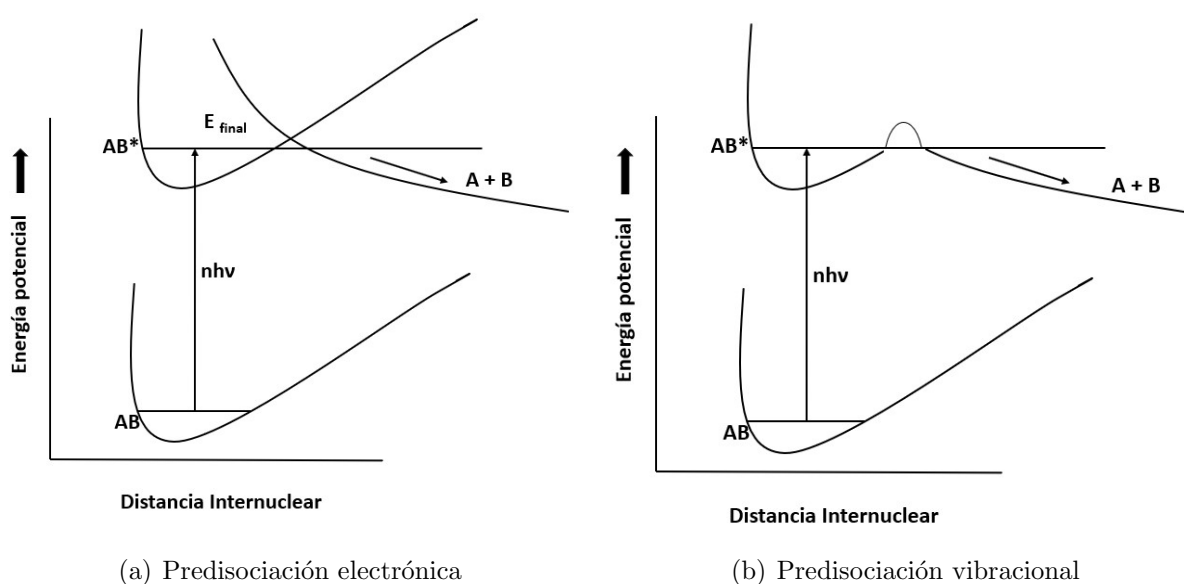


Figura 1.4: Esquemas de predisociación

En el caso del uracilo (1.5) se ha reportado que tiene intersecciones entre los diferentes niveles energéticos de sus estados excitados [34], por lo que los procesos de disociación antes mencionados son posibles de ocurrir <sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Gráfica tomada de [34]

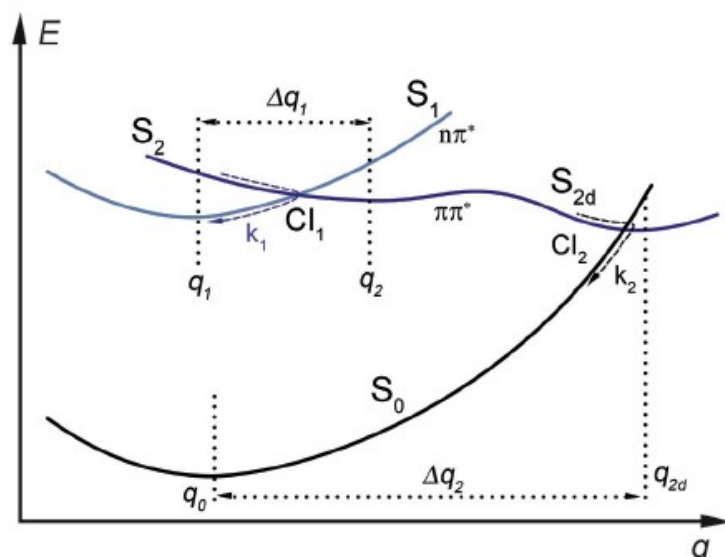


Figura 1.5: Diagrama de intersección cónica entre el estado  $\pi\pi^*$  y el estado  $n\pi^*$  del uracilo.

### 1.1.2. Absorción Multifotónica

El estudio de la absorción multifotónica tiene sus orígenes históricos en 1929 cuando Maria Geoppert-Mayer propuso [35]<sup>2</sup> la posibilidad de realizar experimentos que involucraran la absorción de dos fotones, pero no fue hasta 1961 que Kaiser y Garrett realizaron el primer experimento exitoso; observando la emisión de luz azul del estado excitado por dos fotones de un cristal de  $Eu^{2+}$  dopado con  $CaF_2$  utilizando un láser de rubí monocromático de alta potencia. Para sistemas moleculares los experimentos de la absorción de dos fotones llegarían, sólo dos años después con un experimento realizado por Peticolas en 1963 [36] para el antraceno cristalino, con esto daría inicio otra serie de experimentos sobre la absorción bifotónica en cristales o en soluciones y fue hasta alrededor de 1974 que se obtuvo un espectro de moléculas en fase gaseosa, experimento que no se había realizado por la baja densidad de partículas a bajas presiones lo que dificultaba la absorción de fotones. Con la llegada de esta técnica se abrió el camino al estudio de nuevos fenómenos espectroscópicos, ofreciendo la oportunidad de estudiar estados excitados (vibracionales y electrónicos) que no eran accesibles con la absorción de un solo fotón.

La espectroscopía multifotónica se desarrolló en tres etapas, la primera fue para estados de transición con láseres colorantes, la segunda fue el estudio de moléculas excitadas y la tercera es la espectroscopía de masas de ionización multifotónica. Es posible observar diferentes fenómenos con esta técnica, entre ellos; ionización o disociación. La MFI o MFD (ver figura 1.6) ocurre si al absorber el primer fotón la molécula, alcanza un estado excitado con un tiempo

<sup>2</sup>Pag. 70



de vida lo suficientemente largo para que la molécula absorba otro(s) fotones dependiendo de la energía necesaria y de la longitud de onda con la que se trabaje. Esto permite que, aunque los fotones no tengan la energía suficiente para ionizar/fragmentar la molécula, al absorber  $n$  fotones se logre alcanzar la energía necesaria para lograr dichos procesos, lo cual está ligado a la intensidad de radiación, debido que al incrementar la densidad fotónica aumenta la probabilidad de absorción múltiple.

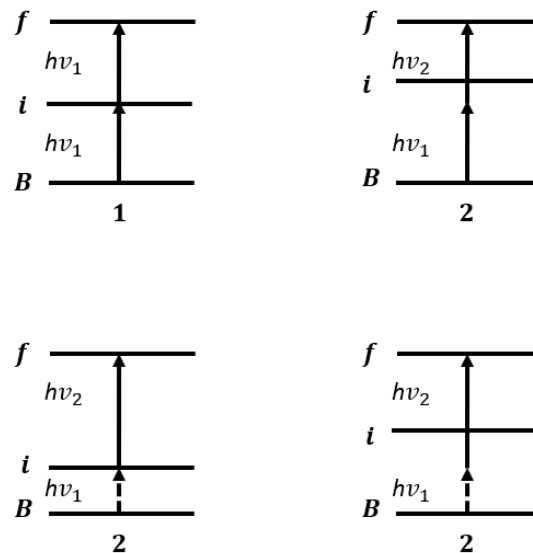


Figura 1.6: Absorción multifotónica.

De los procesos mostrados en la figura 1.6 [33]<sup>3</sup> el número uno corresponde a la absorción de dos fotones de la misma energía  $h\nu_1$  el primer fotón lleva el sistema molecular a un estado intermedio y el segundo fotón lleva el sistema al estado final (entendiéndose por éste un estado de mayor energía respecto al estado basal); en el número dos ambos fotones tienen nuevamente la misma energía pero la absorción individual de cualquiera de ellos no alcanza un estado estacionario, sin embargo la absorción simultánea de ambos alcanza para llegar al estado final; en el número tres la energía de los dos fotones es diferente, en este caso el primer fotón se emplea para alcanzar un estado estacionario y con el segundo fotón se alcanza el estado final; en el número cuatro se involucran dos fotones con diferente energía, esta vez ninguno de ellos puede alcanzar un estado intermedio estacionario, pero si son absorbidos simultáneamente se alcanza el estado final.

Las transiciones que pueden ocurrir debido a la absorción multifotónica en el intervalo del espectro UV-Visible dependen de la intensidad del láser, longitud de onda y polarización. En este trabajo se analizará solamente el efecto de la

<sup>3</sup>pag. 519

intensidad del láser sobre la probabilidad de una transición, debido a que la polarización y la longitud de onda se mantuvieron constantes. Las transiciones pueden ocurrir por un proceso resonante (ejemplo 1 y 3) o no resonante (ejemplo 2 y 4) de la figura 1.6, esto depende si la diferencia de energía entre el estado inicial y el estado intermedio coincide con la frecuencia del láser. De acuerdo con la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo para la absorción de dos fotones la probabilidad está dada por [35] <sup>4</sup>

$$W^{(2)} \propto I^2 \left[ \sum_m \frac{\langle n|\mu|m\rangle \langle m|\mu|a\rangle}{\Delta E_{ma} - \hbar\omega_r} \right]^2. \quad (1.1)$$

Donde  $I$  es la intensidad del láser,  $m$  los estados virtuales intermedios,  $\Delta E_{ma}$  la diferencia de energía entre los estados intermedios e iniciales,  $\mu$  el momento dipolar y  $\omega_r$  la frecuencia del láser. Se puede observar que para el caso de la absorción de dos fotones la probabilidad de transición es proporcional al cuadrado de la intensidad del láser, para el caso  $n$  fotones será proporcional a la intensidad elevada a la  $n$  ( $I^n$ ); esto se conoce como ley de intensidad formal, en caso de no existir saturación se puede calcular fácilmente el orden de la transición multifotónica ( $n$ ), solo se debe graficar el logaritmo de la probabilidad contra el logaritmo de la intensidad del láser. Esto sólo es válido para intensidades del láser moderadamente fuertes  $\approx 10^7$  ( $W/cm^2$ ) de manera que exista mayor probabilidad para un sólo estado electrónico superior, porque si la intensidad es fuerte existe una saturación de la población y no se podría aplicar esta ley.

Además de los fenómenos descritos previamente, se podrían presentar otros fenómenos de absorción múltiple y confundir los resultados en cuanto al orden de la transición, también ocurre la fragmentación o ionización, pero a causa de esto el espectro podría ser superpuesto. Aunque para el caso de procesos de más de dos fotones si es necesaria una mayor intensidad del láser. Sin embargo, se debe tener cuidado para la interpretación de los procesos analizados. Es importante mencionar que el número de fotones que absorbe la molécula no se pueden controlar y por eso se trabaja con probabilidades. En general la transición de un estado a otro es proporcional al orden del proceso multifotónico y la ecuación 1.1 se puede expresar como

$$Y = \sigma_n I^n \quad (1.2)$$

Donde  $Y$  es la corriente iónica,  $\sigma_n$  es el orden de la sección eficaz,  $I$  la intensidad del láser y  $n$  el orden del proceso multifotónico [37].

---

<sup>4</sup>pag. 4

La ecuación 1.2 permite determinar el orden de procesos multifotónicos (excitación, ionización o disociación). El orden del proceso indica la cantidad mínima de fotones que se deben de absorber para formar los iones o alcanzar estados intermedios [37,38], esta ecuación se ha empleado en la absorción multifotónica del uracilo (ver figura 1.7)<sup>5</sup>.

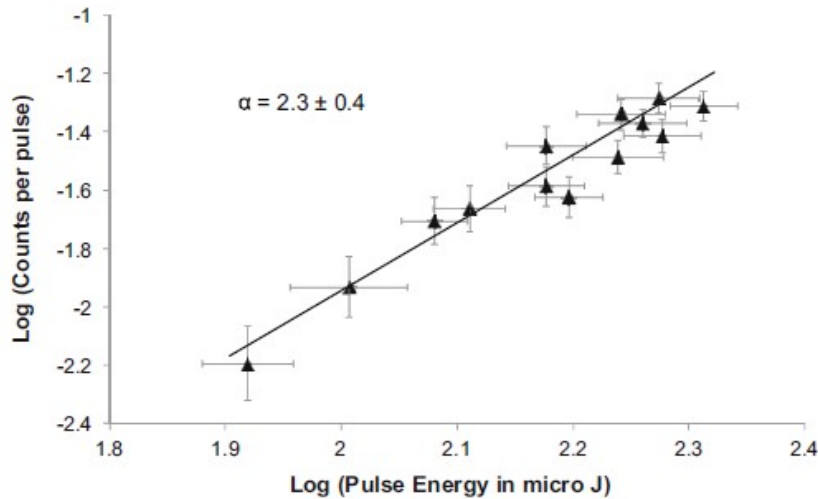


Figura 1.7: Cálculo del orden del proceso para la producción de  $C_4H_4N_2O_2^+$  con una longitud de onda de 220 nm y una intensidad de  $3 - 7 \times 10^5 W/cm^2$ .

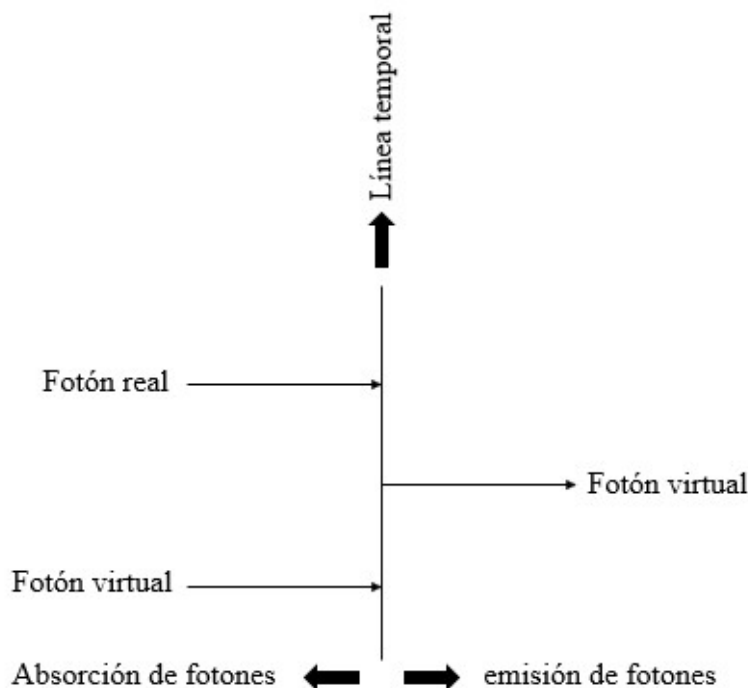


Figura 1.8: Esquema del método diagramático de la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo.

Al emplear altas intensidades del láser se utilizará el método diagramático de

<sup>5</sup>Nota: El autor se refiere a n como  $\alpha$ , Gráfica tomada de [39]

la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo [33], para representar la absorción multifotónica, donde puede participar fotones "reales" y "virtuales". Los primeros son aquellos que son absorbidos y utilizados para los procesos multifotónicos antes mencionados (energía conservativa) y los segundos son absorbidos, pero vuelven a ser emitidos (energía no conservativa). Estos diagramas están formados por una línea vertical que representa el evento temporal, de la que salen o entran flechas correspondientes a la emisión y absorción de fotones respectivamente (ver figura 1.8) y en donde el número total de flechas representa el número total de fotones participantes (orden del diagrama) que corresponde al N orden de la amplitud de transición. La diferencia de las flechas que salen menos las que entran es  $\Delta n$ . De esta manera  $|\Delta n| \leq N$ ; si  $\Delta n > 0$  el proceso es de emisión y si  $\Delta n < 0$  indica un proceso de absorción, donde el  $\Delta n$  representa a los fotones reales que intervienen en el proceso y  $N - |\Delta n|$  corresponden a los fotones virtuales, el número total de diagramas que se pueden obtener de orden N para un proceso está dado por  $2^N$ . Sin embargo solo contribuirán aquellos en los que  $\frac{(N + \Delta n)}{2}$  corresponda a un número entero. Cuando se cumple lo anterior, se aplica la siguiente ecuación para conocer cuántos diagramas contribuyen realmente al proceso de  $|\Delta n|$  fotones.

$$N_{|\Delta n|} = \frac{N!}{\left(\frac{N + \Delta n}{2}\right)! \left(\frac{N - \Delta n}{2}\right)!}. \quad (1.3)$$

Si el número resultante de la ecuación 1.3 es par, entonces solo se tendrán en cuenta diagramas de orden par e impar si el número de diagramas es impar. Entonces para un proceso de absorción real de 2 fotones, el diagrama puede ser de orden 2, 4 y 6 pero no de 1, 3 y 5. Sin embargo no todos tienen la misma probabilidad de ocurrir, para que un proceso multifotónico tenga lugar se debe contar la presencia simultánea de dos o más fotones  $n_f$  en un volumen V, esto se expresa como una densidad fotónica:

$$\phi = \frac{n_f}{V}. \quad (1.4)$$

La densidad de radiación del láser se relaciona con la intensidad (I) mediante la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{I}{c_{medio}}. \quad (1.5)$$

Donde  $c_{medio}$  es la velocidad de la luz en el medio, que para el presente trabajo es igual a la velocidad de la luz en el vacío (c). Tomando en cuenta que cada fotón tiene una energía igual a  $h\nu$  entonces la densidad fotonica se puede expresar

como:

$$\phi = \frac{I}{h\nu c_{medio}}. \quad (1.6)$$

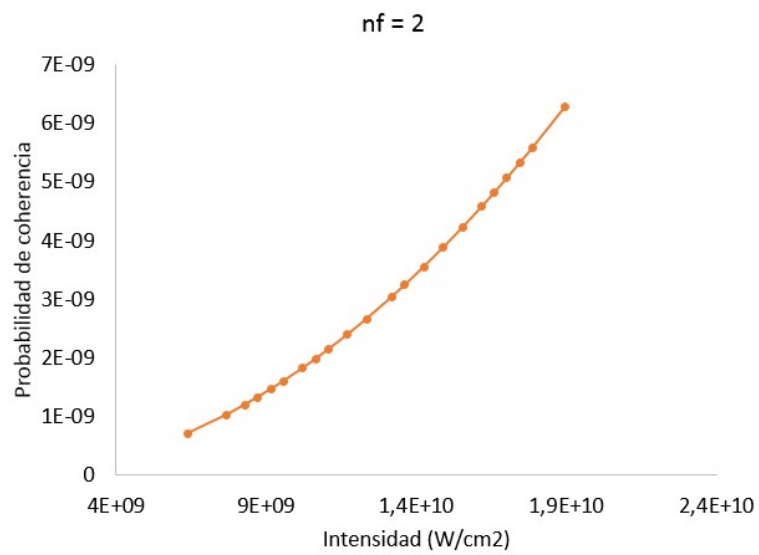
Conocer la densidad fotónica es importante, porque ayuda a visualizar el efecto de la intensidad del láser en el incremento del número de fotones. La siguiente pregunta que surge: ¿cuál es la probabilidad de que n número de fotones interaccionen con una molécula? Para eso debemos conocer la probabilidad de encontrar  $n_f$  fotones en un volumen que contiene en promedio  $\overline{n_f}$  fotones, que está dado por:

$$\overline{n_f} = \frac{I * V}{h\nu c_{medio}}. \quad (1.7)$$

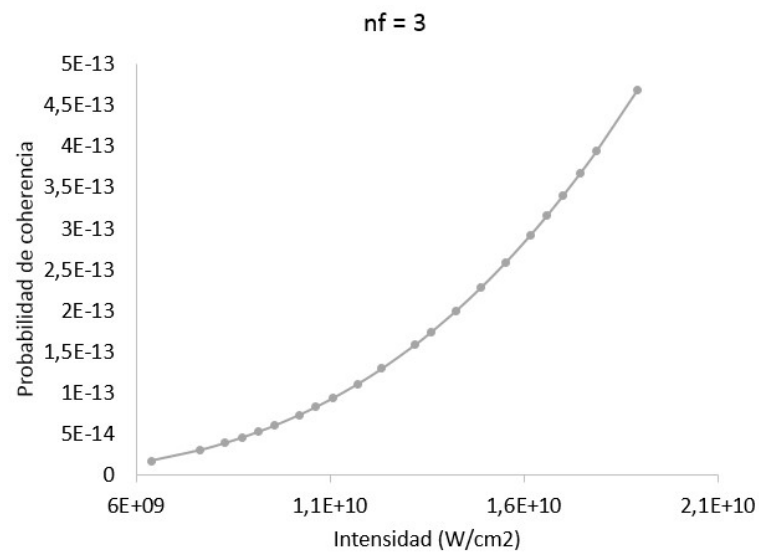
La probabilidad de que n número de fotones interaccionen con el uracilo, se representa mediante una distribución de Poisson (ecuación 1.8). El volumen molecular de uracilo en estado gaseoso es de  $99.4 \text{ \AA}^3$  [40], las otras constantes se pueden obtener de cualquier libro de ciencias básico [41].

$$P_{n_f}^{coherente} = \frac{\overline{n_f}^{n_f} * e^{-\overline{n_f}}}{n_f!}. \quad (1.8)$$

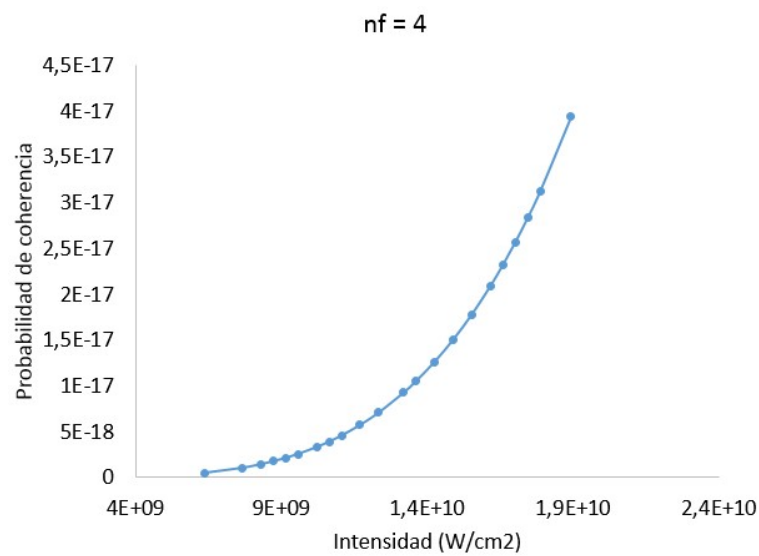
En el experimento realizado en este trabajo, se hizo un barrido de intensidades mientras que la longitud de onda se mantuvo constante, por lo que podemos graficar a diferentes intensidades la probabilidad de absorción simultanea (probabilidad de coherencia) de 2, 3 y 4 fotones (ver figura 1.9). Es importante mencionar que se debe trabajar en las mismas unidades para evitar errores y tener resultados confiables. Las siguientes gráficas representan el experimento que se realizó en el laboratorio FAMOE.



(a)



(b)



(c)

Figura 1.9: Probabilidad de coherencia para: a) 2 fotones, b) 3 fotones y c) 4 fotones con una molécula de uracilo.

Al conocer la relación de la intensidad con la probabilidad que interacciones  $n$  fotones con el uracilo, se observa que al aumentar en una unidad la cantidad de fotones la probabilidad disminuye en aproximadamente 5 órdenes de magnitud, esto quiere decir que los procesos multifotónicos simultáneos de mayor orden son menos probables; por ejemplo: en el caso de la absorción bifotónica solo una molécula de cada  $2 \times 10^9$  absorbe dos fotones, una de cada  $1 \times 10^{13}$  absorbe tres y solo una de cada  $5 \times 10^{18}$  absorbe cuatro, para una intensidad de  $\approx 1 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Otro aspecto importante es que al aumentar la intensidad del láser la probabilidad de coherencia aumenta tal y como se observa en las gráficas anteriores, pero ¿aún se estará trabajando en un proceso multifotónico?

La intensidad del láser conduce a diferentes procesos de ionización mediante tres formas diferentes: multifotónica, tunelaje y supresión de barrera. La distinción de los tres procesos de ionización está dada por el parámetro de Keldysh; que relaciona la frecuencia de tunelaje  $w_t$  con la frecuencia del láser  $w_0$  [42], mediante la ecuación:

$$\gamma = \frac{2w_0}{w_t}. \quad (1.9)$$

La altura ( $l$ ) de la barrera de potencial que debe de vencer un electrón para el tunelaje en sistema atómicos esta dado por

$$l = \frac{PI}{eE_0}, \quad (1.10)$$

donde  $PI$  es el potencial de ionización,  $e$  es la carga del electrón y  $E_0$  es la intensidad del campo eléctrico del pulso láser. De acuerdo con el teorema del virial el potencial de ionización se relaciona con la velocidad promedio de los electrones  $\langle v \rangle$ .

$$PI = \frac{\langle v \rangle^2 m_e}{2}, \quad (1.11)$$

donde  $m_e$  es la masa de un electrón. Combinando las ecuaciones 1.10 y 1.11 se obtiene la frecuencia de tunelaje ( $w_t$ )

$$w_t = \frac{\langle v \rangle}{l} = \sqrt{\frac{2e^2 E_0^2}{m_e PI}}. \quad (1.12)$$

Sustituyendo  $w_t$  en la ecuación 1.10 se obtiene

$$\gamma = \frac{2w_0}{w_t} = w_0 \frac{\sqrt{2PI m_e}}{eE_0}, \quad (1.13)$$

Si  $\gamma \ll 1$  el proceso que se tiene es ionización por tunelaje y si  $\gamma \gg 1$  es proceso es ionización multifotónica [43], este parámetro ha sido utilizado para

el estudio de hidrocarburos aromáticos [44] donde la ecuación 1.13 es escrita de la siguiente manera:

$$\gamma = \sqrt{\frac{PI}{1,87x10^{-13} * I\lambda^2}} \quad (1.14)$$

El parámetro de Keldysh es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la intensidad del láser, entonces se tomará la mayor intensidad del láser para indicar en qué régimen se está trabajando.

Intensidad	PI	Longitud de onda ( $\mu\text{m}$ )	Constante	Keldish
$1,8932x10^{10}$	9,2	0,355	$1,87x10^{-13}$	143.6

Tabla 1.1: Valor del parámetro de Keldish del presente trabajo.

Como lo indica la tabla 1.1 en todo el intervalo de intensidades del láser empleadas en el presente experimento se encuentran en el régimen multifotónico.

## 1.2. Mecanismos de fragmentación

Unos de los puntos más importantes de la espectrometría de masas es proponer mecanismos de fragmentación para las rutas principales de disociación de las moléculas, para proponerlos se deben en tomar en cuenta ciertas reglas:

1. Regla del electrón par [30]<sup>6</sup>:

- $[impar]^{\bullet+} \rightarrow [par]^+ + R^{\bullet}$ ,
- $[impar]^{\bullet+} \rightarrow [impar]^{\bullet+} + n$ ,
- $[par]^+ \rightarrow [par]^+ + n$ ,
- $[par]^+ \nrightarrow [impar]^{\bullet+} + R^{\bullet}$ .

donde  $\bullet$  es un electrón desapareado,  $+$  indica carga positiva, R es un radical, n un fragmento neutro y las palabras par e impar se refieren al número de electrones.

El primer caso corresponde a un ion positivo impar donde se obtiene un ion positivo par y un radical neutro, el segundo caso comienza de nuevo con un radical positivo pero esta vez se obtiene otro radical positivo y un fragmento neutro, el tercer caso inicia con un ion positivo par del cual se obtienen otro ion positivo par de menor masa más un fragmento neutro y por último cuando se tiene un ion positivo par está prohibido obtener dos radicales. Esta primera regla nos sirve como guía para proponer rutas de disociación, aunque existen excepciones a esta regla.

---

<sup>6</sup>pag. 253



2. Regla de Stevenson [30]<sup>7</sup>: en una fragmentación, la carga positiva permanece con el ion de menor energía de ionización. Esta regla puede ser explicada en relación con los potenciales de ionización de los fragmentos formados. El radical que tenga menos energía de ionización será el que tenga preferencia en la formación de productos, pero también se pueden formar otros iones con mayor potencial de ionización debido a la amplia distribución de energía interna de las moléculas.

Los mecanismos de fragmentación pueden llegar a ser muy complejos dependiendo de si existe migración de cargas, rearrreglos de la molécula, formación de nuevos enlaces, migración de hidrógenos, entre otros. Pero si se tiene conocimiento básico de los procesos de fragmentación se pueden explicar los mecanismos de una gran variedad de moléculas, por lo que se comienza definiendo los tipos de disociación de enlaces. Existen dos tipos de rupturas que pueden suceder: Homolítica donde los electrones que forman el enlace se reparten de forma equitativa entre los átomos enlazados y heterolítica donde uno de los átomos retiene los dos electrones y el otro queda cargado positivamente [45]. A continuación, se muestran los caminos de fragmentación más comunes (ver figura 1.10)

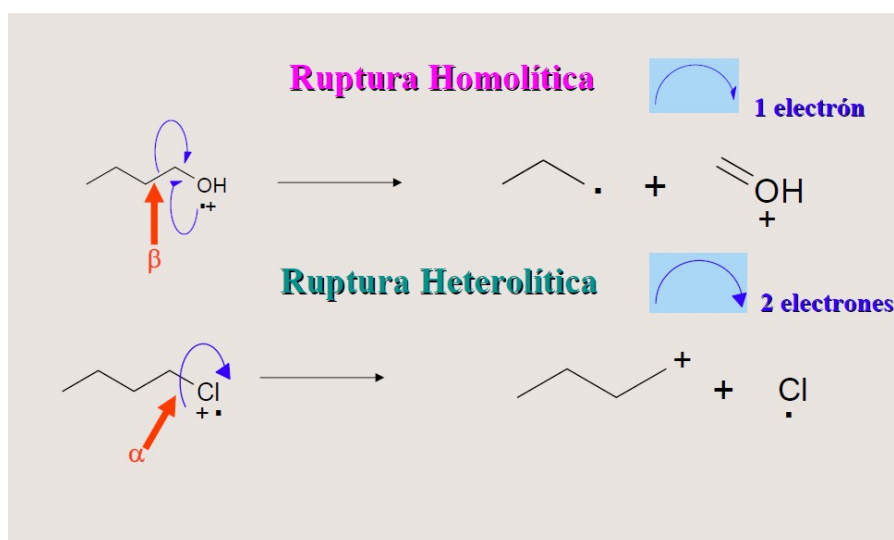


Figura 1.10: Rupturas homolítica y heterolítica

Otros eventos que pueden ocurrir son los rearrreglos de las moléculas, los cuales pueden ser muy difíciles de explicar, sin embargo, existen algunos que ocurren frecuentemente, por tanto han sido estudiados y son bien conocidos; como es el caso del rearrreglo conocido como McLafferty (ML) (ver figura 1.11) [32]<sup>8</sup>. Este mecanismo presenta de intermediario un anillo de seis átomos donde un átomo de hidrógeno se transfiere a un radical catión, obteniendo como producto

<sup>7</sup> pag. 257

<sup>8</sup> pag. 285

un catión y un radical. Es importante señalar que este método cumple con la regla del electrón par.<sup>9</sup>

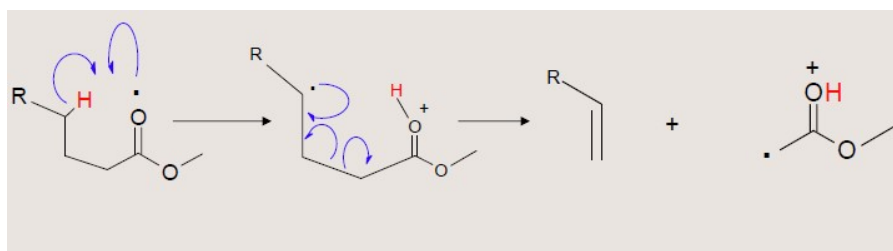


Figura 1.11: Rearreglo McLafferty

Otro mecanismo muy conocido es el Retro Diels-Alder (RDA) (ver figura 1.12) [30]<sup>10</sup> que sucede cuando un anillo bencénico se encuentra en forma de radical positivo, entonces el anillo sufre una doble ruptura en la primera de ellas forma un doble enlace con carbono radical del anillo y en la segunda se fragmenta la molécula en dos productos: un radical positivo y un fragmento neutro.

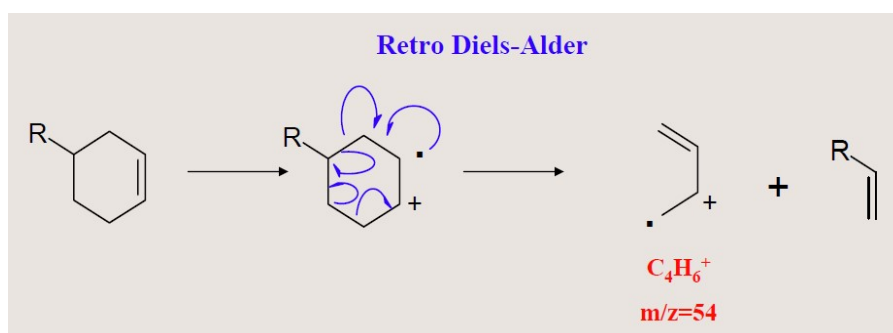


Figura 1.12: Retro Diels-Alder

Es importante mencionar que este mecanismo no es exclusivo de los anillos formados por carbonos e hidrógenos, también puede haber grupos funcionales y llevarse a cabo este mecanismo de fragmentación y al igual que McLafferty también cumple con la regla del electrón par.

### 1.3. Láser

El láser que por sus siglas en inglés significa (Light Amplified by Stimulated Emission of Radiation) amplificación de la luz por emisión estimulada de radiación. Es un dispositivo que permite obtener un haz de radiación electromagnética intenso, cuyo principio es la emisión estimulada de fotones por parte

<sup>9</sup>Nota: las imágenes presentadas para los mecanismos de fragmentación fueron tomadas de una presentación que pertenece a la Q. Georgina Duarte Lisci, disponibles en: [http : //depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4,2InterpretacionEspectrometriadeMasas2463.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4,2InterpretacionEspectrometriadeMasas2463.pdf)

<sup>10</sup>pag. 300

de átomos o moléculas. Sus orígenes remontan a 1917 cuando Albert Einstein propuso la emisión estimulada de la luz. El primero en usar este principio fue un dispositivo llamado máser (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) desarrollado por Charles H. Townes, J.P. Gordon y H. Zeiger en 1954, pero fue hasta 1960 que se creó el primer láser de rubí gracias a Theodore H. Maiman, lo que abrió el camino para una nueva serie de experimentos en la espectroscopía, comprobando el experimento propuesto por Maria Goeppert-Mayer (ver sección 1.1.2). La relación que existe entre los láseres y la química ha abierto nuevos caminos hacia la investigación y desarrollo tecnológico, debido a las características principales de la luz láser como son:

- Coherencia espacial y temporal.
- Polarización controlada.
- Pulsos temporales de femtosegundos  $10^{-15}$ s.
- Luz sintonizable.

Esto permite el estudio de diversas propiedades de la materia que de otro modo no sería posible, por ejemplo, el estudio de reacciones químicas para descifrar mecanismos de reacción. Para comprender mejor el funcionamiento del láser se explicará brevemente el principio del funcionamiento de éste.

Existen dos fenómenos mediante los cuales los átomos o moléculas pueden emitir fotones, conocidos como emisión espontánea y emisión estimulada. La emisión espontánea depende del tiempo de vida del estado excitado y se produce de forma aleatoria sin depender de la intensidad de la radiación incidente. La emisión estimulada consiste en la absorción de un segundo fotón que estimula la relajación del electrón hacia el estado basal, emitiendo un fotón que presenta la misma frecuencia, dirección y polarización (coherencia espacial) y la misma fase y velocidad (coherencia temporal) [33]<sup>11</sup>. En la figura 1.13 se presentan los procesos de absorción y emisión estimulada para un sistema que consta de dos niveles de energía; ( $E_i$ ) que se refiere al estado fundamental del sistema y ( $E_f$ ) que relaciona con algún estado excitado del mismo. En el inciso a) el sistema alcanza un estado excitado al absorber un fotón de energía igual a  $\Delta E_{fi}$ , en el inciso b) se muestra la emisión espontánea, cuando el sistema regresa al estado basal emitiendo un fotón de forma espontánea y el inciso c) corresponde a la emisión estimulada, en éste se puede observar como un sistema que se encuentra en estado excitado absorbe un segundo fotón, que estimula la relajación del sistema al emitir dos fotones de las mismas características que el fotón incidente. El fenómeno del láser se logra gracias a la emisión estimulada, como se explicará en el capítulo 2.

---

<sup>11</sup>pag. 93

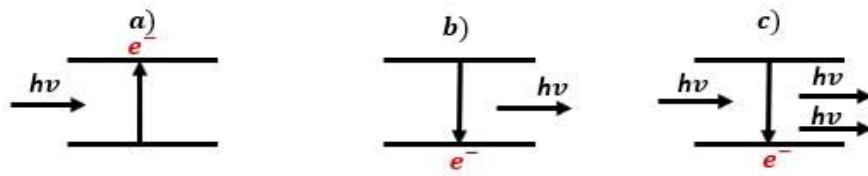


Figura 1.13: Fundamentos de láser: a) absorción de un fotón, b) emisión espontánea, c) emisión estimulada

# Capítulo 2

## Sistema experimental

En este capítulo se explica detalladamente el manejo de la muestra analizada y se describe paso a paso el sistema experimental; así como los equipos utilizados para el mismo, se justifica su uso al describir la importancia de su contribución para obtener mejores resultados. El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de Física Atómica, Molecular y Óptica Experimentales (FAMOE, ver figura 2.1) del Instituto de Ciencias Físicas de la UNAM campus Cuernavaca, Morelos.

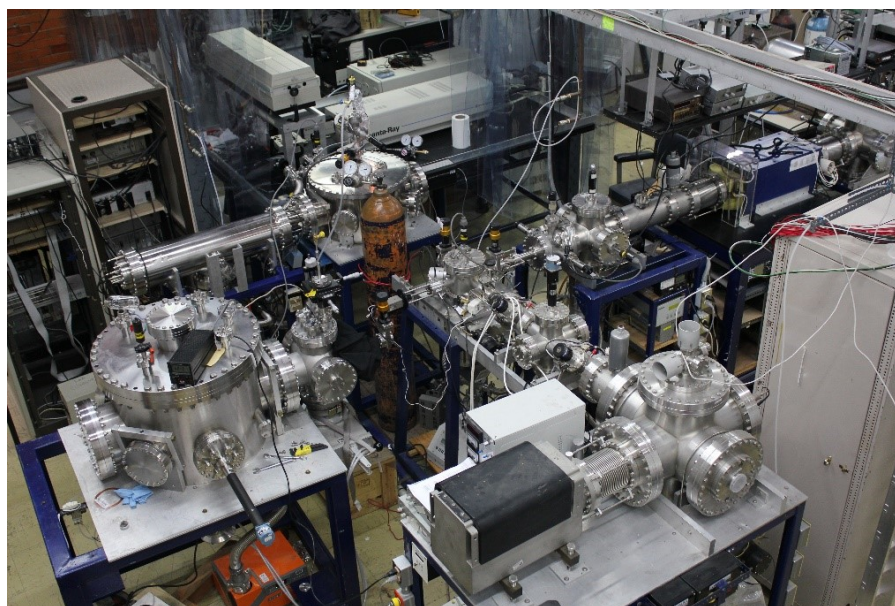


Figura 2.1: Parte del laboratorio de FAMOE-UNAM donde se realizó el experimento

### 2.1. Introducción de la muestra

La muestra se adquirió de SIGMA ALDRICH con un 99 % de pureza e introducida al contenedor de la muestra en una cámara con atmósfera inerte (Ar), debido a que si bien no se encontró en la literatura información sobre contaminación de la muestra al exponerla al aire, se sabe que es altamente higroscópica [21]. El uracilo se encuentra en estado sólido a temperatura ambiente por lo que se calentó a 230 grados centígrados para pasar al estado gaseoso, donde

Maddern y otros reportan que se registra la mayor intensidad del ion molecular y no ocurre disociación térmica [46], además la temperatura se mantuvo constante, debido a que no se han encontrado efectos de fragmentación relacionados con un cambio de temperatura [47]. Para el calentamiento se utilizó una cinta térmica que cubre al contenedor de la muestra, el cual cuenta con un orificio para colocar un sensor y registrar la temperatura (figura 2.2). La cinta va conectada a un autotransformador variable con un voltaje de salida de 0-120 V, se necesitan aproximadamente 8 V para alcanzar la temperatura 230 grados centígrados. Una vez que la muestra pasa al estado gaseoso, se introduce a una tubería que tiene acoplada una conexión donde se puede introducir un gas de arrastre y una segunda conexión a una bomba para hacer vacío antes que entre la muestra, la presión en la tubería es del orden de  $10^{-3} \text{ torr}$ . La tubería finaliza en una válvula pulsada de 0.5 mm de diámetro. La apertura de la válvula esta sincronizada con los pulsos láser a través de un dispositivo de retardo (*AV-TECH, Delay Generator*) que recibe una señal del láser y la retarda por un tiempo de 25,86ms antes de enviarla al controlador de apertura de la válvula (*IOTA ONE*). La muestra es introducida a la cámara de vacío a través de la válvula pulsada que está abierta por un tiempo de 270  $\mu\text{s}$ ; gracias a esto el pulso láser que tiene un tiempo de separación de 33.33 ms, ver ecuación 2.1y el haz de partículas coinciden en la zona de interacción en el centro de las placas de aceleración.

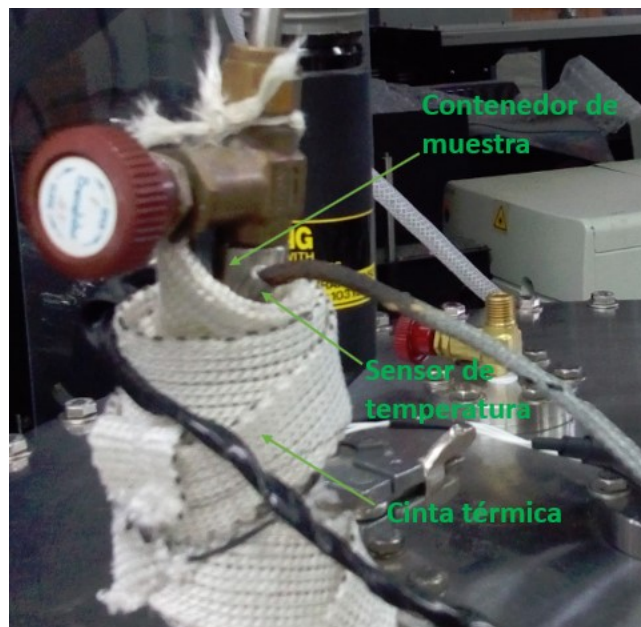


Figura 2.2: Contenedor de muestra envuelto con cinta de calentamiento

Hasta ahora se ha explicado cómo están sincronizados los pulsos láser con el haz de moléculas, pero ¿cómo se sabe que para cada pulso láser corresponde un nuevo haz de moléculas y que un haz no puede recibir dos pulsos láser? El láser emite 30 pulsos en un segundo con una duración de 6 ns, entonces cada

pulso láser esta separador por un tiempo de

$$T_s = \frac{1s}{30pulsos} \approx 33,33ms^1. \quad (2.1)$$

Suponiendo que sale un disparo láser en el tiempo 0, la válvula se abrirá 25.86 ms después, y estará abierta por 270  $\mu s$ , entonces las moléculas tienen un tiempo aproximado de 7 ms para llegar a la zona de interacción y salir de la cámara de interacción antes del siguiente pulso láser. La velocidad de las moléculas en un haz molecular supersónico es del orden  $10^4 \frac{m}{s}$  y la distancia de la válvula al punto focal es  $\approx 15 \text{ cm}$  por lo tanto el tiempo que tarda en llegar el haz de moléculas a la zona de interacción es

$$t = \frac{0,15m}{10^4m/s} = 15\mu s, \quad (2.2)$$

debido a que la zona de interacción se encuentra cerca de la mitad de la cámara, el tiempo estimado para que la muestra salga de ésta se debe aumentar al doble. Con esto se demuestra que la diferencia temporal entre un pulso láser y el siguiente es suficiente para que la muestra sea introducida a la cámara, realice el recorrido hasta la zona de interacción y salga de cámara de ionización.

### 2.1.1. Generación del haz molecular supersónico

Se conoce como haz molecular a aquél en donde todas las moléculas viajan con trayectorias en un régimen libre de colisiones en un ambiente de vacío [32]<sup>2</sup>. Antes de hacer mención de los haces supersónicos se definirá a los haces efusivos que son más sencillos de obtener; para que se produzca un gas efusivo, el reservorio del gas debe estar conectado al vacío a través de un orificio cuyo diámetro ( $d$ ) sea mucho menor que el camino libre del medio  $\lambda_m$  dentro de la cámara de vacío,  $\lambda_m$  es la distancia promedio entre dos colisiones de moléculas en un gas. Este parámetro se mide con el número de Knudsen  $K_n$  (ecuación 2.3) y para que se cumpla la condición anterior  $K_n \gg 1$ ;

$$K_n = \frac{\lambda_m}{d}, \quad (2.3)$$

$$\lambda_m = \frac{1}{\sqrt{2}n_v\sigma}. \quad (2.4)$$

Donde  $\sigma$  corresponde a la sección transversal que indica la probabilidad de colisiones entre un haz de partículas con un objetivo y  $n_v$  la densidad de

<sup>1</sup>Este valor fue confirmado y monitoreado para el presente experimento empleando un osciloscopio TDS 210

<sup>2</sup>pag. 279

partículas, la sección transversal del uracilo es del orden de  $10^{-15} \text{cm}^2$  [47] y la densidad de partículas se puede calcular aplicando la ley de gases ideales

$$n_v = \frac{nN_a}{V} = \frac{nN_aP}{RTn} = \frac{N_aP}{RT}, \quad (2.5)$$

donde R es la constante de los gases ideales, T es la temperatura,  $N_A$  es el número de Avogadro y P es la presión. Se sustituye la ecuación 2.5 en la ecuación 2.4 y se obtiene:

$$\lambda_m = \frac{RT}{\sqrt{2}N_aP\sigma}. \quad (2.6)$$

Se puede realizar un cálculo aproximado para este trabajo experimental; al ingresar la muestra a la cámara de interacción la presión es del orden de  $10^{-6}$  Torr sustituyendo valores en la ecuación anterior se obtiene:

$$\lambda_m = \frac{62363,65 \frac{\text{cm}^3 * \text{mmHg}}{\text{K} * \text{mol}} * 503,15 \text{K}}{\sqrt{2} * 6,022 \times 10^{23} \frac{1}{\text{mol}} * 1 \times 10^{-6} \text{mmHg}} = 3,6 \times 10^4 \text{cm}. \quad (2.7)$$

Esto quiere decir que una vez que las partículas entran a la cámara de vacío es prácticamente improbable que tengan lugar colisiones entre moléculas; ahora se sustituye el valor de d y  $\lambda_m$  en la ecuación 2.3, obteniendo así:

$$K_n = \frac{3,6 \times 10^4 \text{cm}}{0,05 \text{cm}} = 7,6 \times 10^5. \quad (2.8)$$

Por tanto se cumple que  $K_n \gg 1$ , esto quiere decir que al pasar por la válvula pulsada se forma un gas efusivo en la cámara de vacío, sin embargo, un gas de este tipo presenta algunos problemas, como lo son: una baja intensidad, amplia distribución de velocidades entre las moléculas y pequeño confinamiento angular; para no tener este tipo de inconvenientes es mejor tener un gas molecular supersónico [32]<sup>3</sup>, en donde la distribución de velocidades es mínima y se produce una expansión reversible adiabática, alcanzando la temperatura de unos pocos grados kelvin. El nombre de supersónico se debe a que la velocidad promedio del haz es mayor que la velocidad del sonido del mismo gas; una forma de obtener este tipo de haz es usando un skimmer que selecciona la parte central del haz, a través de un pequeño orificio que tiene en la entrada, cuando las moléculas atraviesan el orificio comienza la expansión adiabática, gracias a la forma cónica del skimmer; esto provoca que los grados de libertad de las moléculas disminuyan al mínimo, garantizando que la ionización y disociación se deba únicamente a la interacción con la radiación láser (ver figura 2.3).

---

<sup>3</sup>pag. 280



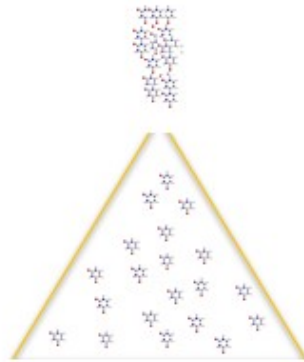


Figura 2.3: Expansión de las moléculas de uracilo en el skimmer

Para realizar el experimento se utilizó un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo operando en modo reflectrón, empleado un láser de Nd-YAG como medio ionizante (ver figura 2.4). El sistema experimental consta de tres partes principales.

- Zona de ionización de la muestra.
- Tubo de tiempo de vuelo (TOF).
- Recolección de datos.

De acuerdo con el objetivo que se persiga, algunas de esas partes se han modificado en el laboratorio para mejorar los experimentos que se realizan; para el caso del uracilo se adecuó una cinta de calentamiento que envuelve el contenedor de muestra para que ésta alcance la temperatura requerida para pasar al estado gaseoso. Además, se cuenta con un sistema láser como fuente de ionización y de la electrónica que sirve para el control, la recolección y el análisis de datos.

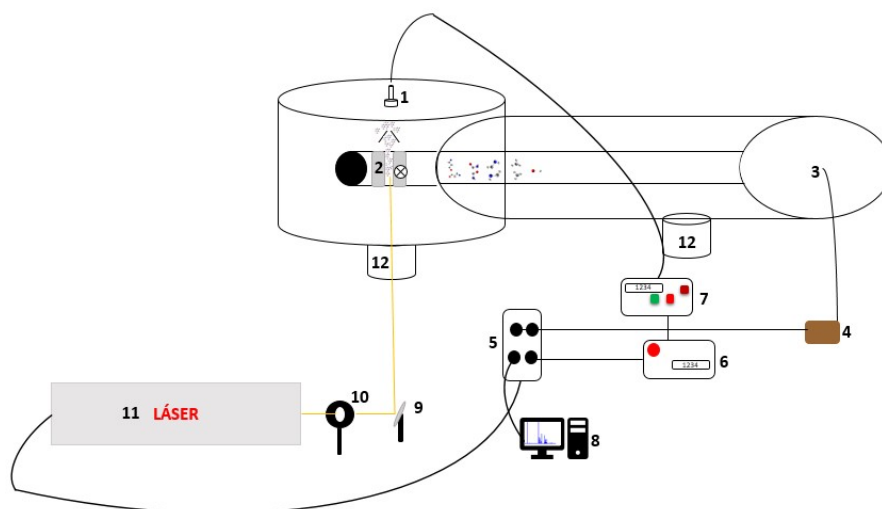


Figura 2.4: Espectrómetro de masas: 1.Válvula pulsada, 2.Placas de aceleración, 3.Detector, 4.Pre-amplificador, 5.Contador de señales, 6.Retardador, 7.Controlador de la Válvula, 8.Equipo de Cómputo, 9.Óptica, 10.Diafragma, 11.Láser, 12.Bombas turbomoleculares, 13 tubo de vuelo.

## 2.2. Zona de interacción de la muestra

En la zona de interacción el rayo láser se enfoca en la parte central de las placas aceleradoras utilizando una lente de enfoque con una distancia focal de 13.5 cm, esto reduce el área del haz a  $2,4 \times 10^{-4} \text{cm}^2$  aproximadamente, aumentando la densidad fotónica en el punto focal y asegurando la mayor probabilidad de producción de iones. Para medir el área del punto focal se hizo incidir el haz del láser enfocado en una placa y se midió el diámetro de la marca con un microscopio. La región de interacción se encuentra entre dos placas de acero inoxidable a potenciales positivos de 2000 y 1000 V respectivamente, produciendo una diferencia de potencial de 1000 V que acelera a los iones con carga positiva de acuerdo con su relación masa-carga. Cuando estos han salido de la zona de aceleración pasan a través de una lente Einzel que sirve para enfocar el haz [48]<sup>4</sup>, cuyo potencial es de 140 V; a continuación, se encuentran las placas de deflexión XY, donde el haz se direcciona al detector en caso de presentar desviaciones en el plano perpendicular a la dirección de aceleración, estas placas tienen un voltaje de 163 V. Se puede conocer la velocidad que lleva cada uno de los iones positivos analizando la equivalencia de energía cinética con la diferencia de voltaje. Esta relación se expresa mediante la ecuación 2.9:

$$E_c = eZ\Delta V = \frac{1}{2}mv^2, \quad (2.9)$$

despejando la velocidad de la ecuación 2.9 se obtiene:

$$v = \sqrt{\frac{2eZ\Delta V}{m}}. \quad (2.10)$$

Se sabe que el ion positivo más ligero que se puede formar es el  $H^+$  y por lo tanto el que tendrá mayor velocidad y saldrá antes que todos de la zona de interacción. Sustituyendo valores en la ecuación 2.10.

$$v = \sqrt{\frac{2 * 1,602 \times 10^{-19} \text{C} * 1000 \text{V}}{1,6735 \times 10^{-27} \text{kg}}} = 4,375 \times 10^5 \frac{\text{m}}{\text{s}}, \quad (2.11)$$

como ya se conoce la velocidad del  $H^+$  y conocemos el diámetro del punto focal ( $17,52 \times 10^{-2} \text{mm}$ ) aproximadamente. Se ha tomado como punto de partida de los iones el diámetro porque se supone que la densidad fotónica es uniforme en todo el punto focal y por lo tanto existe igual probabilidad de la absorción multifotónica en el centro que al extremo de su volúmen. Tomando en cuenta esta consideración se calcula el tiempo que tarda en salir el  $H^+$  de la zona de interacción con la radiación:

$$t = \frac{d}{v} = \frac{17,52 \times 10^{-5} \text{m}}{4,375 \times 10^5 \frac{\text{m}}{\text{s}}} = 4 \times 10^{-10} \text{s} = 0,4 \text{ns}. \quad (2.12)$$

---

<sup>4</sup>pag. 3

Comparando este valor con el ancho temporal del pulso láser  $\approx 6ns$ , los fragmentos cargados positivamente aún pueden interactuar con el 6% del pulso láser y continuar la disociación. Aunque no es la única forma en la que los fragmentos se pueden seguir disociando, un estudio previo de la ionización del uracilo menciona que el fragmento  $m/z = 69$  se disocia en la región libre de campo después de 1.3-14.6  $\mu s$  de la ionización [49].

### 2.3. Tubo de vuelo

Después de salir de las placas de aceleración, los iones positivos ingresan al tubo de tiempo de vuelo, que es la región libre de campo que los iones recorren antes de llegar al sistema de detección. Las ventajas de utilizar un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo son varias: se pueden detectar especies iónicas con tiempos de vida cortos ( $\approx 1\mu s$ ), no se necesitan campos magnéticos en el equipo, se pueden observar y estudiar fragmentaciones durante el tiempo de vuelo, el intervalo de masas que se pueden estudiar solo está limitado por la capacidad del detector, la eficiencia de registro de iones detectados en relación con el total de iones producidos puede ser superior al 80%, entre otras.

El tubo de vuelo puede se puede operar en modo lineal o en modo reflectrón. En el modo lineal los iones viajan en línea recta, desde la zona de interacción hasta el detector y en el modo reflectrón los iones viajan en línea recta hasta el extremo opuesto del tubo de vuelo y luego son redirigidos al detector (ver figura 2.5). El modo lineal tiene como principal desventaja la resolución a causa de la distribución de velocidades de los iones formados; este problema se resuelve al usar el modo reflectrón. El tubo de vuelo tiene una longitud aproximada de un metro, se encuentra dentro de otro tubo protector de mayor diámetro; el cual tiene acoplado un medidor de presión (ion gauge), al llegar al final del tubo se encuentran las placas de reflexión electrostática del reflectrón y por último el detector. Si se opera el espectrómetro de masas en modo lineal, las placas del reflectrón se conectan a un potencial de referencia cero (tierra) y los iones positivos llegan al detector que tiene un voltaje negativo de -3500 V.

Cuando el equipo se opera en modo reflectrón los iones pasan a través de una malla de entrada la cual se encuentra conectada a tierra, luego pasan a través de la placa de retardo (VR1) y son reenviados nuevamente al tubo de deriva con la placa reflectora. Las placas del reflectrón tienen un voltaje positivo de VR1=955 y VR2=1732, estas placas sirven para compensar la diferencia de energía cinética de los iones que tengan la misma relación ( $m/z$ ) mejorando la resolución de los espectros en comparación con el tubo operando en modo lineal.

La diferencia de velocidades se puede deber a diferentes causas, por ejemplo: iones provenientes de distintos caminos de disociación, formación de uno de los iones más cerca de la placa de aceleración con mayor voltaje en comparación con otros de su misma masa, que la absorción fotónica ocurra en intervalos de tiempos diferentes; siempre y cuando el tiempo de vida de los estados excitados lo permita. Finalmente, los iones llegan al detector como se puede observar en la figura 2.5

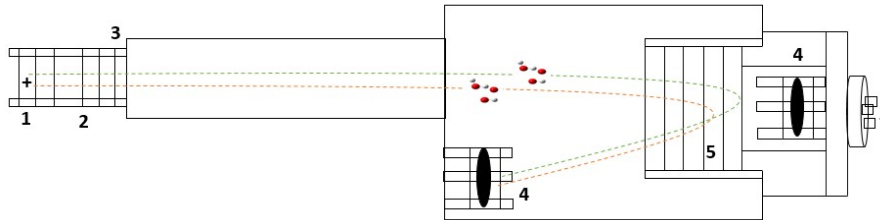


Figura 2.5: Tubo de tiempo de vuelo: 1-placas de aceleración, 2-lente Eizel (foco), 3-placas xy, 4-detectores de microcanal y 5-placas de reflexión.

El tiempo que tardan en llegar al detector fácilmente se puede calcular con la ecuación 2.12 para fines prácticos se emplea el ion  $H^+$  y una diferencia de potencial de 1000V, nuevamente empleando el espectrómetro de masas en modo lineal; pero en este caso la distancia esta dada por la longitud del tubo de vuelo  $\approx 1m$ :

$$t = \frac{d}{v} = \frac{1m}{4,375 \times 10^5 \frac{m}{s}} = 2,28 \mu s. \quad (2.13)$$

Se puede hacer esto para iones de diferentes masas o se pueden calcular los tiempos de llegada a partir de un ion de referencia; supongamos dos cationes 1 y 2 que solo difieren en su masa, las ecuaciones correspondientes serían las siguientes:

$$\frac{t_1}{\sqrt{m_1}} = d\sqrt{2eZV} \quad (2.14)$$

y

$$\frac{t_2}{\sqrt{m_2}} = d\sqrt{2eZV}; \quad (2.15)$$

al igualar la ecuación 2.14 con 2.15,

$$\frac{t_1}{\sqrt{m_1}} = \frac{t_2}{\sqrt{m_2}}, \quad (2.16)$$

despejando el tiempo  $t_2$ :

$$t_2 = \sqrt{\frac{m_2}{m_1}} t_1. \quad (2.17)$$

Como ya se conoce teóricamente el tiempo de llegada del  $H^+$  ( $m/z=1$ ) se pueden calcular para otras masas y simular los tiempos de llegada en un espectro

de masas hipotético, ver figura 2.6. Calcular el tiempo de registro de otros iones en el espectro sirve para identificar los fragmentos formados, además si el investigador está interesado en encontrar una masa en particular, puede identificar rápidamente el tiempo correspondiente al ion de interés y así disminuir el tiempo de análisis. Es importante mencionar que la intensidad de los “picos” fue propuesta con fines ilustrativos (valores aleatorios).

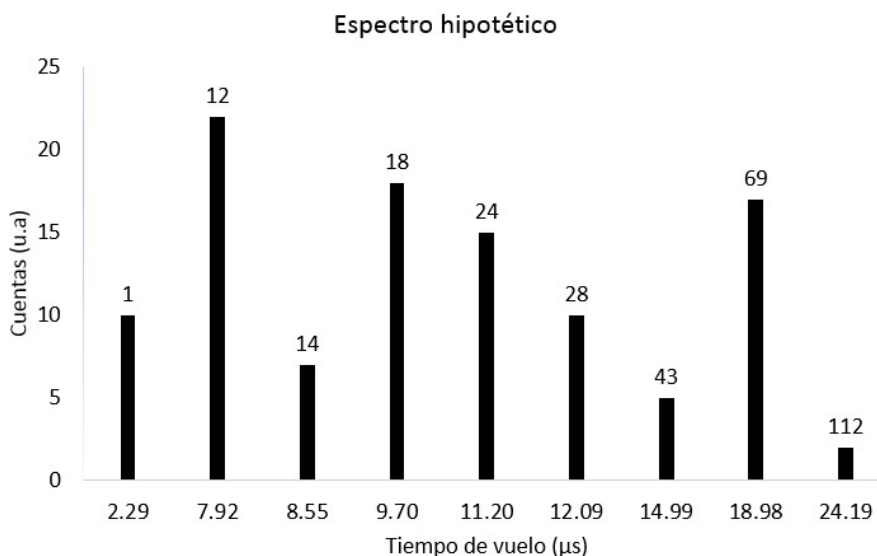


Figura 2.6: Simulación de un espectro de masas para diferentes fragmentos

Además de conocer los tiempos de llegada de los iones la ecuación 2.16, también se puede usar para obtener la masa de los fragmentos desconocidos a partir de uno conocido; usualmente se usa el  $H^+$  por ser el ion más ligero que se puede producir en el espectro de masas para moléculas orgánicas

$$m_2 = \left(\frac{t_2}{t_1}\right)^2 m_1. \quad (2.18)$$

La ecuación 2.18 es utilizada para calcular la masa de los fragmentos que se obtienen en un espectro de masas. Se puede comprobar que la ecuación funciona probando con el espectro simulado o bien tomar datos de los espectros reales que se presentan en el capítulo 3.

### 2.3.1. Resolución del espectrómetro

Es posible conocer la masa de un ion de energía conocida midiendo el tiempo requerido que tarda en salir de la región libre de campo hasta llegar al detector (Tiempo De Vuelo), donde el TDV está dado por

$$T_v = L\sqrt{\frac{M}{2E}}, \quad (2.19)$$

donde  $T_v$  es el tiempo de vuelo,  $L$  la longitud del tubo de vuelo,  $M$  la masa del ion y  $E$  corresponde a la energía del ion; si se despeja la masa de la ecuación anterior se obtiene:

$$M = 2E \left( \frac{T_v}{L} \right)^2. \quad (2.20)$$

Tomando la primera derivada de 2.20

$$dM = 4 \frac{E}{L^2} T dT, \quad (2.21)$$

considerando que  $\Delta M_{M \rightarrow 0} \simeq dM$  y  $\Delta T_{T \rightarrow 0} \simeq dT$ , donde  $\Delta M$  representa la distancia entre dos valles sucesivos, la distancia mínima que se considera para que un ion se separe de otro en el detector es  $\approx 10\%$  y  $\Delta T$  es el ancho de la curva a la mitad de la altura máxima [50]. Ahora se divide la ecuación 2.20 entre la 2.21

$$\frac{M}{\Delta M} = \frac{2E \left( \frac{T}{L} \right)^2}{4 \frac{E}{L^2} T \Delta T} = \frac{T}{2\Delta T}, \quad (2.22)$$

donde  $M/\Delta M$  es la resolución del espectrómetro de masas ( $R$ ); en esta ecuación se puede ver que la resolución de los “picos” en el espectro de masas aumenta proporcionalmente al tiempo de vuelo, esto quiere decir que a menor aceleración de los iones, se tendrá una separación de los “picos” mejor definida. Una medida de la calidad de la resolución es que para un valor de  $R = 5000$ - $2000$  se tiene baja resolución y para valores de  $R > 5000$  la resolución es alta. Se debe tener en cuenta que estos valores no son definiciones exactas, ya que el valor preciso de  $R$  para observar una separación de dos iones distintos con valores de masa similares dependerá de los iones a los cuales se les aplique el análisis.

## 2.4. Registro y análisis de datos

Luego que los iones viajan a través de la zona libre de campo llegan al detector de placas de microcanal [51], que consiste en una placa cuya superficie tiene canales cilíndricos paralelos de  $25 \mu m$  de diámetro y una separación de centro a centro de  $32 \mu m$ , los canales tienen una cubierta de dióxido de silicio (ver figura 2.7) que es la responsable de emitir electrones secundarios. La placa tiene un potencial negativo que varía de la entrada a la salida en  $1000 V$  aproximadamente, acelerando los electrones y produciendo un efecto cascada, amplificando la corriente de electrones hasta en un factor de  $10^6$  generando la

señal a detectar. El tiempo de detección de la placa es de nanosegundos; mientras que el tiempo de separación de los iones es de microsegundos, garantizando la separación de los iones en el espectro de masas.

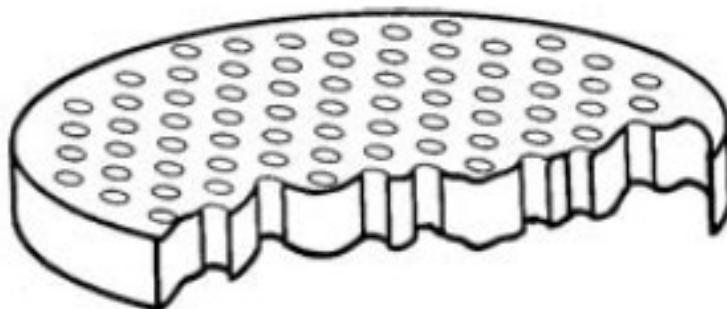


Figura 2.7: Vista frontal de una placa de microcanales

La señal de salida es pequeña, por lo que se amplifica por un preamplificador (VT120 Ortec) que registra la señal en un tiempo  $\leq 1ns$  con una salida de hasta 5 V; esta señal se registra con ayuda del analizador 9308 de Ortec capaz de registrar eventos en el intervalo de 0 a  $325 \mu s$  con precisión de picosegundos. El primer pulso láser inicia el intervalo de tiempo de inactividad, al término de este se inicia el tiempo de registro de datos, posteriormente hay un breve intervalo de tiempo muerto para prepararse para el próximo registro; durante estos intervalos de tiempo se ignora la señal de los pulsos láser. Las señales de los pulsos de llegada correspondientes a cada ion se registran de acuerdo a su relación *masa/carga* y se guardan en la computadora por medio del software asociado (PTA32, Ver 2.1); esto quiere decir que al comenzar el siguiente registro de pulsos los que coincidan con los registrados previamente se acumulan, observando un aumento en el tamaño de los “picos” del espectro, que se representa como el número de iones contra el tiempo de vuelo. La validez estadística corresponde a la repetición del registro de datos para un gran número de barridos de registro de pulsos. Los espectros se visualizan en la computadora mediante el programa PTA32, donde se guardan con extensión .pta y luego se cambian con ayuda del programa MATLAB a archivos tipo .txt para analizarlos en el software ORIGIN. En este último programa se analiza cada pico para reducir el error de los datos (ej. tiempo de vuelo, área bajo la curva); por último, los datos obtenidos en este punto se analizan en EXCEL donde se calcula el orden del proceso multifotónico empleando la ecuación 1.2 y se asigna una masa a cada “pico”, entre otras cosas de interés científico.

Parámetro	
Tiempo inactivo	0.04500 $\mu$ s
Tiempo de barrido	81.9200 $\mu$ s
Número de barridos	10,000

Tabla 2.1: Parámetros empleados para la adquisición del espectro de masas con el programa PTA 32.

## 2.5. Sistema de vacío

Uno de los problemas más frecuentes en espectrometría de masas es la contaminación en los espectros, causado principalmente por un vacío defectuoso, en este experimento se utiliza una bomba centrífuga de 23000 rpm que puede alcanzar presiones de vacío del orden  $10^{-3}$  torr, trabaja en conjunto con dos bombas turbo-moleculares de 56000 y 75000 rpm (ver figura 2.8) las cuales generan una presión de vacío hasta de  $10^{-8}$  torr. Para mejorar el vacío en el espectrómetro de masa se enrolló una cinta de calefacción sobre la cámara de interacción y el tubo de tiempo de vuelo, cubierta con papel aluminio para evitar perdida de calor hacia los alrededores, la temperatura a la que se calienta es aproximadamente 100 °C evitando que se dañen los componentes de sistema. Como resultado de esta acción se observa una disminución en el pico de  $m=18$  correspondiente al agua.



Figura 2.8: Bomba turbomolecular.

Otro contaminante que puede afectar el vacío dentro de la cámara son los residuos de muestras estudiadas previamente. Para ellas el calentamiento externo no es capaz de eliminarlas, ya que no es posible calentar el interior de la cámara debido al vacío que existe. Para resolver este problema se remueven las placas de extracción del equipo, el skimmer, la válvula pulsada y el contenedor



de muestra junto a su tubería; posteriormente se lavan en ultrasonido utilizando un detergente biodegradable propio para este método de limpieza, luego se secan a una temperatura de 120 °C. Las partes que no son removibles del equipo experimental debido a su gran tamaño o calibración precisa, se limpian con acetona y posteriormente se introduce una lámpara ultravioleta (ver figura 2.9); que calienta el interior de la cámara por aproximadamente una semana haciendo vacío con las bombas turbomoleculares. Con ello se ha observado una notable disminución de la contaminación en los espectros.

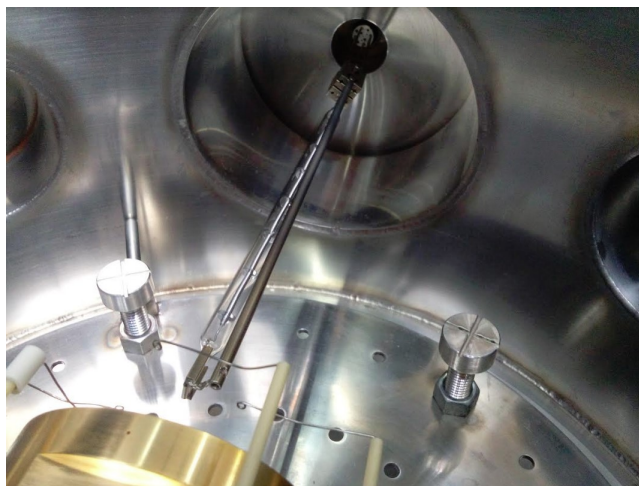


Figura 2.9: Lámpara ultravioleta: Se utiliza para calentar el interior de la cámara de ionización

Otro aspecto muy importante de trabajar en condiciones de vacío es que los iones aislados no están en equilibrio térmico con sus alrededores, por lo que solo pueden redistribuir la energía internamente y únicamente pueden experimentar reacciones unimoleculares por ejemplo: isomerización y disociación [30].

## 2.6. Sistema láser

El láser utilizado fue un Quanta-Ray de Spectra-Physics de 30 Hz con pulsos de 5-6 ns de ancho temporal [52]. El medio activo del láser es un cristal de neodimio triplemente ionizado, dopado con granate de itrio-aluminio (Nd:YAG por sus siglas en inglés); el medio activo se excita empleando dos lámparas de Xenón, cuya energía de bombeo coincide con las principales bandas de absorción del rojo e infrarrojo cercano del cristal de Nd:YAG, las moléculas se excitan y los electrones decaen al nivel  ${}^4F_{3/2}$  que tiene un tiempo de vida  $\approx 230\mu s$ ; al realizar la transición al estado  ${}^4I_{11/2}$  se emite un fotón de 1064 nm, luego rápidamente se relaja al estado fundamental manteniendo la población del estado basal. Aunque existen otras transiciones competitivas 1319, 1338 y 946 nm todas presentan menos ganancia comparadas con 1064nm. Si se emplea el sistema láser usando solo el medio activo y el resonador se emitirá un pulso largo (200ms) cada

vez que las lámparas se enciendan; pero de baja energía, para aumentar la energía se utiliza un Q-switch capaz de acortar los pulsos y obtener la energía máxima [52]<sup>5</sup>.

### 2.6.1. Q-switching

En el modo de operación Q-switch (ver figura 2.10) la energía se almacena en el material activo durante el bombeo, aumentando la inversión de población en el estado excitado [52]<sup>6</sup>, para lograr esto un obturador electro-óptico se coloca entre el material activo y el resonador; rompiendo el ciclo de enriquecimiento y manteniendo la población del estado excitado, una vez que se ha acumulado suficiente energía se retira el obturador, entonces la ganancia en el resonador aumenta más de lo que se obtendría operando en el modo normal. La energía que sea produce se dirige en un solo pulso con duración de 5-6 ns, consiguiendo de esta manera aumentar la intensidad del rayo láser. Es importante mencionar que este modo de operación también tiene pérdidas de energía comparado con el modo normal, debido a que los electrones que se excitan solo pueden hacerlo una vez; además la pérdida por fluorescencia debido a la duración del tiempo del estado excitado y una parte de la energía almacenada permanece en el medio activo, por lo que funciona bien para estados excitados de tiempos de vida largos como en el caso de los láseres de estado sólido.

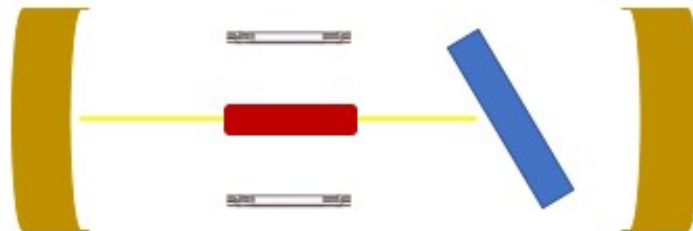


Figura 2.10: Sistema Q-switching

### 2.6.2. Cavity resonante

La cavidad resonante es el lugar donde se tiene el enriquecimiento de fotones coherentes; está constituida por dos espejos que reflejan solo cierta(s) longitudes de ondas, los fotones que se emiten por el medio activo en dirección del eje x (eje que une a los espejos o eje óptico) de la cavidad resonante son reflejados nuevamente hacia el medio activo y al interactuar con los estados excitados

<sup>5</sup>Pag. 5

<sup>6</sup>Pag. 5-6

producen la emisión de un segundo fotón con la misma energía, fase y dirección (emisión estimulada) esto quiere decir que por cada fotón que interactúa con el medio activo excitado se obtienen dos, por dos se obtienen cuatro, por cuatro se obtienen 8 y así sucesivamente hasta alcanzar el equilibrio entre los fotones excitados y emitidos [52]<sup>7</sup>. Uno de los espejos mencionados deja pasar una fracción de la luz que es la que constituye la radiación láser. El acoplador de salida produce perfiles gaussianos en la salida del láser. Esto quiere decir que la densidad fotónica es mayor en el centro del haz y disminuye uniformemente hacia los extremos.

Para obtener otras longitudes de ondas se utiliza óptica no lineal como cristales de fosfato de potasio dideuterio (KD\*P), cuando interactúa la longitud de onda fundamental del láser (1064 nm) con estos cristales se obtiene la longitud de onda correspondiente al segundo armónico (532 nm), si esta onda pasa a través de un segundo cristal se obtiene la correspondiente al cuarto armónico (266 nm) o se puede mezclar la longitud de onda 532 nm con el residual del 1064 y se obtiene la correspondiente al 3 armónico (355 nm) [52]<sup>8</sup>. La duración de los pulsos láser depende de la longitud de onda con la que se trabaje, de 8-9 ns para 1064 nm, de 6-7 ns para 532 nm, de 5-6 ns para 355 nm y de 4-5 ns para 266 nm.

### 2.6.3. Precauciones para trabajar con el láser

Uno de los aspectos más importante que se deben considerar a la hora de hacer un experimento es la seguridad del personal del laboratorio. El láser utilizado está clasificado como clase IV por la Norma UNE-EN 60825-1:2015 de acuerdo con su riesgo, la exposición directa de ojos y piel siempre es peligrosa y la reflexión difusa normalmente también, pueden originar incendios; por lo que se mencionan las medidas preventivas para evitar daños a la salud:

- Usar gafas protectoras todo el tiempo.
- Evitar mirar el rayo láser directamente o cualquier reflejo de este.
- Prohibido el uso de joyas reflejantes mientras el láser este en operación.
- Operar el láser a la menor intensidad posible (depende el experimento).
- La operación del láser debe ser ejecutada por personal capacitado.
- Evitar el contacto del rayo láser con cualquier parte del cuerpo.

---

<sup>7</sup>Pag. 7

<sup>8</sup>pag. 10

- Trabajar en un ambiente iluminado para mantener la contracción de la pupila y reducir el riesgo de daño.
- Colocar señales de advertencia cuando el láser este en uso.
- El rayo láser no debe estar a la altura de los ojos.

# Capítulo 3

## Presentación y discusión de resultados

En este capítulo se analizan los espectros obtenidos del uracilo utilizando una longitud de onda correspondiente al tercer armónico del láser (355 nm), que se encuentra dentro del intervalo que corresponde a los rayos UVA con una intensidad del orden de  $10^9 - 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Se asocian los posibles iones que conforman el espectro de masas de acuerdo a la relación  $m/z$  y se presenta una comparación con trabajos previos sobre la fragmentación de uracilo; donde se destaca los nuevos fragmentos que fueron identificados. Se analiza el efecto de la intensidad de radiación incidente en la fragmentación del uracilo, aportando nueva y relevante información que no ha sido reportada. Además, se calcula la resolución de los espectros obtenidos y se discute la importancia de ésta en la interpretación de resultados. Se calcula un valor aproximado de la energía necesaria para ionizar los fragmentos representativos del espectro y se discute la relación de la energía requerida para la formación de los iones y la intensidad de éstos en el espectro. Por último, se proponen las posibles rutas de disociación que puede seguir la molécula de acuerdo con los resultados obtenidos, tomando como guía estudios previos de fragmentación del uracilo correspondientes a diferentes métodos.

### 3.1. Identificación de fragmentos

Para la identificación de los fragmentos se utilizó un espectro obtenido al realizar un barrido de 100,000 repeticiones, con la finalidad de identificar los iones que tengan una baja probabilidad de formarse. Obviamente los fragmentos con mayor probabilidad de formarse destacan por su intensidad en el espectro (ver figura 3.1). Para identificar la mayor cantidad de iones se realizó una búsqueda minuciosa, porque si bien algunos iones son fáciles de identificar como el  $C^+$  o  $H^+$  debido a su alta intensidad, otros iones que también son importantes, tienen una intensidad muy pequeña, lo que dificulta su detección aún para altas intensidades del láser. Afín de mostrar este efecto se hace una amplificación de diferentes zonas del espectro (ver figura 3.2) analizando cada uno de los pi-

cos encontrados. Todos los fragmentos identificados en este trabajo, se supone que son monocargados debido a la alta demanda de energía para una segunda ionización.

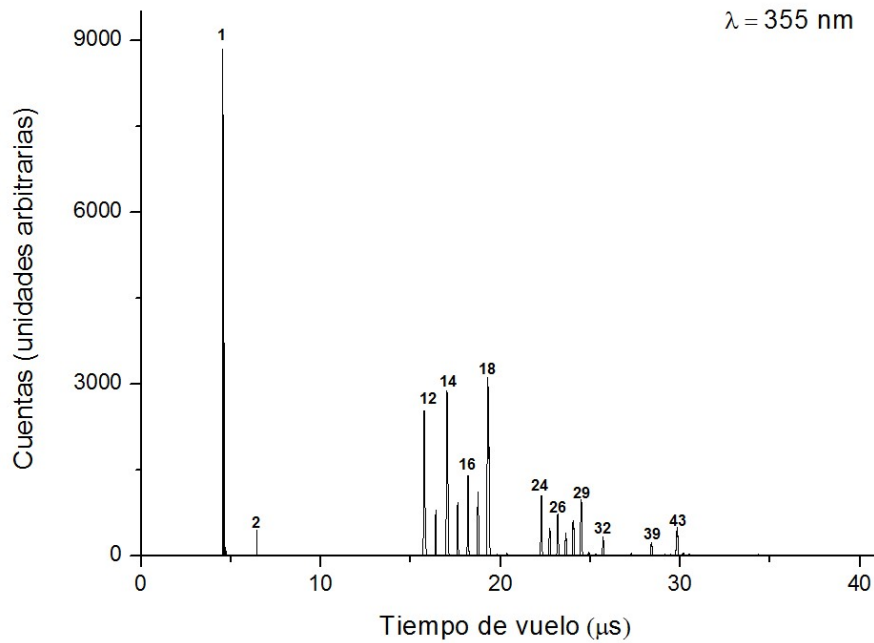


Figura 3.1: Espectro obtenido a 355 nm con intensidad de  $\approx 1,9 \times 10^{10} W/cm^2$

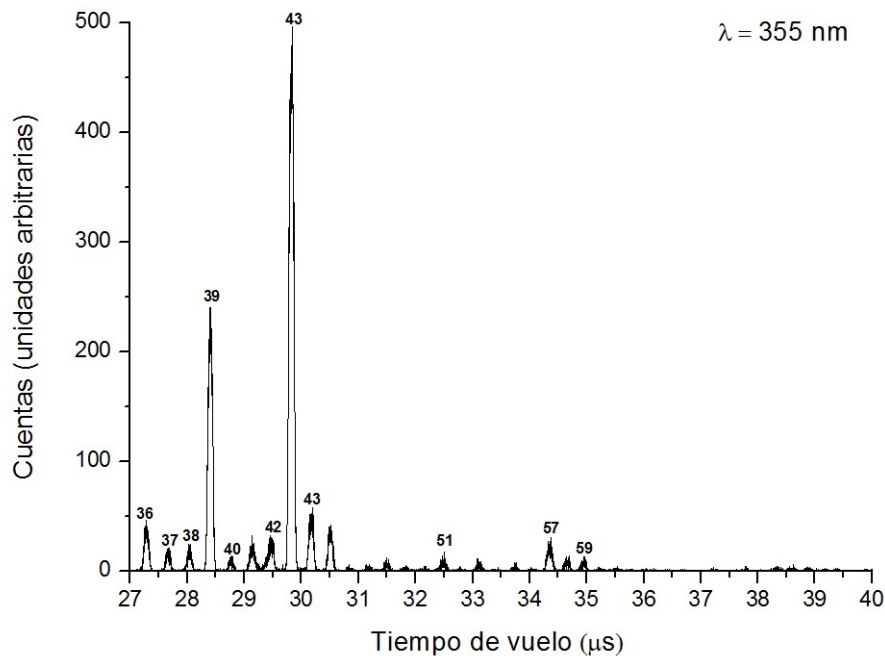


Figura 3.2: Amplificación del espectro obtenido a 355 nm con intensidad de  $\approx 1,9 \times 10^{10} W/cm^2$  para la identificación de picos pequeños

Además se construyó una curva de calibración para cada para una de las intensidades empleadas en la MFI del uracilo, esta curva se construye empleando

las masas calculadas y los tiempos de vuelo, y se ajusta una ecuación para rectificar las masas propuestas.

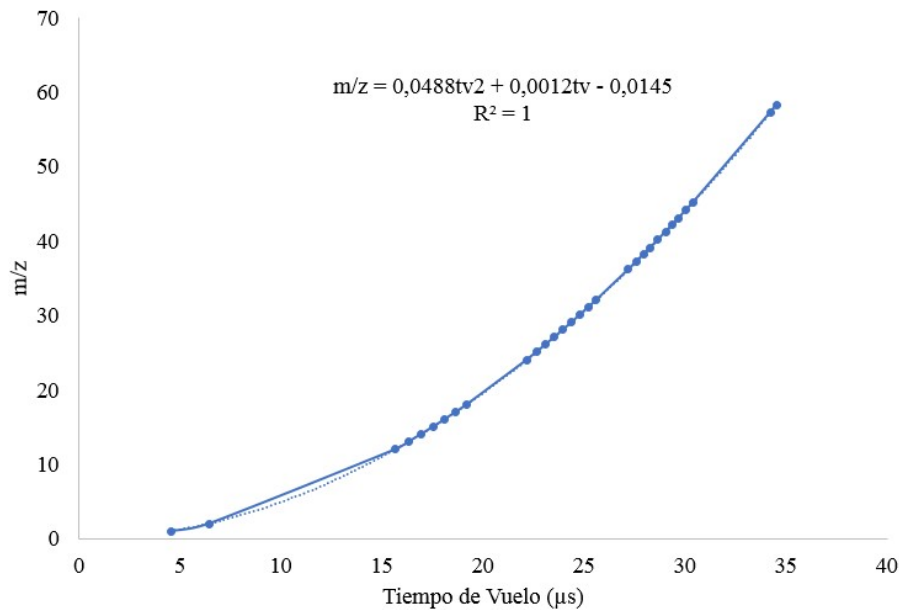


Figura 3.3: Curva de calibración para los iones formados por absorción multifotónica con una intensidad de  $1,7 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$

El coeficiente de determinación  $R^2$  indica que la ecuación polinómica de segundo orden, que describe la línea de tendencia propuesta, se ajusta un 100 % a la relación que existe entre las masas calculadas y el tiempo de vuelo de los iones.

Entre más pequeña es la masa de los iones detectados, es más sencillo identificar la estructura que forma al ion para una relación de masa/carga dada, esto es debido a que las combinaciones de átomos que se pueden proponer para su estructura son limitadas. Conforme aumenta la masa de los iones esto se vuelve más complejo, debido a la gran variedad de combinaciones que se pueden proponer. En el espectro de la figura 3.1 los iones de mayor intensidad corresponden a masas pequeñas lo que indica una fragmentación intensa del uracilo, esto difiere con trabajos previos donde se logra observar iones de mayor peso molecular.

Los iones identificados se muestran en la tabla 3.1, además se presenta una comparación de resultados obtenidos por otros autores que han trabajado con el uracilo empleando la técnica de espectrometría de masas, pero utilizando diferentes métodos de ionización en algunos casos o diferentes longitudes de onda cuando se emplea el mismo método, por lo que hacer una comparación de resultados es indispensable para lograr una mejor comprensión de la disociación del uracilo.

Ion	[39] 355 nm MFI	[53] 220 nm MFI	[54] 70 eV IE	[15] 70 eV IE	[15] fotón 6-22
$H^+$	1	1	1	...	...
$H_2^+$	2	...	2	...	...
$C^+$	12	12	12	...	...
$C_2H^+$	13	13	13	..	...
$CH_2^+$ , $N^+$ [15]	14	14	14	...	14
$CH_3^+$ [47,53], $NH^+$ [47]	15	15	15	...	...
$O^+$ , $NH_2^+$ , $CH_4^+$	16	...	16	...	...
$OH^+$ , $NH_2^+$	17	...	17	...	17
$H_2O^+$ [15]	18	...	18	...	18
$C_2^+$	24	24	24	...	...
$C_2H^+$	25	25	25	...	...
$C_2H_2^+$ [49], $CN^+$	26	26	26	26	26
$C_2H_3^+$ [49], $CNH^+$ [15,24]	27	27	27	27	27
$CO^+$ [55], $C_2H_4^+$ [49], $HNCH^+$ [15,53]	28	28	28	28	28
$HNCH_2^+$ [56], $HCO^+$ [15], $C_2H_5^+$	29	29	29	29	29
$COH_2^+$	30	...	30	...	...
$COH_3^+$	31	...	...	...	...
$COH_4^+$ , $NOH_2^+$ , $O_2^+$ , $N_2H_4$	32	...	...	...	...
$C_3^+$	36	...	...	...	...
$C_3H^+$	37	...	...	...	...
$C_2N^+$ , $C_3H_2^+$	38	38	38	38	...
$C_2NH^+$ [39,56], $C_3H_3^+$ [47]	39	39	39	39	39
$C_2NH_2^+$	40	40	...	40	40
$C_2NH_3^+$	...	41	41	...	...
$CNO^+$	42	42	...	42	42
$HNCO^+$ [47,56], $C_2H_3O^+$ [49]	43	43	...	43	43
$H_2NCO^+$	44	44	44	44	44
$H_3NCO^+$	45	...	...	...	...
...	51	...	51	51	...
...	...	...	52	52	52
...	...	...	53	53	53
...	...	...	56	56	56
...	57	...	...	...	...
...	58	...	...	...	...
...	59	...	...	...	...
$C_3H_2NO$	...	68	68	68	68
$C_3H_3NO$	...	69	69	69	69
$C_3H_4NO$	...	...	70	70	70
...	...	...	...	77	...
$C_3H_4N_2O$	...	84	...	...	...
...	...	...	...	96	96
$C_4H_4N_2O_2$	...	112	112	112	112

Tabla 3.1: Comparación de iones obtenidos en el uracilo por diferentes métodos

De acuerdo con la literatura el método de ionización no debería de afectar los caminos de fragmentación, lo que es válido en algunas ocasiones, ya que la mayoría de los fragmentos identificados en este trabajo pueden ser identificados en el espectro presentado por Pal Markush y otros [21], quienes utilizaron como método de ionización  $^{12}C^{4+}$  con 36 keV de energía. sin embargo; en la tabla 3.1 se observan diferencias con el presente trabajo, donde se identifican nuevos iones correspondientes a las masas 31, 32, 36, 37, 45, 57, 58 y 59. La formación de éstos



iones se puede deber a que el pulso láser tiene un ancho temporal grande (del orden de nanosegundos) y puede conducir a diferentes caminos de fragmentación provocados por la absorción multifotónica, provocando una fragmentación intensa del uracilo, donde se fragmenta el ion molecular para formar estructuras más pequeñas. Sí se compara la energía de ionización del Uracilo  $\approx 9,2eV$  [57] y la energía de un fotón de longitud de onda 355 ( $E = 3,49251eV$ ), se observa que se necesita aproximadamente la absorción continua de tres fotones para lograr ionizar la molécula (depende del tiempo de vida de los estados excitados).

Una vez que se ha formado el ion molecular, éste puede continuar interactuando con el láser y es posible que continúe absorbiendo fotones, lo que provoca la fragmentación del ion molecular, lo cual explica la ausencia de la masa 112 en el espectro, aunque existen otras alternativas por las cuales el ion molecular no se logra observar, depende del modo de interacción de la radiación-materia y de los estados excitados a los que accede la molécula.

En cuanto a los iones identificados, además de destacar los iones que han sido detectados por primera vez, es relevante mencionar otros fragmentos, como el caso del ion de  $m/z$  18 que ha sido reportado como contaminación por agua  $H_2O^+$  [15] aunque no se descarta que provenga del uracilo, y el ion de masa 32 que presenta una intensidad considerable en el espectro. Ésta masa no se ha reportado y de acuerdo a las combinaciones que lo pueden formar se propone:  $COH_4^+$ ,  $NOH_2^+$ ,  $O_2^+$  y  $N_2H_4^+$  a partir de la molécula de uracilo, es complicado explicar su mecanismo de formación, porque se trata de átomos que no están enlazados directamente en la molécula. Sin embargo; si su formación es precedida por procesos subsecuente acompañados de la isomerización de los fragmentos, su formación es posible [58]. Las rutas de disociación se abordarán más adelante cuando se analicen los mecanismos de fragmentación.

### 3.2. Efecto de la intensidad de radiación en la fragmentación del uracilo

Una vez que se identificaron los iones de mayor intensidad en el espectro, es interesante averiguar qué sucede al modificar la potencia del láser. El efecto de la intensidad de radiación influye en la corriente iónica. Esto demuestra la relación que existe entre la fragmentación de las moléculas y la intensidad del láser, como se puede observar en las siguientes gráficas:

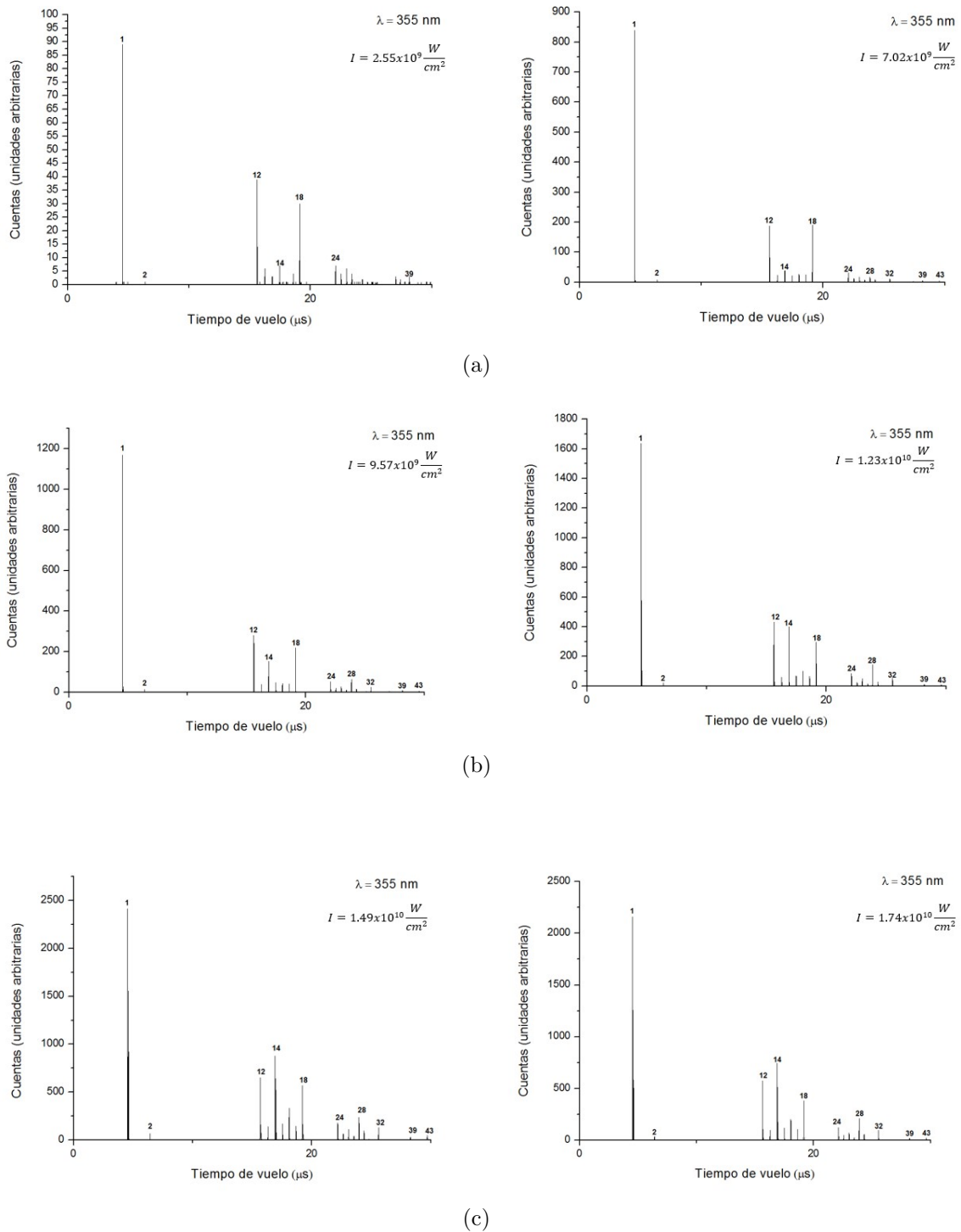


Figura 3.4: Espectros obtenidos a 355 nm con diferentes intensidades de radiación.

Los espectros de la figura 3.4 a) representan las intensidades más bajas para las cuales se realizó el experimento, los de la figura 3.4 b) corresponden a intensidades medias y las de la figura 3.4 c) pertenecen a las mayores intensidades que se obtuvieron del láser utilizado. Como se puede observar el  $H^+$  presenta la mayor intensidad para todo el intervalo de intensidades del láser, pero hay iones que si presentan cambios en su intensidad. El primer cambio que se observa, es la competencia entre los iones de masas 12 y 14, para intensidades bajas el ion  $m/z=12$  presenta una altura  $\geq$  a 3 veces la altura del ion  $m/z=14$ , para

intensidades intermedias esta diferencia disminuye considerablemente llegando a tener una intensidad casi equivalente, finalmente para los espectros donde se utilizó la mayor intensidad, la producción del ion de masa 14 respecto al ion de masa 12 fue mayor.

Un comportamiento similar se observa al comparar los iones de  $m/z$  28 y 24, se puede observar que a bajas intensidades el ion  $m/z=28$  no se logra identificar, pero cuando se utilizan intensidades intermedias su producción supera la del ion  $m=24$ , que representaba al pico más grande de ese conjunto de iones. otro ion que llama la atención es el correspondiente a la masa 32, el cual a bajas intensidades no se produce, pero para intensidades más altas alcanza una intensidad similar al pico 24. Las comparaciones del crecimiento de los picos, pueden o no estar relacionados.

La aparición de nuevos fragmentos sugiere que se formaron a partir de fragmentos más pesados, esto no es de sorprender porque como ya se calculó (ecuación 2.12), aunque los fragmentos se ionicen son capaces de seguir absorbiendo fotones (por un tiempo máximo de  $0,4\mu s$ ). La energía que se absorbe en este tiempo, podría corresponder a la energía necesaria para superar una barrera de estado disociativo(ver sección 1.1.1), además se tiene el aumento del número de iones con el aumento de la intensidad del láser.

Para que aparecieran los nuevos fragmentos otros deberían desaparecer, ya que si la disociación es continua se debe romper un fragmento pesado para la producción de los más pequeños, pero el experimento demuestra que esto no se cumple en su totalidad, ya que algunos iones pesados (por ejemplo masa 32) sólo se identifican para altas intensidades, por lo tanto su formación puede estar relacionada con los fragmentos neutros, que se obtienen simultáneamente con los iones los positivos. Cuando se aumenta el número de fotones en la zona de interacción, los fragmentos que no tenían carga pueden absorber la energía necesaria para ser ionizados y registrados en el espectro de masas. Para visualizar mejor el efecto de la intensidad a continuación se comparan dos espectros con la misma longitud de onda 355 nm, ver figura 3.5.

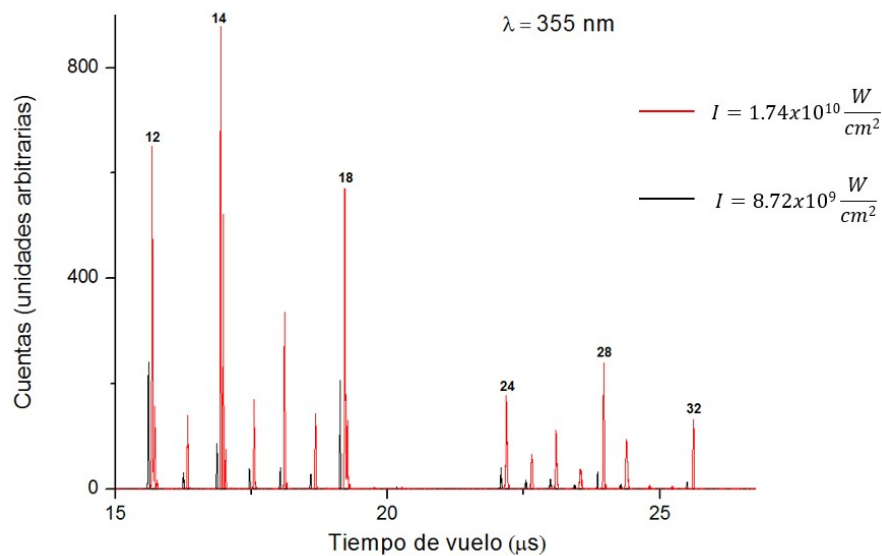


Figura 3.5: Efecto de la intensidad del láser en el crecimiento de los picos.

El espectro de color rojo se obtuvo a una intensidad de  $1,74 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  y el de color negro a  $8,72 \times 10^9 \text{ W/cm}^2$ , en esta comparación es más notable la diferencia en la intensidad de los iones, solo se eligió una parte del espectro debido a la mayor producción de hidrógeno respecto de los otros iones, esta comparación es más evidente que la anterior (figura 3.4), pero conduce a las mismas conclusiones. El siguiente paso es ver el comportamiento de la corriente iónica (CI) de todos los iones identificados, lo que se muestra a continuación:

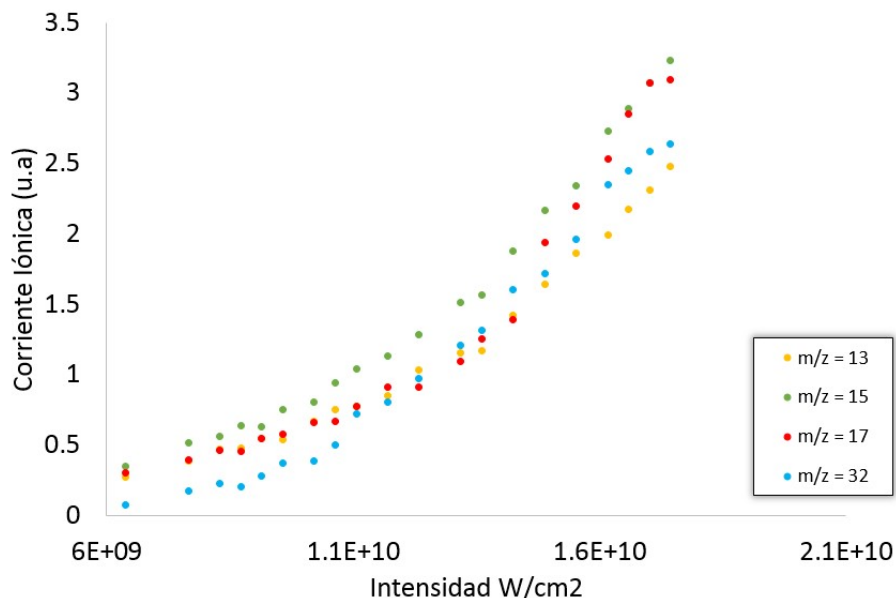


Figura 3.6: Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 13, 15, 17, 32$ ).

Los iones de la figura 3.6 presentan un crecimiento similar, cuando se aumenta la intensidad de radiación su producción aumenta. Los siguientes iones

analizados son los iones de  $m/z$  2, 16, 24 y 29 (figura 3.7).

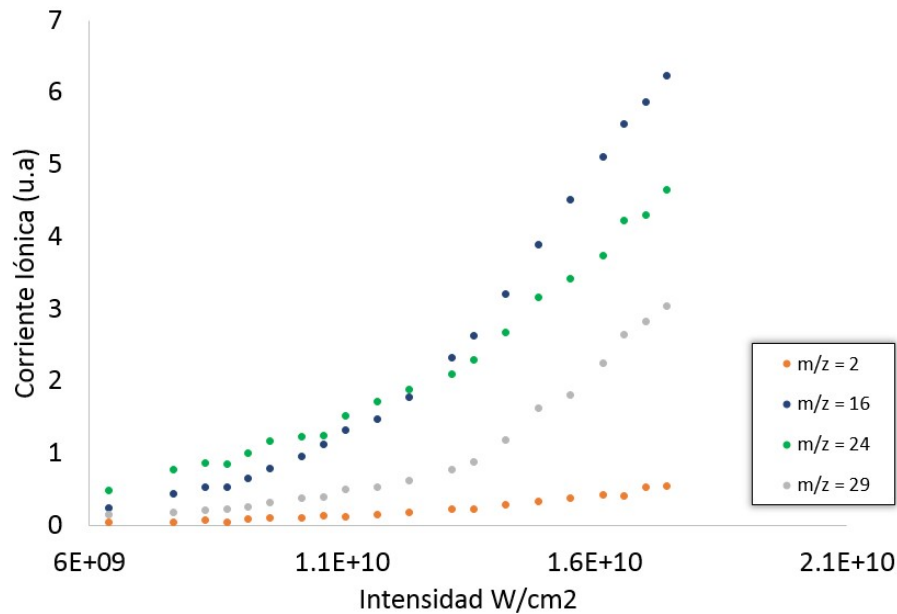


Figura 3.7: Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 2, 16, 24, 29$ ).

El ion de  $m/z$  2 es el que presenta una menor producción al aumentar la intensidad, esto se debe a que este ion no proviene directamente del uracilo, para su formación se deben unir dos H, lo cual tiene una baja probabilidad de ocurrir en las condiciones del experimento. El ion de masa 16 es el que presenta una mayor producción al aumentar la intensidad del láser, incluso supera la producción del ion de  $m/z$  24, lo que sugiere que la formación del ion de  $m/z$  16 requiere mayor número de fotones respecto al ion de masa 24. Los siguientes iones analizados son los iones de  $m/z$  25, 26, 27 y 28 (ver figura 3.8).

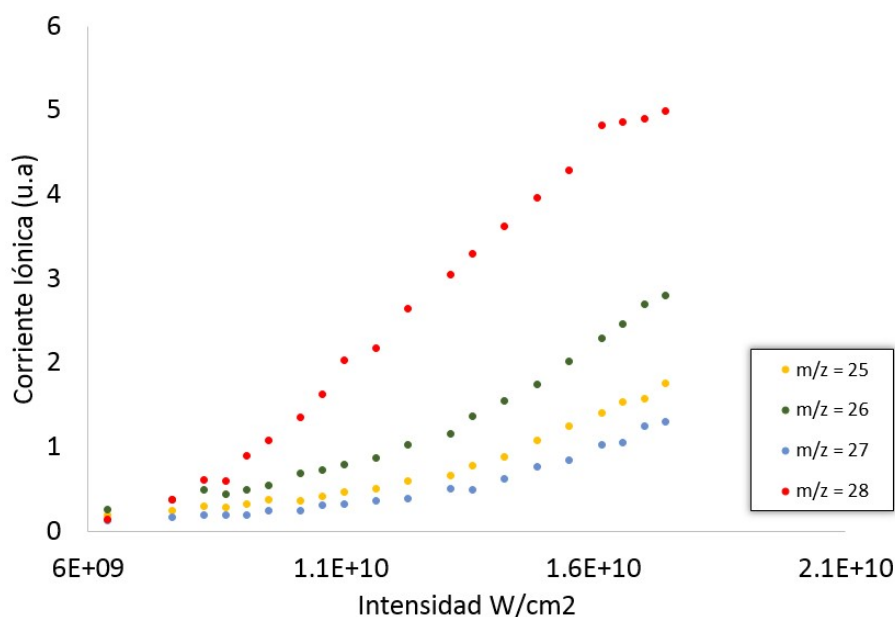


Figura 3.8: Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 25, 26, 27, 28$ ).

La producción del ion de  $m/z$  28 es la que más se incrementa con la intensidad del láser, el cual ha sido reportado como uno de los iones que se produce en mayor cantidad [39] cuando se fragmenta el uracilo. por último, se presenta el comportamiento de los iones de  $m/z$  1, 12, 14 y 18 (ver figura 3.9).

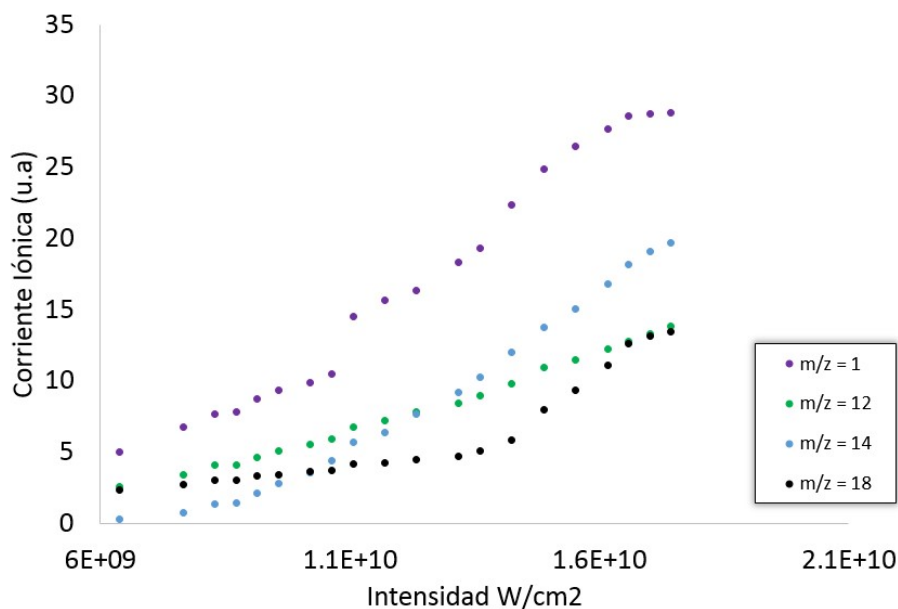


Figura 3.9: Comportamiento de la corriente iónica al aumentar la intensidad del láser ( $m/z = 1, 12, 14, 18$ ).

Como ya se había mencionado el ion de  $m/z$  1 es el que se produce en mayor cantidad, lo que comprueba predicciones teóricas que proponen diferentes rutas de fragmentación del uracilo para la producción H [59]. También el ion de masa 14 presenta una intensidad elevada, pero a diferencia del H su producción a

bajas intensidades del láser es muy baja, por lo que requiere mayor energía para su formación. En la siguiente gráfica (ver figura 3.10) se analiza la corriente iónica total (CIT); que es la suma de las corrientes iónicas individuales de cada fragmento contra la intensidad, para mostrar que no se ha llegado a un punto de saturación en la ionización del uracilo.

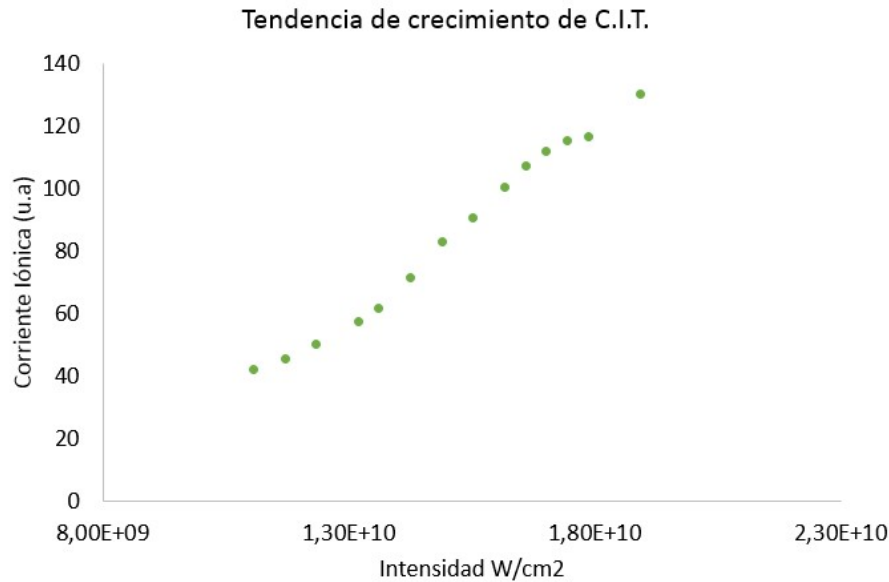
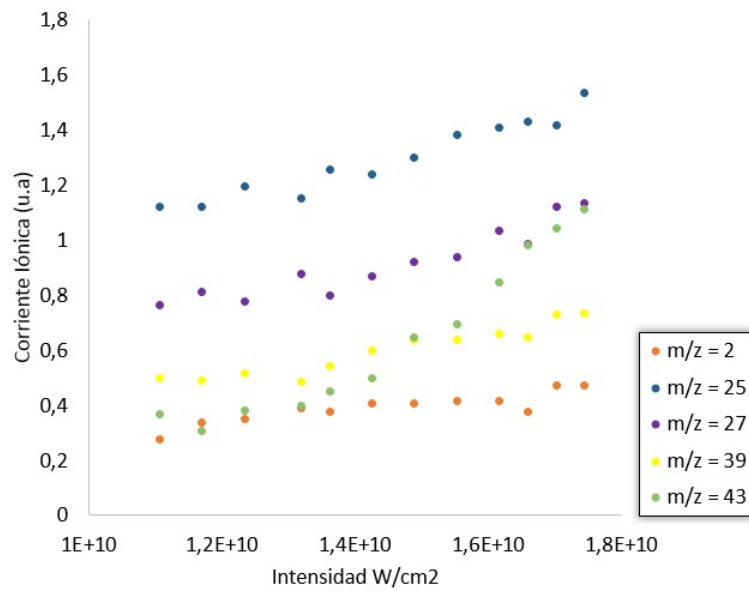
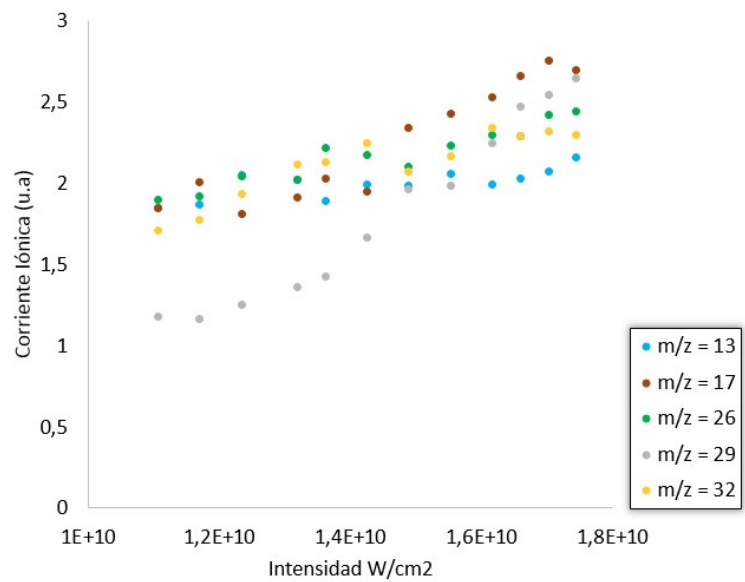


Figura 3.10: Comportamiento de la corriente iónica total al aumentar la intensidad del láser.

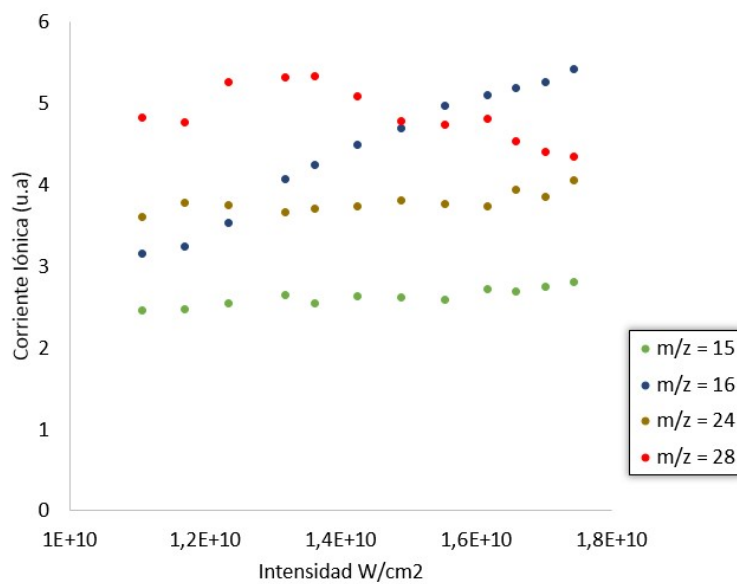
Se observa que la pendiente de la corriente iónica cercana al máximo es casi constante, lo que se pudiera interpretar como la saturación del proceso, sin embargo; el aumento posterior sugiere que se presenta una nueva ruta de fragmentación. Una vez que se conoce el comportamiento de la corriente iónica total y la corriente iónica individual, es posible analizar el comportamiento del porcentaje que representa la CI de cada ion a la CIT.



(a)

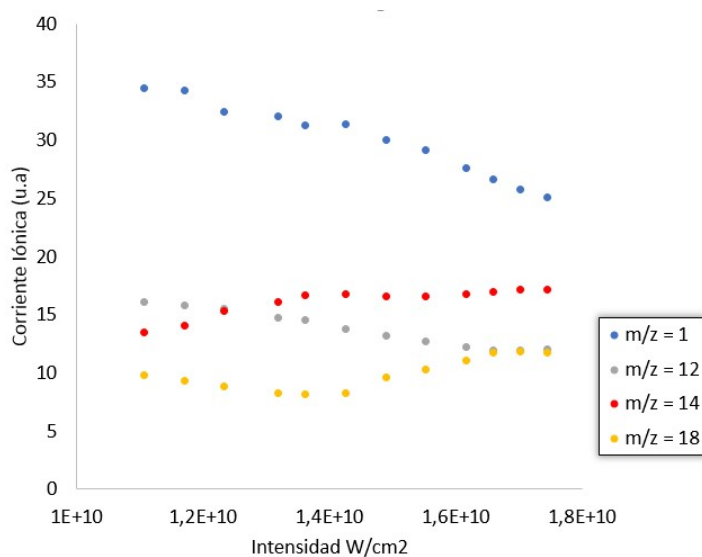


(b)



(c)





(d)

Figura 3.11: Comparación del porcentaje de la corriente iónica de cada ion con respecto de la corriente iónica total al aumentar la intensidad del láser.

Estas gráficas son similares a las anteriores e incluso el comportamiento de algunos iones es semejante, pero los datos que revelan son diferentes, ya que muestran como algunos iones no presentan cambios en su contribución a la CIT, como es el caso de los iones que le corresponden las  $m/z$  2, 39, 27, 13, 32, 15, 14 y 24 por lo que es probable que estos iones no provengan de ninguna nueva ruta de disociación que pueda sufrir la molécula, por otro lado los que si presentan cambios son el ion de  $m/z$  43, del cual se esperaría que disminuya su intensidad al aumentar la intensidad de radiación, ya que al haber más fotones sería más probable su ruptura pero sucede todo lo contrario. De bajas a medias intensidades presenta una producción estable y para altas intensidades comienza a aumentar su corriente iónica. Ese comportamiento es contrario al del ion de  $m/z$  28 en lugar de aumentar este disminuye su producción, indicando que ambos caminos de disociación pueden estar relacionados. Esto puede deberse a que el ion de masa 28 provenga del ion de  $m/z$  43 que este tenga un estado excitado repulsivo que al absorber un fotón pueda alcanzarse, pero si absorbe un segundo fotón se ionice o bien porque existan un camino de disociación competitivo entre ambos.

Los iones de  $m/z$  29 y 16 muestran una contribución a la CIT desde bajas potencias, pero en el caso del ion de  $m/z$  16 el incremento comienza desde la potencia más baja. Por otra parte los iones de carbono e hidrógeno a pesar de ser de los iones de producción más intensa observados en los espectros, desde las intensidades más bajas del láser disminuyen en porcentaje a la CIT, esto quiere decir que éstos iones se producen desde intensidades en el orden de  $10^9$  bajo las condiciones del presente experimento, lo que concuerda con una disociación intensa del uracilo.

### 3.3. Resolución experimental

La resolución de los espectros obtenida experimentalmente bajo las condiciones del presente trabajo, indica que es posible que diferentes combinaciones de átomos contribuyan para un solo valor de masa (ver sección 2.3). Sin embargo, fueron identificados algunos fragmentos con resolución lo suficientemente buena como para observar una separación entre ellos, en los cuales existen dos o tres "picos" que corresponden a una misma masa. El primero de ellos es el  $H^+$

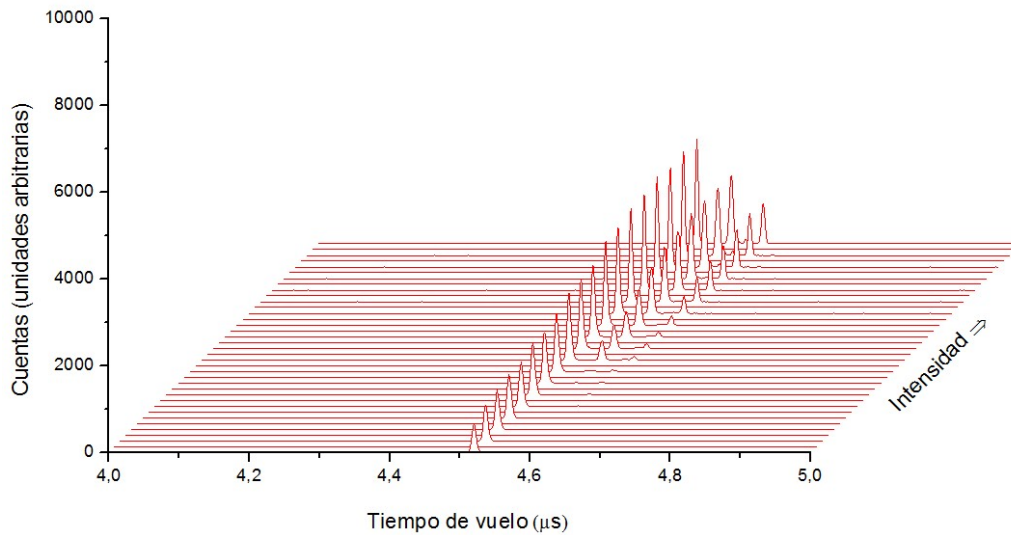


Figura 3.12: Picos correspondientes al  $H^+$

Los siguientes iones que presentan más de un pico son los de masas 12 y 14.

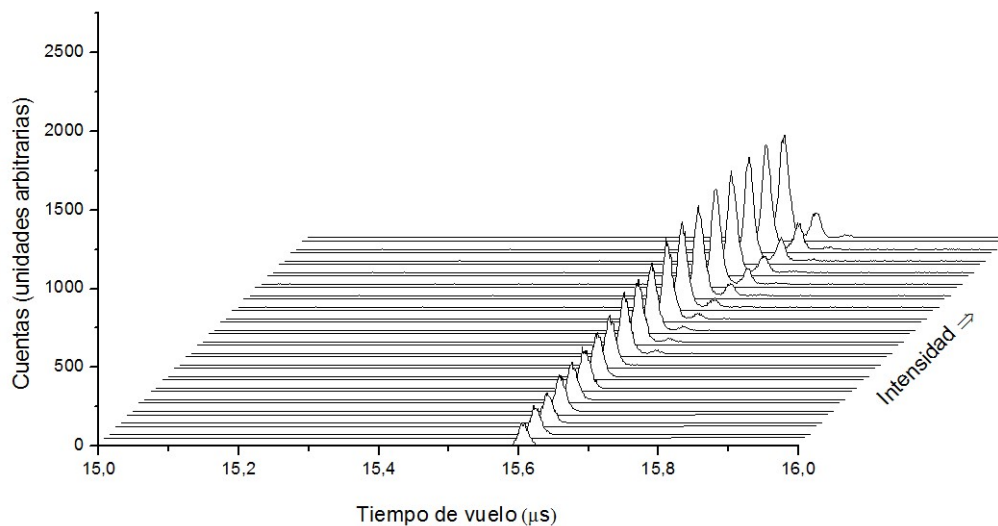


Figura 3.13: Picos correspondientes al  $C^+$

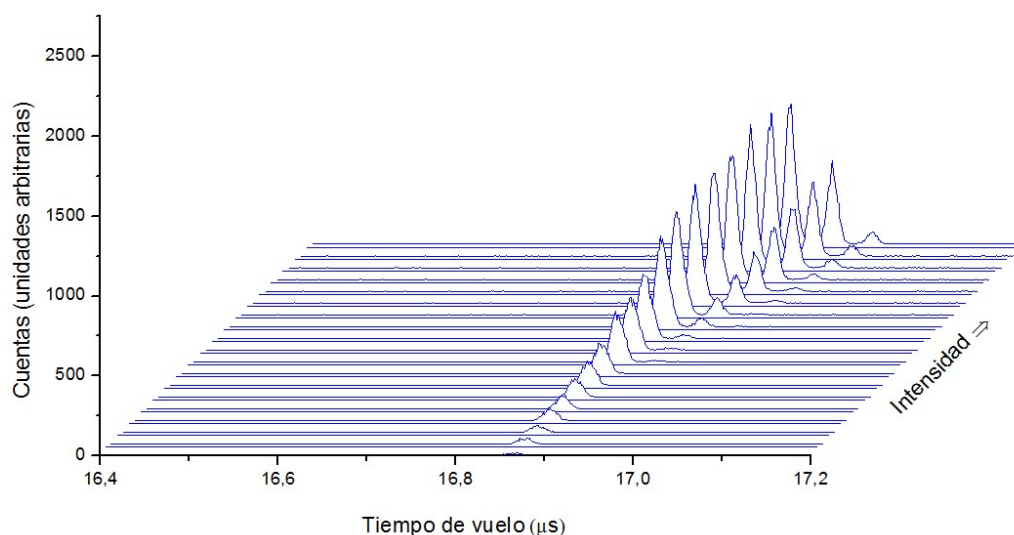


Figura 3.14: Picos correspondientes al  $N^+$  o  $CH_2^+$

Por último, el ion que presenta mas un de pico al aumentar la intensidad es el  $H_2O^+$

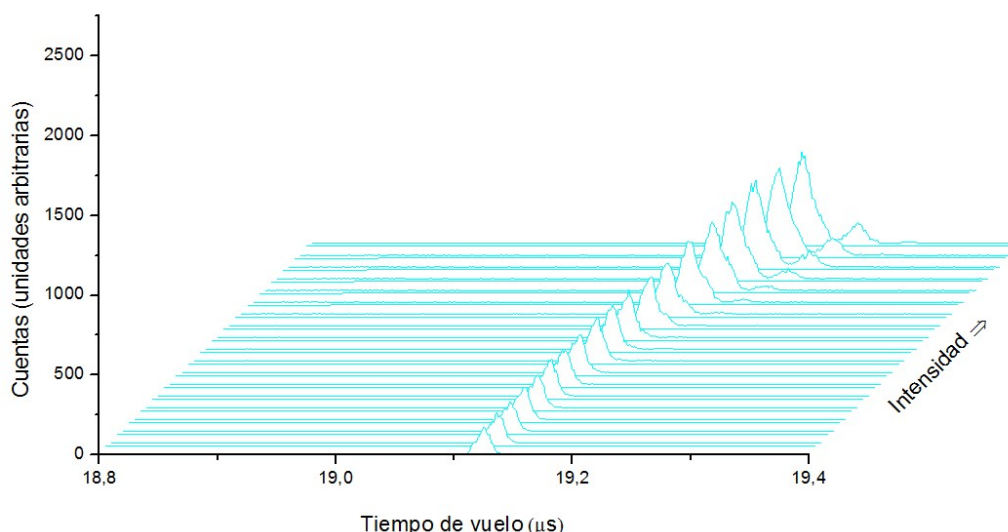


Figura 3.15: Picos correspondientes al  $H_2O^+$

Es la primera vez que se observa este efecto en la fragmentación del uracilo. El  $H^+$  y el ion de  $m/z$  14 ( $N^+$  o  $CH_2^+$ ) son los más interesantes al presentar tres picos, pero dos de ellos, sólo se identifican a partir de intensidades intermedias. Para los iones  $C^+$  y  $H_2O^+$  el efecto se presenta a mayores intensidades, pero a diferencia del  $H^+$  solo presentan dos picos.

La separación observada en las gráficas anteriores permite calcular masas exactas, evitando la incertidumbre sobre cuales fragmentos son los que se producen en la disociación del uracilo, pero existen un gran inconveniente. La masas 1 y 12 solo tienen una propuesta para su estructura, los iones  $H^+$  y  $C^+$  respectiva-

mente, esto indica que iones iguales pueden producirse por diferentes caminos de disociación. Al utilizar el modo reflectrón se corrige el tiempo de coincidencia de iones iguales al llegar al detector, pero estas diferencias corresponden a una diferencia en la energía cinética, pero si los iones tienen la misma velocidad entonces el reflectrón no impide que sus señales de detección se traslapen.

La resolución de los espectros se calculó usando la ecuación 2.22, empleando el tiempo de vuelo de cada fragmento y el ancho de sus máximos correspondientes. La resolución de los iones representativos del espectro se presenta en la figura 3.16. Se puede observar que para los iones que presentan más de un pico en el espectro, la resolución aumenta conforme aumenta la intensidad del láser. Cuando la intensidad es baja, solo se observa una señal para cada uno de los iones registrados en el espectro. Lo que indica que si los iones presentan más de un pico no se debe a una baja resolución.

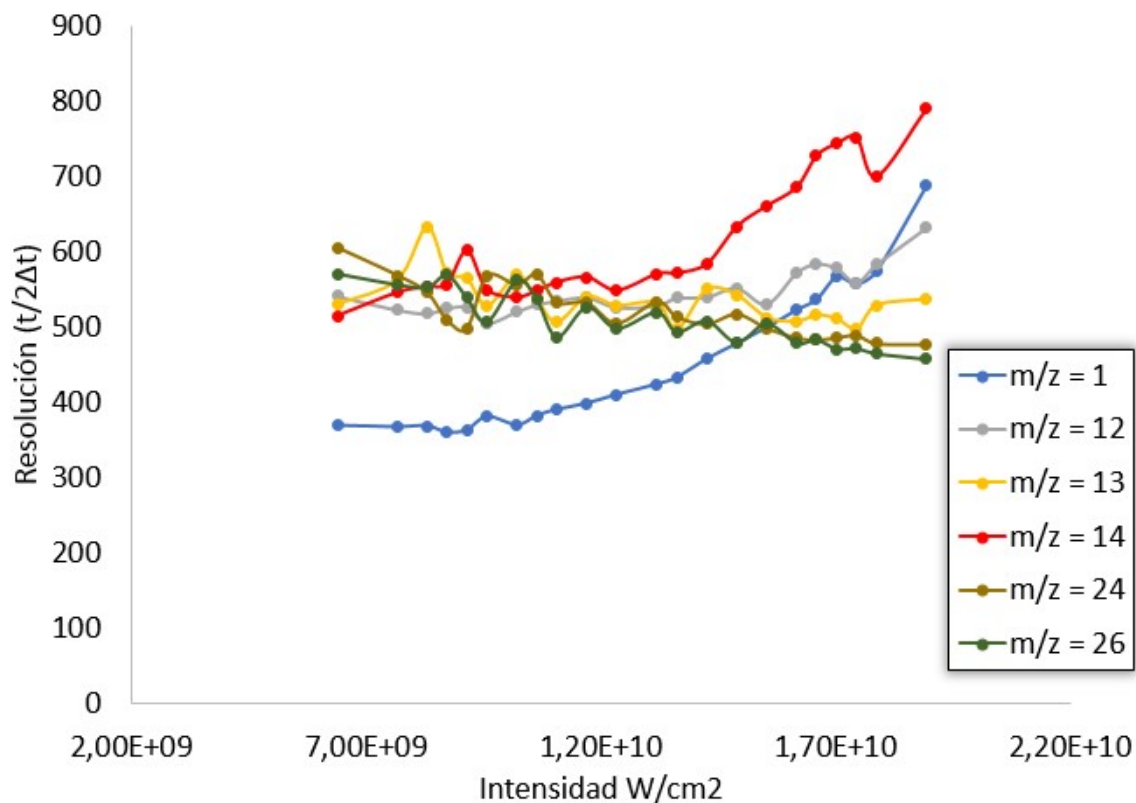


Figura 3.16: Efecto de la intensidad en la resolución de diferentes iones del espectro de masas del uracilo

Para obtener la resolución de los iones (ver figura 3.17) se extrajo un promedio de todos valores de resolución obtenidos a diferentes intensidades (ver figura 3.16).

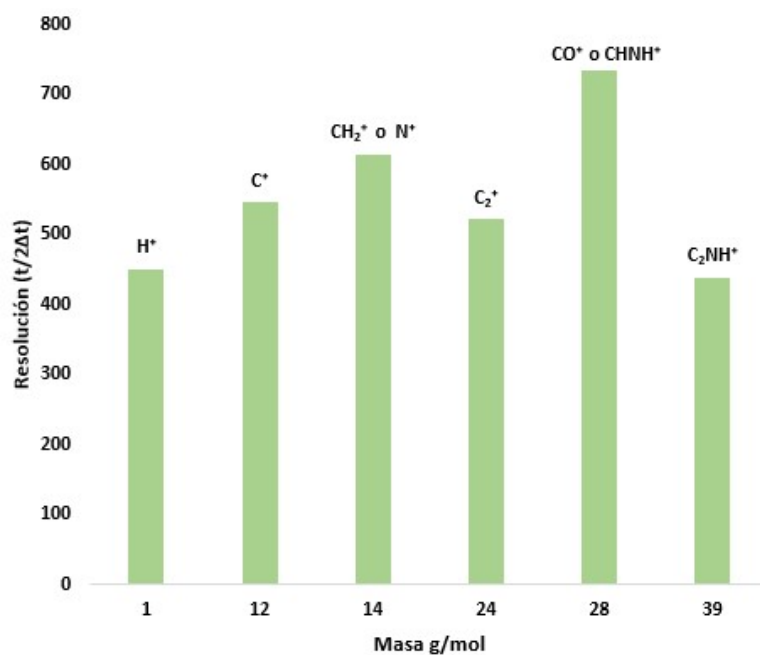


Figura 3.17: Resolución para diferentes iones del espectro de masas del uracilo

### 3.4. Absorción de fotones

Al interactuar las moléculas con el rayo láser, éstas absorben cierta cantidad de energía con la que se ionizan o disocian. Los nuevos fragmentos que se forman también pueden seguir absorbiendo energía para ionizarse, pero ¿qué cantidad de energía absorben para ionizarse? La energía necesaria para desprender un electrón de una molécula o fragmento se puede aproximar utilizando la ecuación 1.2, si se grafica el logaritmo de la corriente iónica contra el logaritmo de la intensidad de láser, se puede obtener el número mínimo de fotones que absorben los iones. Sólo se presentan los fragmentos de mejor resolución debido a que, sí el pico no está bien definido, la corriente iónica calculada puede ser errónea. Para ilustrar este hecho se muestran los resultados para los iones de  $m/z$  12, 14 y 28, las gráficas de todos los iones pueden ser consultadas en el apéndice B.

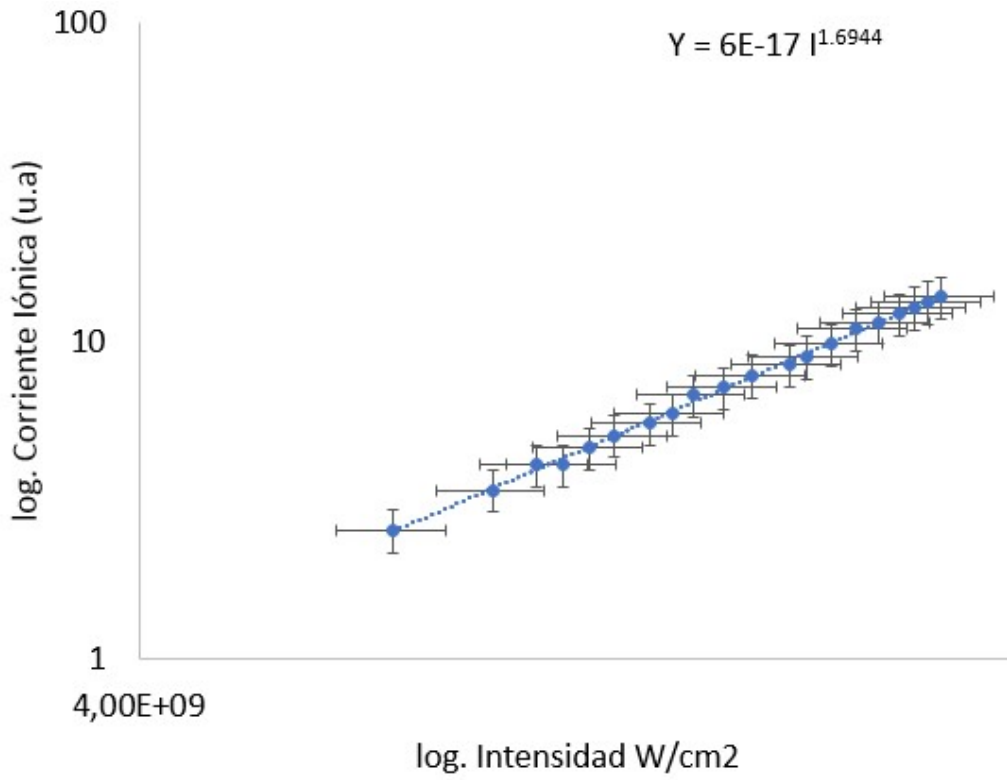


Figura 3.18: Cálculo del número de fotones para el ion de masa = 12

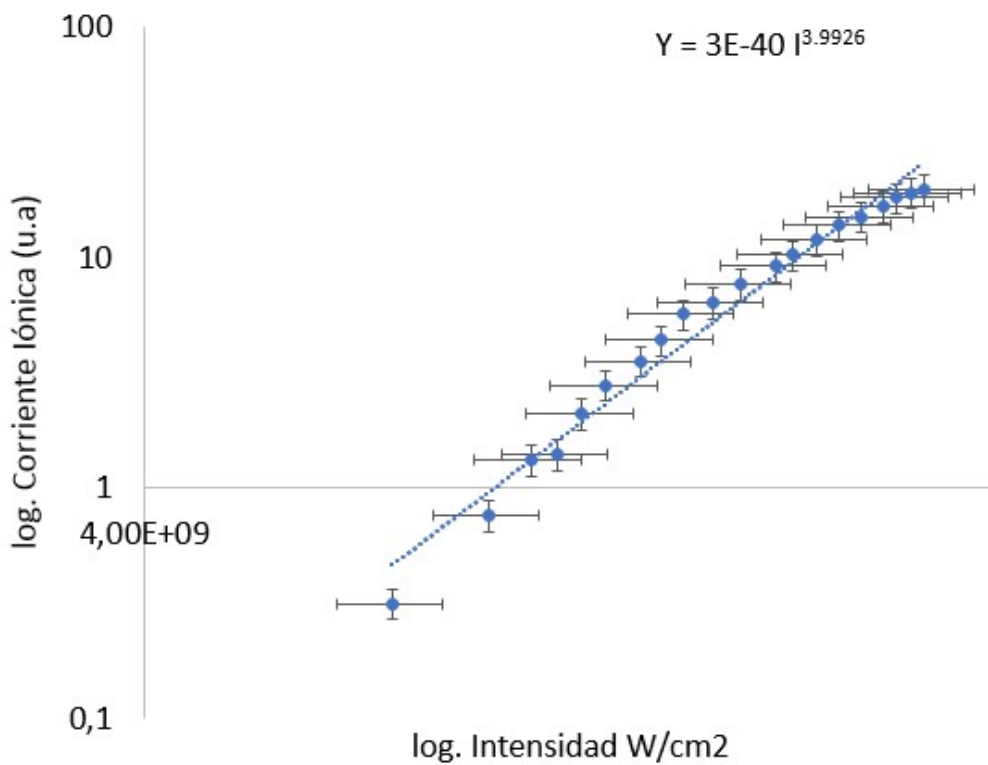


Figura 3.19: Cálculo del número de fotones para masa el ion de = 14

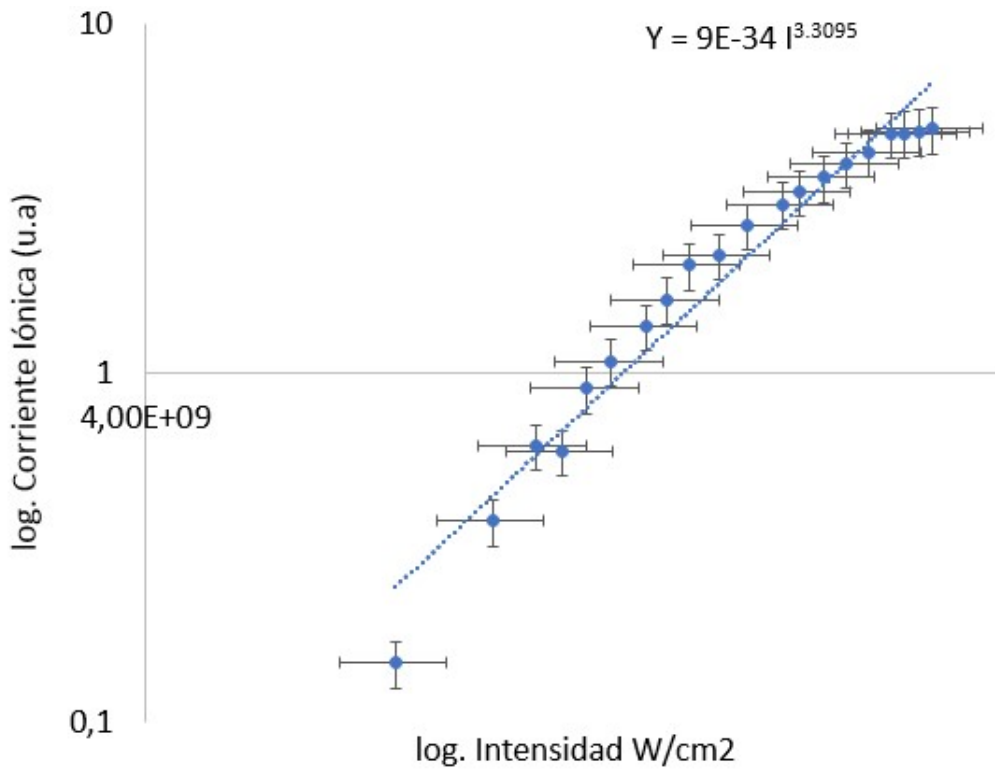


Figura 3.20: Cálculo del número de fotones para masa el ion de = 28

De acuerdo con la ecuación 1.2 el valor del exponente corresponde al número de fotones y el valor de la constante  $9E-34$  a la sección eficaz. El número de fotones necesario para la ionización de los fragmentos se presenta en la tabla 3.2. Se puede esperar que los iones que presenten una mayor intensidad requieran un menor número de fotones para ionizarse y que su sección eficaz sea mayor. Pero si se compara el ion de  $m/z$  12 con el ion de  $m/z$  14, se puede observar que el primero presenta una sección eficaz mayor y requiere menor número de fotones para su producción, entonces ¿por qué el ion de masa 14 presenta una mayor intensidad en el espectro? El que un ion de acuerdo con la ecuación 1.2 necesite menos energía para ionizarse no implica se produzca en mayor cantidad, ya que esto depende de su mecanismo de formación. Suponiendo que el ion  $C^+$  se formará a partir de ion  $CH_2^+$ , primero se requiere que produzca el ion de  $m/z$  14 para que posteriormente se produzca el ion de  $m/z$  12, esto quiere decir que para la producción del ion de masa 12 se requiere; primero la absorción de 4 fotones y luego la absorción de 2 fotones para su producción, concluyendo que para el mecanismo de formación del ion  $C^+$  se requieren 6 fotones, contrario a lo observado.

m/z	número de fotones	energía (eV)
1	1,91	6,67
2	2,76	9,63
12	1,69	5,92
13	2,23	7,78
14	3,99	13,94
15	2,28	7,96
16	3,38	11,81
17	2,46	8,61
18	1,80	6,30
24	2,24	7,83
25	2,31	8,08
26	2,45	8,56
27	2,43	8,47
28	3,31	11,56
29	3,33	11,64
32	3,60	12,58
39	3,33	11,62
43	5,27	18,39

Tabla 3.2: Número de fotones para diferentes iones

El número de fotones no es un número entero debido a que se trata de un cálculo estadístico, además que solo es un valor aproximado, ya que la ecuación fue desarrollada para átomos y posteriormente ajustada para moléculas [60]. Los fragmentos que necesitan menor energía para su formación corresponden a las m/z 1, 12 y 18 los cuales representan tres de los cuatro picos de mayor intensidad en el espectro de masas, el cuarto pico de mayor intensidad corresponde a la m/z 14, sin embargo; este fragmento es uno de los más demandantes en cuanto energía, ya que requiere aproximadamente cuatro fotones para su producción, sólo siendo superado por el fragmento de masa 43, el cual necesita 5 fotones para su producción, pero en su caso corresponde a los picos de menor intensidad, esto podría indicar que la m/z 14 es uno de los primeros iones que se obtienen a partir del uracilo, lo cual se explica si la molécula al comenzar la fragmentación pierde un NH, lo que produce los iones  $N^+$  y  $H^+$  pero debido a que existe mayor disponibilidad de hidrógeno en el uracilo, su intensidad en el espectro es mayor.

El ion  $C^+$  (m/z = 12) se encuentra en la misma proporción que el ion  $H^+$  (m/z = 1), pero se encuentra atrapado entre dobles enlaces, por lo que demanda más energía y caminos continuos de disociación para su producción. El ion de masa 16 también se encuentra en el intervalo alto de número de fotones, lo que explica su notable crecimiento al aumentar la intensidad del láser. Lo mismo ocurre en el caso del ion de masa 28, que anteriormente, se ha comparado su crecimiento con el ion de m/z 24 el cual requiere menor número de fotones para



su formación, esto explica por que la producción del ion de masa 28, supera al ion de  $m/z$  24 al aumentar la intensidad del láser.

Por último, se mencionan los fragmentos de  $m/z$  32 y 43 los cuales a bajas intensidades no son identificados en el espectro, pero al incrementar la intensidad del láser fueron detectados, ya que necesitaban mayor número de fotones para su formación. Otro dato interesante que se puede obtener de esta tabla es que, para el caso de algunos fragmentos la energía que absorben para su formación es suficiente para obtener el ion molecular, pero esto no ocurre, lo que se le atribuye al ancho temporal del pulso láser como se analizó en la sección 2.2 (los fragmentos pueden seguir interactuando con el pulso láser aun después de ionizarse causando la disociación completa del uracilo).

### 3.5. Representación de los procesos multifotónicos

Para representar los procesos multifotónicos estudiados, se utiliza el método diagramático de la teoría de perturbaciones dependiente del tiempo (sección 1.1.2). Para el caso de aquellos fragmentos cuyo orden del proceso es de 2, se usarán diagramas de orden 2 y 4 fotones, los de orden 6 en adelante no se tomará en cuenta porque involucra la absorción de al menos 4 fotones cuya probabilidad de coherencia es muy baja.

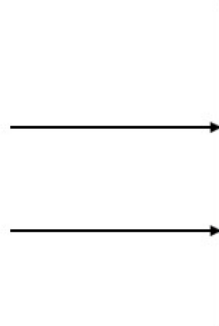


Figura 3.21: Diagrama de segundo orden para la absorción de dos fotones.

El primer proceso a tratar es cuando solo intervienen dos fotones, el diagrama correspondiente a este fenómeno es muy simple porque solo existe una posibilidad (ver imagen 3.21). Para el caso de cuatro fotones el número de diagramas posibles es  $2^4 = 16$  de estos 16 solo participan aquellos en los que  $\Delta n = -2$ , lo que se puede calcular utilizando la ecuación 1.3

$$N_{|\Delta n|} = \frac{4!}{\left(\frac{4 + (-2)}{2}\right)! \left(\frac{4 - (-2)}{2}\right)!} = 4. \quad (3.1)$$

Estos cuatro diagramas se representan en la figura 3.22, de los cuatro se puede decir que el menos probables que suceda es el (d) que primero emite un fotón antes de absorber los otros tres, tomando en cuenta la expansión adiabática en donde las moléculas son enfriadas vibracionalmente y se encuentran en su estado basal perdiendo la posibilidad de emitir un fotón. Sin embargo, no se ha omitido, aunque es muy poco probable que suceda.

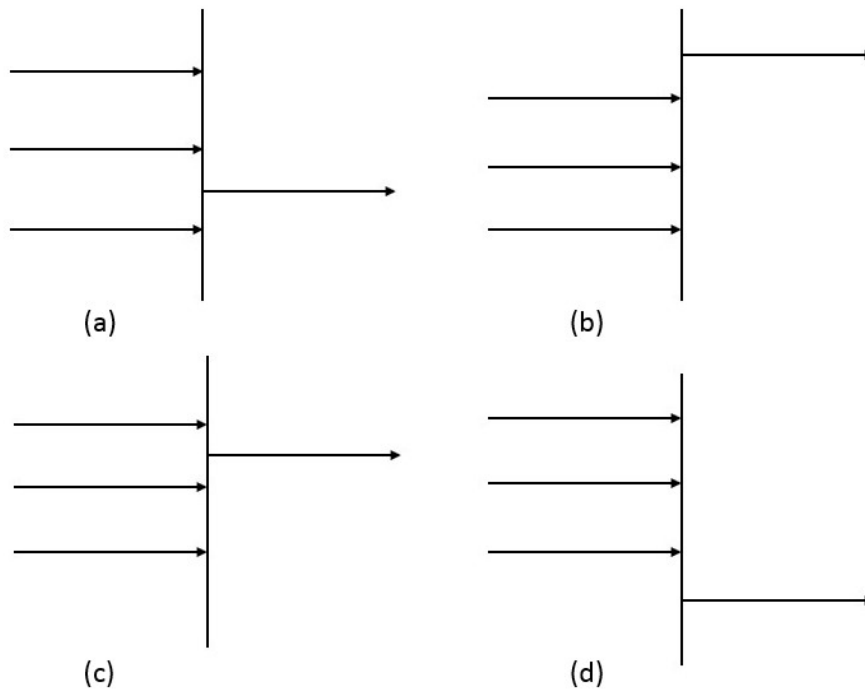


Figura 3.22: Diagramas de cuarto orden para la absorción de dos fotones.

En el diagrama (a) se representa la absorción de un fotón, luego la emisión de otro y posteriormente la absorción de 2 fotones más responsables del proceso multifotónico. En el diagrama (b) primero se realiza la absorción continua de tres fotones, para posteriormente emitir un fotón, decayendo el sistema a un estado excitado de menor energía, pero que puede ser repulsivo. Para el diagrama (c) primero se absorben dos fotones, luego se emite un fotón y finalmente se absorbe otro fotón. Para el caso de procesos de orden 3 se utiliza el mismo procedimiento. El primer diagrama esta dado por la absorción de continua de tres fotones

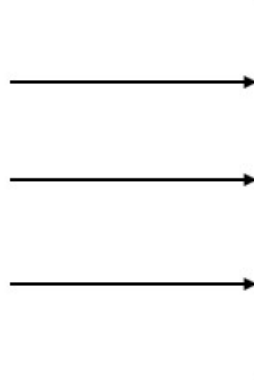


Figura 3.23: Diagrama de tercer orden para la absorción de tres fotones.

Para este caso solo se emplearan diagramas hasta orden 5, por lo tanto, se debe calcular el número mínimo de diagramas posibles y representativos

$$N_{posibles} = 2^5 = 32. \quad (3.2)$$

De estos el número de diagramas que participan son:

$$N_{|\Delta n|} = \frac{5!}{\left(\frac{5 + (-3)}{3}\right)! \left(\frac{5 - (-3)}{3}\right)!} = 5, \quad (3.3)$$

los cinco diagramas representativos para los procesos de tres fotones (ver figura 3.24) siguen el mismo procedimiento que los anteriores, solo que en este caso se requiere la intervención de un mayor número de fotones, estos posibles diagramas se pueden relacionar con los cortos tiempos de vida de los estados excitados que presentan las bases nitrogenadas [61, 62] que se cree, sirve como mecanismo de defensa para evitar el daño de la luz solar [63]. El que los estados excitados tengan un corto tiempo de vida, sugiere la posibilidad de emisión de fotones, lo que está de acuerdo con la mayoría de los diagramas que presentan la emisión de fotones.

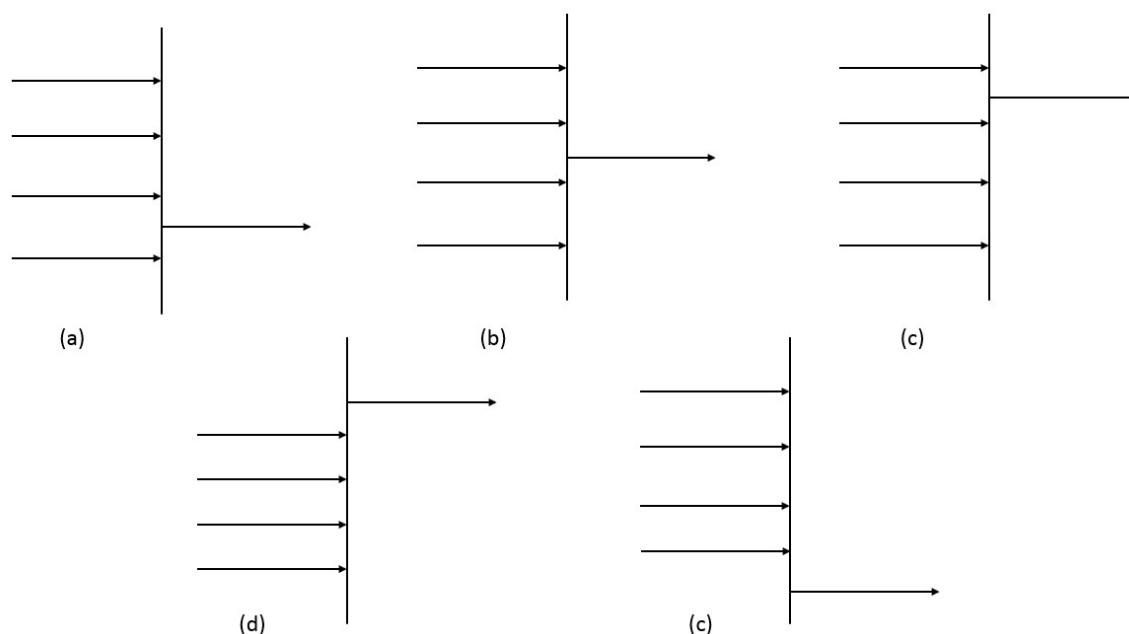


Figura 3.24: Diagramas de quinto orden para la absorción de tres fotones.

Cuando aumenta el número de fotones que interactúan con las moléculas, el número de diagramas aumenta considerablemente, por ejemplo; para el caso de los procesos de segundo orden donde se involucran 6 fotones el número de diagramas posibles es de  $2^6=64$  y los diagramas que participan aumentan de 4 a 15 ampliando las posibilidades de interacción y con esto la incertidumbre. Es importante mencionar que para estos diagramas se supone que los fotones son absorbidos o emitidos, sin embargo, los procesos reales son mucho más complejos y la energía absorbida por parte de la molécula puede tener una redistribución como energía interna o traslacional.

### 3.6. Mecanismos de fragmentación del uracilo

Uno de los objetivos de esta tesis es la propuesta de mecanismos de fragmentación del uracilo, para lo cual se realizó una revisión bibliográfica de los principales mecanismos propuestos por investigadores experimentales y teóricos.

Para representar los diferentes mecanismos se utilizó el programa *ChemSketch* [64] y la simbología utilizada es la siguiente:

Simbolo	Significado
•	electrón desapareado (radical)
+	ion positivo
•+	radical positivo
→	fragmentación

Tabla 3.3: Simbología de los mecanismos de fragmentación

Debido a que no se identificó el ión molecular mediante el método de ionización empleado, se utilizó otro método de ionización para confirmar que la muestra adquirida fuera de uracilo, además de ayudar a evidenciar los mecanismos de fragmentación del mismo.

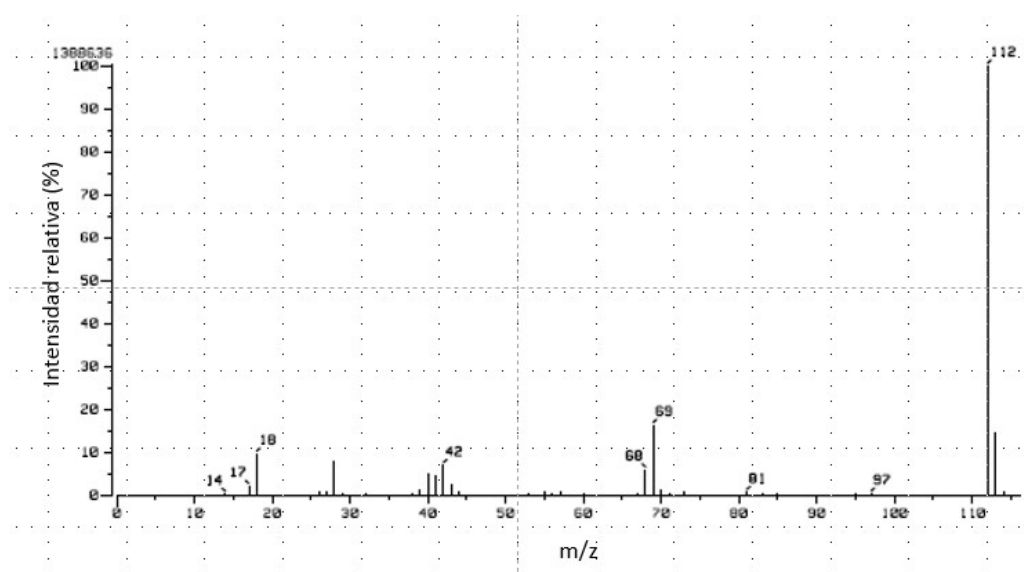


Figura 3.25: Espectro obtenido empleando ionización de impacto electrónico de 70 eV.

De acuerdo con estudios teóricos realizados sobre los cambios de geometría de la molécula ionizada respecto a la molécula neutra, en la primera ionización se rompe el doble enlace produciendo un radical positivo [65]. Posteriormente de acuerdo con recientes estudios teóricos la disociación del uracilo comienza con el rompimiento del anillo mediante el mecanismo RDA, generando los fragmentos HCNO (43) y  $C_3H_3NO$  (69) [66, 67], además otros autores reportan la pérdida del HCNO como primer paso para la fragmentación del ion molecular [68, 69]. Existe una alternativa para obtener el ion de  $m/z$  69, quitando uno de los electrones del par libre que tiene el N, donde se obtienen los mismos fragmentos que al ionizar el doble enlace, ambos mecanismos se presentan a continuación:

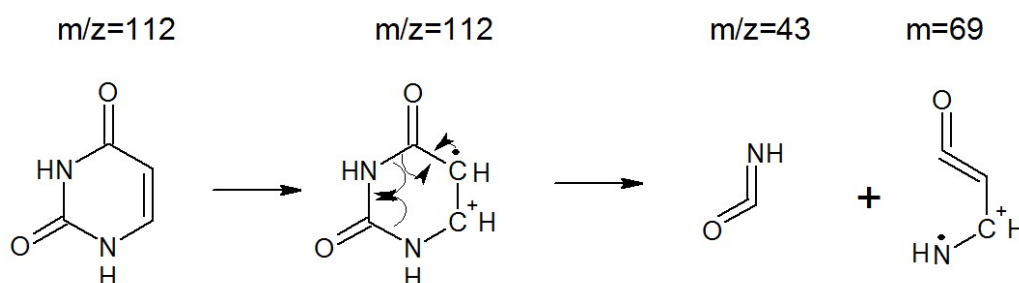


Figura 3.26: Mecanismo Retro Diels-Alder para el uracilo

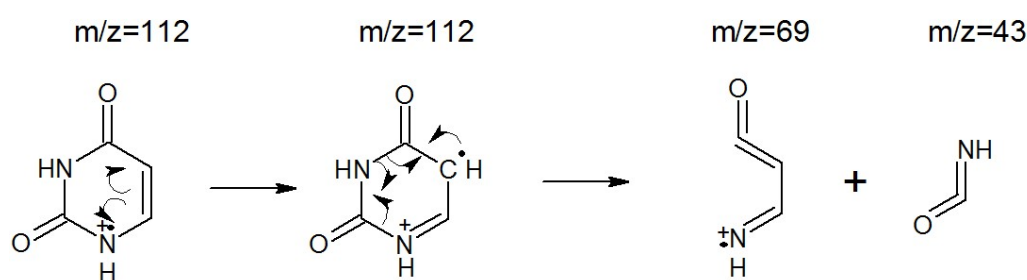


Figura 3.27: Rompimiento alternativo para obtener el fragmento  $C_3H_3NO$

En la primera fragmentación se obtienen los dos fragmentos presentados en los mecanismos anteriores. A pesar de que el fragmento  $HCNO$  se produce neutro se observa en el espectro a altas intensidades, sin embargo para bajas intensidades no está presente (ver figura 3.4 a) )debido a que necesita seguir absorbiendo fotones para remover el electrón que forma el radical y que se encuentra desapareado, esta explicación del ion  $HCNO^+$  está de acuerdo con lo mencionado anteriormente del efecto de la intensidad de radiación en la ionización de fragmentos neutros. En el caso del ion  $C_3H_3NO^+$  este no se detecta, por lo que se debe proponer otra ruta de fragmentación donde se disocie este ion y se obtengan nuevos fragmentos (ver figura 3.28)

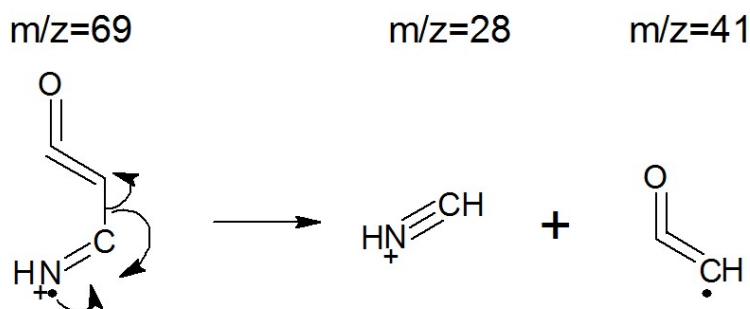


Figura 3.28: Disociación del ion  $C_3H_3NO$

En la fragmentación del ion  $C_3H_3NO^+$  se puede obtener el ion de  $m/z$  28 [47] el cual se observa desde las intensidades más bajas, el otro fragmento que se obtiene es el radical  $C_2^{\bullet}HO$  no identificado para bajas intensidades, pero al aumentar la potencia del láser se observa en el espectro, ionizándose del mismo modo que el ion  $HCNO^+$ . Aunque es posible obtener en la primera fragmentación el ion  $HCNO^+$  y el radical  $C_3H_3NO^{\bullet}$ , afectando indirectamente la formación del ion de  $m/z$  28, disminuyendo su intensidad en el espectro y al mismo tiempo aumentando la intensidad del  $HCNO$ . Esta no es la única propuesta para la formación del ion de masa 28, existen otras dos alternativas. En la primera se produce directamente del ion molecular junto con un fragmento neutro de  $m/z$  84 y la segunda opción es un triple rompimiento del uracilo posterior a una primera ruptura del anillo [70].

Para la obtención del ion de  $m/z$  29 existe un mecanismo propuesto en [66] donde luego de romper el doble enlace y ionizar el uracilo, se produce una ruptura y tiene lugar una migración de hidrógeno por medio del mecanismo ML, luego sucede una migración de carga y finalmente la ruptura del enlace (ver figura 3.29). La presencia de este ion en el espectro de masas es pequeña compara con otros picos, por ejemplo el ion  $m/z$  28, lo que sugiere que esta ruta de fragmentación no se ve favorecida

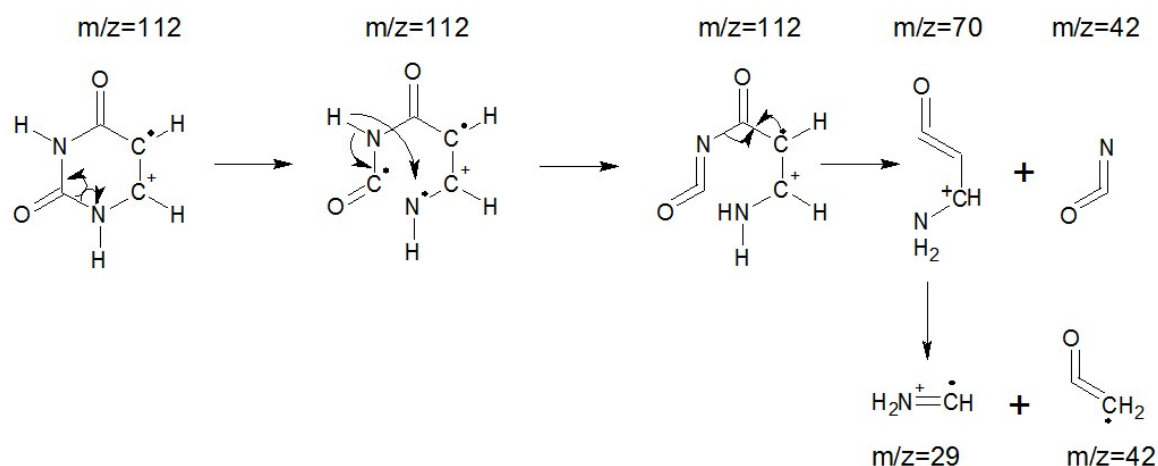


Figura 3.29: Mecanismo de fragmentación para la masa  $HNCH_2^+$

La producción intensa del ion  $H^+$  puede ser explicada en relación con los estados excitados del uracilo, si la primera excitación que tiene la molécula es al estado  $\pi\pi^*$  el cual de acuerdo con estudios teóricos previos decae rápidamente a un estado de menor energía  $n\pi^*$  que tiene un tiempo de vida lo suficientemente largo para absorber más fotones, llevan la molécula a un estado excitado de tiempo de vida muy corto, que decae al estado basal iónico acompañado de una disociación unimolecular produciendo H [71] quienes proponen una segunda alternativa de la disociación directa del uracilo al alcanzar el primer estado excitado (ver figura 3.30). Se debe aclarar que la presente propuesta fue hecha con diferente longitud de onda, pero lo importante de mencionar este mecanismo es que está presente en el uracilo y es una posible explicación para la producción de  $H^+$ .

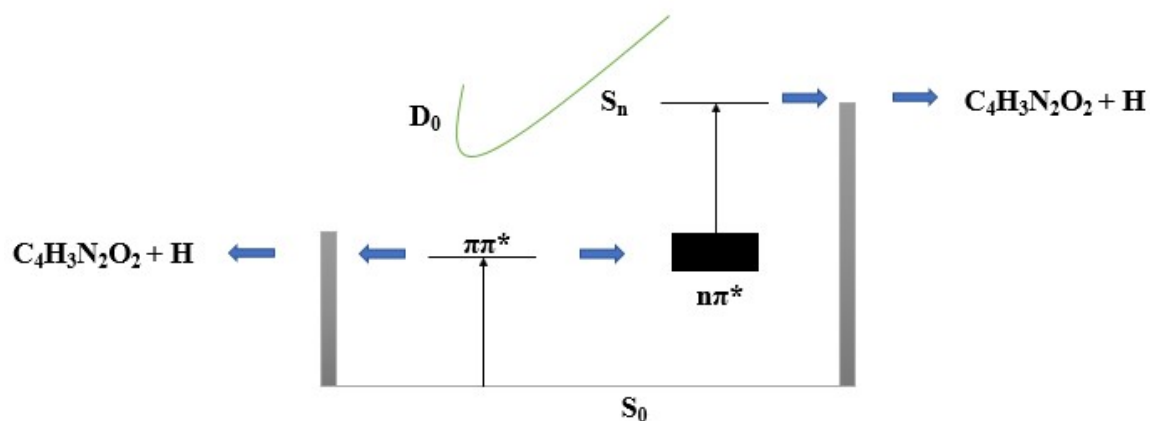


Figura 3.30: Mecanismo de disociación para la obtención de H

Relacionado a la producción de  $H^+$  el equipo de trabajo de Leila Sadr Arani [59] predicen que es posible la liberación de H de fragmentos formados durante el proceso de disociación del uracilo, aunque esto no había sido comprobado experimentalmente, sin embargo, en el presente trabajo se identificó una alta producción del  $H^+$ , por lo que se mencionan todas las posibles rutas de fragmentación propuestas por resultados teóricos que predicen producción  $H^+$



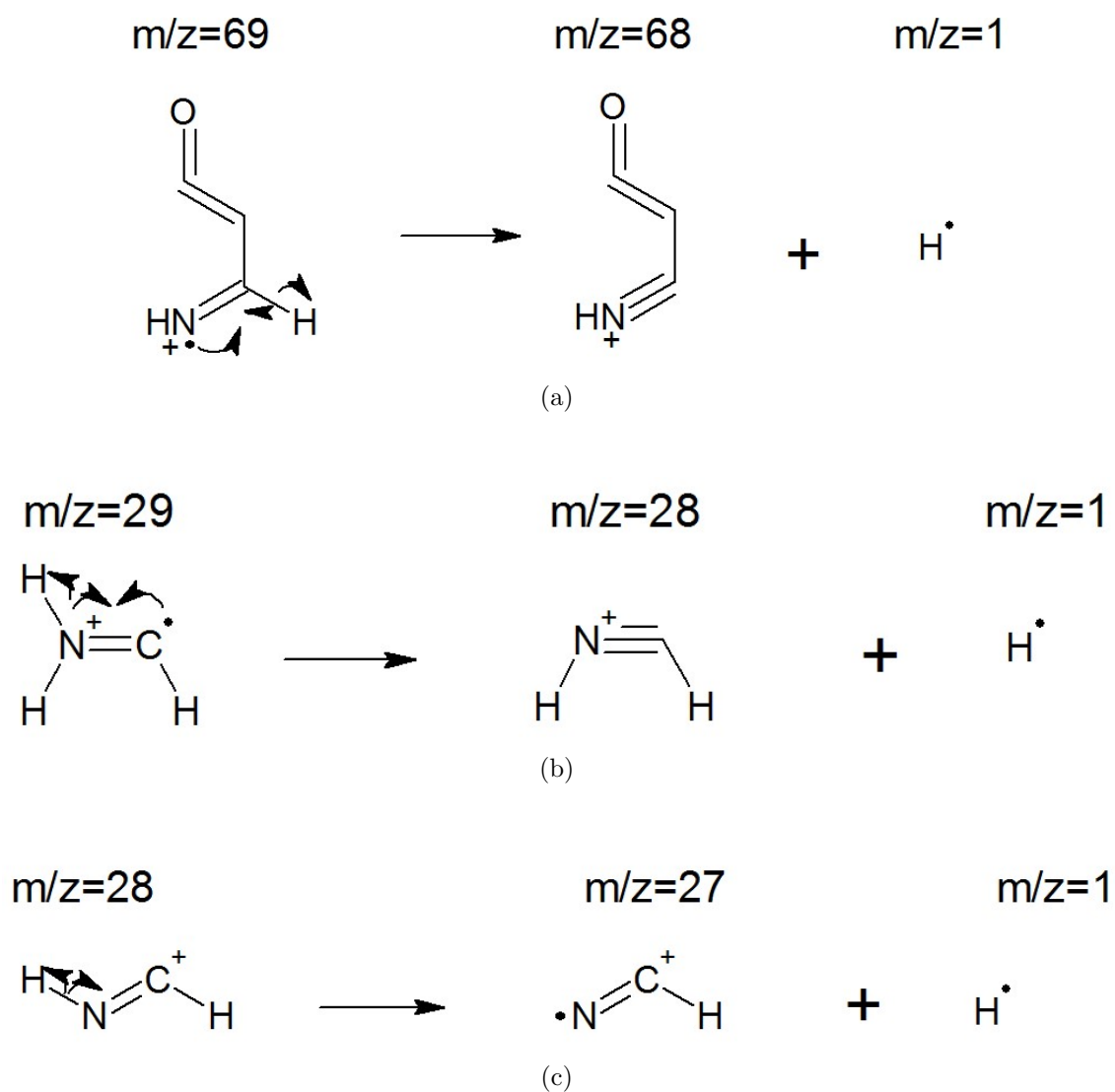


Figura 3.31: Mecanismos de disociación que producen H

Aunque no todos los precursores de átomos de hidrógeno propuestos son identificados en el espectro de masas, se colocan debido a que pueden ser intermediarios por los motivos antes mencionados o por un tiempo de vida muy corto que decae en estado disociativo.

# Conclusiones y recomendaciones

1. De acuerdo a los iones obtenidos por absorción multifotónica, se concluye que para intensidades del orden de  $10^9 - 10^{10} \text{ W/cm}^2$  y una  $\lambda = 355 \text{ nm}$ , la molécula de uracilo se disocia en fragmentos de bajo peso molecular, esto indica que estos niveles de radiación no son aceptables para seres vivos, a pesar de corresponder a fotones de baja energía. Se favorece la producción de los iones  $H^+$ ,  $C^+$ ,  $N^+$  o  $CH_2^+$  y  $H_2O^+$ , lo que se atribuye al ancho temporal del pulso láser, los fragmentos obtenidos pueden ayudar a identificar los posibles mecanismos de fragmentación que sufre el ARN/ADN. Se recomienda utilizar un láser de pulso más corto por ejemplo de femtosegundos con la finalidad de encontrar fragmentos más pesados.
2. Al comparar los fragmentos obtenidos en el presente experimento, con los propuestos por diferentes autores sobre la fragmentación inicial del uracilo, se difiere respecto algunos de los fragmentos primarios. Los fragmentos derivados de algunos de los iones primarios (por ejemplo  $m/z = 112$  y  $69$ ) sí fueron identificados en el espectro de masas del presente trabajo, como es el caso de los iones  $HCNH^+$  y el  $HCNH_2^+$  y se observaron nuevos iones como el  $m = 32$  que indican que los mecanismos de fragmentación incluyen rearrreglos estructurales o migración de hidrógeno.
3. El efecto de la intensidad del láser es de gran relevancia para los procesos multifotónicos ya que influye en la contribución de corriente iónica de algunos fragmentos y origina que los iones  $H^+$ ,  $C^+$ ,  $N^+$  o  $CH_2^+$  y  $H_2O^+$  presenten más de un pico en el espectro a la masa que correspondería una sola relación  $m/z$ . Es decir que el incremento de la intensidad fotónica origina señales que acompañan a diferentes  $m/z$ , lo que puede significar la presencia de contribuciones de los estados metaestables del uracilo.
4. La revisión de diferentes cálculos mecánico-cuánticos realizados sobre la fragmentación de uracilo, permitió proponer mecanismos de fragmentación que explican la alta intensidad de la señal correspondiente al  $H^+$ , derivado de distintos fragmentos producidos en la disociación de uracilo de ahí la importancia de realizar experimentos acompañados de cálculos teóricos que permitan la interpretación de los resultados. Este es el primer trabajo

experimental en el que se reporta una alta producción intensa del ion  $H^+$  a partir de la disociación del uracilo.

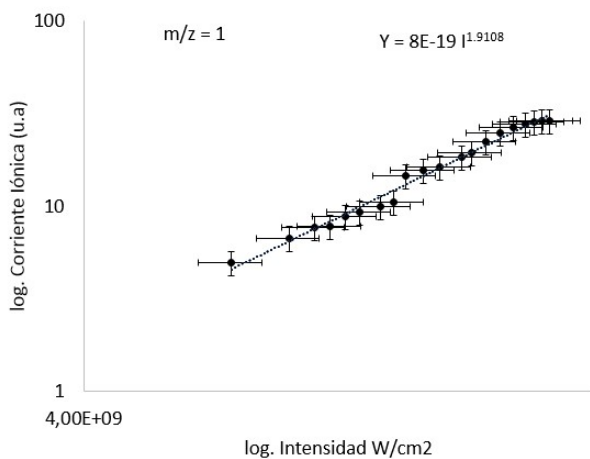
5. De acuerdo con los nuevos resultados obtenidos sobre la interacción multifotónica de radiación UV con el uracilo, se recomienda analizar el resto de las bases nitrogenadas que conforman el ADN y ARN debido a su importancia en diferentes ramas de la ciencia. Se ha demostrado que los experimentos de multifotoionización y multifotodisociación son un campo abierto para investigaciones posteriores donde se analicen la influencia de diferentes longitudes de onda, la polarización de la luz o bien experimentos de dos colores, a fin de caracterizar y establecer su relación, con diferentes tipos de moléculas, por ejemplo.
6. Los datos obtenidos de las bases nitrogenadas pueden servir para proponer los mecanismos de fragmentación que pueden dañar el ADN/ARN al ser expuestos a radiación UV de 355 nm, no se esperan que sigan los mismo patrones de fragmentación pero, debido a que estas bases son sus constituyentes se esperan encontrar fragmentos similares y tener conocimiento previo de su origen, lo que ayudará a deducir dichos mecanismos.

# Apéndice

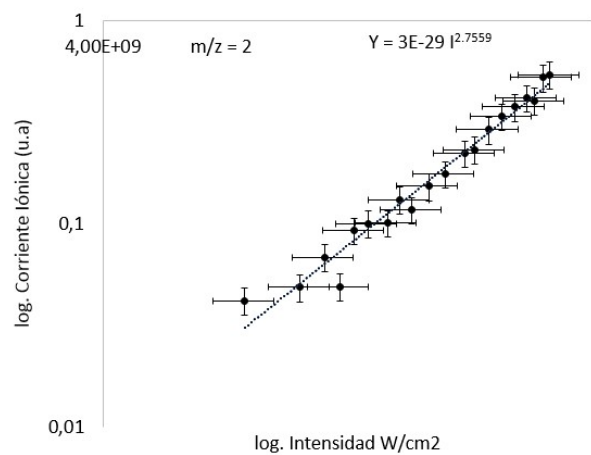
# Apéndice A

## Gráficas para el cálculo del número de fotones

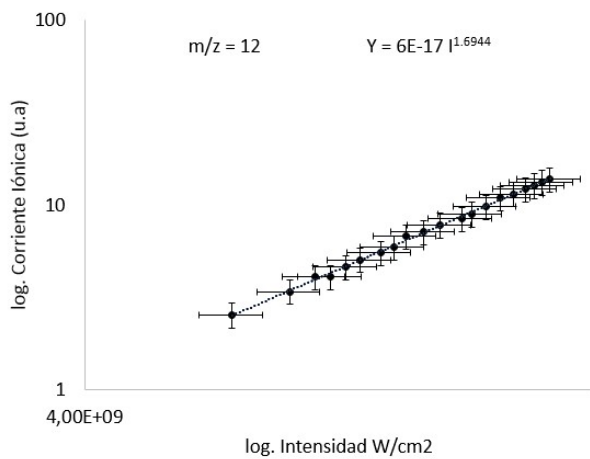
A continuación se presentan las gráficas realizadas para estimar el orden del proceso, para todos los iones que se presentan en la tabla 3.2, solo se realizaron gráficas para los iones que presentan la mejor resolución. Las barras de error son del 10 % para la intensidad del láser y del 15 % para la corriente iónica.



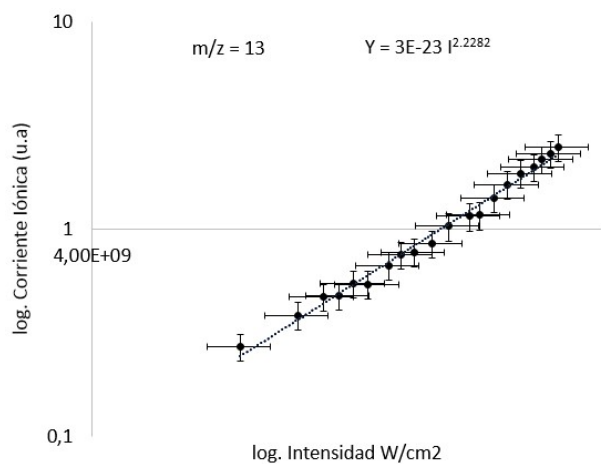
(a)



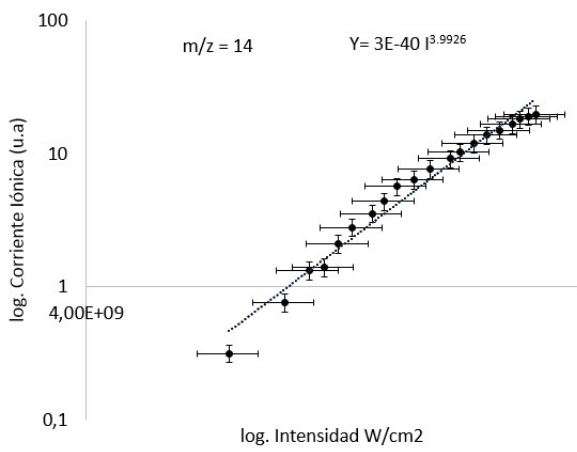
(b)



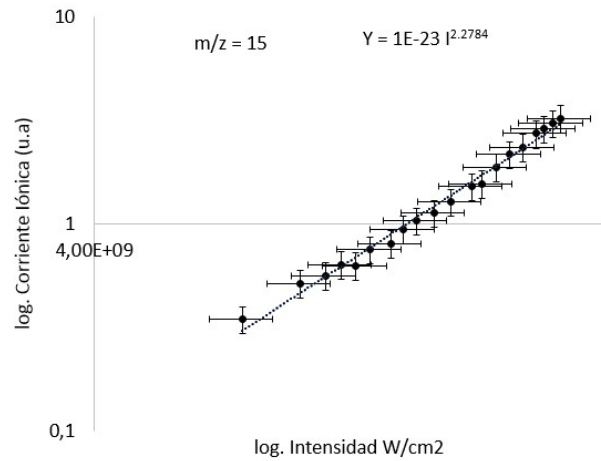
(c)



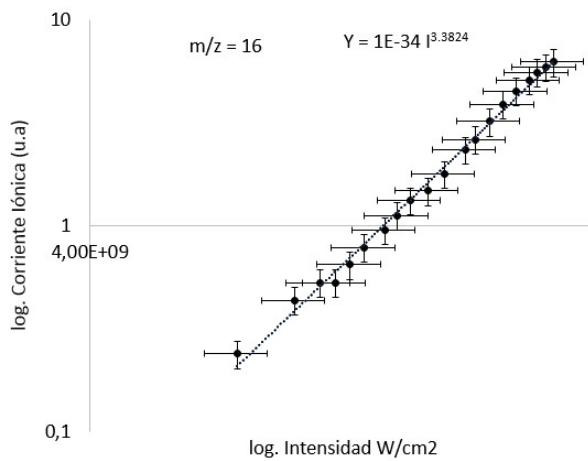
(d)



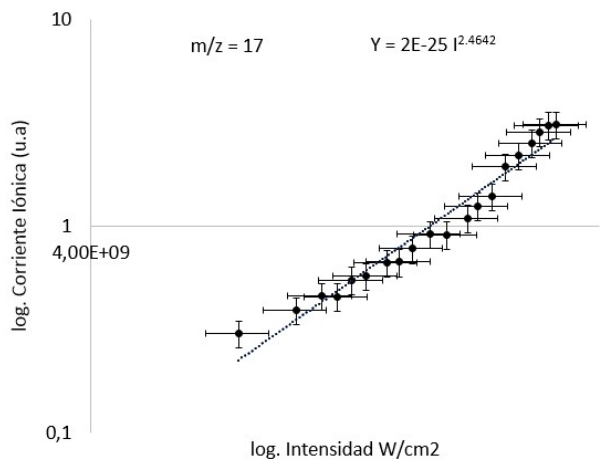
(e)



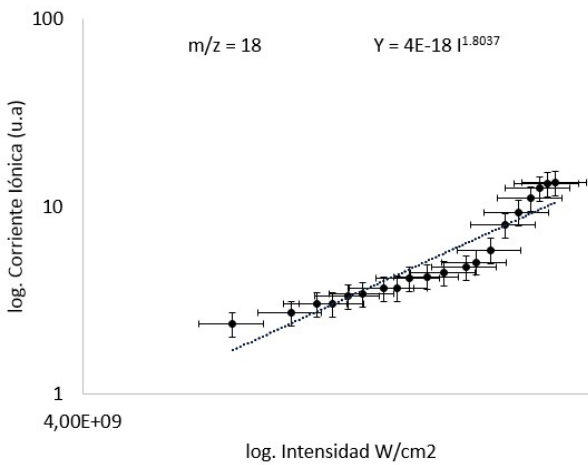
(f)



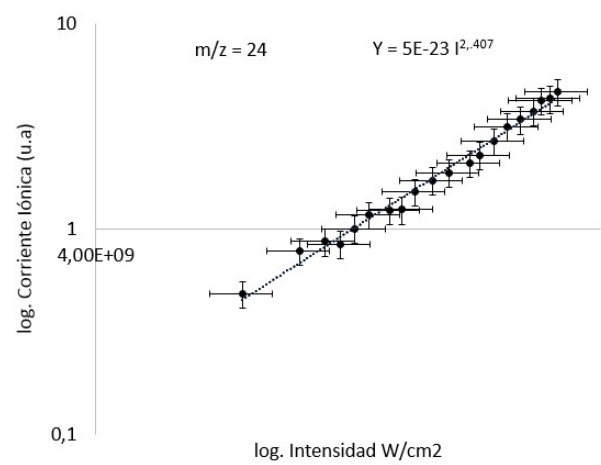
(g)



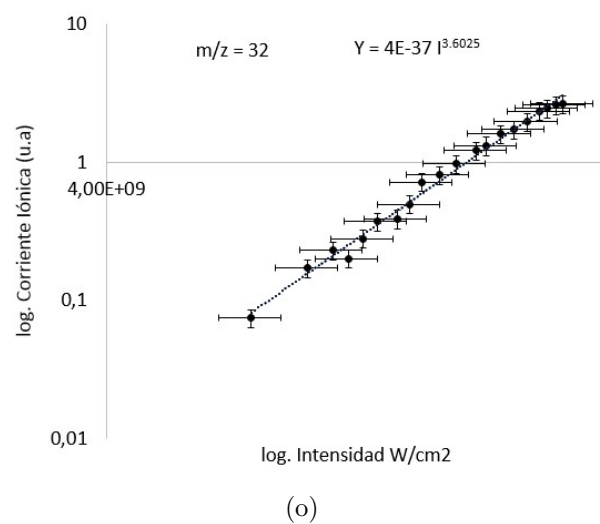
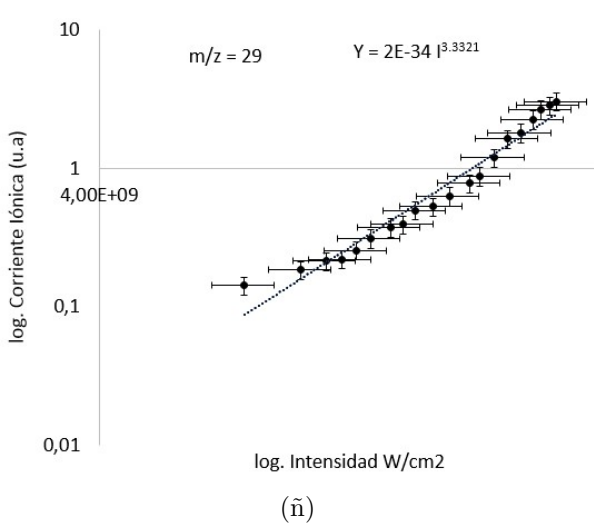
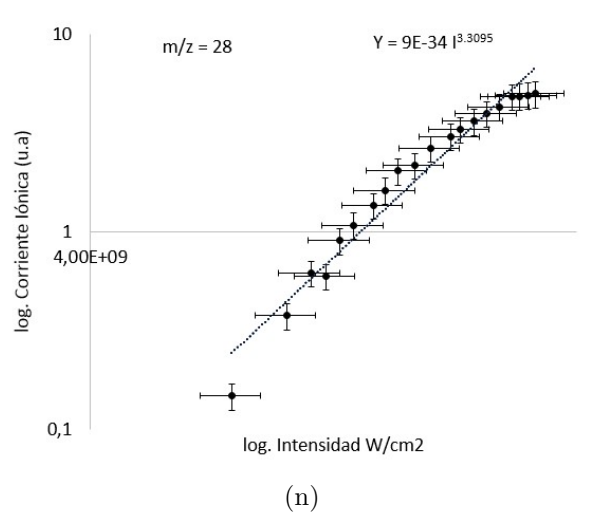
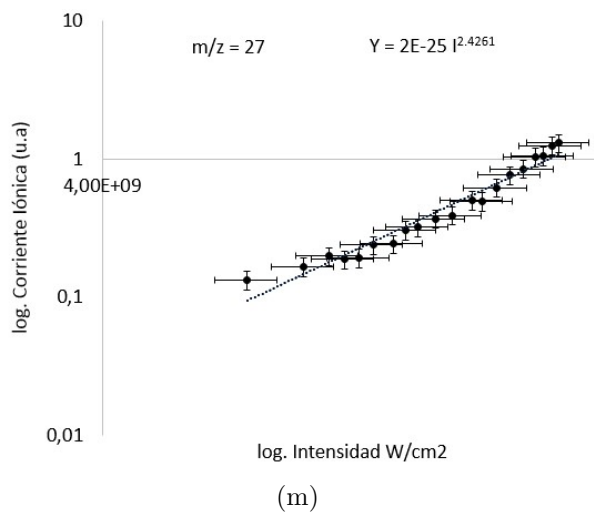
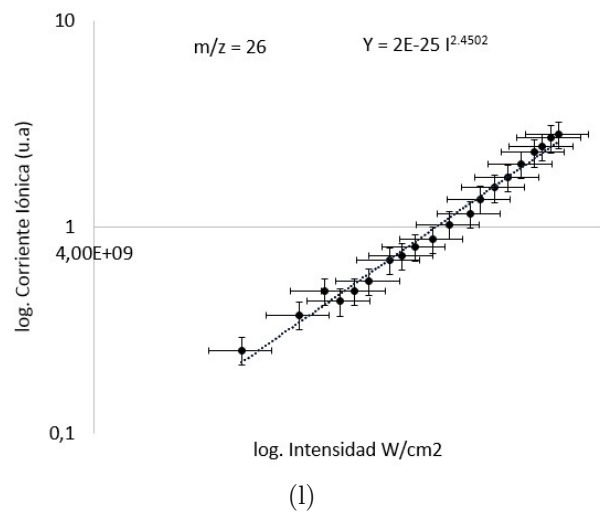
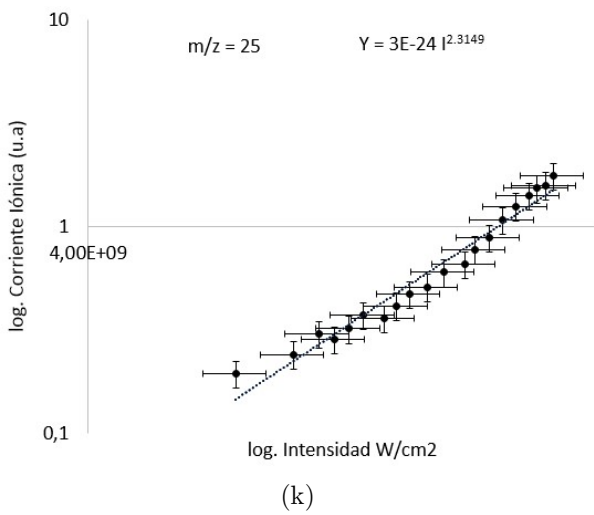
(h)

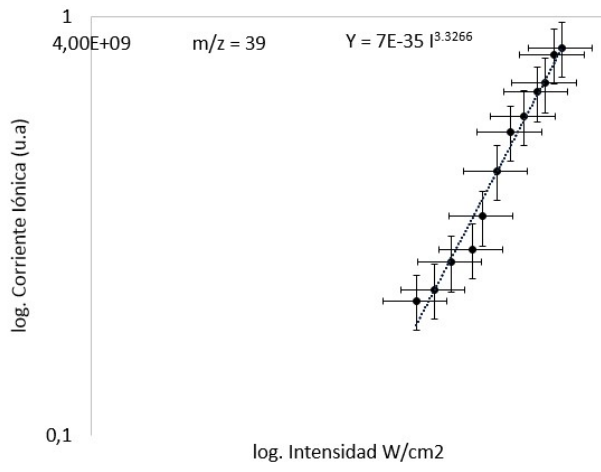


(i)

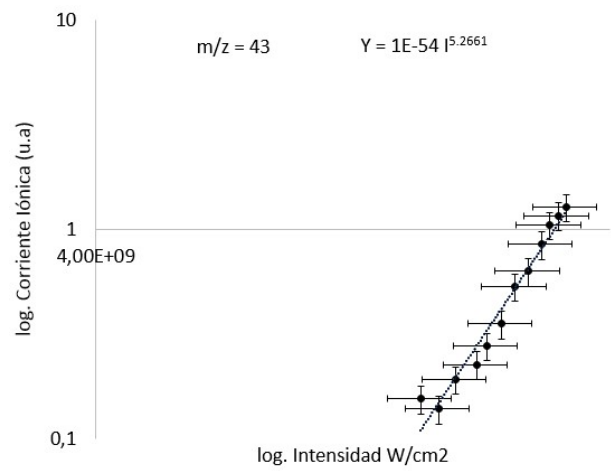


(j)





(p)



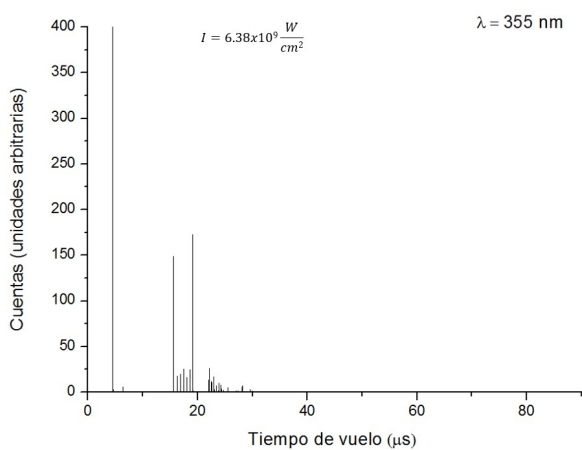
(q)



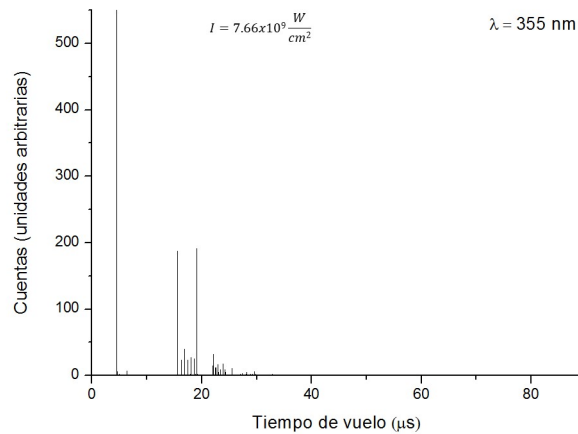
# Apéndice B

## Espectros de masas del uracilo

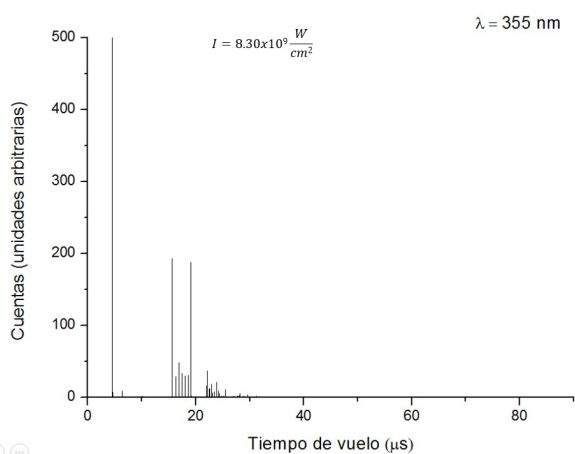
A continuación se presentan todos los espectros obtenidos de la molécula de uracilo, utilizando como medio ionizante radiación láser de 355 nm y una intensidad en el intervalo de  $10^9 - 10^{10} W/cm^2$ .



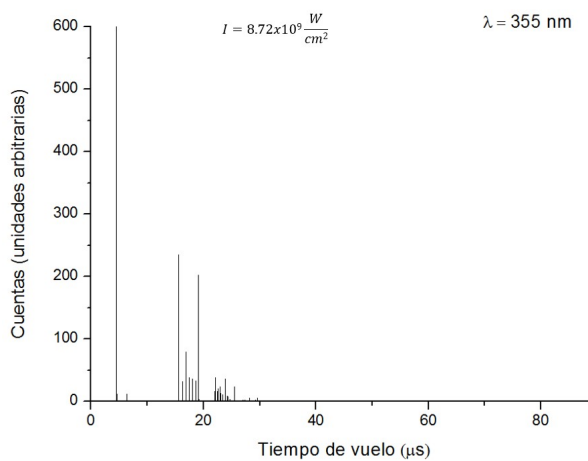
(a)



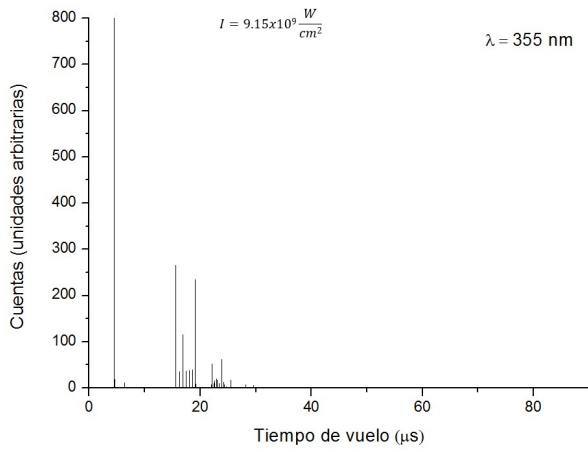
(b)



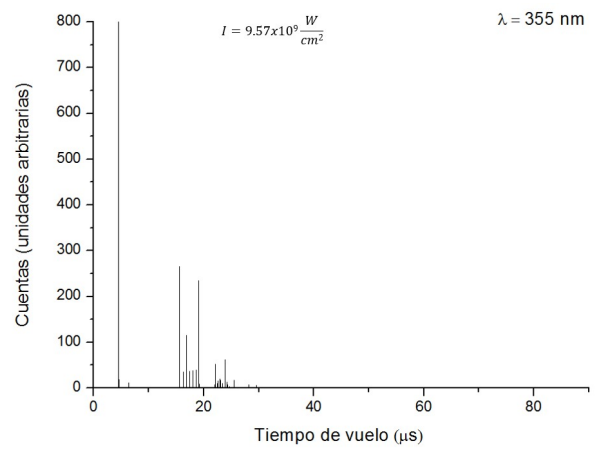
(c)



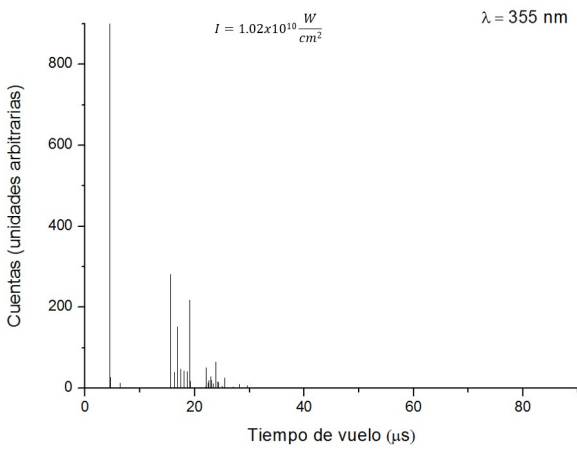
(d)



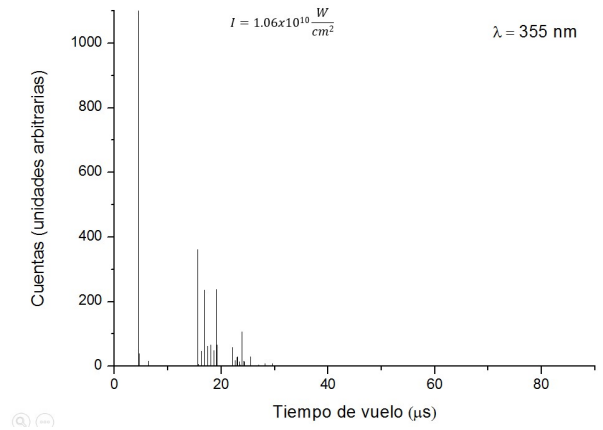
(e)



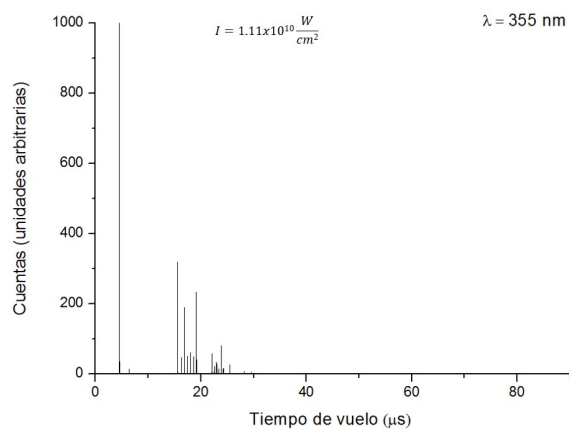
(f)



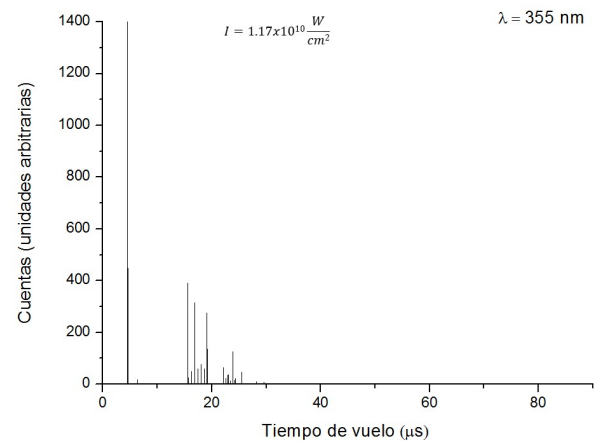
(g)



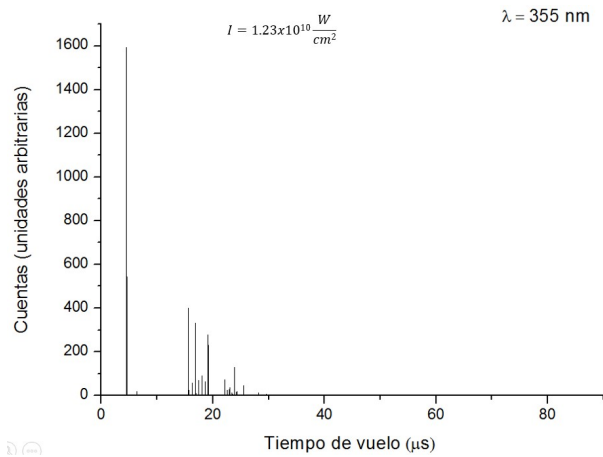
(h)



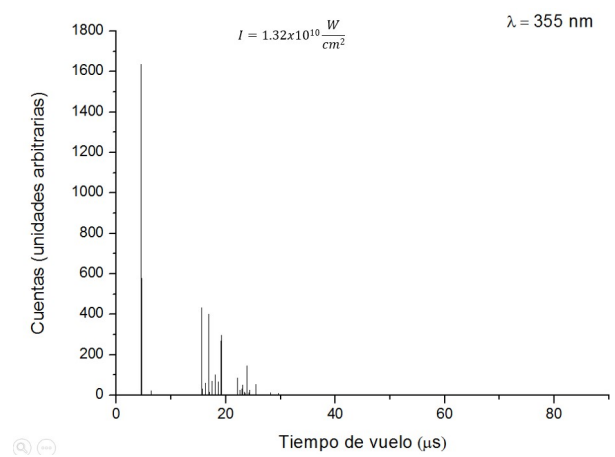
(i)



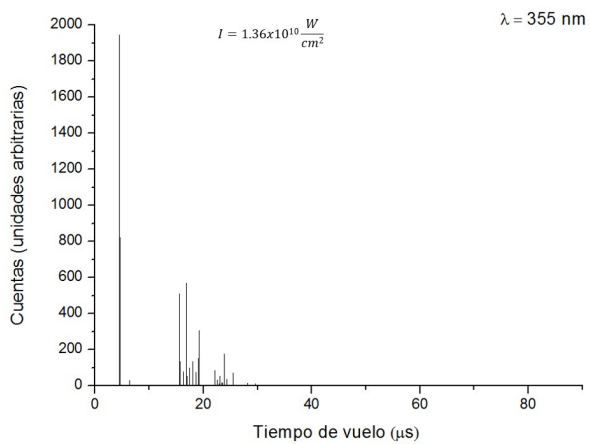
(j)



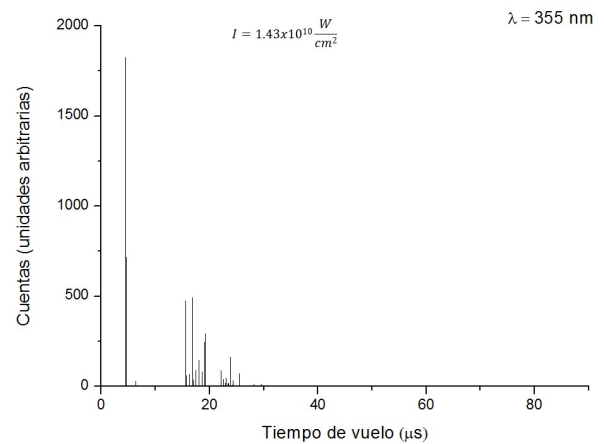
(k)



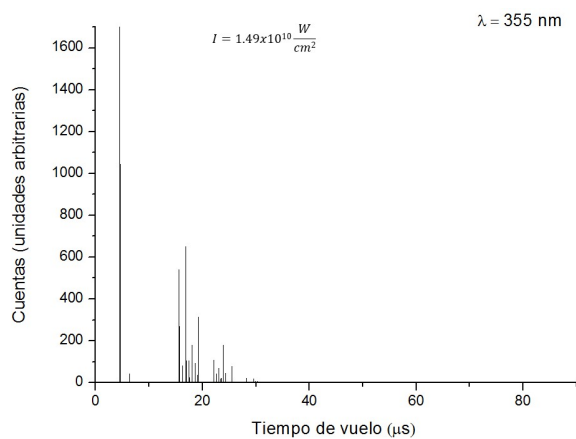
(l)



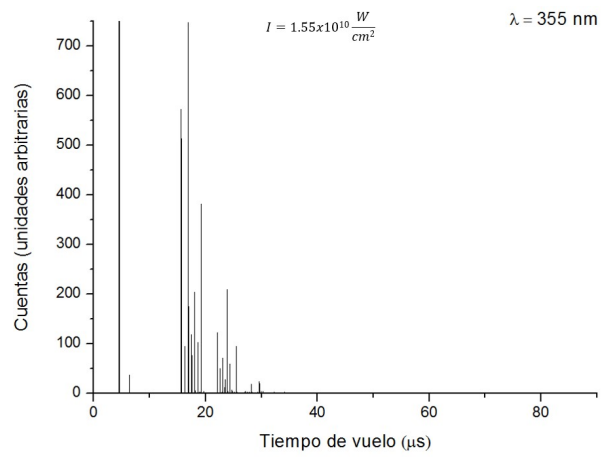
(m)



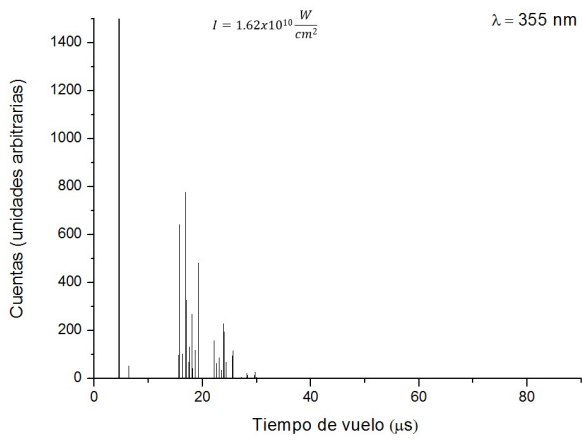
(n)



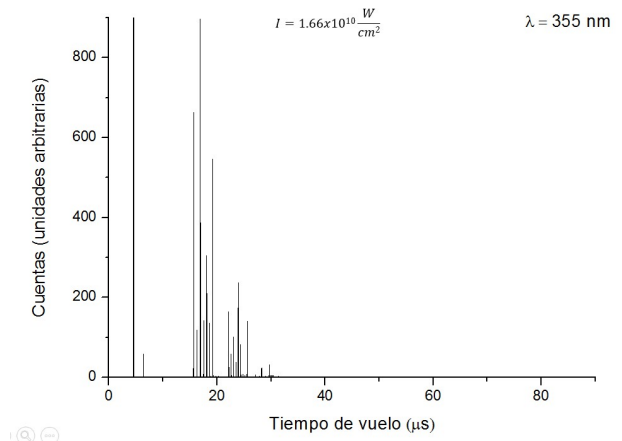
(ñ)



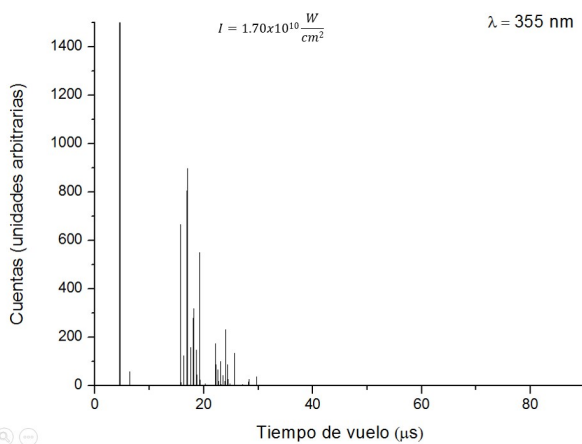
(o)



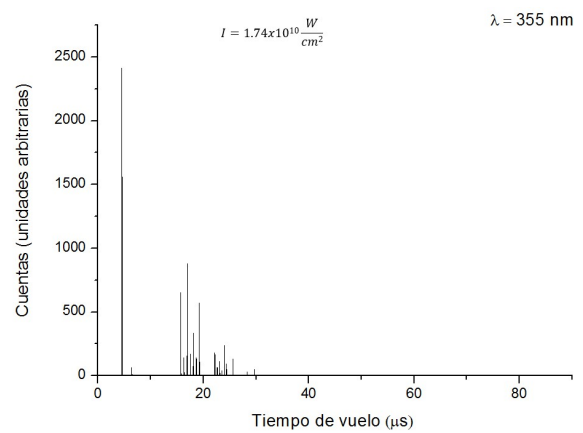
(p)



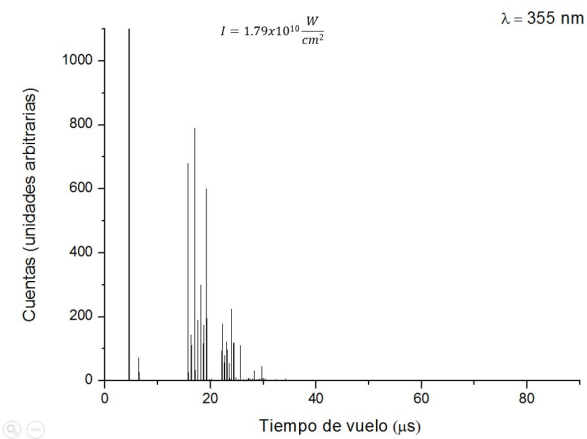
(q)



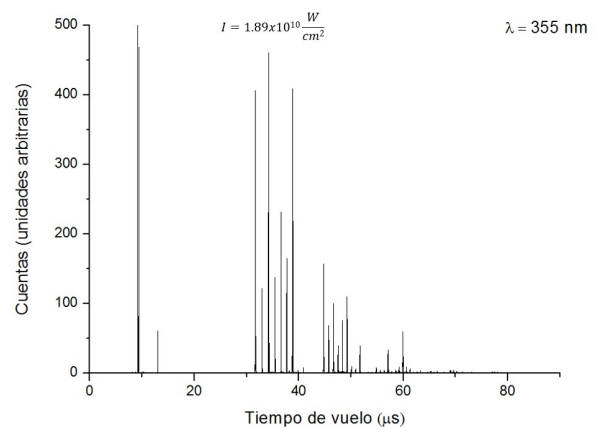
(r)



(s)



(t)



(u)

# Bibliografía

- [1] K. Modos, S. Gaspar, T. Kerekgyarto, A.A. Vink, L. Roza, and A. Fekete. The role of the spectral sensitivity curve in the selection of relevant biological dosimeters for solar uv monitoring. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 53(20-25), 1999.
- [2] André Passaglia Schuch, Camila Carrião Machado Garcia, Kazuo Makita, and Carlos Frederico Martins Menck. Dna damage as a biological sensor for environmental sunlight. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 12:1259–1272, 2013.
- [3] G Hot-neck. Quantification of biologically effective environmental uv irradiance. *Adv Space Res*, 26:1983–1994, 2000.
- [4] Donat-P.Häderra and Rajeshwar P. Sinha. Solar ultraviolet radiation-induced dna damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutat. Res.*, 571:221–233, 2005.
- [5] André P. Schuch, Victor M. Lipinski, Mauricio B. Santos, Caroline P. Santos, Sinara S. Jardim, Sonia Z. Cechin, and Elgion L. S. Loreto. Molecular and sensory mechanisms to mitigate sunlight-induced dna damage in tree-frog tadpoles. *J. Exp. Biol.*, 218:3059–3067, 2015.
- [6] Teiti Yagura, Kazuo Makita, Hiromasa Yamamoto, Carlos F.M. Menck, and André P. Schuch. Biological sensors for solar ultraviolet radiation. *Sensors*, 11:4277–4294, 2011.
- [7] A. Berces, A. Fekete, S. Gaspar, P. Gróf, P. Rettberg, G. Horneck, and Gy Rontó. Biological uv dosimeters in the assessment of the biological hazard from environmental radiation. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 53:36–43, 1999.
- [8] André Passaglia Schuch, Natália Cestari Moreno, Natielen Jacques Schuch, Carlos Frederico Martins Menck, and Camila Carrião Machado Garcia. Sunlight damage to cellular dna: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radic. Biol. Med.*, 107:110–124, 2017.
- [9] Gerd P. Pfeifer, Young-Hyun You, and Ahmad Besaratinia. Mutations induced by ultraviolet light. *Mutat. Res.*, 571:19–31, 2005.

- [10] André Passaglia Schuch, Teiti Yagura, Kazuo Makita, Hiromasa Yamamoto, Nelson Jorge Schuch, Lucymara Fassarella Agnez-Lima, Ricardo Monreal MacMahon, and Carlos Frederico Martins Menck. Dna damage profiles induced by sunlight at different latitudes. *Environ. Mol. Mutagen.*, 53:198–206, 2012.
- [11] I. Lopez-Quintas, M. Oujja, M. Sanza, A. Benitez-Cañete, C. Hutchison, R. de Nalda, M. Martin, R.A. Ganeev, J.P. Marangos, and M. Castillejo. Characterization of laser-induced plasmas of nucleobases: Uracil and thymine. *Appl. Surf. Sci.*, 302:299–302, 2014.
- [12] Matthew K. Daddysman and Christopher J. Fecko. Dna multiphoton absorption generates localized damage for studying repair dynamics in live cells. *Biophys. J.*, 101:2294–2303, 2011.
- [13] H. Levola, K. Kooser, E. Rachlew, E. Nõmmiste, and E. Kukk. Fragmentation of thymidine induced by ultraviolet photoionization and thermal degradation. *Int. J. Mass Spectrom.*, 353:7–11, 2013.
- [14] Martin Schwell, Hans-Werner Jochims, Helmut Baumgärtel, and Sydney Leach. Vuv photophysics and dissociative photoionization of pyrimidine, purine, imidazole and benzimidazole in the 7–18 ev photon energy range. *J. Chem. Phys.*, 353:145–162, 2008.
- [15] Hans-Werner Jochims, Martin Schwell, Helmut Baumgärtel, and Sydney Leach. Photoion mass spectrometry of adenine, thymine and uracil in the 6–22 ev photon energy range. *J. Chem. Phys.*, 314:263–282, 2005.
- [16] Joyce and G.F. The antiquity of rna-based evolution. *Nature*, 418:214–221, 2002.
- [17] D. Toffoli, P. Decleva, F. A. Gianturco, and R. R. Lucchese. Density functional theory for the photoionization dynamics of uracil. *J. Chem. Phys.*, 127, 2007.
- [18] C Champion, M E Galassi, O Fojón, H Lekadir, J Hanssen, P F Weck R D Rivarola, A N Agnihotri, S Nandi, and L C Tribedi. Ionization of rna-uracil by highly charged carbon ions. *J. Phys. Conf. Ser.*, 373:1–8, 2012.
- [19] Z. Kuluncsics, D. Perdiz, E. Brulay, B. Muel, and E. Sage. Wavelength dependence of ultraviolet-induced dna damage distribution: involvement of direct or indirect mechanisms and possible artefacts. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 49:71–80, 1999.

- [20] André Passaglia Schuch and Carlos Frederico Martins Menck. The genotoxic effects of dna lesions induced by artificial uv-radiation and sunlight. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, 99:111–116, 2010.
- [21] Pal Markush, Paola Bolognesi, Antonella Cartoni, Patrick Rousseau, Sylvain Maclot, Rudy Delaunay, Alicja Domaracka, Jaroslav Kocisek, Mattea C. Castrovilli, Bernd A. Huber, and Lorenzo Avaldi. The role of the environment in the ion induced fragmentation of uracil. *Phys.Chem.Chem.Phys*, 18:16721–16729, 2016.
- [22] Ryszard Olinski, Marek Jurgowiak, and Tomasz Zaremba. Uracil in dna—its biological significance. *Mutat. Res.*, 705:239–245, 2010.
- [23] Mirta M.L. Sousa, Hans E. Krokan, and Geir Slupphaug. Dna-uracil and human pathology. *Mol. Aspects Med.*, 28:276–306, 2007.
- [24] S. Denifl, B. Sonnweber, G. Hanel, P. Scheier, and T.D. Märk. Threshold electron impact ionization studies of uracil. *Int. J. Mass Spectrom.*, 238:47–53, 2004.
- [25] Antonio Conconi and Brendan Bell. The long and short of a dna-damage response. *Nature*, 545:165–166, 2017.
- [26] Aleksandra Pałasz and Dariusz Ciez. In search of uracil derivatives as bioactive agents. uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications. *Eur. J. Med. Chem.*, 97(582-611), 2015.
- [27] Zita Martins, Oliver Botta, Marilyn L. Fogel, Mark A. Sephton, Daniel P. Glavin, Jonathan S. Watson, Jason P. Dworkin, Alan W. Schwartz, and Pascale Ehrenfreund. Extraterrestrial nucleobases in the murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 270:130–136, 2008.
- [28] Y Picó. Pesticides and herbicides: Residue determination. *Encyclopedia of Food and Health*, pages 311–318, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00537-7>.
- [29] Luisa X. Hallado Abaunza. Espectroscopía de absorción multifotónica por tiempo de vuelo. Master’s thesis, Universidad Industrial de Santander, Pag. 6, 2017.
- [30] Jürgen H.Gross. *Mass Spectrometry*. Number Pag. 13. Springer, second edition edition, 2004.
- [31] O. Bludsky D. Nachtigallova M.S. de Vries M. Ligare, F. Siouri. Characterizing the dark state in thymine and uracil by double resonant spectroscopy and quantum computation. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 00,1-3, 2012.

- [32] Robert J. Donovan Helmut H. Telle, Angel González Ureña. *Laser Chemistry Spectroscopy, Dynamics and Applications* Pag. 90. 2007.
- [33] Alberto Requena Rodríguez and José Zúñiga Román. *Espectroscopía*, Pag.497, chapter 18. 2004.
- [34] Atsushi Yabushita Bing Xue and Takayoshi Kobayashi. Ultrafast dynamics of uracil and thymine studied using a sub-10 fs deep ultraviolet laser. *Phys.Chem.Chem.Phys*, 18:17044–17053, 2016.
- [35] S.H. Lin, Y.Fujimura, H.J Neusser, and E.W. Schlag. *Multiphoton Spectroscopy of Molecules*. Academic Press, INC, 1984.
- [36] Warner L. Peticolas, John P. Goldsborough, and K. E. Rieckhoff. Double photon excitation in organic crystals. *Phys. Rev. Lett.*, 10:43–45, 1963.
- [37] Merrick J. DeWitt and Robert J. Levis. Concerning the ionization of large polyatomic molecules with intense ultrafast lasers. *J. Chem. Phys*, 110:11368–11375, 1999.
- [38] Sang Hwan Nam, Hye Sun Park, Jae Kyu Song, and Seung Min Park. Photoinduced dynamics of hydrated adenine clusters. *J. Phys. Chem*, 111:3480–3484, 2007.
- [39] B. Barc, M. Ryszka, J. Spurrell, M. Dampc, P. Limão-Vieira, R. Parajuli, N. J. Mason, and S. Eden. Multi-photon ionization and fragmentation of uracil: Neutral excited-state ring opening and hydration effects. *J. Chem. Phys*, 139:244311(1–10), 2013.
- [40] Roxana Rudyk, María E. Ramos, María A. Checa, Eduardo E. Chamorro, and Silvia A. Brandán. Theoretical structural and vibrational study of 5-trifluoromethyluracil. a comparison with uracil. *AIP Conf. Proc.*, 912, 2014.
- [41] Raymond chang. *Química*. mcGRaW-HiLL, décima edition, 2010.
- [42] Merrick J. DeWitt, , and Robert J. Levis. Calculating the keldysh adiabaticity parameter for atomic, diatomic, and polyatomic molecules. *J. Chem. Phys*, 108, 1998.
- [43] S V Popruzhenko. Keldysh theory of strong field ionization: history, applications, difficulties and perspectives. *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.*, 47:204001(1–35), 2014.



- [44] Marta Castillejo, Stelios Couris, Emmanuel Koudoumas, and Margarita Martín. Ionization and fragmentation of aromatic and single-bonded hydrocarbons with 50 fs laser pulses at 800 nm. *Chem. Phys. Lett.*, 308:373–380, 1999.
- [45] Stephen Shrader. *Introductory Mass Spectrometry*. Pag. 27, Second Edition, 2014.
- [46] Todd M. Maddern, Vincent Jamier, Jessica R. Brunton, Michael J. Brunger, Cyril Papamicaël, and Stephen J. Buckman Suzanne V. Smith. A technique to determine the thermal stability of uracil and uracilderivatives in a molecular beam. *Int. J. Mass Spectrom.*, 409:73–80, 2016.
- [47] M.A. Rahman and E. Krishnakumar. Absolute partial and total electron ionization cross sections of uracil. *Int. J. Mass Spectrom.*, 292:145–153, 2015.
- [48] Instruction Manual. *Positive ion D-803 Aref Time of Flight power Supply for D-850 Angular Reflection*. Jordan TOF Products, INC, Pag.3.
- [49] M. Ryszka, R. Pandey, C. Rizk, J. Tabet, B. Barc, M. Dampc, N.J. Mason, and S. Eden. Dissociative multi-photon ionization of isolated uracil and uracil-adenine complexes. *Int. J. Mass Spectrom.*, 396:48–54, 2016.
- [50] Michael Guilhaus. Principles and instrumentation in time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 30:1519–1532, 1995.
- [51] Instruction Manual. *40 mm MCP Microchannel Plate Detector*. Jordan TOF Products, INC, Pag.1.
- [52] Quanta-Ray, Spectra-Physics, Pag. 13. *Pulsed Nd: YAG Lasers GCR Series*, 1994.
- [53] Marjorie Imhoff, Zongwu Deng, and Michael A. Huels. Ionizing fragmentation of uracil and 5-bromouracil by electron impact in gas phase and hyperthermal  $Ar^+$  ion irradiation in condensed phase. *Int. J. Mass Spectrom.*, 262:154–160, 2007.
- [54] Jerry M. Rice, Gerald O. Dudek, and Michael Barber. Mass spectra of nucleic acid derivatives. pyrimidines. *J. Am. Chem. Soc.*, pages 4569–4576, 1965.
- [55] I. I. Shafranyosh and M. I. Sukhoviya. Inelastic collisions of the uracil molecules with electrons. *J. Chem. Phys.*, 137, 2012.

- [56] E. Itälä, D.T. Haa, K. Koosera, E. Nõmmiste, U. Joost, and E. Kukk. Fragmentation patterns of core ionized uracil. *Int. J. Mass Spectrom.*, 306(82–90), 2011.
- [57] *Ultraviolet photoelectron studies of volatile nucleoside models. Vertical ionization potential measurements of methylated uridine, thymidine, cytidine, and adenosine*, chapter en NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69. obtenido 22 de agosto del 2018.
- [58] V. V. Afrosimov, A. A. Basalaeov, Yu. G. Morozov, M. N. Panov, O. V. Smirnov, , and E. A. Tropp. Fragmentation of adenine and uracyl molecules through electron captures in collisions with ions. *Technical Physics*, 57:594–602, 2012.
- [59] Leila Sadr Arani, Pierre Mignon, Hassan Abdoul-Carime, Bernadette Farizon, Michel Farizon, and Henry Chermette. Hydrogen release from charged fragments of the uracil cation followed by their fragmentation: A dft study. *Chem. Phys. Lett.*, 583:165–169, 2013.
- [60] Ana Denhi Martínez Farfán. Fotólisis del nitrometano en el límite de transición multifotónica. Master’s thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Pag. 69, 2015.
- [61] Akihiko Yoshikawa and Spiridoula Matsika. Excited electronic states and photophysics of uracil–water complexes. *J. Chem. Phys*, 347:393–404, 2008.
- [62] A. Reuther, H. Iglev, R. Laenen, and A. Laubereau. Femtosecond photoionization of nucleic acid bases: electronic lifetimes and electron yields. *Chem. Phys. Lett.*, 325:360–368, 2000.
- [63] Daniel Keefer, Sebastian Thallmair, Spiridoula Matsika, and Regina de Vivie-Riedle. Controlling photorelaxation in uracil with shaped laser pulses: A theoretical assessment. *J. Am. Chem. Soc.*, Just Accepted:1–18, 2017.
- [64] ACD/Labs.com. - <http://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/>.
- [65] Spiridoula Matsika. Two- and three-state conical intersections in the uracil cation. *J. Chem. Phys*, 349:356–362, 2008.
- [66] Leila Sadr Arani, Pierre Mignon, Hassan Abdoul-Carime, Michel Farizon Bernadette Farizon, and Henry Chermette. Dft study of the fragmentation mechanism of uracil rna base. *Phys. Chem. Chem. Phys*, 14:9855–9870, 2012.

- [67] Leisa Sadr-Arani, Pierre Mignon, Henry Chermette, and Thierry Douki. Theoretical and experimental study of the fragmentation of protonated uracil. *Chem. Phys. Lett.*, 605:108–114, 2014.
- [68] R. Pandey, M. Ryszka, T. da Fonseca Cunha, M. Lalande, M. Dampc, P. Limão-Vieira, N.J. Mason, J.C. Pouilly, and S. Eden. Threshold behavior in metastable dissociation of multi-photon ionized thymine and uracil. *Chem. Phys. Lett.*, 684:233–238, 2017.
- [69] M.I. Sukhoviya, M.I. Shafranyosh, M.M. Chavarga, and I.I. Shafranyosh. Electron impact ionization and excitation of uracil molecules. *Ukr. J. Phys.*, 57(7), 2012.
- [70] Congyi Zhou, Spiridoula Matsika, Marija Kotur, , and Thomas C. Weinacht. Fragmentation pathways in the uracil radical cation. *J. Chem. Phys.*, 116:9217–9227, 2012.
- [71] Michael Schneider, Christof Schon, Ingo Fischer, Luis Rubio-Lagob, and Theofanis Kitsopoulos. Photodissociation of uracil. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9:6021–6026, 2007.