



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIOS MULTIFOTÓNICOS DE LA ADENINA

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Quím. LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA

Dra. MARÍA DEL CARMEN CISNEROS GUDIÑO
INSTITUTO DE CIENCIAS FÍSICAS

CIUDAD DE MÉXICO, JULIO 2020



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

ESTUDIOS MULTIFOTÓNICOS DE LA ADENINA

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Quím. LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA



Ciudad de México, México, julio 2020

AGRADECIMIENTOS



El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Colisiones Atómicas y Moleculares perteneciente al grupo de Física Atómica, Molecular y Óptica Experimentales, ubicado en el Instituto de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. María del Carmen Cisneros Gudiño.

Agradezco el apoyo brindado por la fundación Álvarez-Cisneros, así como a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y su programa de Posgrado, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a los proyectos DGAPA IN104318 e IN104019.

También agradezco a todo el equipo de trabajo del laboratorio: a la Dra. María del Carmen Cisneros Gudiño por sus sugerencias tanto personales como profesionales que hacen de mí una mejor investigadora; al Dr. Ignacio Álvarez Torres por sus consejos, recomendaciones y sus relatos que rememoran las vicisitudes experimentales, los cuales brindan apoyo ante la incertidumbre experimental; al Dr. Alfonso Guerrero Tapia por sus enseñanzas en el manejo de instrumentación, sugerencias, observaciones y su colaboración en el desarrollo del arreglo experimental; a mi compañero de laboratorio Eladio Prieto Zamudio por su ayuda, apoyo y contribución en la ejecución experimental. Y en general a todos los que de algún modo u otro hicieron posible el desarrollo de este proyecto.

Por último, a mi familia quienes siempre están pendientes de mí y procuran mi bienestar.

CONTENIDO

	<u>PAG.</u>
INTRODUCCIÓN.....	- 1 -
JUSTIFICACIÓN	- 2 -
OBJETIVOS.....	- 3 -
OBJETIVO GENERAL	- 3 -
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	- 3 -
HIPÓTESIS	- 3 -
1. MARCO CONCEPTUAL	- 4 -
1.1. ADENINA Y SU IMPORTANCIA EN LA VIDA	- 4 -
1.2. FOTODISOCIACIÓN	- 14 -
1.3. IONIZACIÓN MULTIFOTÓNICA.....	- 14 -
1.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA.....	- 16 -
1.4.1. IONIZACIÓN MULTIFOTÓNICA MEJORADA POR RESONANCIA (REMPI)..	- 16 -
1.4.2. REMPI ACOPLADO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS	- 19 -
1.5. MECANISMOS DE FRAGMENTACIÓN.....	- 21 -
2. SISTEMA EXPERIMENTAL	- 23 -
2.1. INSTRUMENTACIÓN	- 24 -
2.1.1. FUENTES DE RADIACIÓN LÁSER	- 24 -
2.1.2. OSCILADOR PARAMÉTRICO ÓPTICO	- 24 -
2.1.3. MONTAJE ÓPTICO	- 25 -
2.1.4. VÁLVULA DE INYECCIÓN DE MUESTRA	- 25 -
2.1.5. ESPECTRÓMETRO DE MASAS POR TIEMPO DE VUELO	- 26 -
2.1.6. SISTEMAS DE GENERACIÓN Y DETECCIÓN DEL VACÍO	- 26 -
2.1.6.1. Bomba de membrana.....	- 27 -
2.1.6.2. Bomba turbo-molecular	- 27 -
2.1.6.3. Ion gauge.....	- 27 -
3. METODOLOGÍA	- 28 -

3.1. EXPERIMENTO PRELIMINAR	- 28 -
3.2. EXPERIMENTO PRINCIPAL	- 28 -
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 31 -
4.1. ESTUDIOS PRELIMINARES	- 31 -
4.2. EXPERIMENTO PRINCIPAL	- 32 -
4.2.1. CURVA DE CALIBRACIÓN	- 33 -
4.2.2. IONES DETECTADOS	- 36 -
4.2.3. COMPARACIÓN DE LOS IONES OBTENIDOS EN LAS DOS ETAPAS EXPERIMENTALES Y BÚSQUEDA DE LONGITUD DE ONDA DE RESONANCIA	- 38 -
<i>4.2.3.1. Iones que se generan en ambos experimentos de igual estructura</i>	- 39 -
<i>4.2.3.2. Iones que crecen en ambas regiones, pero sus estructuras pueden ser diferentes</i>	- 49 -
<i>4.2.3.3. Iones que sólo aparecen en la parte experimental 1</i>	- 54 -
<i>4.2.3.4. Iones propios de la mezcla de vapores de adenina y 1-propanol, parte experimental 2</i> .	- 56 -
4.2.4. ANÁLISIS DE LAS LONGITUDES DE ONDA RESONANTES	- 60 -
4.2.4.1. ADENINA	- 60 -
4.2.4.2. ADENINA DISUELTA EN 1-PROPANOL	- 61 -
CONCLUSIONES	- 63 -
TRABAJO FUTURO	- 64 -
ANEXOS	- 65 -
Anexo A. Metodología detallada del experimento principal	- 65 -
<i>Parte 1</i>	- 65 -
<i>Parte 2</i>	- 66 -
Anexo B. Figuras de iones restantes	- 67 -
<i>Iones que se generan en ambos experimentos de igual estructura</i>	- 67 -
<i>Iones que crecen en ambas regiones, pero sus estructuras pueden ser diferentes</i>	- 69 -
<i>Iones que sólo aparecen en la parte experimental 1</i>	- 70 -
<i>Iones propios de la mezcla de vapores de adenina y 1-propanol, parte experimental 2</i>	- 71 -
Anexo C. Resultados Académicos	- 72 -
<i>Artículos Publicados</i>	- 72 -
<i>Trabajos Presentados en Congresos</i>	- 72 -

LISTA DE FIGURAS

PAG.

- Figura 1.** Estructura, componentes y caminos de síntesis abiótica de biomacromoléculas operando en las tres funciones fundamentales de la vida (replicación, compartimentalización y metabolismo).¹⁹ - 5 -
- Figura 2.** Representación de los principales sucesos fotofísicos y fotoquímicos, a lo largo de la coordenada nuclear Q.²² - 6 -
- Figura 3.** Representación de las bases nitrogenadas agrupadas en purinas y pirimidinas..... - 7 -
- Figura 4.** Representación de los isómeros de la adenina²³ - 8 -
- Figura 5.** Diagramas energéticos con intersecciones cónicas de la adenina³¹ - 10 -
- Figura 6.** Medición de la radiación ultravioleta para: espacio (negro) y en la superficie terrestre al mediodía (azul). La absorción por el ozono estratosférico disminuye al incrementar la longitud de onda; y es la principal causa de la disminución de la curva azul, a la vez que mitiga la acción eritémica de la radiación en la zona UV-B donde el material biológico suele presentar alta sensibilidad. ³⁷ - 11 -
- Figura 7.** Caminos de reacción para la síntesis abiótica de las bases nucleicas; adenina (A), citosina (C), guanina (G), timina (T) y uracilo (U).¹⁹ - 13 -
- Figura 8.** Camino de síntesis de las purinas, descubierto por Ferris y Orgel en 1966: a partir de cuatro moléculas de HCN.^{20,43} - 13 -
- Figura 9.** La diferencia entre a) impacto electrónico y b) ionización multifotónica. Donde E_1 corresponde a la primera energía de ionización, mientras F_1^+ , F_2^+ , F_3^+ son los fragmentos iónicos y M es el estado basal.⁴⁷ - 15 -
- Figura 10.** Algunas formas de ionización para una molécula M. S_x indica un estado intermedio permitido, la mayoría son estados S_1 , pero también es posible que intervengan estados superiores; además se presentan algunos intermediarios virtuales S_v . a) ionización directa, b) ionización a un color bifotónica alcanzando un estado intermedio resonante (M^*), c) ionización a un color con dos fotones vía un estado intermedio virtual, d) ionización a dos colores con dos fotones de diferente energía vía un estado intermedio resonante, e) ionización a dos colores trifotónica vía un estado intermedio virtual y posteriormente uno real, f) ionización tetrafotónica resonante vía un estado intermedio, g) ionización bifotónica resonante empleando dos fotones de distintas longitudes de onda, h) ionización bifotónica no resonante, i) excitación a un estado de Rydberg (no hay ionización) usando un fotón, j) excitación seguida de la disociación o entrecruzamiento de sistemas a otra configuración, la cual puede absorber un nuevo fotón de igual energía. ^{46,47} - 17 -
- Figura 11.** Diagrama general de un tubo de vuelo - 20 -
- Figura 12.** Producción del ion *immonium* a partir de una molécula con presencia de grupos amino⁵⁰ - 22 -

Figura 13. Representación de los instrumentos empleados para los estudios preliminares ⁵⁵	- 23 -
Figura 14. Representación de los instrumentos empleados en el experimento principal	- 24 -
Figura 15. Representación de los pulsos láser P y las señales de retardo R.....	- 25 -
Figura 16. Tuberías y sistema de calentamiento para la introducción de las muestras al sistema: a) el sistema de calentamiento, b) tubería para la introducción de una sola sustancia al sistema y c) tubería para la introducción de dos moléculas al sistema.....	- 29 -
Figura 17. Pasos para la toma de espectros	- 30 -
Figura 18. Espectro de absorción UV para la adenina disuelta en agua o sobre una lámina de cuarzo ⁶¹	- 31 -
Figura 19. Espectro de absorción UV para la adenina disuelta en: terbutanol (azul), metanol (negro) y 1-propanol (rojo)	- 32 -
Figura 20. Curva de calibración para la adenina, parte 1.....	- 34 -
Figura 21. Curva de calibración para la adenina acompañada de 1-propanol, parte 2.....	- 34 -
Figura 22. Espectro de masas para la adenina a una longitud de onda de 264.98 nm.....	- 35 -
Figura 23. Espectro de masas para la adenina disuelta en 1-propanol a una longitud de onda de 264.97 nm.....	- 35 -
Figura 24. Conversión de coordenadas para el análisis de los iones.....	- 38 -
Figura 25. Señal del ion H ⁺ (m/z 1), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.....	- 39 -
Figura 26. Mecanismo de fragmentación para la obtención de ion H ⁺ a partir de la adenina (superior) y el 1-propanol (inferior).....	- 40 -
Figura 27. Señal del ion C ⁺ (m/z 12), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.....	- 40 -
Figura 28. Señal del ion CH ⁺ (m/z 13), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.	- 41 -
Figura 29. Señal del ion C ₂ ⁺ (m/z 24), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.	- 41 -
Figura 30. Señal del ion C ₂ H ⁺ (m/z 25), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.	- 42 -
Figura 31. Señal del ion CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺ (m/z 26), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.	- 43 -

- Figura 32.** Señal del ion HCN^+ o C_2H_3^+ (m/z 27), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.- 44 -
- Figura 33.** Mecanismo de fragmentación mediante la pérdida de HCN^+ : a) neutro y b) cargado.- 45 -
- Figura 34.** Señal del ion C_3^+ (m/z 36), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 46 -
- Figura 35.** Señal del ion C_3H^+ (m/z 37), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 47 -
- Figura 36.** Señal del ion C_4H_3^+ o C_2N^+ (m/z 51), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.- 48 -
- Figura 37.** Señal del ion NH^+ o CH_3^+ (m/z 15), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.- 49 -
- Figura 38.** Señal del ion NH_2CH^+ o C_2H_5^+ (m/z 29), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 50 -
- Figura 39.** Señal del ion HCCN^+ o C_3H_3^+ (m/z 39), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 51 -
- Figura 40.** Señal de los iones NCN^+ o $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}^+$ y C_2O^+ o C_3H_4^+ (m/z 40), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 52 -
- Figura 41.** Señal de los iones CN_2H_4^+ y CN_2H_4^+ o $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$ (m/z 44), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol- 53 -
- Figura 42.** Señal del ion m/z 226, en función de la longitud de onda. En izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.....- 54 -
- Figura 43.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}^+$ o $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}_2^+$ (m/z 54).- 55 -
- Figura 44.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2^+$ (m/z 60).- 55 -
- Figura 45.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion C_3N^+ o C_4H_2^+ (m/z 50).....- 56 -
- Figura 46.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_3\text{H}_2\text{N}^+$ o C_4H_4^+ (m/z 52).....- 57 -

- Figura 47.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $C_5H_7N_5^+$ (m/z 137) - 58 -
- Figura 48.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el cúmulo de m/z 335- 59 -
- Figura 49.** Gráficas en la que son evidentes las longitudes de onda en la que se presentan dos máximos evidentes, para cada uno de los iones cuando se realizaron medidas a 0.01 nm, a fin de ubicar los máximos de la manera más precisa posible. - 60 -
- Figura 50.** Señal del ion m/z 28, en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol..... - 67 -
- Figura 51.** Señal del ion C_2N^+ (m/z 38), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol. - 67 -
- Figura 52.** Señal del ion m/z 42, en función de la longitud de onda. En; a la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol..... - 69 -
- Figura 53.** Señal del ion m/z 43, en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol..... - 69 -
- Figura 54.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $CN_2H_5^+$ (m/z 45) .- 70 -
- Figura 55.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $C_5H_9N_5^+$ (m/z 139) - 71 -
- Figura 56.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para los iones de m/z 61.- 71 -
- Figura 57.** Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el cúmulo de m/z 225- 71 -

LISTA DE TABLAS

PAG.

- Tabla 1.** Masas de los iones detectados en cada una de las secciones experimentales. En letras negras las analizadas, mientras que en verde se señalan aquellas que debido a su baja intensidad no pueden ser estudiadas. - 36 -
- Tabla 2.** Iones detectados con su posible fórmula molecular - 37 -
- Tabla 3.** Longitudes de onda en las que iones de la adenina presentan máximos, que pueden ser comparados con los obtenidos para la mezcla, que aparecen en la tabla 4..... - 61 -
- Tabla 4.** Longitudes de onda en las que iones de la mezcla de adenina con 1-propanol presentan máximos, que pueden ser comparados con los obtenidos para la adenina, tabla 3..... - 62 -

RESUMEN

En esta tesis se reportan los resultados del estudio de la adenina pura y mezclada con vapores de 1- propanol al ser sometidas a radiación láser en el intervalo de (257-280) nm; realizados con el fin de reconocer e identificar los procesos resonantes mediante la absorción multifotónica, cómo afecta el disolvente seleccionado a los productos de fragmentación y la investigación sobre la o las longitudes de onda en que se presenta algún tipo de resonancia.

Se encontró que la adenina pura, dentro de este intervalo de longitudes de onda presenta resonancias a (264.98 y 271.98) nm, mientras que al entrar en contacto con 1-propanol se detectan diferentes máximos. Este comportamiento no ha sido reportado, a excepción de algunos trabajos teóricos¹⁻³ y uno experimental en otro intervalo de longitudes de onda⁴.

En la ejecución de estos experimentos se empleó un láser de Nd: YAG a una longitud de onda de 355 nm que bombea un oscilador paramétrico óptico, el cual permite realizar barridos a diferentes longitudes de onda (200-400) nm. Mediante la interacción de la radiación con las moléculas se generan diferentes fragmentos positivos que son dirigidos a un tubo de vuelo, los iones de carga positiva son acelerados a través del instrumento donde se separan de acuerdo con su relación m/z y llegan hasta un detector del tipo *Channeltron*. La llegada de cada uno de los fragmentos genera una cascada de electrones, cuya señal es amplificada y enviada a un analizador multicanal que transforma la señal de voltaje en código binario y lo traslada al equipo de cómputo, en el cual se registran los espectros de masas de acuerdo con su tiempo de arribo.

Para una adecuada ejecución del experimento principal se realizaron estudios preliminares de los espectros de absorción ultravioleta de la adenina disuelta en diferentes disolventes polares (metanol, 1- propanol y terbutanol); con el fin de seleccionar la mezcla que presenta un corrimiento más significativo en la banda del espectro de absorción e incremento en la eficiencia de la absorción. Los resultados arrojaron al 1-propanol como el disolvente más adecuado y por tanto es el utilizado en el estudio realizado. Este análisis se realizó controlando un espectrómetro Ocean Optics modelo FLAME-S-UV-VIS equipado con una celda de cuarzo con un paso óptico de 1 cm en la que se deposita la muestra, la fuente de

excitación corresponde una lámpara de halógeno-tungsteno de Ocean Optics modelo DH-mini UV-VIS-NIR.

El contenido de esta tesis se divide en cuatro capítulos:

En el primer capítulo se discute el marco conceptual, en éste se realiza una contextualización sobre la importancia de la adenina para el desarrollo de la vida. Luego se enuncian los conceptos de fotodisociación, ionización multifotónica y espectroscopía de absorción multifotónica. Por último, se presentan los fundamentos de la técnica experimental aplicada en el desarrollo del proyecto, espectroscopía de ionización multifotónica mejorada por resonancia, por sus siglas en inglés REMPI.

Luego, en el segundo capítulo se describe el sistema experimental, presentando con detalle cada uno de los instrumentos usados, de los cuales destacan la fuente de radiación láser, el oscilador paramétrico óptico, el sistema de inyección de la muestra, el espectrómetro de masas y los sistemas de generación y detección de vacío. También se describe brevemente el montaje óptico que permite enfocar los haces de distintas longitudes de onda sobre el haz molecular.

Posteriormente, el tercer capítulo contiene la descripción de los experimentos ejecutados, incluyendo los estudios preliminares al análisis principal de este trabajo. En éstos se determinó el disolvente más adecuado para mejorar la absorción de fotones y la adquisición de los espectros de masas para la adenina pura y mezclada con 1-propanol. En el cuarto capítulo se exponen y discuten los resultados obtenidos en cada una de las fases experimentales, junto con el análisis del comportamiento de los iones detectados y se exponen las longitudes de onda resonantes para la adenina pura y a la adenina mezclada con vapor de 1-propanol.

Por último, se reportan las conclusiones derivadas de este trabajo y se realizan algunas recomendaciones para trabajos futuros. También se incluyen en los anexos los pasos detallados de la operación de la instrumentación y los resultados académicos generados a partir de esta investigación.

ABSTRACT

In this thesis are reported the results of the study of pure adenine and mixed with vapors of 1-propanol under laser radiation in the range of (257-280) nm; these studies were done with the purpose for recognize and identify the resonant process through multiphoton absorption, how the selected solvent affects the fragmentation products and the investigation about of the wavelength or wavelengths that presents some kind of resonance.

It was found that pure adenine, in the mentioned wavelength range present resonances at (264.98 and 271.98) nm, while when getting in touch with 1-propanol are detected different maximum. This behavior haven't been report, except in some theoretical works.¹⁻³

In the execution of the mentioned experiments it was employed a Nd: YAG laser at a wavelength of 355 nm that pumps an Optic Parametric Oscillator which allows scans through different wavelength (200-400) nm. By mean of the interaction of the radiation with the molecules are produced different positive fragments that are directed to a tube of flight, the ions with positive charge are accelerated through the instrument where are separated according to the ratio m/z and arrives until a Channeltron detector. The arrive of each fragment produces an electron cascade, which signal is amplified and sent to a multichannel analyzer that transforms the voltage signal into binary code and sends to the computer in which are register the mass spectrum according the arrival time.

For an adequate execution of the principal experiment were done preliminary studies of ultraviolet absorption spectra of adenine dissolved in polar solvents (methanol, 1-propanol, and tert-butanol); with the purpose of selecting the mixture that presents a significant shift of the absorption spectral band and an increase in the absorptive efficiency. The results showed that 1-propanol as the more adequate solvent and that is why it is used in the done study. This analysis was done controlling a spectrometer Ocean Optics Model FLAME-S-UV-VIS equipped with a quartz cell with an optic length of 1cm to deposit the sample, the excitation light source is a halogen tungsten lamp by Ocean Optics Model DH-mini UV-VIS-NIR.

The content in this thesis is divided in four chapters:

In the first chapter is described the conceptual framework, in which is done a contextualization of the importance of adenine in the life development. After that are enounced the concepts of photodissociation, multiphotonic ionization and multiphotonic absorption spectroscopy. In last are presented the experimental technique fundaments employed for the development of the project, Resonance Enhanced Multiphoton Ionization, REMPI.

Then, in the second chapter is described the experimental system, presenting with detail each one of the used instruments, among which stand out the laser radiation source, the optic parametric oscillator, the sample injection system, the mass spectrometer and the systems of generation and detection of the vacuum. Also, is briefly describe the optical assemblage that allows to focus the beams form different wavelength over the molecular beam.

Later, the third chapter content the description of the executed experiments, including the preliminary experiments in which was determinate the most adequate solvent for the increasing the absorption of photons, and the acquisition of the mass spectra for the adenine and the mix with 1-propanol vapor. In the fourth chapter are exposed and discuss the obtained results in each of the experimental phases, accompanied with the analysis of the behaviour of the detected ions and are exposed the resonant wavelengths for pure adenine and for adenine mixed with 1-propanol.

In last, are reported the conclusions derived from this work, and some recommendations are made for future investigations. It is also included in the annexes the detailed steps for the operation of the instrumentation and the academic results from this work.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los procesos multifotónicos permite determinar información energética y estructural de las moléculas objetivo mediante el uso de instrumentos de alta gama, que garantizan un excelente funcionamiento del sistema y por ende un bajo porcentaje de incertidumbre en los datos obtenidos. Las técnicas utilizadas en estos experimentos evolucionan continuamente gracias al desarrollo de herramientas más sofisticadas entre las que se encuentran detectores con mayor sensibilidad, bombas de vacío de alta eficiencia y diferentes tipos de láseres.

En la actualidad los científicos buscan elucidar los mecanismos que dan origen a la modificación y generación de macromoléculas, las cuales afectan significativamente las células. Por tanto, se ha decidido implementar estudios sobre el efecto de la radiación, agente genotóxico, sobre el material genético que genera diversos tipos de lesiones cuyo origen no ha sido esclarecido pertinentemente. Lo expresado previamente incentivó la selección de la adenina, una de las cinco bases nitrogenadas que conforman el material genético, para realizar los estudios de interacción con radiación de tipo láser. Estos experimentos pueden generar productos como son: iones, radicales, electrones secundarios y moléculas neutras excitadas; si estos se hallaran en un medio biológico real serían capaces de provocar modificaciones o alteraciones en el ADN o ARN y puede generar daño directo o indirecto.⁵⁻⁷

Dentro de las técnicas multifotónicas se encuentra la espectroscopía de ionización multifotónica mejorada por resonancia, (Resonance Enhanced Multiphoton Ionization, REMPI) ésta presenta una amplia variedad de aplicaciones enfocadas en el estudio de diversos compuestos entre los que se encuentran contaminantes, pesticidas, compuestos poliaromáticos, drogas narcóticas, cúmulos e incluso la resolución de isómeros⁸⁻¹⁶. La técnica puede ser acoplada a diferentes modos de detección como dicroísmo circular y espectrometría de masas; este último es el empleado en este experimento. La adenina ha sido estudiada con esta técnica en el intervalo infrarrojo, donde se han observado diferentes bandas, cuyo comportamiento es afectado por la presencia de varios tautómeros.¹⁷

JUSTIFICACIÓN

El estudio de las interacciones electrónicas moleculares es importante para detallar el comportamiento de las moléculas ante la interacción con diversas fuentes de radiación y lograr conocer las rutas de estabilización; las cuales permitirán predecir el comportamiento de especies con estructura similar. En este caso la adenina es estructura objetivo con el fin de suplir la necesidad de información sobre la muestra pura y disuelta en un medio polar. A partir de los resultados obtenidos de su estudio se puede proponer el comportamiento de estructuras más complejas como es el caso del ADN y ARN.

Este proyecto de tesis propone realizar experimentos de espectroscopía multifotónica mejorados por resonancia, REMPI, mediante la manipulación de radiación láser a distintas longitudes de onda, en el intervalo (257 a 280) nm, en las que se manifiesta una generación intensa de los productos de ionización o fragmentos positivos de la adenina. El régimen multifotónico de los experimentos garantiza la ionización de la molécula luego de absorber dos fotones de una de las longitudes de onda involucradas en el barrido espectral, ya que se supera el potencial de ionización de la adenina que es de 8.13 eV y el del 1-propanol 10.22 eV, los cuales son superados fácilmente con la absorción de varios fotones en el intervalo de longitudes de onda analizado (4.43-4.82 eV).¹⁸

A partir de los valores energéticos en los que aparecen los estados resonantes y el uso de los resultados de los estudios teóricos, es posible asignar transiciones energéticas y mecanismos de disociación. Por otra parte, se busca ampliar la información respecto a la interacción de la adenina con disolventes y verificar si se observan corrimientos de las longitudes de onda resonantes. Lo descrito previamente se realiza con el fin de colaborar en el esclarecimiento de los mecanismos de daño del ADN y ARN.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar montajes y adecuaciones necesarios para observar el fenómeno de absorción-fragmentación multifotónica mejorada por resonancia de la adenina y la mezcla adenina con 1-propanol.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Realizar la adecuación, alineación y calibración de los instrumentos para la ejecución de los experimentos e implementación de nuevos aditamentos.

Obtener la fragmentación de la adenina pura y en disolución.

Estudiar el comportamiento de la adenina pura y disuelta en diferentes alcoholes (metanol, 1-propanol y terbutanol) a fin de elegir el que presenta mayor absorción.

De acuerdo con los espectros de masas obtenidos proponer los mecanismos de fragmentación.

Comparar los resultados experimentales con cálculos teóricos disponibles.

HIPÓTESIS

Al interaccionar radiación láser de diferentes longitudes de onda con los vapores de la adenina pura o mezclada con un disolvente polar, se producen diferentes tipos de fragmentación, los cuales afectan el crecimiento de las señales de absorción multifotónica mejorada por resonancia.

1. MARCO CONCEPTUAL

En este capítulo se recopila la información que demuestra la importancia de la adenina para el desarrollo de la vida en el planeta Tierra y la importancia de su estabilidad energética. También se detallan los conceptos de fotodisociación, ionización multifotónica y REMPI, necesarios para comprender los fenómenos espectroscópicos estudiados; además se describe el acoplamiento a un espectrómetro de masas como medio de detección de los fragmentos detectados y la teoría bajo la cual se deben desarrollar los mecanismos que explican los iones detectados.

1.1. ADENINA Y SU IMPORTANCIA EN LA VIDA

La comunidad científica ha manifestado que el origen de la vida puede ser explicado mediante tres hipótesis, donde cada una presenta sus condiciones propias para las reacciones prebióticas a partir de los compuestos inorgánicos simples (CO_2 , H_2O , N_2 , H_2 , entre otros) que permiten la formación abiótica de los bloques constituyentes de la vida (aminoácidos, ribosa, bases nucleicas, ácidos grasos y nucleótidos). Estos se polimerizan mediante diferentes reacciones hasta conformar las diferentes biomacromoléculas que al irse agrupando desarrollaron las características biológicas de reproducción, replicación y partición; posteriormente estas últimas se fueron fusionando hasta llegar a la forma primitiva de vida siguiendo el diagrama de la Fig.1.

Dos de estas hipótesis son:

a) Sopa prebiótica, en ésta los componentes orgánicos fueron creados por acción de la luz y la atmósfera reductiva sobre los compuestos orgánicos simples, posteriormente se disolvieron en el océano donde se polimerizaron, luego se agruparon y por último se dividieron en pequeñas gotitas desarrollando la capacidad para replicarse por sí solas.

b) Origen extraterrestre, es decir que los compuestos orgánicos esenciales provienen del espacio exterior mediante el ingreso de objetos extraterrestres a la Tierra primitiva. Por tanto, es posible que cometas, meteoritos y partículas de polvo interplanetarias trajeran consigo materiales como aminoácidos, purinas, pirimidinas, azúcares e incluso cadenas de ácidos carboxílicos con propiedades anfipáticas.

c) Sistemas hidrotérmicos en los cuales se garantiza la protección de la fuerte radiación existente en aquella época y del bombardeo con asteroide. Además, las condiciones del agua, temperatura y minerales disueltos, catalizaban las diferentes reacciones favoreciendo la síntesis de biomoléculas importantes.¹⁹

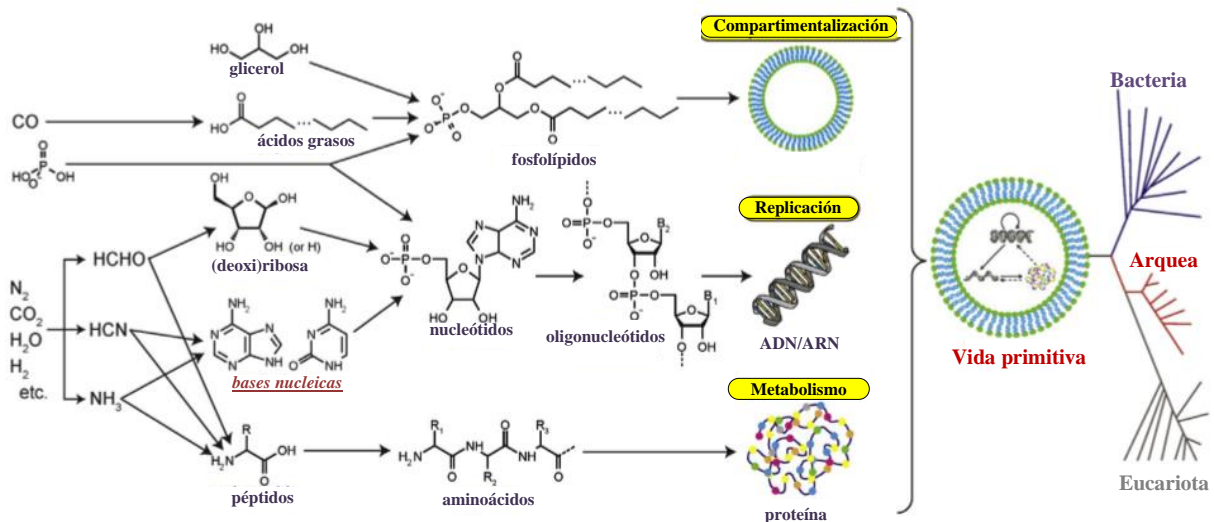


Figura 1. Estructura, componentes y caminos de síntesis abiótica de biomacromoléculas operando en las tres funciones fundamentales de la vida (replicación, compartimentalización y metabolismo).¹⁹

De acuerdo con la primera hipótesis, la vida en la Tierra primitiva pudo originarse gracias a la alta densidad de fotones que llegaban a la superficie de la Tierra; lo que generaba una mayor cantidad de reacciones fotoquímicas que de reacciones térmicas. Los fotones en el intervalo UV con una energía mayor o igual a 3.0 eV son capaces de interactuar con los enlaces covalentes, romperlos y/o rearrreglos de las moléculas existentes; de forma tal que este tipo de radiación generó diversas reacciones e interacciones que permitieron la síntesis de las moléculas básicas para la vida, las cuales mediante reacciones similares dieron paso a polímeros y complejos que se asociaron formando los primeros organismos vivientes. Es así como la primera hipótesis soporta el hecho de que la mayoría de las moléculas presenten su ventana de máxima absorción en el UVC (100-280) nm y además la presencia de abundantes intersecciones cónicas. Sin embargo, hay moléculas esenciales para la vida que no manifiestan este comportamiento, pero presentan una alta afinidad por moléculas que tienen estas características; lo que les permite una rápida disipación de la energía absorbida²⁰.

La desactivación de los estados excitados moleculares puede llevarse a cabo mediante canales fotoquímicos, donde es mayor la probabilidad de decaimiento entre las superficies de energía potencial de un estado excitado a un estado basal. El tiempo empleado en el salto energético es muy corto (ns) y puede derivar en la formación de un fotoproducto o la relajación hasta el reactivo de partida. Existen dos tipos de canales de desactivación diferenciados por la multiplicidad de spin entre las superficies que intervienen: intersecciones cónicas (IC), misma multiplicidad, y los entrecruzamientos de sistemas (ISC), diferente multiplicidad.²¹ Estos comportamientos son esquematizados en la Fig. 2.

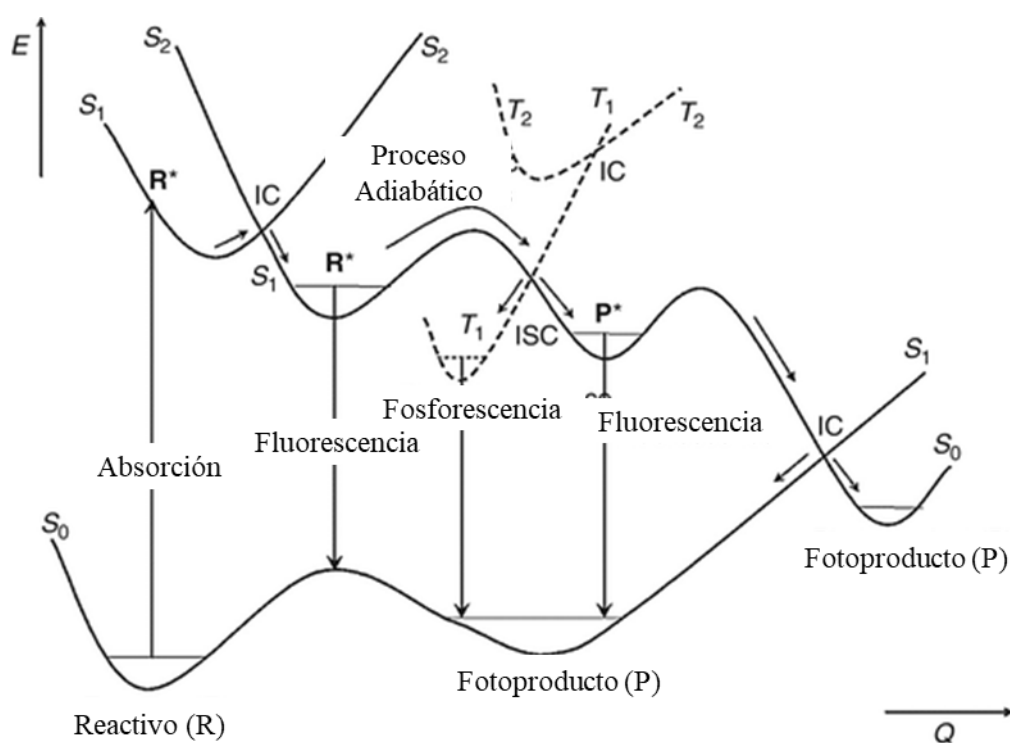


Figura 2. Representación de los principales sucesos fotofísicos y fotoquímicos, a lo largo de la coordenada nuclear Q.²²

Las bases nitrogenadas: púricas y pirimidínicas son capaces de absorber la luz ultravioleta hasta ionizarse. Estas presentan características “contradictorias” como la capacidad de estabilización energética mediante la variación de la estructura conformacional, generando diversas formas tautoméricas; por otra parte, los bloques constituyentes de la vida pueden sufrir efectos de protonación y deprotonación. Además, la eficiencia cuántica radiativa para los estados excitados de estas moléculas es mínima debido a la gran cantidad de procesos de relajación ultrarrápidos;

dominados por la intersección cónica entre el estado basal y las superficies de energía potencial de los estados excitados. Se afirma que estas cualidades contradictorias: absorción significativa de fotones UV y la rápida relajación energética fueron cruciales para la evolución de la vida.^{23,24}

Los científicos que apoyan la segunda hipótesis han desarrollado diferentes tipos de experimentos, entre los que se encuentra la simulación de las condiciones de la Tierra primitiva con el fin de entender la síntesis espontánea de las bases púricas (adenina y guanina), a partir de la interacción de moléculas simples con la gran cantidad de luz ultravioleta que atravesaba la delgada capa atmosférica (2400 a 2900) Å²⁵.

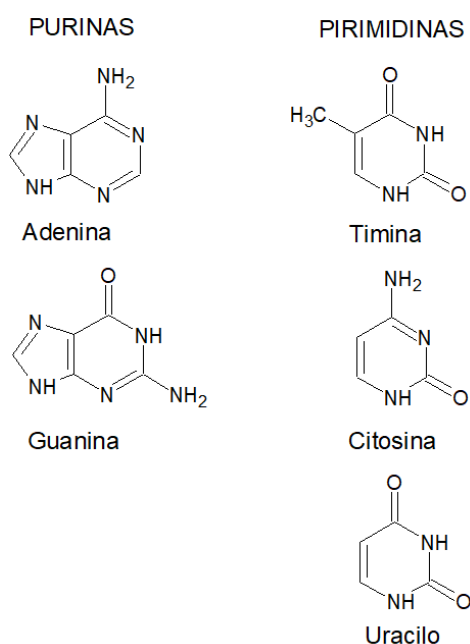


Figura 3. Representación de las bases nitrogenadas agrupadas en purinas y pirimidinas.

Posteriormente las bases nitrogenadas (adenina, guanina, timina, citosina y uracilo) fueron integradas en la estructura de los primeros organismos como parte de los ácidos nucleicos, ADN y ARN, que contienen la información genética esencial para la proliferación de la vida, Fig. 3. La adenina también se puede enlazar a otras moléculas presentes en los organismos: si se adhiere a la ribosa se transforma en el nucleósido adenosina, pero si se enlaza con la deoxiribosa genera el nucleósido deoxiadenosina; cada uno de estos derivados al enlazarse a fosfatos produce los nucleótidos: ácido adenílico y ácido desoxiadenílico respectivamente.²⁶

La adenina presenta tres tautómeros estables que surgen a partir de una redistribución de protones en el sistema molecular; por tanto, no hay cambios en la fórmula química pero si en la fórmula estructural; estos son los mostrados en la Fig. 4: N9H, N7H y N3H. Cálculos teóricos predicen que en fase gaseosa se da una producción mayoritaria de la primera especie, mientras que las dos últimas formas tautoméricas presentan una menor proporción. En consecuencia, al realizar estudios sobre la adenina las diferentes especies tautoméricas pueden dificultar la interpretación de los resultados de experimentos fotofísicos y fotoquímicos, ya que cada una presenta una estructura electrónica diferente. ²⁴

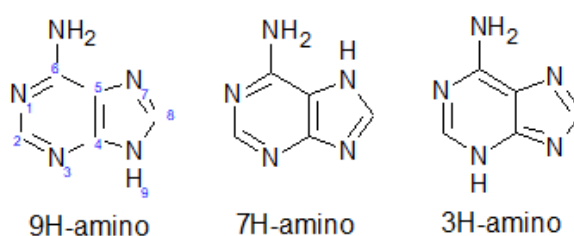


Figura 4. Representación de isómeros de la adenina ²³

Se han realizado grandes esfuerzos para elaborar distintos tipos de experimentos que permiten entender la fotofísica y fotoquímica de las biomoléculas que conforman el material genético; de forma tal que se ha determinado una absorción fuerte en el ultravioleta debido a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, además hay una débil presencia de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\sigma \rightarrow \pi^*$. Es así como los cinco nitrógenos adenina derivan en dos transiciones electrónicas ligeramente espaciadas.

También se ha predicho mediante métodos computacionales una ruta alternativa para la conversión interna de la adenina mediante transiciones $\sigma \rightarrow \pi^*$. Los estudios en este intervalo se suelen realizar a una longitud de onda corta, donde las secciones de cruce para la absorción son mayores. Luego de excitar la molécula ésta alcanza el estado excitado singulete dependiendo de la longitud de onda del láser de excitación, si se presenta un exceso de energía vibracional ésta es liberada rápidamente. Los datos de la observación de los decaimientos de los estados singuletes superiores al estado singulete excitado inferior genera información fotofísica importante, como el tiempo de vida de los estados y el rendimiento cuántico de fluorescencia. ^{23,27}

Como se mencionó previamente, las bases nitrogenadas presentes en el ADN y ARN presentan una interconversión interna ultrarrápida. Para el caso de la adenina se debe a que sufre un acoplamiento vibracional fuerte entre sus estados electrónicos, $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$, causado por la cercanía entre estos. Este fenómeno hace que la energía del estado excitado más bajo disminuya hasta ser equivalente a la del estado electrónico basal, de forma tal que se propicie el entrecruzamiento entre las dos superficies de energía potencial de los estados y se presente un decaimiento eficiente mediante la conversión interna. Además, se ha observado que las interacciones vibracionales aumentan con la disminución de la distancia entre los estados electrónicos, presentando una mezcla de los modos vibracionales fuera del plano. La degeneración puede propiciar intersecciones cónicas, las cuales juegan un papel crucial en la estabilidad de las moléculas poliatómicas y afectan su evolución, fotofísica y fotoquímica, luego de haber sido llevadas a un estado excitado.²⁸

El isómero N9H de la adenina presenta contribuciones electrónicas de tres transiciones: una de ($n \rightarrow \pi^*$) y dos de ($\pi \rightarrow \pi^*$), estas últimas son llamadas 1L_a y 1L_b , donde la primera corresponde a la transición mayoritaria que ocurre del HOMO al LUMO y la segunda a la transición del HOMO al LUMO+1. La transición electrónica ($n \rightarrow \pi^*$), también es llamada S_n , involucra la transferencia de un electrón desde un orbital S a un π^* . También presenta dos intersecciones cónicas $^1L_b / ^1\pi\sigma^*$ y $^1L_a / ^1\pi\sigma^*$ mostradas en la Fig. 5.^{29,30}

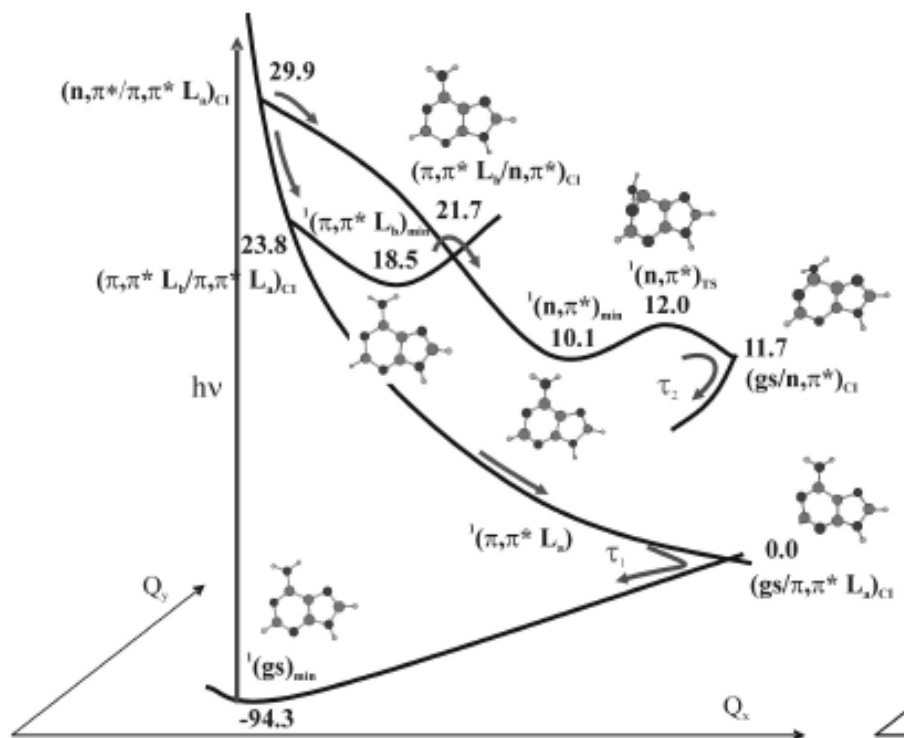


Figura 5. Diagramas energéticos con intersecciones cónicas de la adenina ³¹

La adenina, base nitrogenada en la que se centra este estudio, presenta dos máximos de absorción en la región ultravioleta el cual ha sido reportado por distintos autores: $(208 \pm 1$ y $270 \pm 10)$ nm ³²⁻³⁴, pertenecientes al intervalo UVC. Sin embargo, la capa de ozono estratosférico no remueve en su totalidad la radiación solar en este intervalo de longitud de onda y sigue llegando radiación a la superficie terrestre; la cual contiene cerca del 95% de UVA y 5% de UVB, que al agruparla corresponde aproximadamente al 5% de la radiación solar al medio día, Fig. 6. Por tanto, la radiación ultravioleta es considerada como el carcinogénico ubicuo ambiental más potente, al ser capaz de generar muerte celular, foto-envejecimiento y mutagénesis. A pesar de los efectos adversos que puede generar la radiación esta cumple funciones benéficas en las diferentes formas de vida del planeta Tierra; como es el caso del metabolismo de la vitamina D, encargada de regular la homeóstasis del calcio y fósforo en el cuerpo humano. ^{10,35,36}

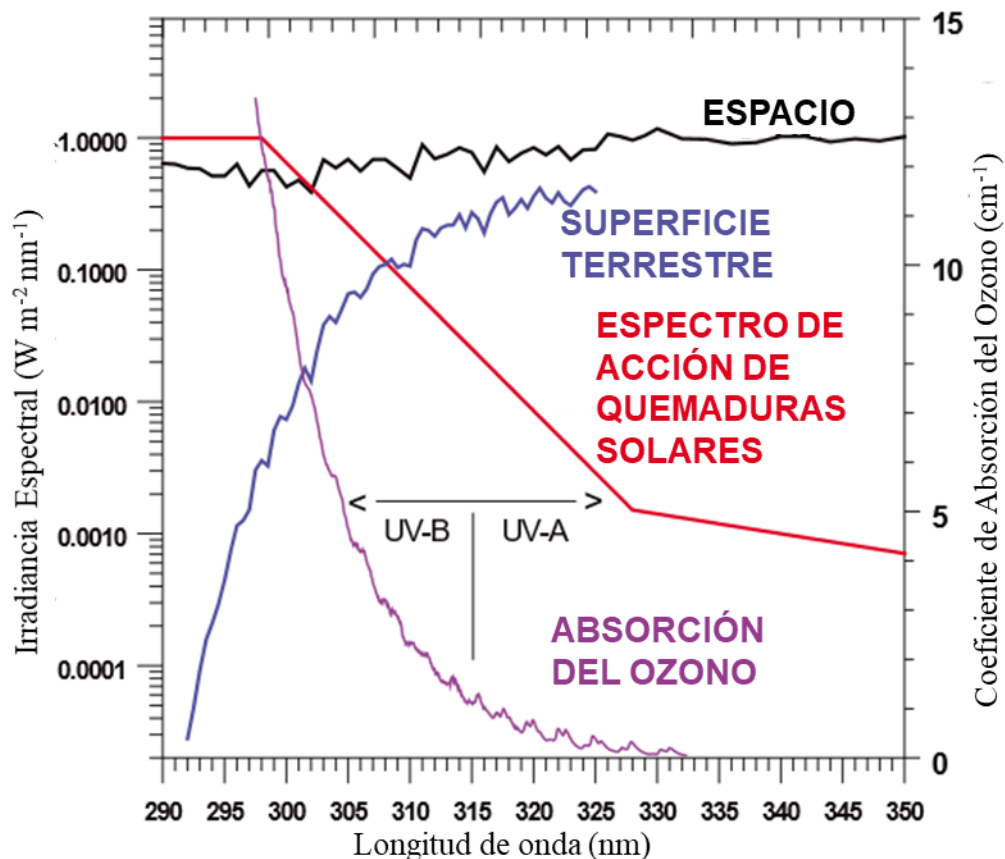


Figura 6. Medición de la radiación ultravioleta para: espacio (negro) y en la superficie terrestre al mediodía (azul). La absorción por el ozono estratosférico disminuye al incrementar la longitud de onda; y es la principal causa de la disminución de la curva azul, a la vez que mitiga la acción eritémica de la radiación en la zona UV-B donde el material biológico suele presentar alta sensibilidad.³⁷

La radiación ultravioleta también ejerce un papel importante en otros cuerpos celestes, como es el caso de la atmósfera superior de Titán, uno de los 62 satélites de Saturno, conformada por N_2 y CH_4 (composición similar a la de la Tierra primitiva); donde la energía, en el intervalo del ultravioleta extremo, que llega a la termósfera o ionósfera es suficiente para producir radicales y iones que al mezclarse generan moléculas complejas. Entre las moléculas detectadas se encuentran las bases nitrogenadas, éstas en conjunto a otras sustancias forman capas de aerosol que consisten en sedimentos transportados por las corrientes de aire; las cuales se unen a las lluvias para ser depositados en los ríos y lagos de esta luna.³⁸⁻⁴¹

También se ha buscado evidencia de vida en otros lugares, por ejemplo, mediante la exploración con robots sobre la superficie marciana. A partir de los datos recolectados se han realizado

simulaciones en el laboratorio de las condiciones de la superficie del planeta. Para ello se utiliza el reactor MOMIE (*Mars Organic Molecule Irradiation and Evolution*), el cual simula la irradiación UV sobre la superficie marciana, temperatura de $(218 \pm 2) ^\circ\text{C}$ y presión de (6 ± 1) mbar; al mismo tiempo que realiza la detección mediante FTIR. Este instrumento se empleó con el fin de rastrear algún vestigio de vida, usando moléculas orgánicas representativas que conforman organismos vivientes catalogadas como resistentes a las condiciones actuales de Marte. El experimento con el reactor permitió la detección de fotoproductos de la adenina; observando una alta absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo medio; sin embargo, en este último intervalo de longitudes de onda no se presentaban las bandas de estiramiento CH y el corrimiento de la banda en la huella dactilar correspondiente al CN. Al comparar los resultados con los datos obtenidos para las tolinas, compuestos propios de Titán, se encuentra que presentan características muy similares lo que refuerza las hipótesis de la presencia de vida extraterrestre o el futuro desarrollo de esta.³²

Otro tipo de investigación realizada para comprender el origen de la vida ha sido la síntesis de las moléculas esenciales. Se han propuesto diversas formas de sintetizar la adenina: a partir de HCN hidrolizado para generar moléculas de formamidina (NH_2CHO), las cuales al calentarse a $100 ^\circ\text{C}$ (temperatura de la Tierra primitiva) forman radicales libres que se reagrupan y generan esta base nucleica, Fig. 7⁴².

Es posible sintetizar la molécula de adenina a partir de cuatro moléculas de HCN, Fig. 8, que al sufrir reacciones térmicas y de fotólisis genera el tetrámero 2,3-diaminomaleonitrilo (cis-DAMN), es el oligómero estable más pequeño, el cual al absorber de forma continua radiación ultravioleta de tipo C se transforma en su isómero trans, diaminofumaronitrilo (DAFM). Esta última especie al seguir absorbiendo fotones del UVC se convierte en 4-amino-1-H-imidazol-5-carbonitrilo (AICN) y mediante reacciones de tipo térmico con más moléculas de HCN se genera la base púrica adenina.^{20,43,44}

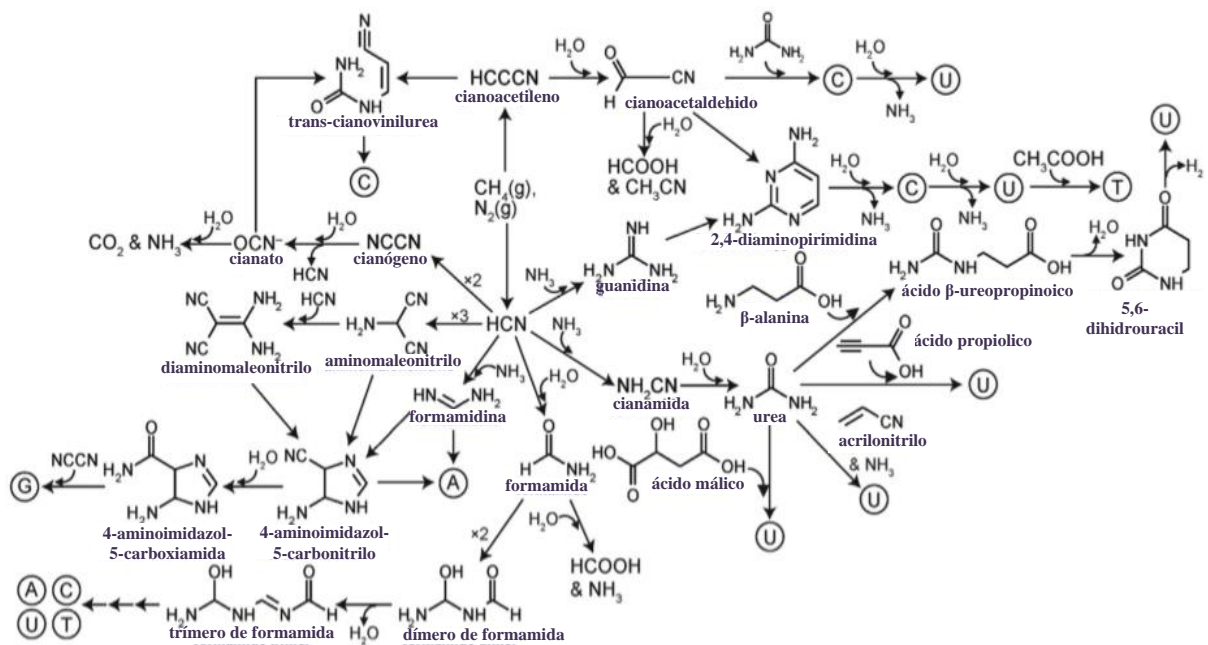


Figura 7. Caminos de reacción para la síntesis abiótica de las bases nucleicas; adenina (A), citosina (C), guanina (G), timina (T) y uracilo (U).¹⁹

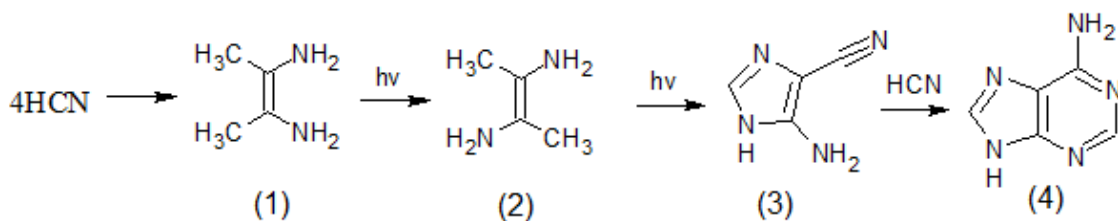
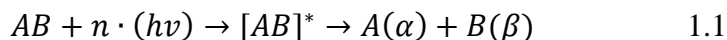


Figura 8. Camino de síntesis de las purinas, descubierto por Ferris y Orgel en 1966: a partir de cuatro moléculas de HCN.^{20,43}

También se han realizado análisis sobre la interacción de radiación de tipo beta y gamma sobre soluciones acuosas de adenina en atmósferas de N_2 , O_2 y N_2O . En ellas se observan diferentes grados de degradación de acuerdo al tipo de medio en el que ocurre la interacción: para el primer caso (N_2) hay un mayor daño cuando se suministra radiación beta que cuando se hace con la gamma; pero en el segundo caso (O_2) el efecto de la radiación es el opuesto, es decir que el efecto es mayor con la radiación gamma; mientras que para el último caso (N_2O) no se presenta una diferencia significativa de degradación al suministrar cualquiera de los dos tipos de radiación.⁴⁵

1.2. FOTODISOCIACIÓN

Este término hace referencia al estudio de la dinámica molecular posterior a la absorción de fotones, para esto es necesario identificar cómo se distribuye y transfiere la energía al interior de la molécula objetivo. De manera general la fotodisociación se puede resumir como el proceso en el que un compuesto (AB) absorbe la cantidad suficiente de fotones (n) de una energía determinada ($h\nu$) que conlleva a la formación de un complejo excitado; el cual para liberar la energía suministrada puede disociarse en los fragmentos A y B con estados cuánticos α y β respectivamente. Lo descrito se representa a continuación:



Para asegurar que el producto de la excitación corresponda a una fragmentación efectiva, se debe controlar la fuente de radiación mediante cambios en la longitud de onda e intensidad; con el fin de variar el número de fotones absorbidos. Por otra parte, se han llevado a cabo cálculos computacionales, con el fin de complementar la información obtenida experimentalmente; ya que las simulaciones permiten, en principio, proponer mecanismos de fragmentación de las moléculas, junto con la estructura más probable de los fragmentos obtenidos.

En el estudio de los productos de fragmentación que no manifiestan transiciones no radiativas los espectrómetros de masas son las herramientas más comunes usadas en su estudio; ya que es posible adaptar los montajes instrumentales. En el arreglo experimental se implementan fuentes de luz láser que garantizan un alto nivel de precisión en las mediciones.⁴⁶

1.3. IONIZACIÓN MULTIFOTÓNICA

Desde 1931 María Geoppert Mayer reconoció la posibilidad de la transición del estado basal al excitado mediante la absorción simultánea de dos fotones con la intensidad óptima, ya que la probabilidad de ionización cae a cero cuando la energía suministrada por los fotones es menor al potencial de ionización, pero sólo pudo ser confirmada hasta el desarrollo de los sistemas láseres, debido a que en esa época no se disponía de fuentes de alta intensidad estables.²⁰ Luego de someter

una sustancia ante una fuente de fotones de energía e intensidades adecuadas, ésta puede absorber la cantidad necesaria para ionizarse e incluso posteriormente continuar absorbiendo fotones hasta fragmentarse; usualmente para la mayoría de las moléculas poliatómicas son necesarios de 7 a 14 eV. La generación de estos fragmentos sigue el modelo de escalera, *ladder switching*, en donde se requiere que la molécula absorba energía ligeramente equivalente al valor del potencial de ionización para generar el ion molecular; luego se da un intercambio de sistemas, de absorción a fragmentación, hasta alcanzar el rompimiento total de la molécula que concluye en la formación de iones ligeros.^{46,47}

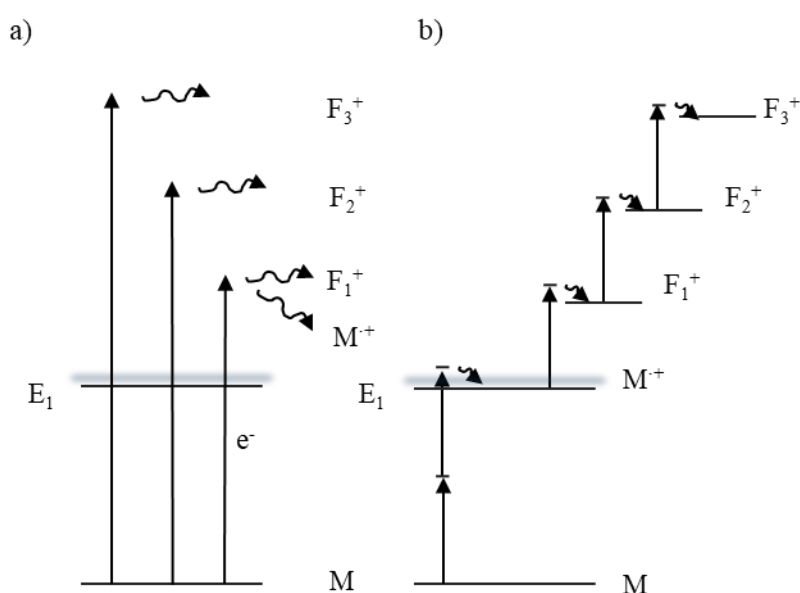


Figura 9. La diferencia entre a) impacto electrónico y b) ionización multifotónica. Donde E_1 corresponde a la primera energía de ionización, mientras F_1^+ , F_2^+ , F_3^+ son los fragmentos iónicos y M es el estado basal.⁴⁷

El proceso de generación de iones, Fig. 9, puede ser controlado de acuerdo con la potencia suministrada de forma tal que sólo se obtenga el ion molecular, lo cual sucede al ionizar suavemente (menor o igual a 10^6 W/cm²); pero cuando ocurre ionización fuerte, es decir a altas potencias, se favorece una fragmentación intensa. También se presenta la ionización parcial-fuerte que corresponde a un estado intermedio en el que se visualiza el ion molecular junto con los fragmentos de menor peso molecular. Además, si se selecciona adecuadamente la longitud de onda y la potencia de la fuente de irradiación se puede llegar a amplificar el espectro de masas, lo que permite una mejor detección a bajas concentraciones.^{10,48,49}

1.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA

1.4.1. IONIZACIÓN MULTIFOTÓNICA MEJORADA POR RESONANCIA (REMPI)

En el régimen de la ionización multifotónica se puede presentar la absorción de más de un fotón para llegar al primer estado excitado partiendo del estado basal, de esta forma la alta eficiencia del proceso de absorción incrementa la probabilidad del fenómeno. Es decir, que si la longitud de onda es sintonizada a una transición permitida de la molécula o un intermediario resonante en vez de un estado virtual hay un incremento en la magnitud de la señal por resonancia.

Los láseres son capaces de proveer radiación a una intensidad adecuada para excitar y posteriormente ionizar las moléculas, Fig. 10. Sin embargo, existen experimentos en los que interviene más de una fuente de láser, apartado (d) de la misma figura, en donde se muestra la aplicación de dos láseres (experimento de dos colores), donde uno corresponde a la sonda y el otro es de bombeo; comúnmente el primero excita la molécula hasta un estado virtual con energía superior a la energía de ionización de la molécula y el segundo laser se calibra a una determinada longitud de onda en la que posee la energía necesaria para complementar el proceso de ionización. Por ello es crucial la calibración óptima entre los tiempos de llegada de los haces a la zona de interacción, haciendo que el foco de ambos coincida.^{10,46}

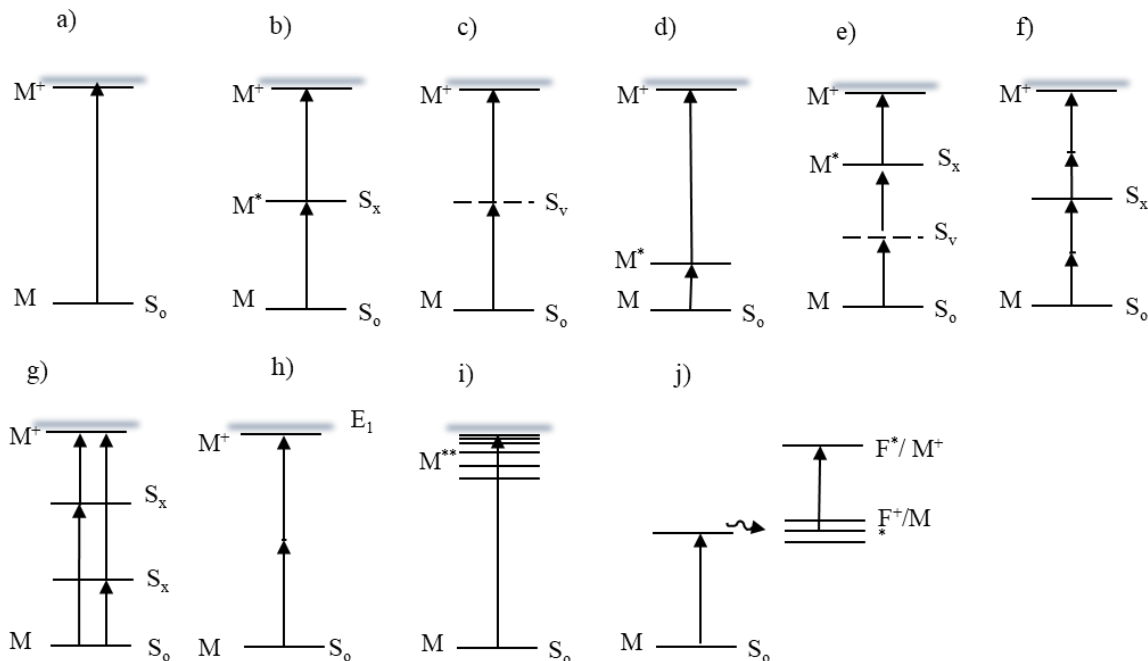


Figura 10. Algunas formas de ionización para una molécula M. S_x indica un estado intermedio permitido, la mayoría son estados S_1 , pero también es posible que intervengan estados superiores; además se presentan algunos intermedios virtuales S_v . a) ionización directa, b) ionización a un color bifotónica alcanzando un estado intermedio resonante (M^*), c) ionización a un color con dos fotones vía un estado intermedio virtual, d) ionización a dos colores con dos fotones de diferente energía vía un estado intermedio resonante, e) ionización a dos colores trifotónica vía un estado intermedio virtual y posteriormente uno real, f) ionización tetrafotónica resonante vía un estado intermedio, g) ionización bifotónica resonante empleando dos fotones de distintas longitudes de onda, h) ionización bifotónica no resonante, i) excitación a un estado de Rydberg (no hay ionización) usando un fotón, j) excitación seguida de la disociación o entrecruzamiento de sistemas a otra configuración, la cual puede absorber un nuevo fotón de igual energía.^{46,47}

Esta técnica, REMPI, permite la detección de las resonancias aisladas de las moléculas, al utilizar una duración de pulso de tiempo de acuerdo con los tiempos de vida de los estados excitados, de esta forma no hay competencia entre el decaimiento no radiativo y la resonancia; por tanto, no se eliminan las señales resonantes.^{23,50}

La técnica de REMPI también puede ser aplicada para detectar la proporción en la que se presentan los compuestos en una mezcla racémica. Además, ha sido útil en la detección de especies contaminantes (hidrocarburos poliaromáticos); donde la variación de la longitud de onda permite estudiar las especies específicamente. Esta característica conllevó la aplicación de esta técnica en el seguimiento de las emisiones atmosféricas mediante el estudio de su huella digital espectral,

como es el caso de la detección de los gases de combustión de madera los cuales son indicadores de la proporción de quema de bosques.⁴⁶ También es posible analizar con esta técnica hidrocarburos poliaromáticos provenientes de crudos donde se pueden detectar componentes a nivel de trazas con una alta sensibilidad y selectividad; para ejecutar la técnica en este caso se usa un sistema al que se acopla un espectrómetro de masas lineal a un cromatógrafo de gases con pirolisis, el cual a su vez se encuentra unido a un espectrómetro de masas en el que la ionización es asistida por impacto electrónico y el analizador es de tipo cuadrupolo. En otro estudio se usó un montaje experimental similar con el fin detectar compuestos orgánicos volátiles, los resultados demostraron una detección altamente eficiente y de excelente calidad para especies de detección compleja con una baja fragmentación.⁴⁶

Así mismo con esta técnica espectroscópica se pueden realizar experimentos con el fin de identificar los átomos que constituyen una molécula y realizar la deducción de la estructura molecular. Estos estudios son posibles gracias al enfriamiento molecular que sufre la muestra al ser depositada dentro de boquillas supersónicas, *skimmer*, donde se generan haces supersónicos moleculares, con los cuales se obtiene resolución a niveles vibracionales e incluso rotacionales^{19,22}; evitando de esta forma la congestión espectral ya que únicamente los estados vibracionales con menor energía se encuentran poblados, de forma tal que se reduce el número de transiciones permitidas²⁵. Es así como el manejo de instrumentos similares a los descritos se pueden determinar los efectos de diferentes grupos sustituyentes sobre una molécula como son: las energías de transición, energías de ionización, geometría molecular y frecuencias vibracionales; cuyos valores dependen de la cantidad, tipo y ubicación del grupo sustituyente añadido y /o modificado.¹⁹

En general REMPI destaca como una herramienta altamente útil para distinguir y cuantificar compuestos potencialmente riesgosos para la salud por su alta selectividad, sensibilidad y fiabilidad, superando 1000 veces a las alcanzadas con cromatografía de gases-masas. Estas ventajas han generado un creciente interés en la ejecución de experimentos de este tipo en los que se desarrollan montajes experimentales innovadores que pueden generar nuevas aplicaciones en mediciones del mundo real.^{46,48}

1.4.2. REMPI ACOPLADO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS

La espectrometría de masas acoplada a REMPI es aplicada en el estudio de diferentes tipos de moléculas debido a su versatilidad, capacidad para identificar iones (átomos ionizados, cúmulos, moléculas o fragmentos ionizados) a partir de especies orgánicas e inorgánicas, identificándolas de acuerdo con su relación masa/carga (m/z) y detectar la proporción en la que se producen. Además, estos instrumentos pueden acoplarse fácilmente con otros, junto con las diferentes innovaciones y mejoras le otorga diversas aplicaciones; haciéndola indispensable en la detección de una amplia variedad de experimentos al permitir identificar y elucidar la estructura de diversos compuestos. Esto se puede realizar mediante la combinación de la información obtenida con esta poderosa herramienta: a) identificar el ion molecular para determinar el peso molecular exacto, subsecuentemente la composición elemental y por último la fórmula empírica de la molécula b) el patrón de fragmentación es propio de cada molécula.

La muestra puede ser ionizada mediante diferentes métodos que van desde electrones, átomos energéticamente neutros, átomos electrónicamente excitados, cúmulos altamente masivos de iones, iones, fotones, microgotas cargadas electrostáticamente, entre otros. Los nombres de estas técnicas se listan a continuación: impacto electrónico (*Electron Impact EI*), ionización química (*Chemical Ionization CI*), ionización de campo (*Field Ionization FI*), desorción de campo (*Field Desorption FD*), bombardeo con átomos rápidos (*Fast Atom Bombardment FAB*), ionización por electrospray (*Electrospray Ionization ESI*), desorción-ionización de matriz asistida por láser (*Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization MALDI*). Las diferentes técnicas de ionización descritas pueden combinarse con diferentes tipos de analizadores de masas, los cuales son utilizados para separar los iones de acuerdo con el efecto de los campos magnéticos sobre estos, bien sea dinámicos o estáticos; tales como cuádruplo, sector magnético (*Magnetic Sector MS*), tiempo de vuelo (*Time of Flight TOF*), trampa de iones (*Ion Trap IT*).⁵¹

En el presente experimento las moléculas son ionizadas por un láser y el analizador corresponde a un tubo de vuelo lineal. Este tipo de instrumentos se caracterizan por su alta resolución. Las ventajas de los espectrómetros de masas por tiempo de vuelo consisten en el amplio intervalo de masas que es posible detectar, la capacidad para obtener un espectro de masas completo por pulso

láser; es decir, se obtiene una gran cantidad de información por pulso láser, debido al gran número de iones que alcanzan el detector.

Un esquema general para un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo se muestra en la Fig. 11; en este tipo de instrumento los iones, generados por la interacción de las moléculas con la radiación láser, atraviesan unas placas sometidas a campos eléctricos E_s y E_d las cuales los aceleran a través de unas mallas metálicas de 90-95% de transparencia, que desembocan en la región libre de campo. En la última región del tubo de vuelo los iones se separan dependiendo de la velocidad que llevan y por tanto para cada masa diferente llega al detector a un tiempo diferente, generando una señal de acuerdo con el número de iones entrantes.⁴⁷

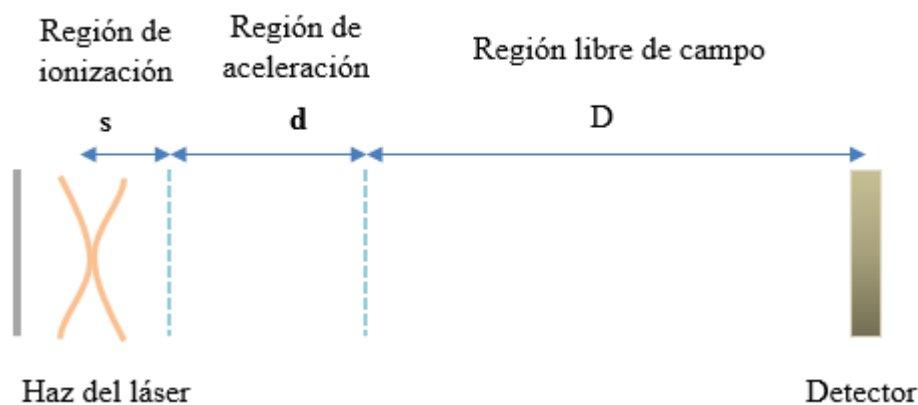


Figura 11. Diagrama general de un tubo de vuelo

El tiempo de vuelo total T consiste en:

$$T = T_s + T_d + T_D \quad 1.2$$

Donde T_s es el tiempo en la región de ionización, T_d tiempo en la región de aceleración y T_D el tiempo en la región de deriva.

El tiempo de llegada de los iones depende de su masa m , carga z y energía cinética U_0 ; también influyen las características del instrumento, entre las que se encuentran las distancias recorridas s ,

d y D y los campos eléctricos que rodean la fuente de iones E_s y E_d . Las ecuaciones presentadas a continuación describen el comportamiento de los iones al aplicar un potencial eléctrico⁵²⁻⁵⁴:

$$T_s = 1.02 \frac{\sqrt{2m}}{z E_s} (\sqrt{U_o + z s E_s} \pm \sqrt{U_o}) \quad 1.3$$

$$T_d = 1.02 \frac{\sqrt{2m}}{z E_d} (\sqrt{U} - \sqrt{U_o + z s E_d}) \quad 1.4$$

$$T_D = 1.02 \sqrt{2m} \frac{D}{2\sqrt{U}} \quad 1.5$$

En donde
$$U = U_o + z s E_s + z d E_d \quad 1.6$$

Si la energía cinética es despreciada, se puede realizar la siguiente aproximación para el tiempo T recorrido por el ion de masa m:

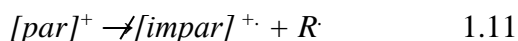
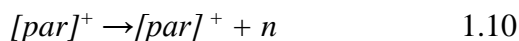
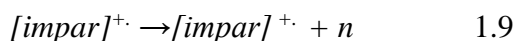
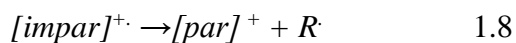
$$T \propto \sqrt{\frac{m}{z}} \quad 1.7$$

1.5. MECANISMOS DE FRAGMENTACIÓN

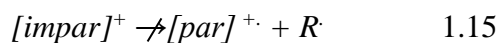
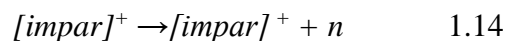
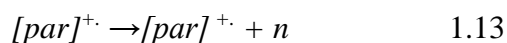
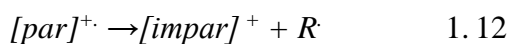
Los espectros de masas son indispensables para proponer los pasos que sigue la formación de diferentes fragmentos detectados, ya que proporcionan información sobre los iones identificándolos de acuerdo con su m/z , a partir del tiempo de arribo. Las moléculas inician su fragmentación mediante la ruptura de enlaces homolíticas - división equitativa de electrones- o heterolíticas -uno de los átomos queda deficiente de electrones mientras que el otro retiene dos electrones-. La disociación sigue las reglas que se enuncian a continuación:

- a) Regla de Stevenson: Cuando se da una fragmentación la carga positiva permanece en el fragmento con menor potencial de ionización. Esto se deriva de la aplicación de las consideraciones termodinámicas las cuales indican una estabilización con mayor facilidad, siempre y cuando no exista una barrera energética de activación reversa; por tanto, los compuestos que sufren fragmentaciones derivadas de rearrreglos usualmente no cumplen esta condición.

b) Regla del Electrón Par: Las especies que presentan electrones impares pueden generar tanto radicales como especies neutras, pero las que poseen electrones pares no suelen perder un radical.



Además de las normas descritas las moléculas manifiestan rutas de fragmentación de acuerdo con los grupos funcionales que presentan, en el caso de la adenina la presencia de los cinco grupos amino modifica la regla del electrón par a la regla del nitrógeno. Si un compuesto contiene un número par de átomos de nitrógeno su ion molecular monoisotópico será detectado a un valor numérico par nominal de m/z y viceversa:



También la presencia de grupos amino incentiva una ruptura de tipo α , la cual produce un ion *immonium* y un radical; que requiere la formación de un doble enlace con el carbono adyacente al N, este átomo también es el encargado de estabilizar la carga positiva, ver Fig.12.⁵¹

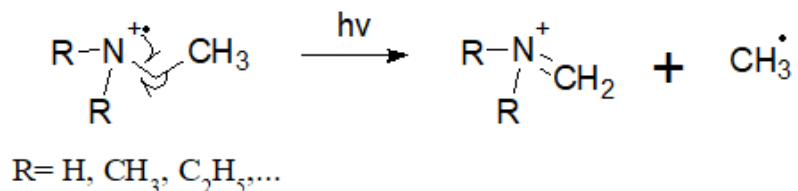


Figura 12. Producción del ion *immonium* a partir de una molécula con presencia de grupos amino⁵¹

2. SISTEMA EXPERIMENTAL

En este capítulo se detalla la adecuación, alineación, sincronización y los pasos llevados a cabo para la toma de datos; destinando para toma de datos los aparatos y sistemas disponibles en el Laboratorio de Raman y Plasmas Atmosféricos del Instituto de Ciencias Físicas de la UNAM, Fig. 13 y del Laboratorio de Colisiones Atómicas, Moleculares y Óptica Experimental, Fig. 14. Las principales componentes del arreglo experimental corresponden a un espectrómetro de masas de tipo lineal, un láser Nd: YAG que bombea al oscilador paramétrico óptico, los aditamentos para la introducción de la muestra, así como portamuestras con adecuaciones para el calentamiento y control de la temperatura de las sustancias a estudiar.

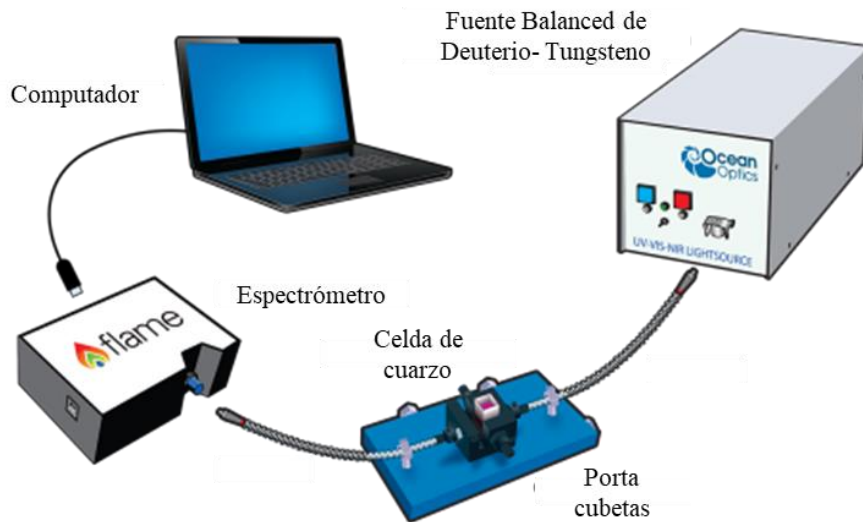


Figura 13. Representación de los instrumentos empleados para los estudios preliminares ⁵⁵

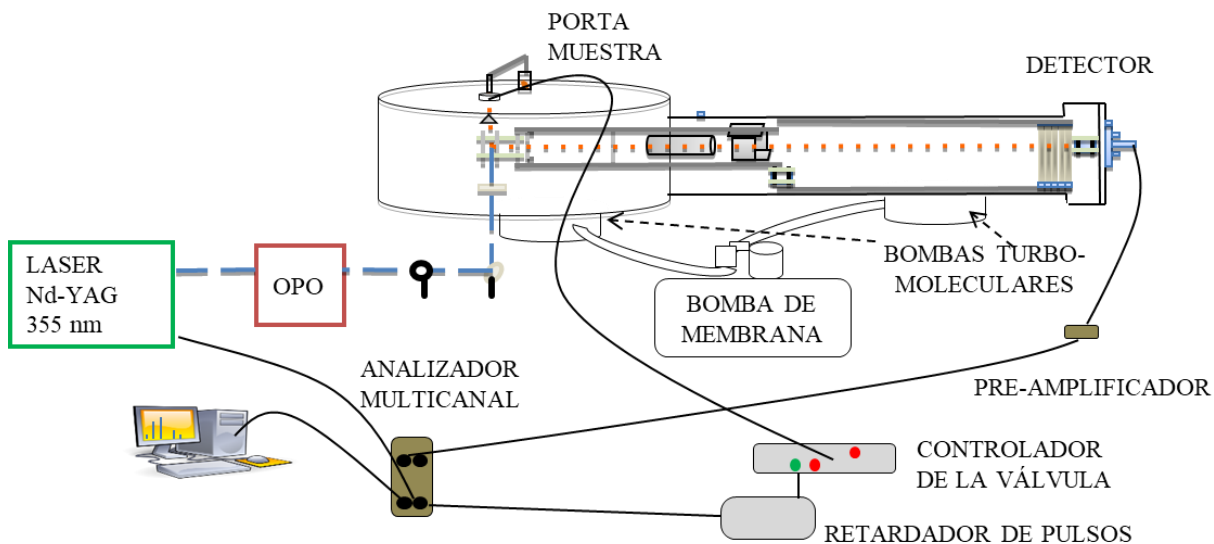


Figura 14. Representación de los instrumentos empleados en el experimento principal

2.1. INSTRUMENTACIÓN

2.1.1. FUENTES DE RADIACIÓN LÁSER

La palabra láser proviene del acrónimo del inglés *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, es un sistema en el cual las partículas de luz, fotones, se encuentran confinados de forma tal que presentan la misma fase, dirección y amplitud; por tanto, el haz de salida es unidireccional, intenso, monocromático coherente y de alta intensidad. Estos fotones son generados mediante emisión estimulada debida a la inversión de la población que se genera sobre el medio activo valiéndose de una fuente de bombeo.

El sistema láser usado en el experimento como fuente de radiación corresponde a un láser Spectra-Physics modelo Pro-230 con una frecuencia de emisión de 10 Hz. La longitud de onda destinada para bombear al Oscilador Paramétrico Óptico, OPO es de 355 nm. La radiación emitida por él atraviesa un divisor de haz y se enfoca al OPO.^{56,57}

2.1.2. OSCILADOR PARAMÉTRICO ÓPTICO

Este instrumento es capaz de generar luz monocromática sintonizable de frecuencia distinta a la radiación incidente sobre el medio no lineal. Es así como un haz incidente de frecuencia ω_b se

descompone en dos ondas electromagnéticas de menor frecuencia que la original: señal ω_s y acompañante ω_i .

En este experimento se utilizó un OPO con un cristal beta-borato de bario, modelo versaScan-ULD, fabricado por GWU- Lasertechnik bombeado por el láser descrito en el apartado anterior. El OPO tiene la capacidad de generar barridos en el intervalo de (257 a 354.7) nm.⁵⁸

2.1.3. MONTAJE ÓPTICO

Destinar instrumentos ópticos de alta calidad fue necesario para la óptima ejecución del experimento. Se ubicó una lente de enfoque, apta para el intervalo de longitudes de onda manejado, entre el doblador de frecuencias y una de las ventanas de cuarzo del tubo de vuelo, con el fin de orientar y enfocar el haz de luz en medio de las placas de aceleración.

2.1.4. VÁLVULA DE INYECCIÓN DE MUESTRA

La introducción de la muestra al sistema es realizada mediante una válvula pulsada (Iota One de Parker); la cual al recibir una señal proveniente de su controlador se abre y permite el paso de muestra al sistema de alto vacío (1×10^{-8} torr) durante 380 μ s. Para que el controlador, Iota One *Pulse Driver*, envíe la orden de apertura a la válvula se requiere que un retardador de pulsos, *Standford Research Systems INC* modelo *DG535 Four Channel Digital Delay/Pulse Generator*, sincronice la señal proveniente de la fuente de radiación con la enviada a la válvula; de forma tal que entre cada pulso del láser haya una entrada de muestra al sistema y los intervalos de tiempo sean constantes (380 μ s). Lo descrito es representado en la Fig. 15, donde la llegada del pulso láser (P) inicia el conteo del intervalo de retardo y después de la llegada del pulso de retardo (R), la válvula se abre de tal modo que cuando llega el siguiente pulso láser las moléculas se encuentran en la región de interacción.

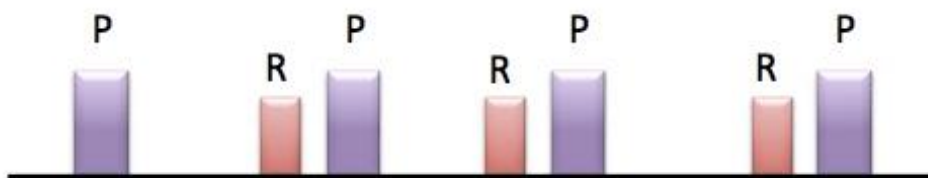


Figura 15. Representación de los pulsos láser P y las señales de retardo R

El pulso de retardo, generado por la señal del láser, corresponde a uno de tipo TTL, el cual se transmite simultáneamente al sistema de retraso temporal y al analizador de picosegundos pTA (EG&G ORTEC 9308) junto con el controlador de la válvula; obteniendo así un pulso retardado un intervalo fijo de tiempo respecto al primero. La incidencia del pulso retardado en el controlador de la válvula genera una señal de voltaje, donde el ancho del pulso determina el tiempo de apertura de la válvula.

2.1.5. ESPECTRÓMETRO DE MASAS POR TIEMPO DE VUELO

El tubo de vuelo dispuesto para el arreglo instrumental corresponde a un Comstock LTOF-101 modificado. Los iones son generados por la interacción de la muestra con la radiación en medio de las dos placas de aceleración con una diferencia de potencial de 3000 V. En el arreglo geométrico las placas están orientadas de forma tal que envían los iones positivos en la dirección que se encuentra el detector.

Los iones acelerados son desviados electrostáticamente por las placas de redireccionamiento V_{xy} a una lente electrostática, la cual concentra y enfoca los iones para dirigirlos al detector. Luego los productos de fragmentación atraviesan la zona de deriva, libre de campo, hasta encontrarse con el detector. Este instrumento posee un detector de tipo *Channel Electron Multiplier CEM*, en donde la llegada de los iones produce una cascada secundaria de electrones a través de su estructura curva que suprime el ruido de fondo generado por los iones y genera ganancias por encima de 10^8 electrones.⁵¹

2.1.6. SISTEMAS DE GENERACIÓN Y DETECCIÓN DEL VACÍO

Para alcanzar un vacío óptimo en el que se logre la correcta operación del sistema y se eviten daños en el mismo se requiere la presión al interior de las cavidades de acero inoxidable no magnético sea menor a 1×10^{-6} torr. Para ello se vale de dos tipos de bombas, membrana y turbo-molecular, donde la medición del vacío alcanzado se realiza empleando un ion gauge.

2.1.6.1. Bomba de membrana

La bomba de membrana utilizada corresponde a una PFEIFFER VACUUM modelo THS OTIE. Este instrumento capaz de operar a presión ambiental es el encargado de llevar el sistema a un vacío de 1×10^{-3} torr; por tanto, se opera inicialmente y es el dispositivo de apoyo de las bombas turbo-moleculares.

2.1.6.2. Bomba turbo-molecular

El sistema cuenta con dos bombas de este tipo, Agilent TwisTor 304FS modelo X3500-64001 y Varian modelo 969-9045, las cuales inician su operación a una presión de 1×10^{-3} torr y permiten alcanzar un vacío de (1×10^{-7} - 1×10^{-9}) torr.

2.1.6.3. Ion gauge

Este dispositivo es dispuesto para la medición del vacío en el sistema; esto se realiza mediante un filamento incandescente que emite un número de electrones proporcional a la cantidad de partículas con las que interactúa al interior del sistema.

3. METODOLOGÍA

Esta investigación fue desarrollada en dos etapas experimentales: preliminar y principal, teniendo en cuenta que la adquisición de datos es afectada por la reproducibilidad, exactitud y ancho del pulso láser.

3.1. EXPERIMENTO PRELIMINAR

En esta etapa se prepararon tres disoluciones con adenina y diferentes disolventes (metanol, 1-propanol y terbutanol) a una concentración de 1 M; los reactivos fueron adquiridos de Sigma Aldrich. Estas mezclas fueron estudiadas mediante un espectrómetro Ocean Optics modelo FLAME-S-UV-VIS para evaluar su intervalo de mayor absorción. Este se encuentra equipado con una celda con un paso óptico de 1cm y la fuente de excitación una lámpara de halógeno-tungsteno de Ocean Optics modelo DH-mini UV-VIS-NIR. Fig. 13.

3.2. EXPERIMENTO PRINCIPAL

En el ANEXO A se describe con detalle el procedimiento de esta sección, la cual se divide en dos: parte 1 (adenina) y parte 2 (adenina y 1-propanol). Es importante señalar que se requirió del diseño y construcción de tuberías y chaquetas de calentamiento, Fig. 14 y Fig.16, para la introducción de cada una de las sustancias debido a la gran diferencia entre sus puntos de vaporización, por ende, distintas temperaturas a las que se deben calentar para lograr realizar la sublimación y mezcla de sus vapores.



Figura 16. Tuberías y sistema de calentamiento para la introducción de las muestras al sistema: a) el sistema de calentamiento, b) tubería para la introducción de una sola sustancia al sistema y c) tubería para la introducción de dos moléculas al sistema

Durante el experimento se realizó la toma de espectros de forma muy detallada con el fin de garantizar la calidad de los resultados, los pasos generales repetidos en cada una de las partes del experimento principal se muestran en la Fig.17. Se inició con los de 5000 cuentas cada 1 nm en el intervalo de (257-280) nm. Luego de este primer barrido se determinan las longitudes de onda en las que se presentan máximos, posteriormente se realiza la toma de espectros de 50000 cuentas a las longitudes de onda seleccionadas y su vecindad para confirmar la presencia del máximo, ejecutando barridos cada 0.5 nm y posteriormente cada 0.02 nm. Por último, a las longitudes de onda en las que el crecimiento era significativamente mayor se tomaron espectros de 100000 y 200000 cuentas, con el fin de alcanzar un máximo diferenciado de las señales con respecto al posible ruido de fondo, además de la toma de espectros a longitudes de onda incrementando y disminuyendo 0.01nm del máximo detectado.

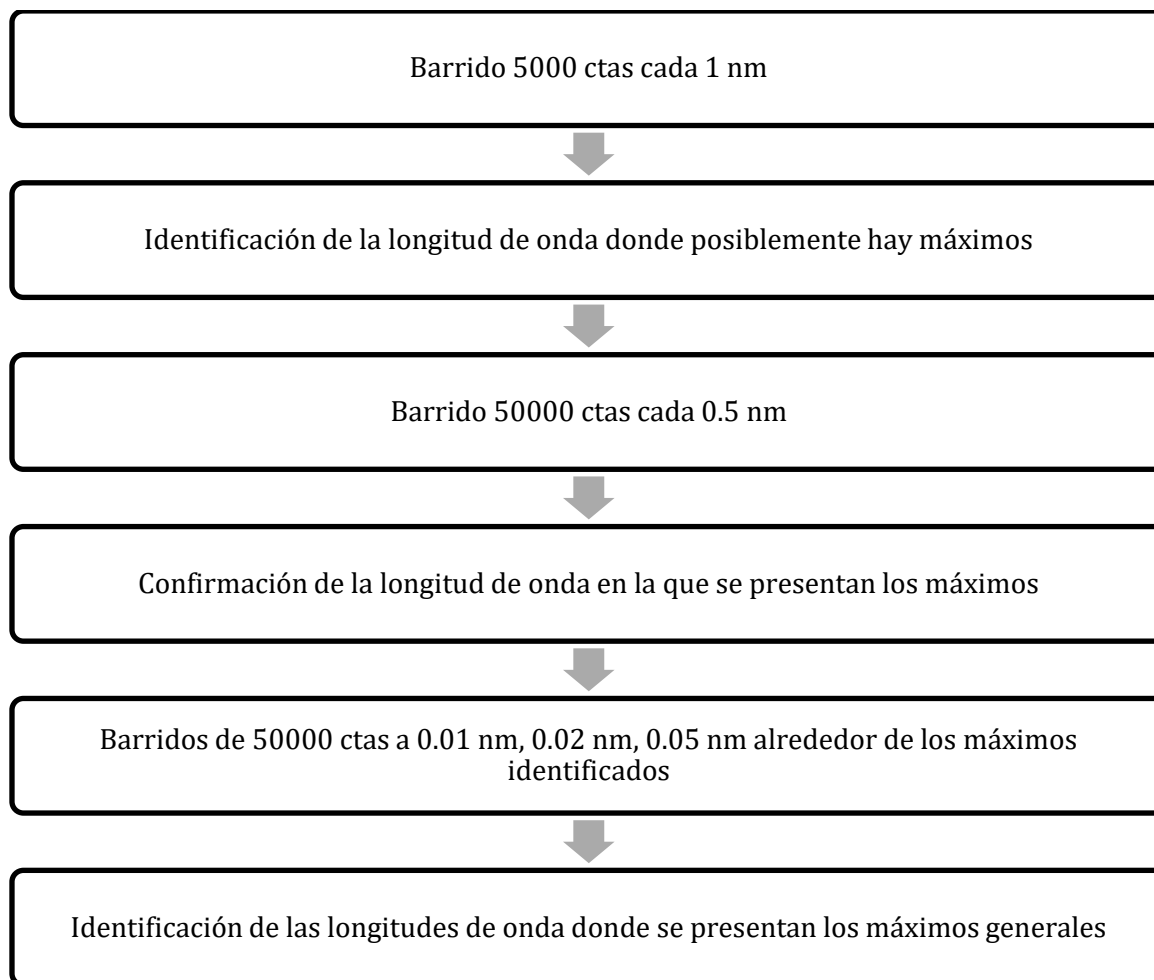


Figura 17. Pasos para la toma de espectros

Posterior a la toma de datos, estos son convertidos del formato propio del software Ortec .pta a .txt usando el software Mat-Lab; para el análisis de los espectros mediante el software Origin a fin de ajustar una gaussiana y obtener el área bajo la curva, la altura, el ancho y el centro (tiempo de vuelo) que son características para cada máximo. Los valores determinados de tiempo de vuelo permiten la asignación de la razón m/z para cada una de las señales.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTUDIOS PRELIMINARES

Previo a los estudios sobre la adenina se ejecutó la toma de espectros de absorción ultravioleta con la adenina disuelta en diferentes medios: 1-propanol, metanol y terbutanol. Esto se realizó con el fin de seleccionar aquel disolvente en que la absorbancia fuera mayor y a la vez que mostrará un corrimiento más significativo en la longitud de onda a la que absorbe. Además, el efecto mencionado tendría la capacidad de modificar las longitudes de onda en las que se presentaría la resonancia. Para seleccionar los disolventes se tuvo en cuenta los resultados publicados previamente en los que se describe la solubilidad de la adenina en distintos medios^{59,60}, además de tener en cuenta el espectro de la adenina reportado previamente por otros autores, Fig. 18, en donde se manifiesta la presencia de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$.

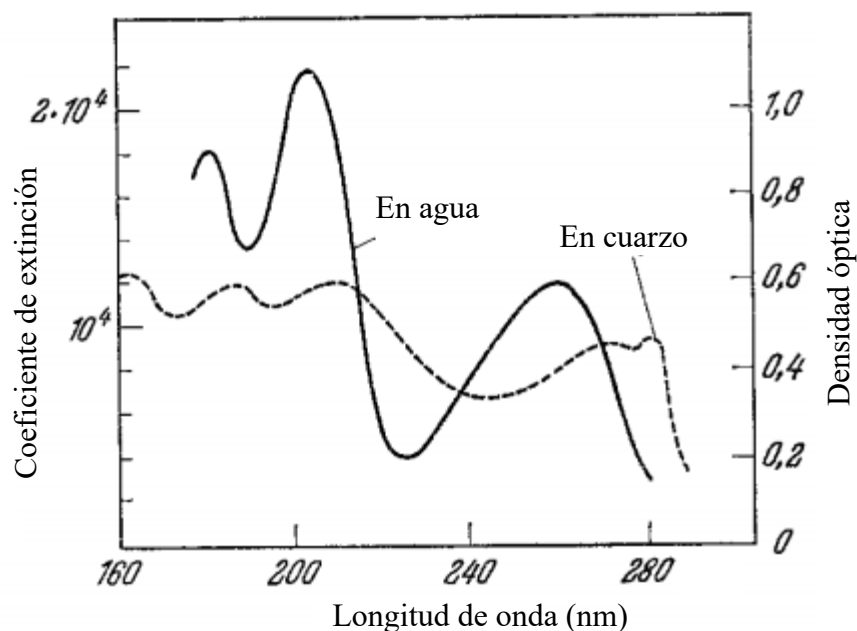


Figura 18. Espectro de absorción UV para la adenina disuelta en agua o sobre una lámina de cuarzo⁶¹

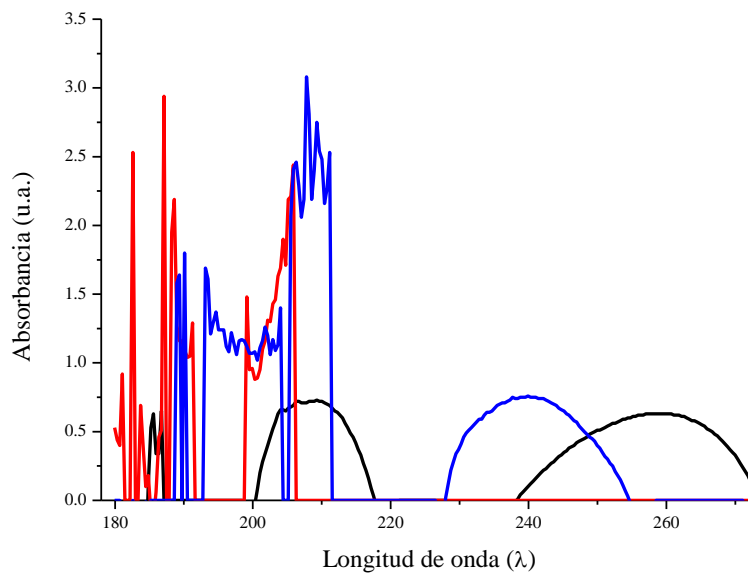


Figura 19. Espectro de absorción UV para la adenina disuelta en: terbutanol (azul), metanol (negro) y 1-propanol (rojo)

En la Fig. 19 se observa que para las tres mezclas analizadas hay una banda de absorción que coincide en la misma región; la cual ha sido asignada como una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ debida a la transferencia protónica intramolecular ⁶². Además, que al ir incrementando la polaridad del disolvente se da un corrimiento del máximo hacia una mayor longitud de onda debido a una mayor estabilización del orbital π^* que del π en disolventes polares, ⁶³ terbutanol comparado con metanol; sin embargo la absorción del propanol no es visible.

4.2. EXPERIMENTO PRINCIPAL

Se analizaron los espectros tanto de adenina pura (parte 1) como mezclados con 1-propanol (parte 2). Los espectros detectados, algunos ejemplos se muestran en las Figs. 22 y 23, corresponden al régimen multifotónico; de acuerdo con lo señalado en la introducción para superar el potencial de ionización se requieren al menos dos fotones en el intervalo estudiado para la adenina, (8.13 eV) mientras que para lograr una ionización del 1-propanol (10.22 eV) se necesitan aproximadamente tres fotones.

Un correcto análisis espectral permite determinar qué iones se producen y visualizar las longitudes de onda en la que se percibe un mayor crecimiento de los fragmentos, es decir que hay un estado

resonante. Sin embargo, para la asignación de la estructura de cada uno de los iones con diferentes m/z detectados se debe tener en cuenta la estructura original de la molécula, la estabilidad del ion propuesto; junto con estudios teóricos y experimentales que presentan un análisis de los diferentes iones. Por tanto, es necesario generar una curva de calibración adecuada.

4.2.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

La asignación de la relación m/z a los iones se realiza con respecto a la señal correspondiente al carbono y empleando la siguiente relación, donde T_1 es el tiempo de vuelo del ion de masa m_1 y T_n es el tiempo de vuelo del ion de masa m_n :

$$masa_n = \left(\frac{T_n}{T_1}\right)^2 masa_1 \quad 1.16$$

Luego de obtener el valor aproximado de masa se confirma la correcta asignación de éstas, graficando la relación m/z en función del tiempo de vuelo y ajustando una curva polinómica a la línea de tendencia. De acuerdo con las Figs. 20 y 21 se puede observar que las asignaciones realizadas para ambos tipos de experimentos son adecuadas ya que su factor de correlación es uno en cada una. En las Figs. 22 y 23 se muestran los espectros con la posible asignación de las especies iónicas de acuerdo a la relación m/z .

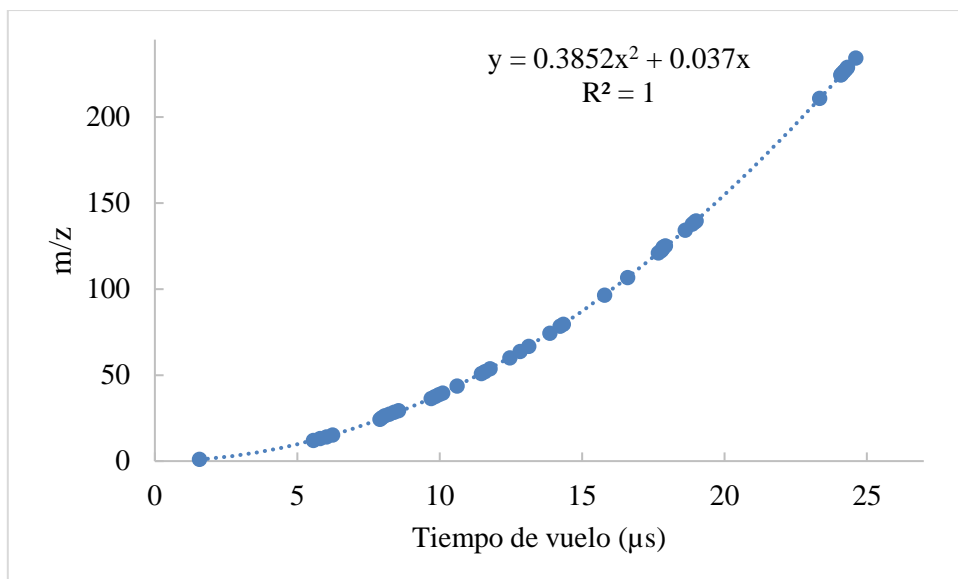


Figura 20. Curva de calibración para la adenina, parte 1.

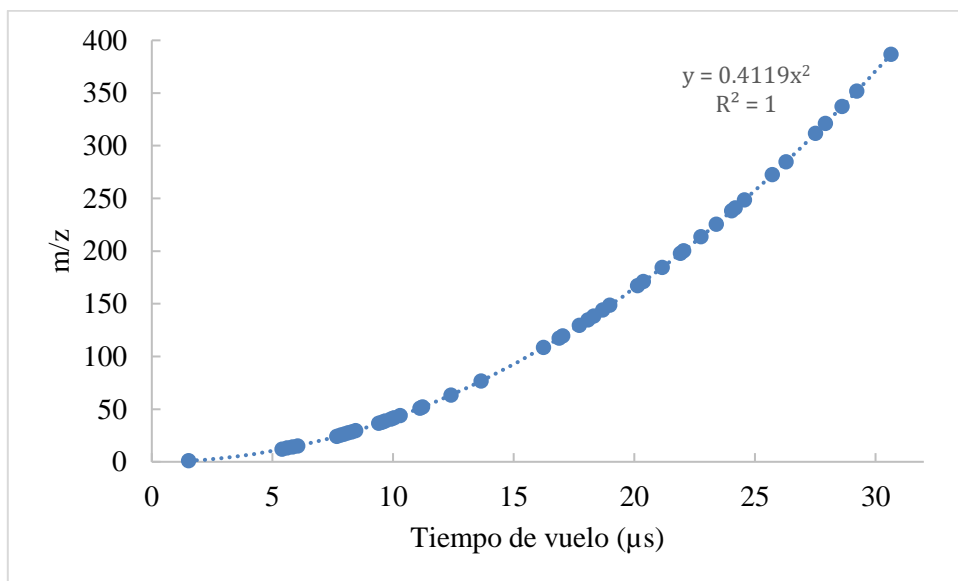


Figura 21. Curva de calibración para la adenina acompañada de 1-propanol, parte 2.

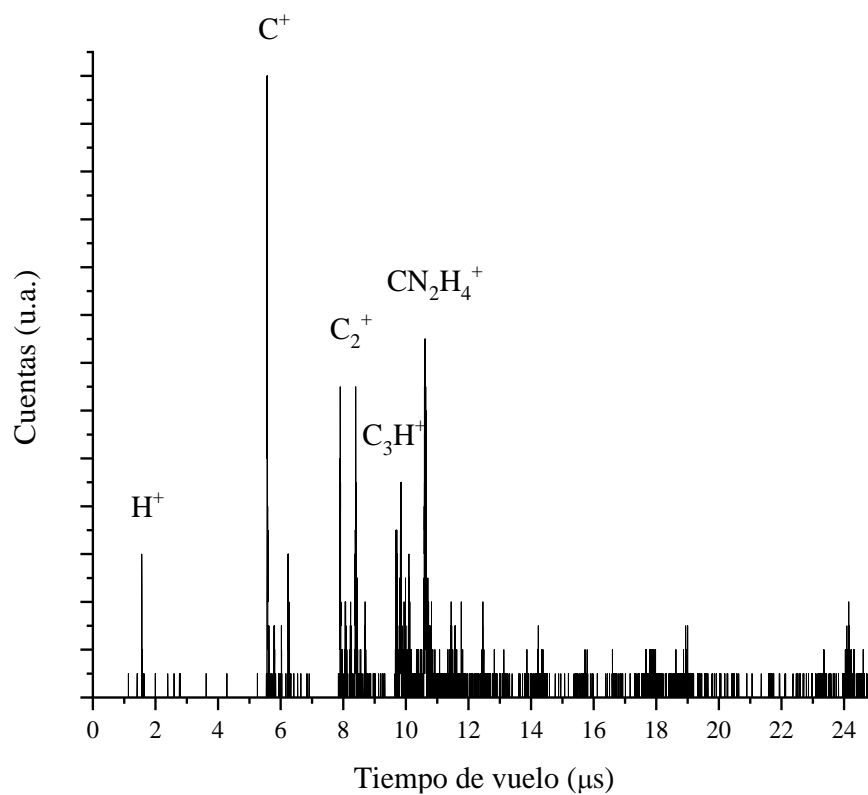


Figura 22. Espectro de masas para la adenina a una longitud de onda de 264.98 nm

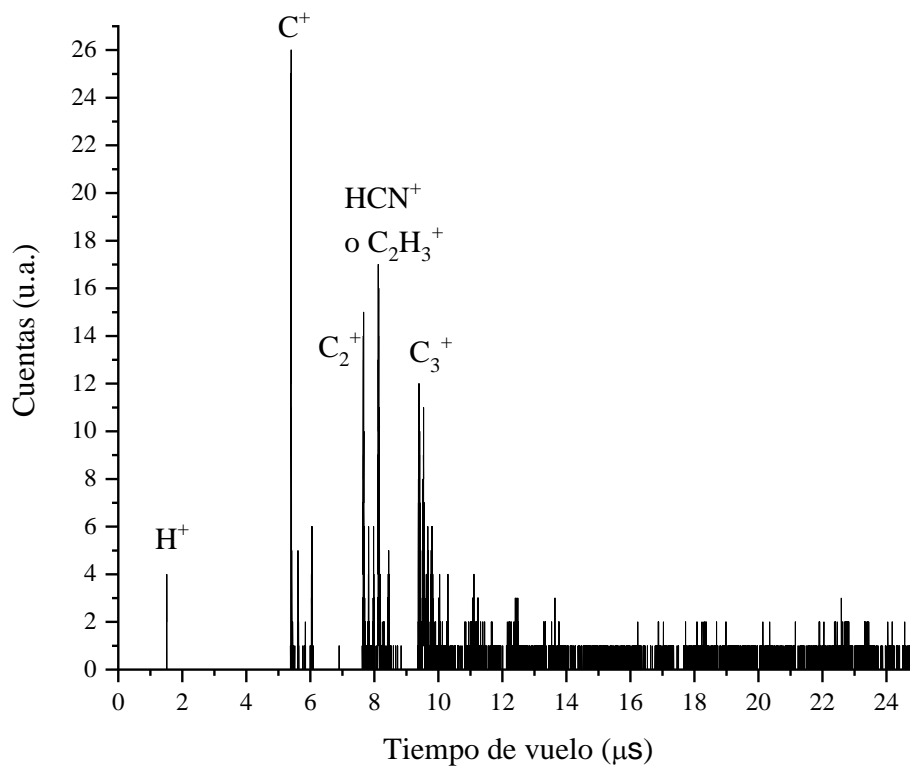


Figura 23. Espectro de masas para la adenina disuelta en 1-propanol a una longitud de onda de 265.97 nm

4.2.2. IONES DETECTADOS

Luego de la calibración, es decir haber asignado una m/z a cada uno de los máximos de mayor altura, se buscaron los posibles fragmentos a los que corresponden la masa con z igual a 1 que generarían estos iones. Para ello se tuvo en cuenta la estructura de las moléculas empleadas en el experimento y las posibles rutas de fragmentación.

En la tabla 1 se presenta el listado de las masas detectadas en cada una de las secciones experimentales, señalando en verde aquellas cuya intensidad no permite un estudio adecuado debido a su baja intensidad. En los datos obtenidos se puede observar que al introducir el 1-propanol junto con la adenina se da un incremento en el número de fragmentos. También se observa el crecimiento de máximos con masas mayores a los iones moleculares de las sustancias insertadas en el sistema (adenina: 135 m/z y 1-propanol: 65 m/z) esto se debe a la formación de cúmulos resultantes de la interacción de fragmentos provenientes de ambas especies.

Tabla 1. Masas de los iones detectados en cada una de las secciones experimentales. En letras negras las analizadas, mientras que en verde se señalan aquellas que debido a su baja intensidad no pueden ser estudiadas.

Parte 1	Parte 2
1, 12, 13, 14, 15, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 58, 60, 64, 67, 78, 79, 96, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 137, 138, 139, 140, 209, 210, 211, 224, 225, 226, 227, 228	1, 2, 12, 13, 14, 15, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 70, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 88, 96, 103, 106, 109, 117, 119, 123, 131, 135, 137, 138, 139, 144, 152, 153, 158, 166, 167, 182, 192, 193, 198, 200, 205, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 224, 225, 226, 227, 245, 255, 291, 322, 331, 335

En la tabla 2 se muestra la fórmula molecular asignada a los iones más abundantes, esto se realizó teniendo en cuenta la estructura de las moléculas involucradas y los mecanismos de reacción enunciados en la siguiente sección. También se supone que aquellos fragmentos cuyas masas superan el peso molecular de la adenina sin dudarlo provienen de cúmulos; sin embargo, su estructura no es propuesta ya que existe un gran número de posibles combinaciones de átomos que cumplan con la relación m/z asignada. Por otra parte, la reacción más probable entre las dos

especies moleculares es la pérdida de agua, aunque el crecimiento de este ion no es observable (m/z 18).

Tabla 2. Iones detectados con su posible fórmula molecular

m/z	Parte 1	Parte 2
1	H ⁺	H ⁺
12	C ⁺	C ⁺
13	CH ⁺	CH ⁺
15	NH ⁺	NH ⁺ o CH ₃ ⁺
24	C ₂ ⁺	C ₂ ⁺
25	C ₂ H ⁺	C ₂ H ⁺
26	CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺	CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺
27	HCN ⁺ o C ₂ H ₃ ⁺	HCN ⁺ o C ₂ H ₃ ⁺
28	HCNH ⁺	CO ⁺ o HCNH ⁺
29	NH ₂ CH ⁺	CHO ⁺ o NH ₂ CH ⁺
36	C ₃ ⁺	C ₃ ⁺
37	C ₃ H ⁺	C ₃ H ⁺
38	C ₂ N ⁺	C ₃ H ₂ ⁺
39	HCCN ⁺	HCCN ⁺ o C ₃ H ₃ ⁺
40	NCN ⁺ o C ₂ H ₂ N ⁺	C ₂ O ⁺ o C ₃ H ₄ ⁺
42	CH ₂ N ₂ ⁺ o C ₂ H ₄ N ⁺	C ₂ H ₂ O ⁺ o C ₃ H ₆ ⁺
43	NH ₃ CN ⁺ o C ₂ H ₅ N ⁺	CHNO ⁺ , C ₂ H ₃ O ⁺ , C ₃ H ₇ ⁺ , NH ₃ CN ⁺ o C ₂ H ₅ N ⁺
44	CN ₂ H ₄ ⁺	C ₂ H ₄ O ⁺
45	CN ₂ H ₅ ⁺	
50		C ₃ N ⁺ o C ₄ H ₂ ⁺
51	C ₃ HN ⁺	C ₄ H ₃ ⁺ o C ₃ HN ⁺
54	C ₃ H ₄ N ⁺ o C ₂ N ₂ H ₂ ⁺	
60	C ₂ H ₈ N ₂ ⁺	
61		CH ₅ N ₂ O ⁺ o C ₂ H ₇ NO ⁺
137		C ₃ H ₇ N ₅ ⁺
139	C ₃ H ₉ N ₅ ⁺	
225		CÚMULO
226	CÚMULO	CÚMULO
335		CÚMULO

4.2.3. COMPARACIÓN DE LOS IONES OBTENIDOS EN LAS DOS ETAPAS EXPERIMENTALES Y BÚSQUEDA DE LONGITUD DE ONDA DE RESONANCIA

Una vez obtenidos los espectros, se tomó cada ion a fin de realizar el estudio individual y detectar las longitudes de onda en la que manifiesta los máximos significativos y por ende corresponde a una longitud de onda resonante. El procedimiento realizado se esquematiza en la Fig. 24.

Diferentes longitudes de onda

Iones detectados

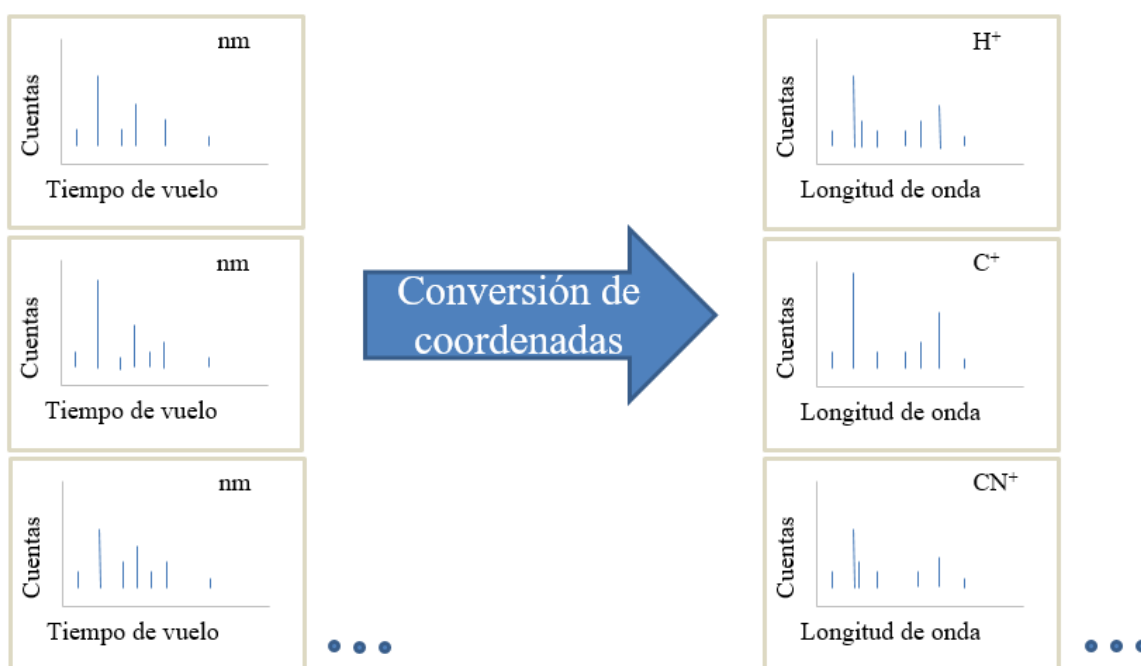


Figura 24. Conversión de coordenadas para el análisis de los iones

Los iones obtenidos de la fragmentación de la adenina, tanto pura como en solución se pueden agrupar en cuatro clases: 1) aparición de iones tanto a partir de la adenina pura como de la mezcla (figuras 25-36 y figuras 50-51), a cuya relación m/z se le puede asignar la misma estructura (ej. H^+ m/z 1); 2) iones con igual valor de m/z , pero probablemente diferente estructura (ej. NH^+ o CH_3^+ m/z 15) mostrados en las figuras 37-42 y las figuras 52-53; 3) iones solamente provenientes de adenina (ej. $CN_2H_5^+$ m/z 45) mostrados en las figuras 43-48 y las figuras 54-55 y 4) iones propios de la mezcla (ej. C_3N^+ o $C_4H_2^+$ m/z 1) mostrados en las figuras 25-36 y las figuras 56-57. A

continuación, se muestran algunos resultados para diferentes iones obtenidos a partir de las señales correspondientes a las diferentes longitudes de onda. En el anexo B se muestran las gráficas de algunos iones. Primero se describen aquellos que crecen en los dos casos:

4.2.3.1. Iones que se generan en ambos experimentos de igual estructura

H⁺

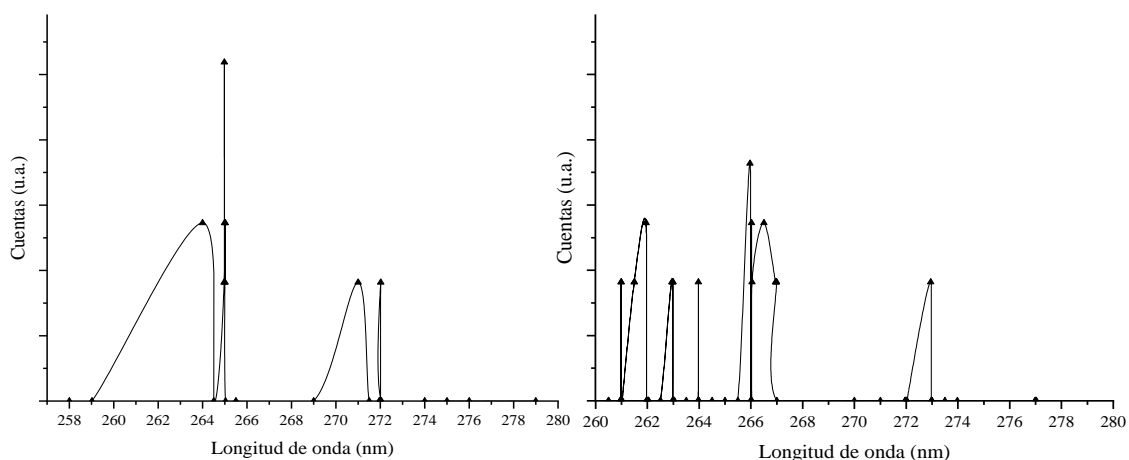


Figura 25. Señal del ion H⁺ (m/z 1), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

De acuerdo con lo observado en la Fig. 25 al agregar el alcohol a la adenina la aparición de los máximos de H⁺ se corren hacia una longitud de onda: de $(264.98 \pm 0.04$ a $265.97 \pm 0.04)$ nm y $(272.02 \pm 0.04$ a $272.95 \pm 0.04)$ nm. También al añadir el disolvente aumenta el número máximos, debido a que el alcohol se está fragmentando. En la Fig. 26 se presentan algunas de las posibles rutas de fragmentación para obtener este ion mediante una ruptura 2,3.

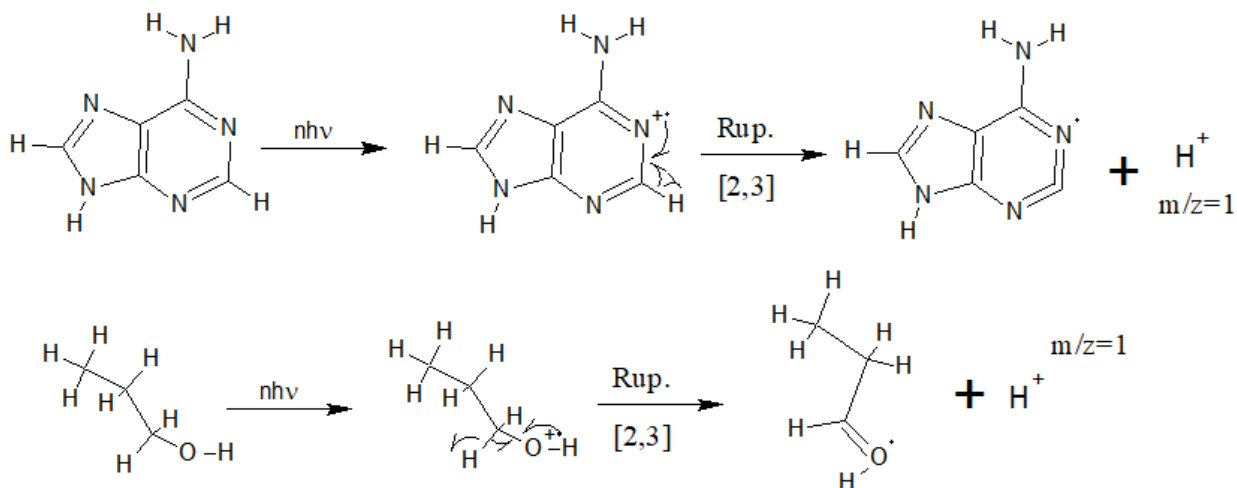


Figura 26. Mecanismo de fragmentación para la obtención de ion H^+ a partir de la adenina (superior) y el 1-propanol (inferior)

C^+

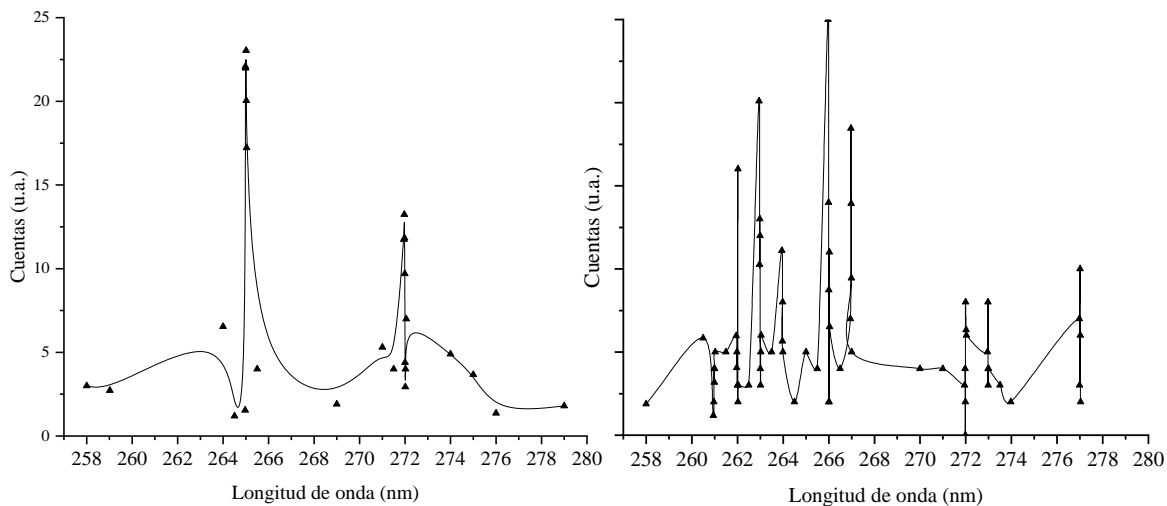


Figura 27. Señal del ion C^+ (m/z 12), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

En la Fig. 27 se distingue en que existen máximos en la producción de ion C^+ en diferentes zonas, para los iones provenientes de la adenina se da claramente en dos regiones; en presencia de 1-propanol aparece más de un máximo, como en el caso anterior. Este comportamiento se debe a la influencia del 1-propanol sobre los mecanismos de fragmentación y la facilidad con la que este genera el ion C^+ .

CH⁺

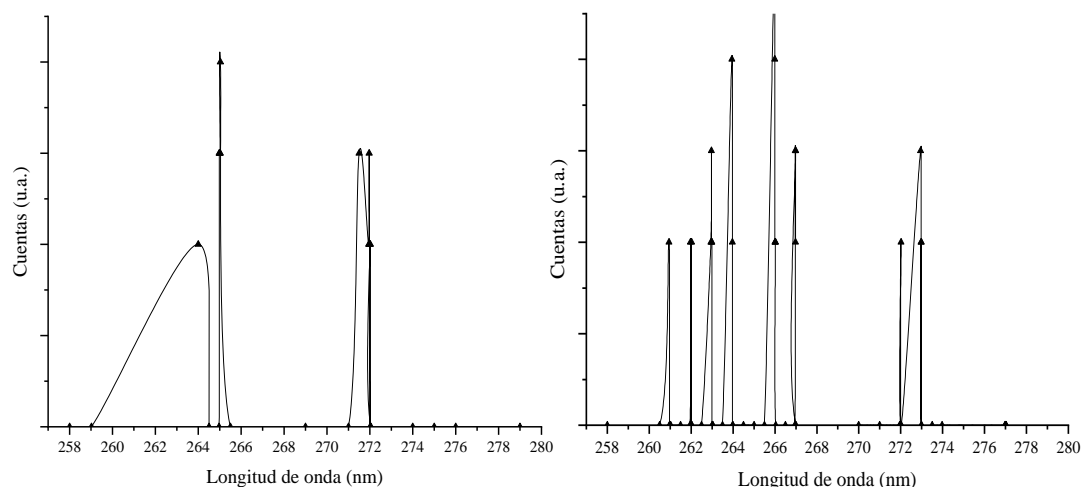


Figura 28 Señal del ion CH⁺ (m/z 13), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

De acuerdo con la Fig. 28, en la que se muestra el comportamiento del ion de m/z13, se observa el crecimiento de tres máximos para la adenina a: $(265.01 \pm 0.04, 271.49 \pm 0.04$ y $271.97 \pm 0.04)$ nm. Aparecen un número mayor de máximos al añadir el 1-propanol, e incluso la altura relativa de uno de ellos es mayor. También se puede observar el corrimiento de las longitudes de onda en las que se presentan las señales más distintivas.

C₂⁺

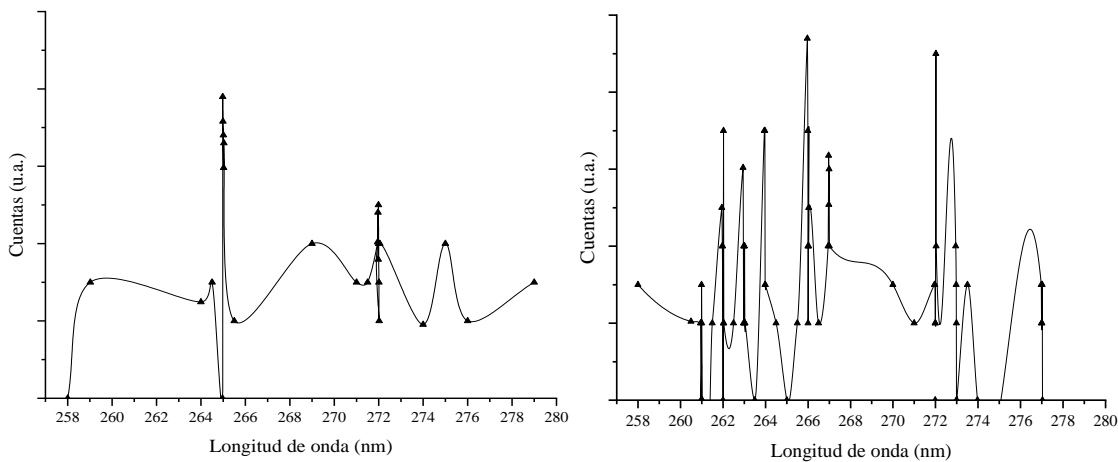


Figura 29. Señal del ion C₂⁺ (m/z 24), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

El comportamiento del ion C_2^+ , Fig. 29, guarda correlación en los máximos presentados sin disolvente (264.98 ± 0.04 y 271.99 ± 0.04) nm y con este (265.97 ± 0.04 y 272.02 ± 0.04) nm. También se observa un leve aumento en la intensidad de las señales luego de la incorporación del 1-propanol, lo que evidencia que la fragmentación de este es la encargada de la modificación espectral.

C_2H^+

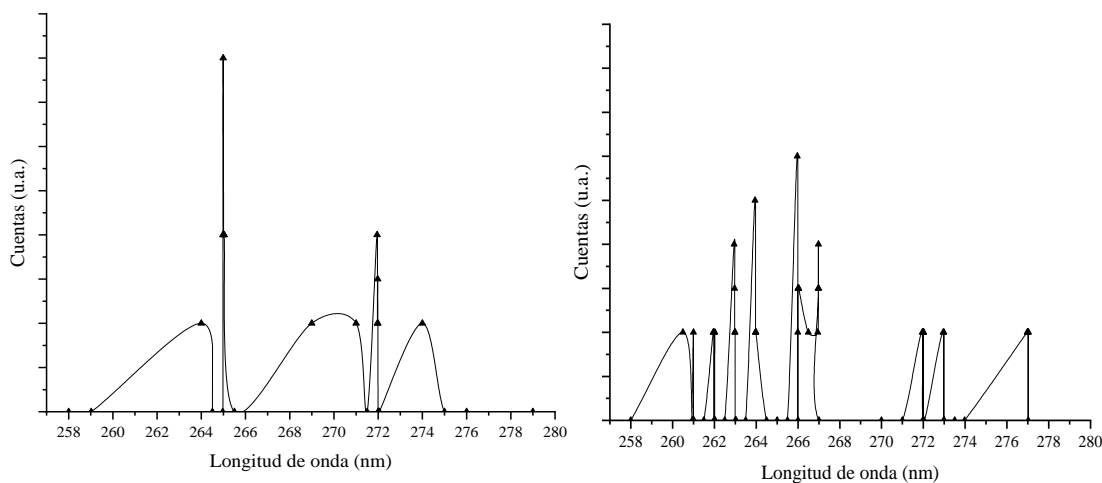


Figura 30. Señal del ion C_2H^+ (m/z 25), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

Para el ion de m/z 25, Fig. 30, se observa los máximos distintivos para la adenina, los cuales al agregar 1-propanol su intensidad es menor; sin embargo, hay un aumento en el número de éstos (máximos). Por tanto, se supone que el 1-propanol afecta el mecanismo de disociación de la adenina y disminuyendo la intensidad de los fragmentos y generar señales de este ion a más longitudes de onda que con la adenina pura, como en todos los casos.

CN⁺ o C₂H₂⁺

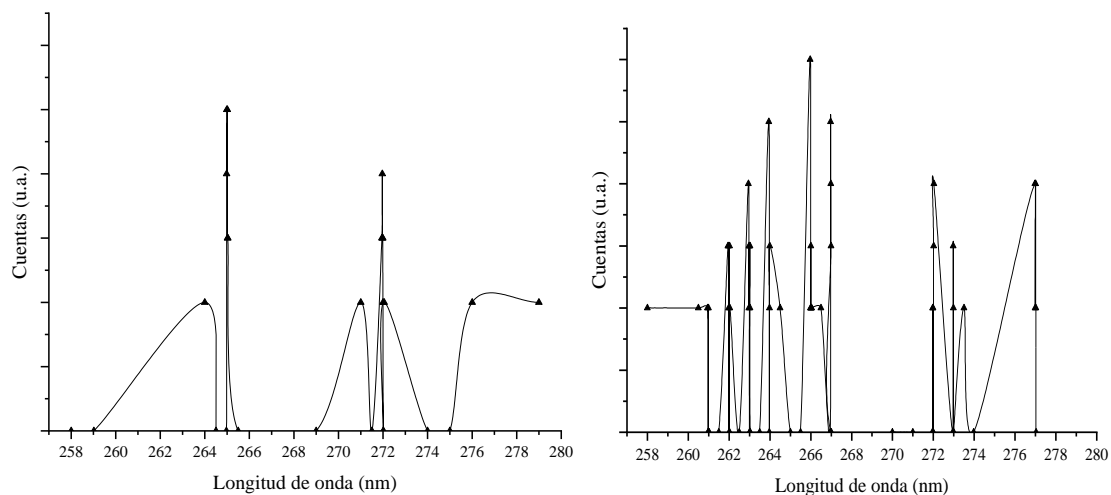


Figura 31. Señal del ion CN⁺ o C₂H₂⁺ (m/z 26), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción del ion de m/z 26, Fig. 31, en el caso de la adenina pura, manifiesta los máximos resonantes habituales. El comportamiento de la adenina pura comparado con la mezclada con 1-propanol son muy distintos, en el sentido que se observa un aumento relativo de sus máximos; lo que puede ser interpretado en que el 1-propanol beneficia la pérdida de CN⁺. Por parte de la adenina a la vez que el 1-propanol está generando nuevas señales que acompañan a las de la adenina, fragmentándose en C₂H₂⁺; sin embargo, también sería posible obtener este último ion a partir de la adenina pura.

HCN⁺ o C₂H₃⁺

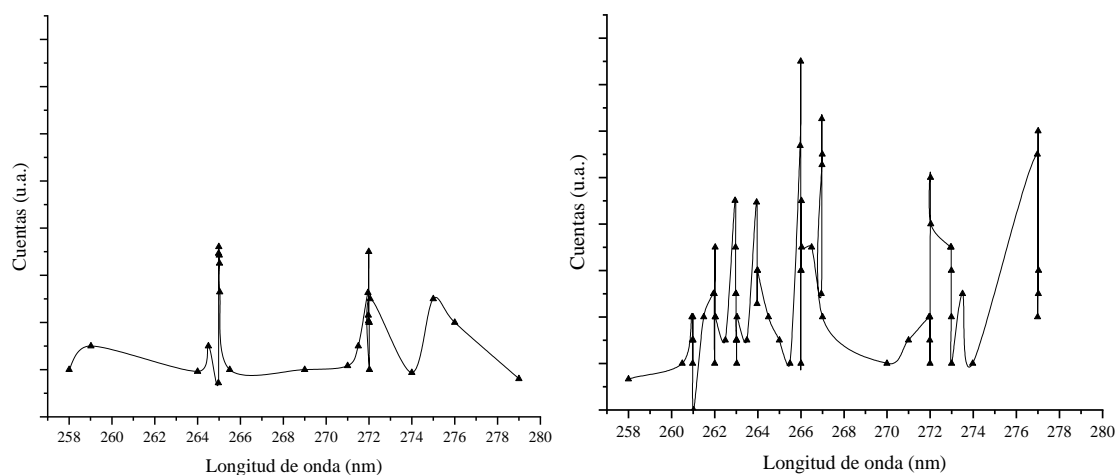


Figura 32. Señal del ion HCN⁺ o C₂H₃⁺ (m/z 27), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción del ion HCN⁺, mostrado en la Fig. 32, es una de las más importantes en la disociación de la adenina, de acuerdo con lo señalado por distintos autores ésta corresponde a la ruta principal de fragmentación de esta molécula ⁶⁴⁻⁶⁷. En la Fig. 33 se muestran algunos mecanismos, los cuales mediante migraciones de hidrógeno y rupturas [2,3] derivan en la producción de HCN⁺: a) neutro y b) cargado. A pesar de esto se puede llegar a presentar la posibilidad de obtener el ion C₂H₃⁺ a partir de una fragmentación que conlleve al aislamiento del enlace puente carbono-carbono ubicado entre los dos anillos, similar a lo que ocurriría en los iones anteriores 24, 25, 26, pero en este caso se enlazaría un protón adicional. Posteriormente al adicionar el 1-propanol se presenta un incremento significativo en la producción de este ion, lo que sugiere que al insertar este compuesto a la cámara de interacción éste se fragmenta en gran medida como el ion C₂H₃⁺.

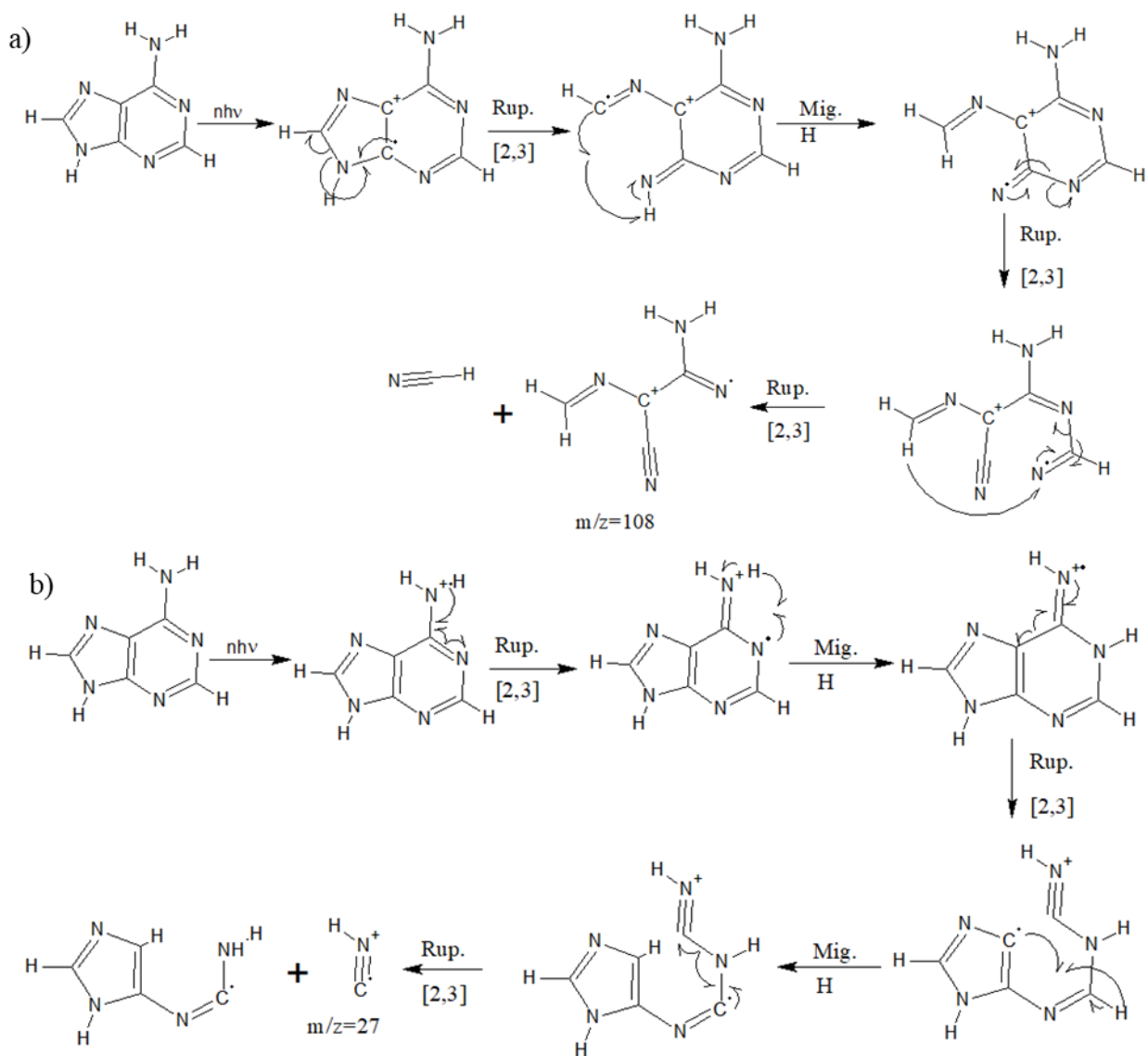


Figura 33. Mecanismo de fragmentación mediante la pérdida de HCN⁺: a) neutro y b) cargado.

HCNH⁺ o C₂H₄⁺

En la formación del ion HCNH⁺ o C₂H₄⁺ de m/z 28, ANEXO B, para la adenina pura se observan los máximos habituales, estas señales se ven afectadas en gran medida por la inserción del 1-propanol en el sistema. Se origina un incremento significativo de la señal del máximo espectral. Pero el crecimiento a las nuevas longitudes de onda no es tan significativo, esto sugiere que el 1-propanol favorece a la ruta de fragmentación de la adenina que genera el ion HCNH⁺. Sin embargo,

no se descarta que el 1-propanol pueda fragmentarse en $C_2H_4^+$ aunque su abundancia sea mínima con respecto al otro ion.

C_3^+

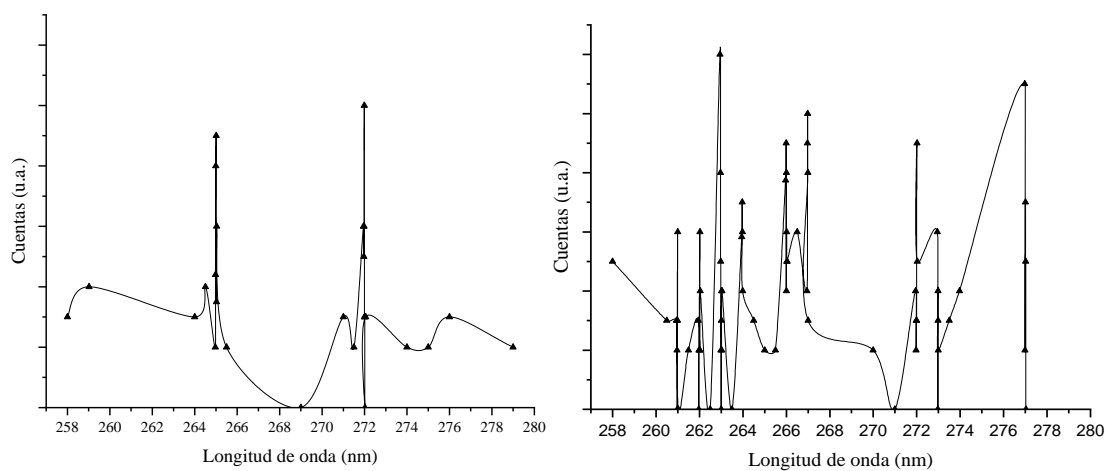


Figura 34. Señal del ion C_3^+ (m/z 36), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

El comportamiento que muestran las gráficas de la Fig. 34 indican que persistente la zona de mínimo crecimiento y los máximos habituales en la adenina; pero al añadir el 1-propanol la producción de este ion se incrementa significativamente, lo cual genera un cambio en la distribución de los máximos de la mezcla debido a la fácil fragmentación de esta sustancia en el ion C_3^+ .

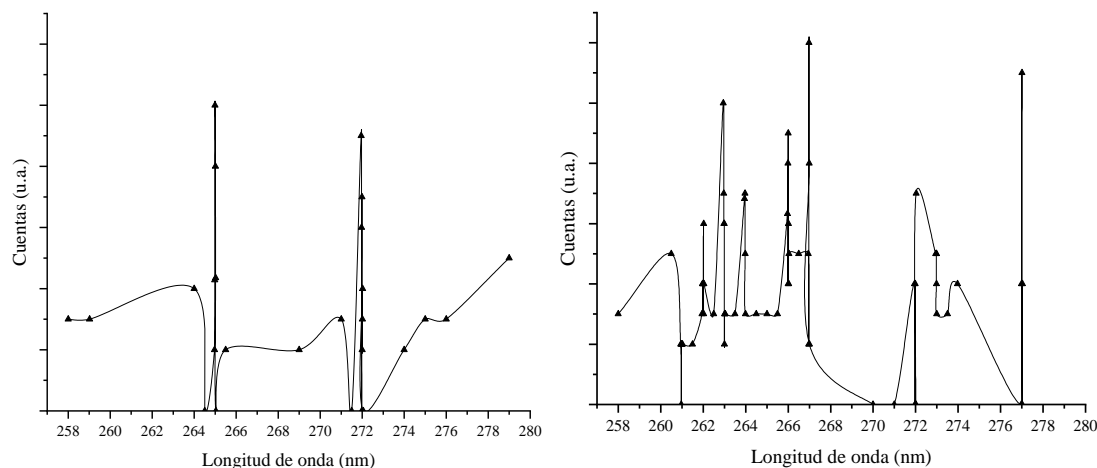


Figura 35. Señal del ion C_3H^+ (m/z 37), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción del ion C_3H^+ , Fig. 35, para el caso de la adenina presenta los máximos habituales, al añadir 1-propanol se incrementa el número de éstos. Luego de mezclar la adenina con 1-propanol se observa la señal de (265.99 ± 0.04) nm en comparación de las señales de $(264.98 \pm 0.04$ y $271.94 \pm 0.04)$ nm con adenina pura.



Para el ion C_2N^+ de m/z 38, ANEXO B, se muestran las señales usuales para la adenina pura a las mismas longitudes de onda. Bajo la presencia del 1-propanol se genera un incremento en el número de los máximos correspondientes al ion de m/z 38. Esto sugiere que el 1-propanol favorece la fragmentación de la adenina en C_2N^+ , ya que el nitrógeno no forma parte de la estructura del disolvente.

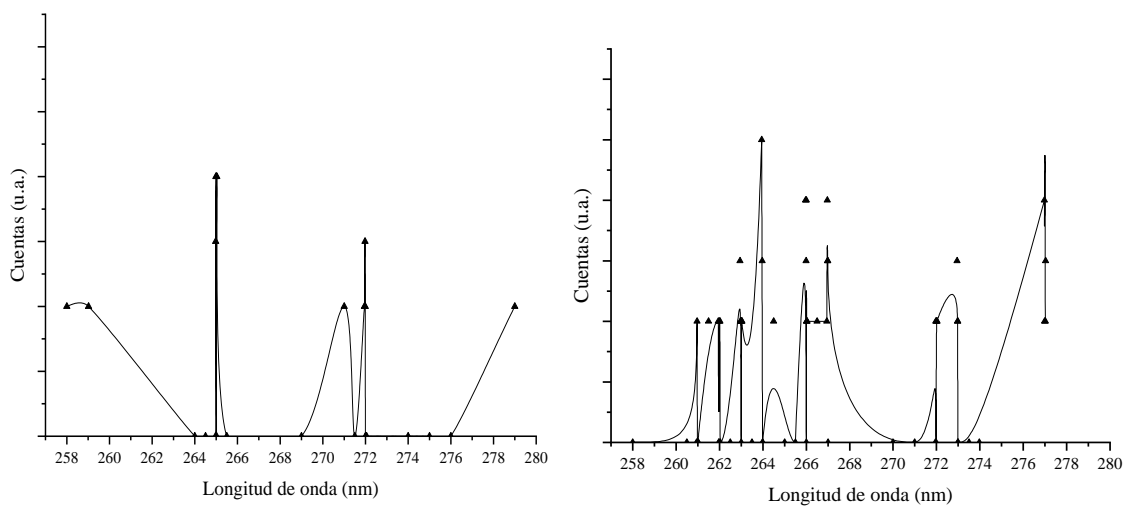


Figura 36. Señal del ion $\text{C}_4\text{H}_3^+ \text{O} \text{C}_2\text{N}^+$ (m/z 51), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción del ion $\text{C}_4\text{H}_3^+ \text{O} \text{C}_3\text{HN}^+$ de m/z 51 muestra las señales usuales para la adenina pura, este comportamiento cambia al añadir el 1-propanol; aparecen señales a nuevas longitudes de onda que manifiestan un corrimiento aparente generado por el alcohol.

4.2.3.2. Iones que crecen en ambas regiones, pero sus estructuras pueden ser diferentes

$\text{NH}^+ \text{ o } \text{CH}_3^+$

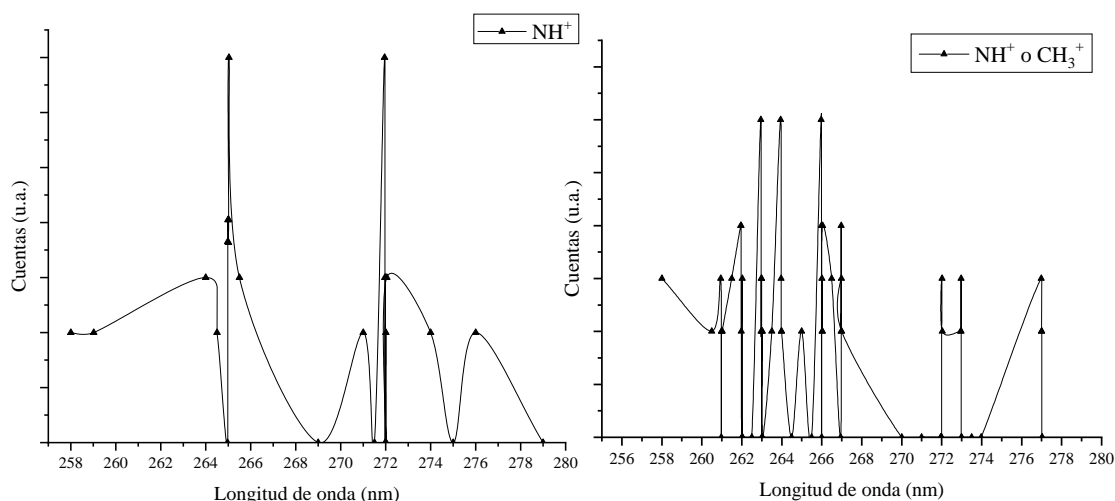


Figura 37. Señal del ion $\text{NH}^+ \text{ o } \text{CH}_3^+$ (m/z 15), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La gráfica para el ion $\text{NH}^+ \text{ o } \text{CH}_3^+$ de m/z 15 presenta resonancias a las longitudes de onda usuales. Al añadir el disolvente el crecimiento de las señales presenta un comportamiento disperso; por tanto, ya no se manifiesta claramente zonas en las que presentaba un máximo crecimiento como ocurre para la sustancia pura, sino que hay varios máximos con igual altura.

Este comportamiento sugiere que la mayoría de las señales obtenidas en la segunda sección experimental provengan del 1-propanol; donde la interacción con la radiación puede desencadenar la producción de ion CH_3^+ y otras señales provengan del NH^+ originado a partir de la fragmentación de la adenina. Por tanto, no se logra una asignación certera del origen de las señales; sin embargo, se puede afirmar que las señales se encuentran solapadas y la viabilidad energética para la producción de dichos iones es similar a determinadas longitudes de onda, de ahí que se da la mezcla de señales.

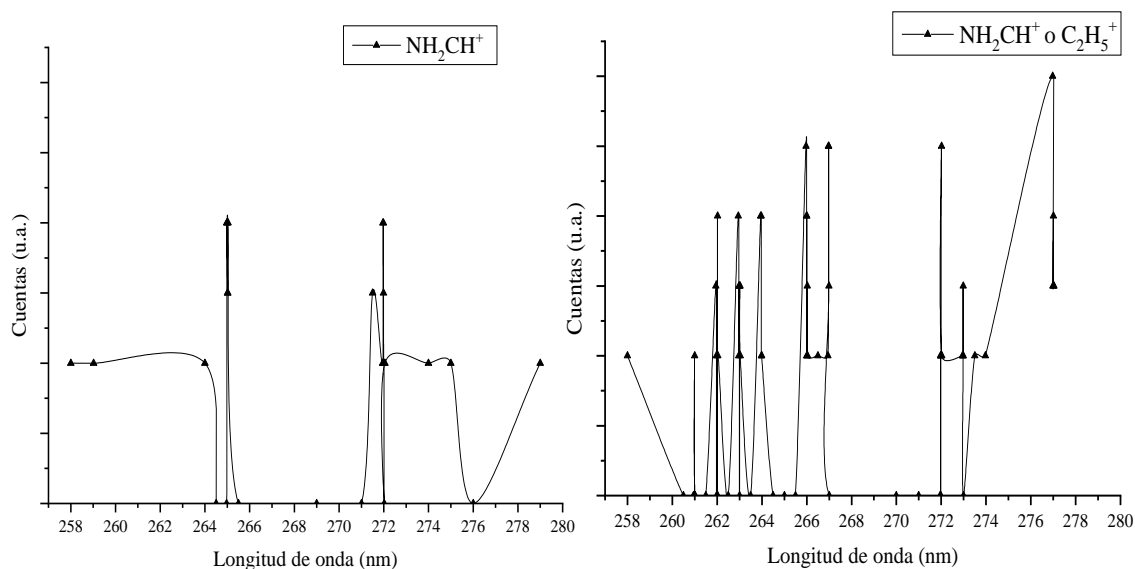
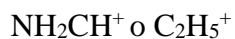


Figura 38. Señal del ion NH_2CH^+ o C_2H_5^+ (m/z 29), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

En los espectros de la Fig. 38 se observa el crecimiento notorio de iones a las longitudes de onda resonantes para el caso de la adenina. Los máximos del segundo espectro se deben a la fragmentación del 1-propanol en C_2H_5^+ ; sin embargo, es posible que haya iones de NH_2CH^+ que provienen de la fragmentación de la adenina y corresponden a longitudes de onda resonantes.

HCCN⁺ o C₃H₃⁺

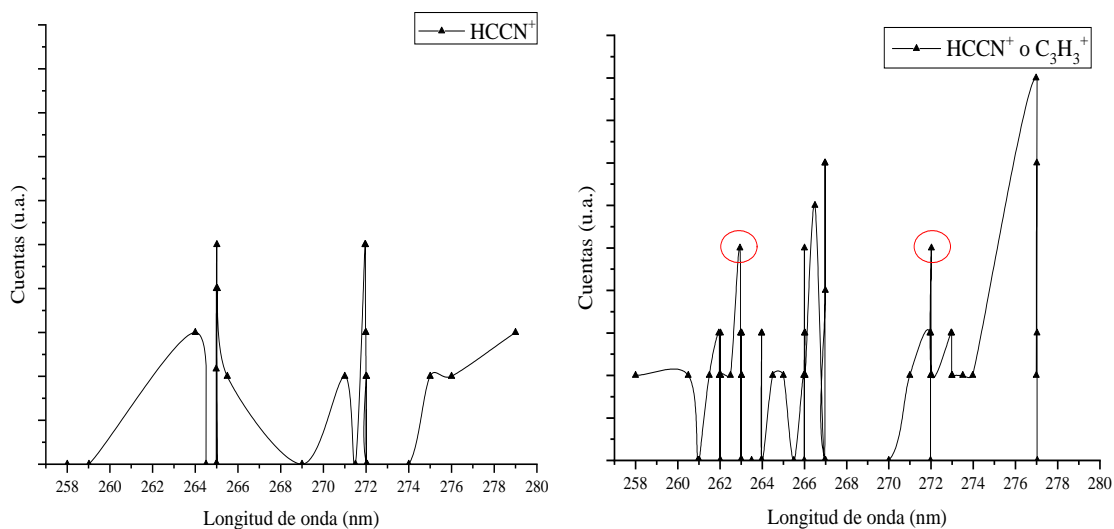


Figura 39. Señal del ion HCCN⁺ o C₃H₃⁺ (m/z 39), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción del ion HCCN⁺ también muestra máximos a las longitudes de onda resonantes. Para el caso de la mezcla aparecen los máximos correspondientes a la adenina pura; y no se ve afectada por la introducción del 1-propanol en el sistema, Fig. 39, -adenina: (265.01 ± 0.04 y 271.97 ± 0.04) nm y adenina con 1-propanol: (266.01 ± 0.04 y 272.02 ± 0.04) nm- a pesar de que aparecen nuevos máximos debido a la fragmentación del 1-propanol en C₃H₃⁺.

NCN^+ o $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}^+$ y C_2O^+ o C_3H_4^+

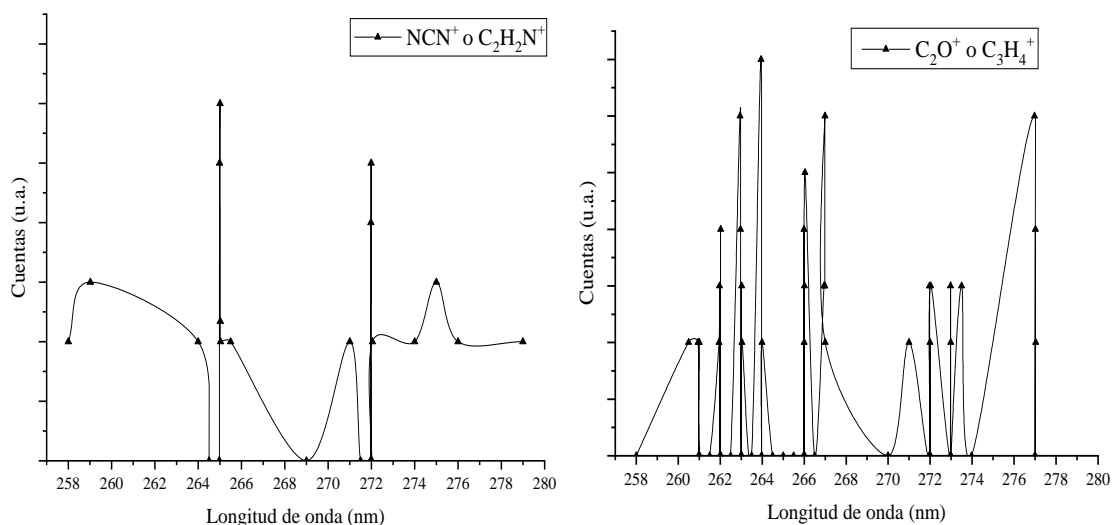


Figura 40. Señal de los iones NCN^+ o $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}^+$ y C_2O^+ o C_3H_4^+ (m/z 40), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

La producción de los iones de relación m/z 40, Fig. 40, a diferentes longitudes de onda se ve favorecida al entrar en contacto con el 1-propanol y las señales provenientes de la adenina ya no son distinguibles.

$\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2^+$ o $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$ y $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ o C_3H_6^+

Los iones con m/z 42 provenientes de la adenina pura, sus máximos aparecen a longitudes de onda similares a las observadas previamente, pero el comportamiento de su producción, representados en el ANEXO B, cambia significativamente al añadir el 1-propanol, ya que se presenta la aparición de señales correspondientes a longitudes de onda que manifiestan un corrimiento de los máximos propios de la adenina. Esto puede indicar que la interacción del 1-propanol con la adenina impide que la base nitrogenada genere el ion m/z 42 y que las señales producidas por la mezcla de gases de adenina y 1-propanol son propias del alcohol.

NH_3CN^+ o $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}^+$ y CHNO^+ , $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$, C_3H_7^+ NH_3CN^+ o $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}^+$

La producción del ion m/z 43, representados en el ANEXO B, presenta un comportamiento similar a las de los máximos de los iones de m/z 40 y 42, es decir que muestra el comportamiento habitual al estar la adenina pura y que luego de agregar el 1-propanol la fragmentación de los iones propios de la adenina son inhibidos.

CN_2H_4^+ y CN_2H_4^+ o $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$

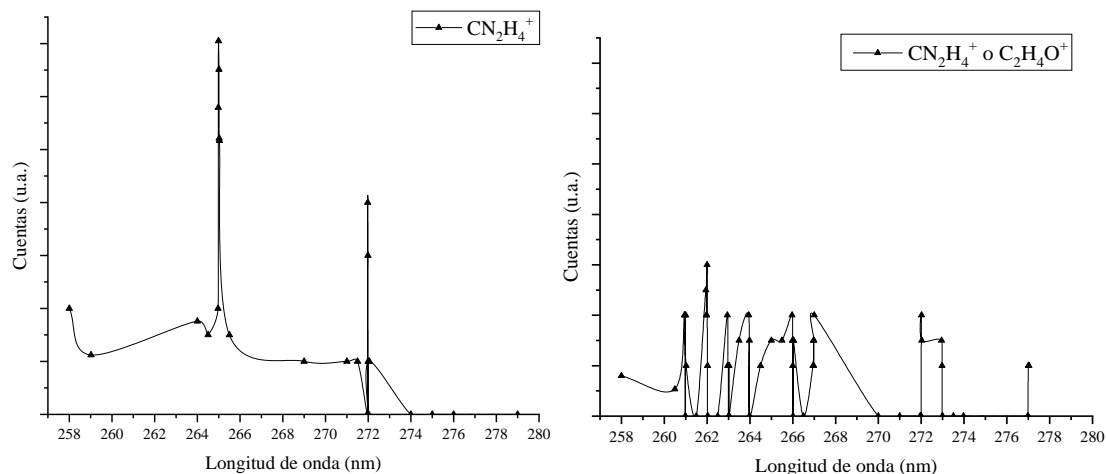


Figura 41. Señal de los iones CN_2H_4^+ y CN_2H_4^+ o $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$ (m/z 44), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

El ion m/z 44, Fig. 41, presenta un comportamiento similar a iones previos, en cuanto a la posición de los máximos, donde la interacción del 1-propanol con la adenina inhibe la fragmentación de esta última y por tanto se modifica el comportamiento en la producción de este ion.

m/z 226

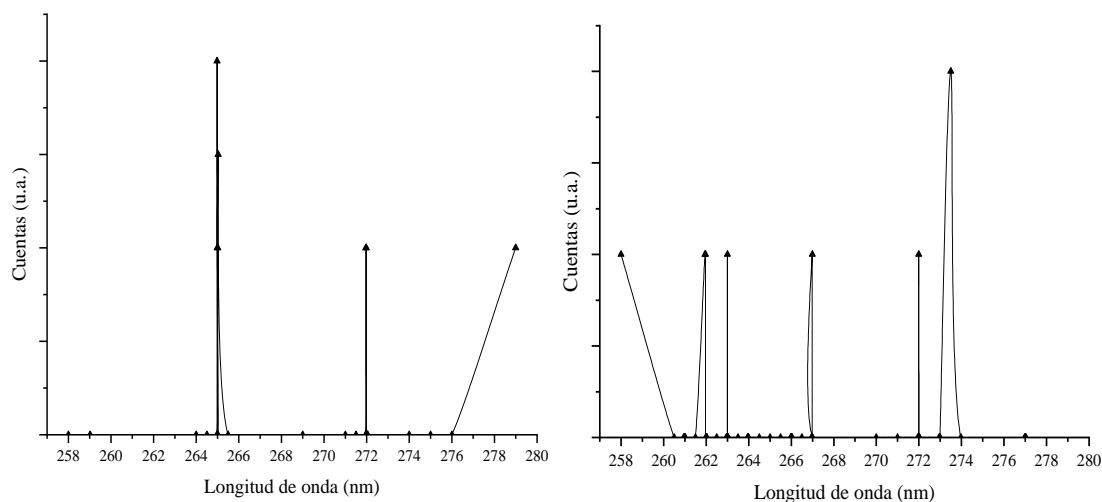
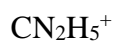


Figura 42. Señal del ion m/z 226, en función de la longitud de onda. En izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

El ion m/z 226 corresponde a un cúmulo, su masa es mayor a la del ion padre y se encuentra formado únicamente por fragmentos de adenina ya que al agregar el 1-propanol la señal en la posición correspondiente desaparece.

4.2.3.3. Iones que sólo aparecen en la parte experimental 1

A continuación, se describen los iones que se presentan solamente con la adenina pura:



El ion de m/z 45, mostrado en el ANEXOB, únicamente se manifiesta para la adenina aislada y en la zona de longitudes de onda en la que la mayoría de los iones se obtienen con mayor incidencia. Por tanto, la obtención de este fragmento se realiza mediante una vía altamente específica.

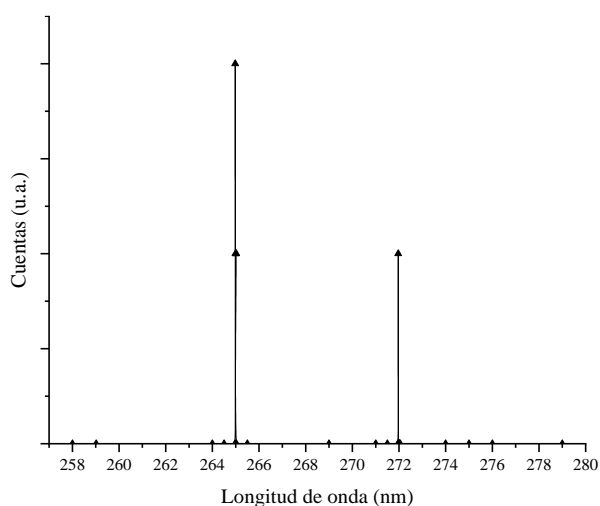


Figura 43. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}^+$ o $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}_2^+$ (m/z 54).

De la Fig. 43 podemos visualizar que los iones m/z 54, siendo más probable en formarse el ion $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}_2$, los cuales se producen muy específicamente a dos longitudes de onda. Sin embargo, a 264.98 nm, el crecimiento es más significativo y coincide con una de las longitudes de onda en las que las señales de otros iones abundan, lo que lleva a corroborar la existencia de una resonancia. El máximo a 271.98 nm también se comporta de igual forma.

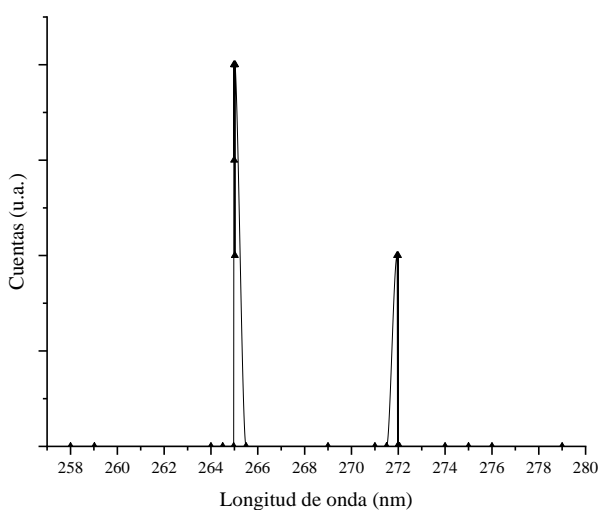


Figura 44. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2^+$ (m/z 60).

De acuerdo con los resultados mostrados en la Fig. 44 al incidir luz en el intervalo de 264.98 nm a 265.03 nm se obtiene el ion $C_2H_8N_2^+$ (m/z 60) con intensidad aceptable pero no abundante, por tanto, el mecanismo mediante el que se obtiene este fragmento a partir de la adenina es energéticamente muy específico.



Este ion, de m/z 139 es derivado del ion padre de la adenina, lo que indica que posiblemente para la estabilización éste último se haya enlazado con cuatro hidrógenos y los acomodara en su estructura para acceder a un producto estable energética y estructuralmente.

4.2.3.4. Iones propios de la mezcla de vapores de adenina y 1-propanol, parte experimental 2

A continuación, describiré los iones que se presentan únicamente para la adenina en presencia de 1-propanol:

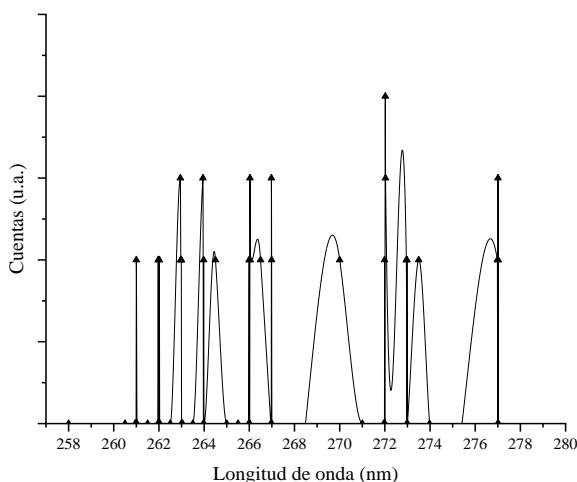


Figura 45. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion C_3N^+ o $C_4H_2^+$ (m/z 50).

El ion de m/z 50 crece a diferentes longitudes de onda, pero las señales no muestran un gran desarrollo de forma tal que su máximo no resalta significativamente (272.02 ± 0.04) nm. Por ende, el mecanismo para la formación de este fragmento es viable en una amplia gama de longitudes de onda; sin embargo, no es una ruta favorecida.

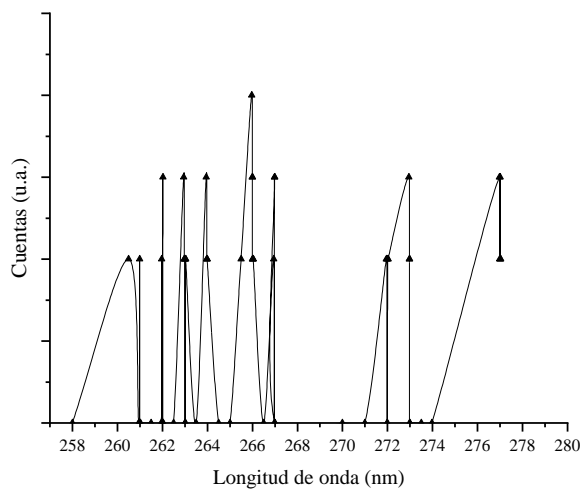
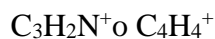
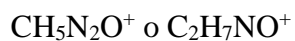


Figura 46. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_3\text{H}_2\text{N}^+ \text{ o } \text{C}_4\text{H}_4^+$ (m/z 52).

El ion $\text{C}_3\text{H}_2\text{N}^+ \text{ o } \text{C}_4\text{H}_4^+$ de m/z 52 presenta un comportamiento similar al ion $\text{C}_3\text{N}^+ \text{ o } \text{C}_4\text{H}_2^+$ de m/z 50, en este caso el máximo ligeramente pronunciado se encuentra a (265.97 ± 0.04) nm. Lo que sugiere que la producción de este ion no es una ruta principal de fragmentación, aunque se manifieste a diversas longitudes de onda.



Es altamente probable que el ion $\text{CH}_5\text{N}_2\text{O}^+ \text{ o } \text{C}_2\text{H}_7\text{NO}^+$ de m/z 61, mostrado en el ANEXO B, sea producto de la reacción entre fragmentos de adenina y 1-propanol. Este manifiesta su máximo crecimiento alrededor de la zona de $(276.98\text{-}277.01 \pm 0.04)$ nm.

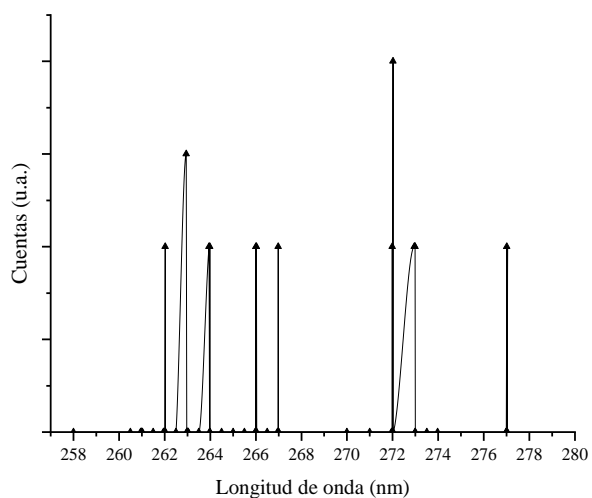


Figura 47. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_5^+$ (m/z 137).

Al enlazar dos protones al ion padre se puede formar este ion de relación m/z 137. También es posible que provenga de alguna isotopía de la adenina; pero al manifestar su crecimiento solamente a determinadas longitudes de onda y sin presentar unos máximos destacables se descarta esta posible composición del ion.

225

La formación del cúmulo de relación m/z 225, mostrado en el ANEXO B, se puede realizar a partir de una molécula de adenina, una de 1-propanol y un fragmento de este mismo o de adenina de masa 30.

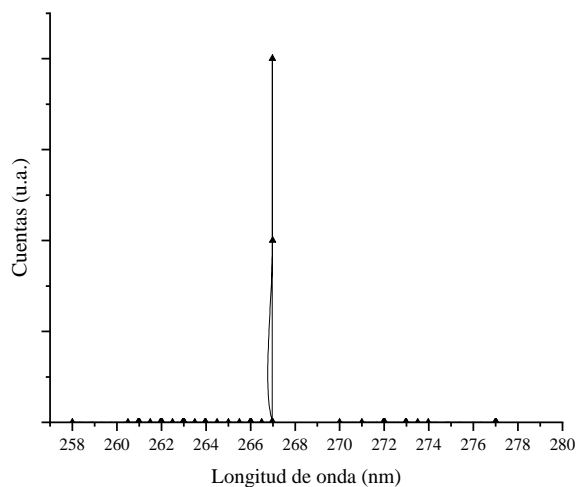


Figura 48. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el cúmulo de m/z 335.

El crecimiento de cúmulo de relación m/z 335 únicamente se favorece a (266.98 ± 0.04) nm, lo que indica que el mecanismo que lo produce es altamente específico, además de que para su formación se requieren dos moléculas de adenina, una de 1-propanol y cinco hidrógenos provenientes del medio. Por otra parte, existen observaciones donde alcoholes se enlazan a anillos púricos mediante reacciones fotoinducidas.⁶⁸

Luego de realizar el análisis de todos los iones se puede afirmar que los más abundantes son los que corresponden al C^+ . Al observar detenidamente los espectros se destacan algunas regiones en las que los iones muestran un máximo crecimiento. De esta forma es posible distinguir las longitudes de onda que corresponden a estados resonantes, en las que se presenta un aumento considerable en la producción de diferentes iones. Con el fin de analizar de forma adecuada el comportamiento tanto de la adenina como la mezcla de los vapores de adenina y 1-propanol, se tomaron los iones que se producen en ambos experimentos a los que se les asignó una estructura igual. Los resultados se muestran en las siguientes gráficas.

4.2.4. ANÁLISIS DE LAS LONGITUDES DE ONDA RESONANTES

4.2.4.1. ADENINA

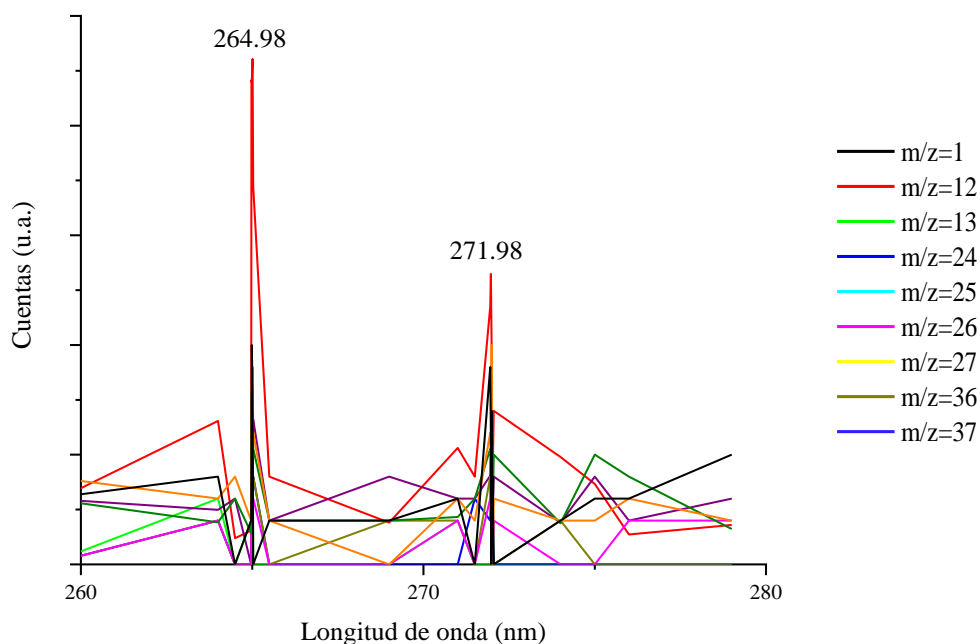


Figura 49. Gráficas en la que son evidentes las longitudes de onda en la que se presentan dos máximos evidentes, para cada uno de los iones cuando se realizaron medidas a 0.01 nm, a fin de ubicar los máximos de la manera más precisa posible.

A partir de los espectros de la ionización por absorción múltiple de fotones ha sido posible identificar dos resonancias correspondientes a las longitudes de onda de (264.98 ± 0.04) nm y (271.98 ± 0.04) nm, mostradas en la Fig.49.

Cálculos teóricos ¹ para el isómero 9H-adenina en estado gaseoso muestran que a la intersección cónica ${}^1L_b/{}^1n\pi^*$, medida desde el estado basal, ocurre a energías de (4.59 e/4.66) eV (geometría Cs) y (4.59/4.73) eV (geometría C1); donde 1L_b corresponde a una de las transiciones de menor energía ${}^1\pi\pi^*$. En este artículo también se discute la alta afinidad de las moléculas para alcanzar las intersecciones cónicas, no sólo como la ruta de decaimiento con mayor probabilidad en fase gaseosa, sino también la absorción tiende a ocurrir con mayor probabilidad; ya que la energía requerida para la transición es mínima al seguir la ruta energética a una intersección cónica ${}^1L_b/{}^1n\pi^*$. Así mismo en este artículo se muestra el efecto de los disolventes CH₃CN y H₂O que

producen corrimientos¹ en las energías de transición, similar a lo observado en los resultados reportados en este trabajo.

A continuación, se presentan las longitudes de onda a las que se observa un máximo en la producción de diferentes iones en la tabla 3, los valores corresponden a la adenina pura.

Tabla 3. Longitudes de onda en las que iones de la adenina presentan máximos, que pueden ser comparados con los obtenidos para la mezcla, que aparecen en la tabla 4.

Ion	Longitudes de onda con máximos [nm]
H ⁺	264.98
C ⁺	264.94, 271.97
CH ⁺	265.01
C ₂ ⁺	264.98, 271.98
C ₂ H ⁺	264.99, 271.98
CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺	264.99, 271.96
C ₂ N ⁺	265.01, 271.99
HCN ⁺ o C ₂ H ₃ ⁺	264.98, 271.98
H ₂ CN ⁺ o C ₂ H ₄ ⁺	265
C ₃ ⁺	264.98, 271.99
C ₃ H ⁺	264.98, 271.94

De la tabla 3 se observa que la aparición de los máximos a (264.98 y 271.98) nm son recurrentes. Por tanto, es posible que los iones que manifiestan máximos a estas longitudes de onda se generen a partir de la fragmentación de la adenina en el mismo estado energético.

4.2.4.2. ADENINA DISUELTA EN 1-PROPANOL

De acuerdo con lo observado en la tabla 4 aparecen varios máximos a longitudes de onda con un corrimiento hacia el rojo respecto a la adenina pura, tabla 3, de aproximadamente 1 nm. Este comportamiento es similar al reportado en otros estudios en donde se manifiesta que la barrera con respecto al mínimo de la transición $n \rightarrow \pi^*$ es de 0.10 eV, pero cuando se añade un disolvente polar esta desaparece debido al corrimiento al rojo que experimenta la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ respecto al estado electrónico basal, a la vez que la transición $n \rightarrow \pi^*$ se desplaza al azul.^{17,69}

Tabla 4. Longitudes de onda en las que iones de la mezcla de adenina con 1-propanol presentan máximos, que pueden ser comparados con los obtenidos para la adenina, tabla 3.

Ion	Longitudes de onda con máximos [nm]
H ⁺	265.97
C ⁺	262.94, 265.97, 277.02
CH ⁺	262.93, 265.94
C ₂ ⁺	265.97
C ₂ H ⁺	262.94, 265.97
CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺	262.93, 265.97, 277
C ₂ N ⁺	263.95, 265.97, 276.98
HCN ⁺ o C ₂ H ₃ ⁺	262.95, 265.99, 277.01
H ₂ CN ⁺ o C ₂ H ₄ ⁺	265.99, 266.97
C ₃ ⁺	262.94, 266, 276.98
C ₃ H ⁺	262.94, 266, 266.98, 277

Con respecto al comportamiento de la adenina acompañada de 1-propanol, ha sido reportado que los disolventes pueden afectar significativamente los tiempos de vida en estados excitados⁷⁰, en este caso a pesar de que el 1-propanol, al igual que la adenina, se encuentra en fase gaseosa se observa un efecto en los estados excitados. Por otra parte, se han realizado pocos estudios sobre las modificaciones que sufren las intersecciones cónicas de las bases nitrogenadas, incluyendo los diferentes isómeros, al solvatarse en distintos medios y como varía el decaimiento de los estados excitados¹. Teniendo en cuenta los estudios teóricos sobre el efecto del agua en el isómero N9H de la adenina se puede establecer que guarda correlación con el comportamiento de la adenina al estar en contacto con 1-propanol.^{2,3}

Respecto a la aparición de otros máximos, además de los observados en la adenina pura, una aproximación teórica señala que a 276.99 nm (4.4766 eV) ocurre la excitación de $n \rightarrow \pi^*$ ⁷¹. También se encuentran reportes a los cuales se les asigna la transición ${}^1L_b (\pi \rightarrow \pi^*)$.^{30,72,73} De ahí que es probable que las señales visualizadas alrededor de 276 nm son las correspondientes a una mezcla de las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ ⁷³. Por parte de la adenina, a longitudes de onda cercana 265.49 (4.67 eV), cálculos teóricos sugieren la presencia de la transición ${}^1L_b (n \rightarrow \pi^*)$ ⁷⁴, mientras que para 264.64 nm en otro estudio se indica que pertenece a la transición ${}^1L_b (\pi \rightarrow \pi^*)$.

CONCLUSIONES

El estudio de la mezcla de adenina con 1-propanol, metanol y terbutanol mediante absorción ultravioleta arrojó como resultado que el primer alcohol era el más adecuado para el experimento.

A partir del análisis de los productos de disociación en el intervalo de $(257-280 \pm 0.04)$ nm se observó la formación de distintos iones a partir de la adenina pura: H^+ , C^+ , CH^+ , NH^+ , C_2^+ , C_2H^+ , CN^+ o $C_2H_2^+$, HCN^+ o $C_2H_3^+$, $HCNH^+$, NH_2CH^+ , C_3^+ , C_3H^+ , C_2N^+ , $HCCN^+$, NCN^+ o $C_2H_2N^+$, $CH_2N_2^+$ o $C_2H_4N^+$, NH_3CN^+ o $C_2H_5N^+$, $CN_2H_4^+$, $CN_2H_5^+$, C_3HN^+ , $C_4H_3^+$ o C_3HN^+ y a partir de la mezcla: H^+ , C^+ , CH^+ , NH^+ o CH_3^+ , C_2^+ , C_2H^+ , CN^+ o $C_2H_2^+$, HCN^+ o $C_2H_3^+$, CO^+ o $HCNH^+$, CHO^+ o NH_2CH^+ , C_3^+ , C_3H^+ , $C_3H_2^+$, $HCCN^+$ o $C_3H_3^+$, C_2O^+ o $C_3H_4^+$, $C_2H_2O^+$ o $C_3H_6^+$, $CHNO^+$, $C_2H_3O^+$, $C_3H_7^+$, NH_3CN^+ o $C_2H_5N^+$, $C_2H_4O^+$, C_3N^+ o $C_4H_2^+$, $C_4H_3^+$ o C_3HN^+ , $C_2H_8N_2^+$, $CH_5N_2O^+$ o $C_2H_7NO^+$.

En el intervalo de radiación estudiado la adenina se presentan dos máximos a longitudes de onda de 264.98 nm y 271.98 nm, tabla 3. Este comportamiento es posible que corresponda a las resonancias de la adenina debidas a manifestaciones de la intersección cónica ${}^1L_b/{}^1n\pi^{*1,30}$. Mientras que para la mezcla en fase gaseosa de adenina junto con 1-propanol se encuentran más de dos máximos, mostrados en la tabla 4. A partir de la bibliografía consultada se puede sugerir intuitivamente que las longitudes de onda visualizadas corresponden a transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$.

Cuando se compara la producción de iones de la adenina pura con los que aparecen cuando se añaden los vapores de 1-propanol se observa un corrimiento hacia el rojo, de los máximos más notables. Por tanto, es posible concluir que los fragmentos observados a la misma longitud de onda son derivados del mismo estado de la molécula, lo cual provee información muy relevante para establecer las curvas de potencial propias de las rutas de disociación de la adenina.

Finalmente fue posible proponer algunos de los mecanismos de fragmentación para diferentes iones a partir de las especies moleculares (adenina y 1-propanol). También se logró detectar diferentes cúmulos mediante el análisis de los espectros derivados de reacciones fotoinducidas; algunos son derivados sólo de fragmentos de adenina (m/z correspondientes a 139 y 226), mientras que otros provienen posiblemente de ambas moléculas (137, 225, 226 y 335).

TRABAJO FUTURO

Con el fin de continuar con esta línea de investigación se sugiere realizar estudios similares sobre las bases nucleicas restantes (uracilo, timina, citosina y guanina); de esta forma se culminaría con el primer nivel de estudio para la comprensión de la interacción de la radiación con el ADN y ARN. Luego de comprender el comportamiento de las unidades estructurales básicas se propone analizar los pares guanina-citosina, adenina- timina y adenina-uracilo, con el fin de conocer a mayor profundidad los pares de bases nucleicas complementarias de forma tal que se encontraría información que soporte la estabilidad y mecanismos de daño del ADN y el ARN. El estudio finalizaría al analizar fragmentos de ADN provenientes de diferentes especies arrojando como resultado el conocer más detalles del comportamiento de la unidad fundamental de la vida.

Para realizar estudios que tengan aportes más significativos a nivel biológico se sugiere mezclar vapores de adenina con agua, los cuales serán más sencillos de realizar teniendo en cuenta el estudio reportado previamente⁷⁵. Al momento de ejecutarlo se deben tener en cuenta las recomendaciones realizadas respecto al comportamiento de esta molécula en solución^{76,77}; y realizar barridos en longitud de onda alrededor de 260 nm donde las bases nitrogenadas presentan la máxima absorción.

Por otra parte, se podría implementar un láser de femtosegundos al montaje experimental con el fin de determinar si la molécula estudiada al interactuar con la radiación procede a estabilizarse mediante la ionización-fragmentación o una fragmentación-ionización. Para ejecutar este experimento se debe variar la potencia del láser de mínima a máxima y estudiar su efecto en los espectros obtenidos; en caso de que no fuese detectado se tendría que implementar un experimento de bombeo- sonda.²⁸

ANEXOS

Anexo A. Metodología detallada del experimento principal.

Parte 1

A continuación, se describen los pasos realizados diariamente para la adquisición de los espectros de la adenina:

- Iniciar el flujo de agua y el gas de enfriamiento del sistema láser, junto con la ubicación del bloqueador de haz, *beamlock*, a la salida del láser luego esperar media hora para encender las lámparas y llevarlas a la mitad de potencia, donde se calientan por 15 minutos antes de llevarlas a su máxima potencia
- Encender de la bomba de membrana y después de quince minutos las bombas turbomoleculares.
- Desinhibir las lámparas del láser para que estas se calienten con el fin de estabilizar su emisión.
- Operar la jaula de iones, *ion Gauge*, para verificar que el vacío alcanzado sea mayor a 5×10^7 torr
- Encender el computador que posee el software controlador del OPO y el doblador de frecuencias
- Se optimizó el valor de los voltajes de las placas aceleradoras hasta adquirir datos con el mayor número de señales; de forma tal que la diferencia de potencial de las placas corresponda a 3000 V. Adicionalmente al detector se le suministra un voltaje de -1800 V.
- Ajustar el voltaje suministrado a las placas deflectoras y a las lentes Einzel de forma tal que el crecimiento de los picos sea el más alto. Este ajuste sólo se realiza al inicio de los experimentos
- Realizar barrido de fondo para corroborar que el sistema no presenta contaminación
- Conectar la manguera proveniente del gas de arrastre, argón, a la tubería
- Inserción de la sustancia de estudio en el portamuestra, posteriormente ajustarlo a la tubería de la válvula pulsada.

- Realizar extracción del aire de la tubería operando una bomba de membrana; de esta forma se evita la contaminación de aire en la muestra y el sistema.
- Calentar la muestra, adenina, y mantener su temperatura en el intervalo de $240 \text{ }^{\circ}\text{C} - 250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ⁷⁵
- Abrir las llaves del portamuestra y del gas de arrastre (He).
- Encender y programar el controlador de la válvula pulsada.
- Apagar el Ion Gauge
- Suministrar voltaje al preamplificador y encender el analizador de picosegundos
- Adquirir los espectros en la región objetivo empleando el software pTA32

Parte 2

Al realizar la toma de datos para la mezcla adenina con 1-propanol se requiere el desarrollo e implementación de nuevos aditamentos junto con la modificación de la tubería, por tanto, el procedimiento únicamente varía en los numerales 10 y 12. De ahí que se presentan dos portamuestras y en cada uno se deposita una de las sustancias, además el control de la temperatura de calentamiento se realiza de forma individual; así que el que contiene la adenina mantiene su temperatura en el intervalo de $(240 \pm 10) \text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que el de 1-propanol se encuentra a $(40 \pm 2) \text{ }^{\circ}\text{C}$ ⁷⁸.

Anexo C. Figuras de iones restantes.

Iones que se generan en ambos experimentos de igual estructura

HCNH⁺ o C₂H₄⁺

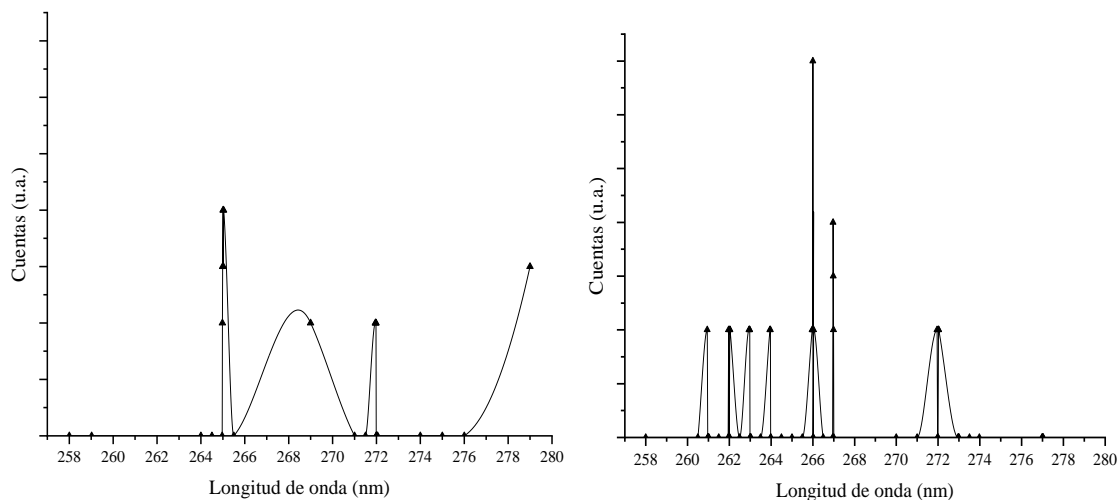


Figura 50. Señal del ion m/z 28, en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

C₂N⁺

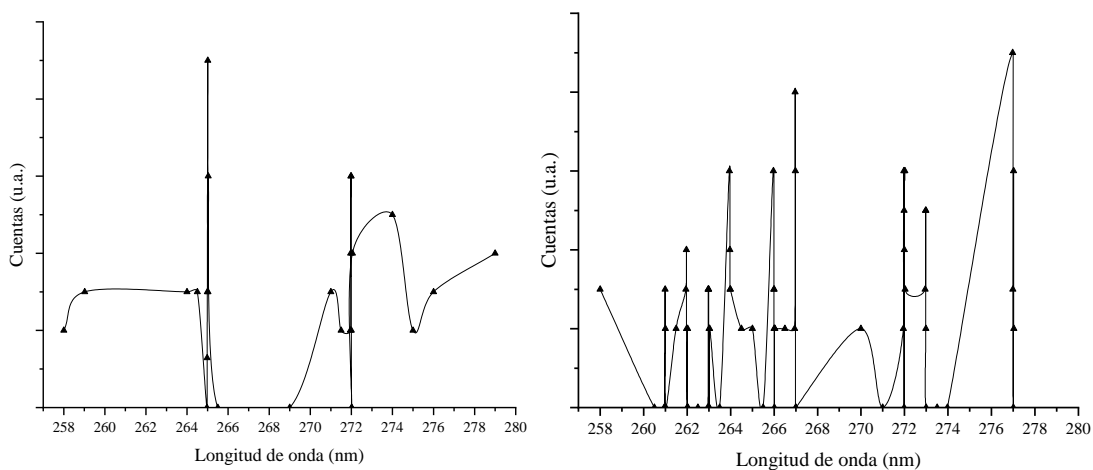


Figura 51. Señal del ion C₂N⁺ (m/z 38), en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

Iones que crecen en ambas regiones, pero sus estructuras pueden ser diferentes

m/z 42

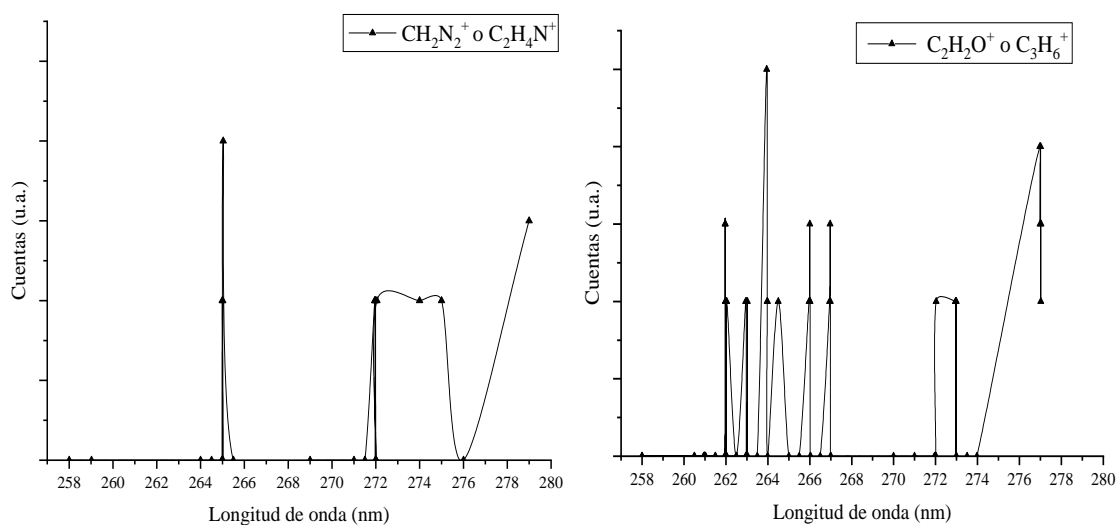


Figura 52. Señal del ion m/z 42, en función de la longitud de onda. En; a la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

m/z 43

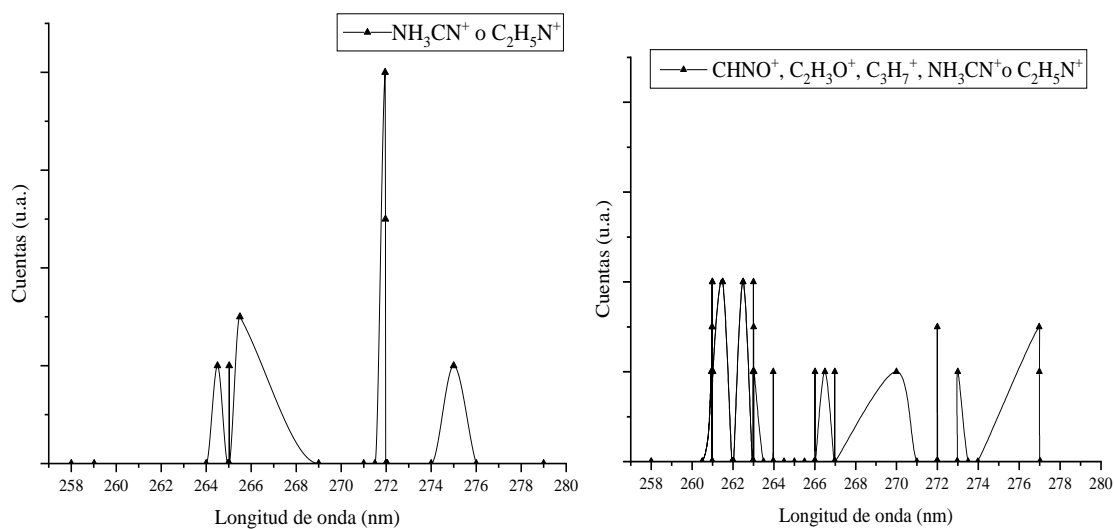


Figura 53. Señal del ion m/z 43, en función de la longitud de onda. En la izquierda se representan los resultados de la adenina, mientras que en la derecha los de la adenina acompañada por 1-propanol.

Iones que sólo aparecen en la parte experimental 1

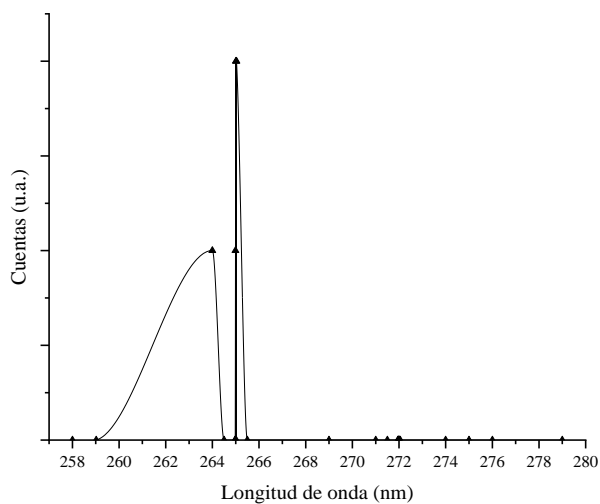
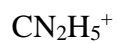


Figura 54. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion CN_2H_5^+ (m/z 45).

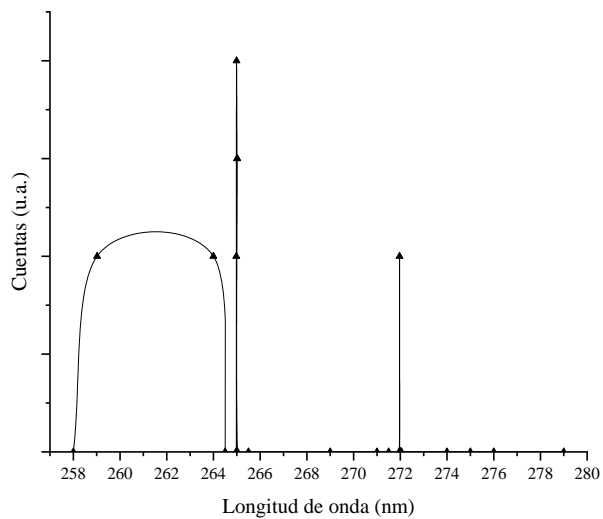


Figura 55. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el ion $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_5^+$ (m/z 139).

Iones propios de la mezcla de vapores de adenina y 1-propanol, parte experimental 2

$\text{CH}_5\text{N}_2\text{O}^+$ o $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}^+$

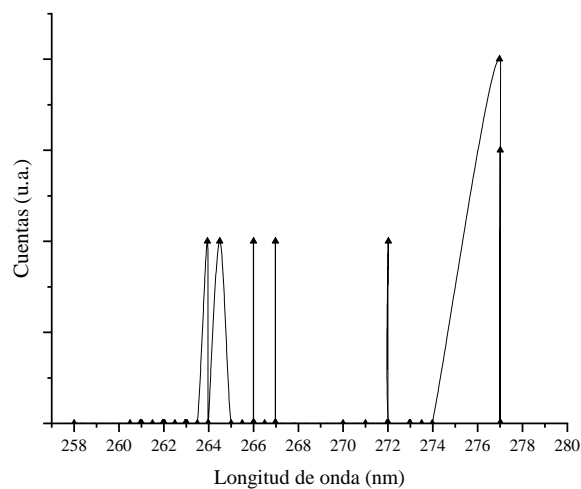


Figura 56. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para los iones de m/z 61.

225

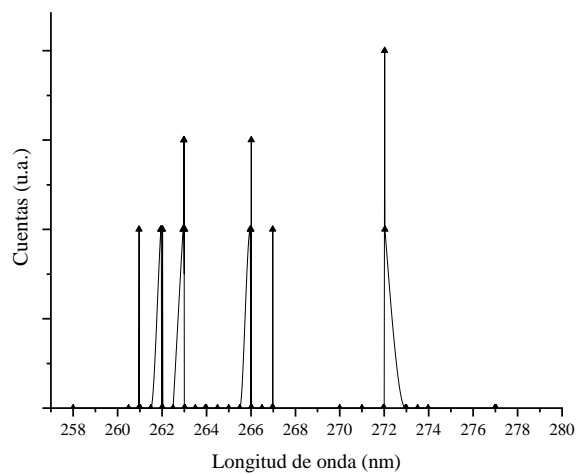


Figura 57. Crecimiento de la señal en función de la longitud de onda para el cúmulo de m/z 225.

Anexo E. Resultados Académicos

Artículos Publicados

L.X. Hallado, J.C. Poveda, E. Prieto, A. Guerrero, I. Álvarez, and C. Cisneros, 2018, Laser Radiation Effects on Adenine, J. Nucl. Phys. Mat. Sci. Rad. A. Vol. 6, No.1 pp.103–108.

Artículos aceptados para su publicación

L.X. Hallado, E. Prieto, A. Guerrero, I. Álvarez, and C. Cisneros, 2020, Effect of Laser Radiation on Biomolecules, J. Nucl. Phys. Mat. Sci. Rad. A.

Trabajos Presentados en Congresos

Luisa X. Hallado, Eladio Prieto, Ignacio Álvarez, Alfonso Guerrero, M. del Carmen Cisneros. Fragmentation of Adenine and Uracil with Laser Light. XLI Colloquium Spectroscopicum Internationale and I Latino American Meeting on LIBS. Ciudad de México. México. 9-14 junio del 2019.

Luisa X. Hallado, Eladio Prieto, Ignacio Álvarez, Alfonso Guerrero, M. del Carmen Cisneros. The interaction of 355 nm laser light on Adenine and Uracil. XXXIst International Conference on Photonic, Electronic, and Atomic Collisions, Ciudad: Deauville. Francia. 23-30 julio del 2019.

Luisa X. Hallado, Eladio Prieto, Ignacio Álvarez, Alfonso Guerrero, M. del Carmen Cisneros. Effect of laser radiation on biomolecules. XV International Symposium on Radiation Physics (XV-ISRP-2019). Villahermosa, Tabasco. México. 8-10 octubre del 2019.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Yamazaki, S.; Kato, S. Solvent Effect on Conical Intersections in Excited-State 9H-Adenine: Radiationless Decay Mechanism in Polar Solvent. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (10), 2901–2909. <https://doi.org/10.1021/ja0669169>.
- (2) Mennucci, B.; Toniolo, A.; Tomasi, J. Theoretical Study of the Photophysics of Adenine in Solution: Tautomerism, Deactivation Mechanisms, and Comparison with the 2-Aminopurine Fluorescent Isomer. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105* (19), 4749–4757. <https://doi.org/10.1021/jp0045843>.
- (3) Perun, S.; Sobolewski, A. L.; Domcke, W. Photostability of 9H-Adenine: Mechanisms of the Radiationless Deactivation of the Lowest Excited Singlet States. *Chem. Phys.* **2005**, *313* (1–3), 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2005.01.005>.
- (4) Plützer, C.; Nir, E.; de Vries, M. S. ; Kleinermanns, K. IR -UV Double-Resonance Spectroscopy of the Nucleobase Adenine. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 5466–5469. <https://doi.org/10.1039/b107997b>.
- (5) Gomes, P. J.; Ribeiro, P. A.; Shaw, D.; Mason, N. J.; Raposo, M. UV Degradation of Deoxyribonucleic Acid. *Polym. Degrad. Stab.* **2009**, *94* (12), 2134–2141. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.09.013>.
- (6) Ravanat, J. L.; Douki, T. UV and Ionizing Radiations Induced DNA Damage, Differences and Similarities. *Radiat. Phys. Chem.* **2016**, *128*, 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.07.007>.
- (7) Schuch, A. P.; Moreno, N. C.; Schuch, N. J.; Menck, C. F. M.; Garcia, C. C. M. Sunlight Damage to Cellular DNA: Focus on Oxidatively Generated Lesions. *Free Radic. Biol. Med.* **2017**, *107* (September 2017), 110–124. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.029>.
- (8) Ashfold, M. N. R.; Langford, S. R.; Morgan, R. A.; Orr-Ewing, A. J.; Western, C. M.; Scheper, C. R.; Lange, C. A. De. Resonance Enhanced Multiphoton Ionization (REMPI) and REMPI-Photoelectron Spectroscopy of Ammonia. *Eur. Phys.* **1998**, *4*, 189–197. <https://doi.org/10.1007/s100530050199>.
- (9) Zimmermann, R.; Heger, H. J.; Kettrup, A.; Boesl, U. A Mobile Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Device for On-Line Analysis of Aromatic Pollutants in Waste Incinerator Flue Gases : First Results. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 1095–1102. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19970630\)11:10<1095::AID-RCM960>3.3.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19970630)11:10<1095::AID-RCM960>3.3.CO;2-H).
- (10) Lubman, D. M.; Kronick, M. N. Mass Spectrometry of Aromatic Molecules with Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 660–665.
- (11) Gilliéron, C. Spectroscopy and Structure of the Naphthalene Dimer. *Boomerang Trans.* **2006**, *1*, 1–6.
- (12) Cao, L.; Mu, F.; Adam, T.; Streibel, T.; Wang, H. Z.; Kettrup, A.; Zimmermann, R. Resonance -Enhanced Multiphoton Ionization and VUV-Single Photon Ionization as Soft and Selective Laser Ionization Methods for On-Line Time-of-Flight Mass Spectrometry: Investigation of the Pyrolysis of Typical Organic Contaminants in the Steel Recycli. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 5639–5645.
- (13) Beattie, D. A.; Cockett, M. C. R.; Lawley, K. P.; Donovan, R. J. (2 + 1) REMPI Spectra of the I – Kr and I – N van Der Waals Complexes and the (2 + 1^o) ZEKE – PFI Photoelectron Spectrum of I – Kr. *Faraday Trans.* **1997**, *93*, 4245–4251.
- (14) Oser, H.; Coggiola, M. J.; Faris, G. W.; Young, S. E.; Volquardsen, B.; Crosley, D. R.

- Development of a Jet-REMPI (Resonantly Enhanced Multiphoton Ionization) Continuous Monitor for Environmental Applications. *Appl. Opt.* **2001**, *40* (6), 859–865.
- (15) Orea, J. M.; Besco, B.; Montero, C.; Uren, A. G. Analysis of Carbendazim in Agricultural Samples by Laser Desorpt Ion and REMPI Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **1998**, *70* (3), 491–497.
- (16) Blease, T. G.; Donovan, R. J.; Langridge-Smith, P. R. R.; Ridley, T. (2 + 2) Resonance Enhanced Multiphoton Ionization Spectra of Jet-Cooled Ortho-, Meta- and Para-Xylene. *Laser Chem.* **1988**, *9*, 241–263.
- (17) Kim, N. J.; Jeong, G.; Kim, Y. S.; Sung, J.; Kim, S. K.; Park, Y. D. Resonant Two-Photon Ionization and Laser Induced Fluorescence Spectroscopy of Jet-Cooled Adenine. *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 10051–10055. <https://doi.org/10.1063/1.1322072>.
- (18) Lin, J.; Yu, C.; Peng, S.; Akiyama, I.; Li, K.; Lee, L. K.; LeBreton, P. R. Ultraviolet Photoelectron Studies of the Ground-State Electronic Structure and Gas-Phase Tautomerism of Purine and Adenine. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102* (14), 4627–4631. <https://doi.org/10.1021/ja00534a010>.
- (19) Kitadai, N.; Maruyama, S. Origins of Building Blocks of Life: A Review. *Geosci. Front.* **2018**, *9* (4), 1117–1153. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2017.07.007>.
- (20) Michaelian, K. Microscopic Dissipative Structuring and Proliferation at the Origin of Life. *Heliyon* **2017**, *3*, 424. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017>.
- (21) Schapiro, I.; Melaccio, F.; Laricheva, E. N.; Olivucci, M. Using the Computer to Understand the Chemistry of Conical Intersections. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, *10* (6), 867–886. <https://doi.org/10.1039/c0pp00290a>.
- (22) L., S.-A.; J.J., S.-P. Calculation of Excited States: Molecular Photophysics and Photochemistry on Display. In *Handbook of Computational Chemistry*; Springer, Cham, **2017**; pp 639–725. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-27282-5_14.
- (23) Crespo-Hernández, C. E.; Cohen, B.; Hare, P. M.; Kohler, B. Ultrafast Excited-State Dynamics in Nucleic Acids. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (4), 1977–2019. <https://doi.org/10.1021/cr0206770>.
- (24) Shukla, M. K.; Leszczynski, J. Tautomerism in Nucleic Acid Bases and Base Pairs: A Brief Overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. November **2013**, pp 637–649. <https://doi.org/10.1002/wcms.1145>.
- (25) Ponnampertuma, C.; Marner, R. Formation of Adenosine by Ultra-Violet Irradiation of a Solution of Adenine and Ribose. *Nature* **1963**, *198* (4886), 1199–1200.
- (26) Murgola, E. J. Adenine. In *Encyclopedia of Genetics*; Elsevier, 2001; p 9. <https://doi.org/10.1006/rwgn.2001.0008>.
- (27) Markovitsi, D.; Sage, E.; Lewis, F. D.; Davies, J. Interaction of UV Radiation with DNA. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2013**, *12* (8), 1256–1258. <https://doi.org/10.1039/c3pp90021e>.
- (28) Kang, H.; Lee, K. T.; Jung, B.; Ko, Y. J.; Kim, S. K. Intrinsic Lifetimes of the Excited State of DNA and RNA Bases. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (44), 12958–12959. <https://doi.org/10.1021/ja027627x>.
- (29) Improta, R.; Barone, V. The Excited States of Adenine and Thymine Nucleoside and Nucleotide in Aqueous Solution: A Comparative Study by Time-Dependent DFT Calculations. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120* (4–6), 491–497. <https://doi.org/10.1007/s00214-007-0404-5>.
- (30) Nix, M. G. D.; Devine, A. L.; Cronin, B.; Ashfold, M. N. R. Ultraviolet Photolysis of Adenine: Dissociation via the $1\pi\sigma^*$ State. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126* (12), 1–10. <https://doi.org/10.1063/1.2712843>.

- (31) Serrano-Andrés, L.; Merchán, M.; Borin, A. C. Adenine and 2-Aminopurine: Paradigms of Modern Theoretical Photochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103* (23), 8691–8696. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602991103>.
- (32) Poch, O.; Kaci, S.; Stalport, F.; Szopa, C.; Coll, P. Laboratory Insights into the Chemical and Kinetic Evolution of Several Organic Molecules under Simulated Mars Surface UV Radiation Conditions. *Icarus* **2014**, *242*, 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.07.014>.
- (33) Limão-Vieira, P.; Costa, A. M.; Oliveira, S.; Gomes, P. J.; Ribeiro, P. A.; Raposo, M. Photoabsorption of Biomolecules and Radiation Damage - Studies in Adenine Films. In *Journal of Physics: Conference Series*; Institute of Physics Publishing, **2007**; Vol. 88. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/88/1/012004>.
- (34) Voet, D.; Gratzer, W. B.; Cox, R. A.; Doty, P. Absorption Spectra of Nucleotides, Polynucleotides, and Nucleic Acids in the Far Ultraviolet. *BIOPOLYMERS* **1963**, *1*, 193–208.
- (35) Ravanat, J.-L.; Douki, T.; Cadet, J. UV Damage to Nucleic Acid Components. In *Sun Protection in Man*; Giacomoni, P. U., Ed.; Elsevier Science B.V, **2001**; pp 207–230.
- (36) *A Review of Human Carcinogens. Part D: Radiation / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, Francia, 2009.
- (37) Kerr, J. B.; Fioletov, V. E. Surface Ultraviolet Radiation. *Atmosphere - Ocean*. March **2008**, pp 159–184. <https://doi.org/10.3137/ao.460108>.
- (38) Hörst, S. M. Titan's Atmosphere and Climate. *J. Geophys. Res. Planets* **2017**, *122* (3), 432–482. <https://doi.org/10.1002/2016JE005240>.
- (39) Mahjoub, A.; Schwell, M.; Carrasco, N.; Benilan, Y.; Cernogora, G.; Szopa, C.; Gazeau, M. C. Characterization of Aromaticity in Analogues of Titan's Atmospheric Aerosols with Two-Step Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. *Planet. Space Sci.* **2016**, *131*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.pss.2016.05.003>.
- (40) Hörst, S. M.; Tolbert, M. A. In Situ Measurements of the Size and Density of Titan Aerosol Analogs. *Astrophys. J. Lett.* **2013**, *770* (1). <https://doi.org/10.1088/2041-8205/770/1/L10>.
- (41) Hörst, S. M.; Yoon, Y. H.; Ugelow, M. S.; Parker, A. H.; Li, R.; de Gouw, J. A.; Tolbert, M. A. Laboratory Investigations of Titan Haze Formation: In Situ Measurement of Gas and Particle Composition. *Icarus* **2018**, *301*, 136–151. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2017.09.039>.
- (42) Saladino, R.; Botta, G.; Pino, S.; Costanzo, G.; Di Mauro, E. Genetics First or Metabolism First? The Formamide Clue. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (16), 5526–5565. <https://doi.org/10.1039/c2cs35066a>.
- (43) Ferris, J. P.; Orgel, L. E. An Unusual Photochemical Reagent in the Synthesis of Adenine from Hydrogen Cyanide. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87* (2), 308.
- (44) Szabla, R.; Göra, R. W.; Šponer, J.; Šponer, J. E. Molecular Mechanism of Diaminomaleonitrile to Diaminofumaronitrile Photoisomerization: An Intermediate Step in the Prebiotic Formation of Purine Nucleobases. *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20* (9), 2515–2521. <https://doi.org/10.1002/chem.201304224>.
- (45) Yamamoto, O.; Fuji, I. Degradation of Adenine in Aqueous Solution Containing 3HHO. Comparison with 60Co Gamma-Radiolysis. *J. Radiat. Res. J. Radiat. Res.* **1986**, *27*, 130–139.
- (46) Gunzer, F.; Krüger, S.; Grotemeyer, J. Photoionization and Photofragmentation in Mass

- Spectrometry with Visible and UV Lasers. *Mass Spectrom. Rev.* **2019**, 38 (2), 202–217. <https://doi.org/10.1002/mas.21579>.
- (47) Grotemeyer, J.; Schlag, E. W. Multiphoton-Ionization-Mass Spectrometry (MUPI-MS). *Angew. Chemie Int. Ed.* **1988**, 27 (4), 447–592.
- (48) Tanada, T. N.; Velazquez, J.; Hemmi, N.; Cool, T. A. Surrogate Detection for Continuous Emission Monitoring by Resonance Ionization. *Combust. Sci. Technol.* **1994**, 101 (1–6), 333–348. <https://doi.org/10.1080/00102209408951881>.
- (49) Hager, J. W.; Wallace, S. C. Two-Laser Photoionization Supersonic Jet Mass Spectrometry of Aromatic Molecules. *Anal. Chem.* **1988**, 60 (1), 5–10. <https://doi.org/10.1021/ac00152a003>.
- (50) Nesselrodt, D. R.; Baer, T. *Feature Article 2 + 1 Resonance Enhanced Multiphoton Ionization Spectroscopy as a Tool for Stereochemical and Conformational Analysis of Substituted Five- and Six-Membered Rings*; **1996**; Vol. 377.
- (51) Gross, J. H. *Mass Spectrometry*, Second.; Roepstorff, P., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2011**. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-10711-5>.
- (52) Eliseev, S. Design, Construction and Commissioning of an Ortho-TOF Mass Spectrometer for Investigations of Exotic Nuclei, II. Physical Institute Justus-Liebig University Giessen, **2004**.
- (53) Tabrizchi, M.; Farrokhpour, H.; Abyar, F.; Azad, H.; Mirian, M.; Ilbeigi, V. Design, Construction and Calibration of a Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometer. *Phys. Chem. Res.* **2014**, 2 (2), 202–216. <https://doi.org/10.22036/pcr.2014.5975>.
- (54) Christian, N. P.; Arnold, R. J.; Really, J. P. Improved Calibration of Time-of-Flight Mass Spectra by Simplex Optimization of Electrostatic Ion Calculations. *Anal. Chem.* **2000**, 72 (14), 3327–3337. <https://doi.org/10.1021/ac991500h>.
- (55) Optics, O. Absorbance <https://oceanoptics.com/measurementtechnique/absorbance/>.
- (56) Requena Rodriguez, A.; Zuñiga Román, J. *Espectroscopía*; Capella, I., Ed.; PEARSON EDUCACIÓN S.A: Madrid, **2004**.
- (57) Spectra-Physics. *Quanta -Ray PRO-Series Pulsed Nd:YAG Lasers User's Manual*; Mountain View, **1999**.
- (58) Yariv, A. *Quantum Electronics*, Third.; John Wiley & Sons: United States of America, **1989**.
- (59) Herskovits, T. T.; Harrington, J. P. Solution Studies of the Nucleic Acid Bases and Related Model Compounds. Solubility in Aqueous Alcohol and Glycol Solutions. *Biochemistry* **1972**, 11 (25), 4800–4811.
- (60) Scruggs, R. L.; Achter, E. K.; Ross, P. D. *The Thermodynamic Effects of Exposing Nucleic Solubility Measurements in Water and Organic Solvents Acid Bases to Water*; **1972**; Vol. 11.
- (61) Tanaka, M.; Nagakura, S. Electronic Structures and Spectra of Adenine and Thymine. *Theor. Chim. Acta* **1966**, 6 (4), 320–332. <https://doi.org/10.1007/BF00537278>.
- (62) Swaminathan, M.; Dogra, S. K. “Organic Solvents”; *Wiley-Interscience: Absorption Spectra of 5-Aminoindazole in Different Solvents at 298 K*; **1983**; Vol. 105.
- (63) Hammud, H. H.; Bouhadir, K. H.; Masoud, M. S.; Ghannoum, A. M.; Assi, S. A. Solvent Effect on the Absorption and Fluorescence Emission Spectra of Some Purine Derivatives: Spectrofluorometric Quantitative Studies. *J. Solution Chem.* **2008**, 37 (7), 895–917. <https://doi.org/10.1007/s10953-008-9289-8>.
- (64) Barrio, M. D. C. G.; Scopes, D. I. C.; Holtwick, J. B.; Leonard, N. J. Syntheses of All Singly Labeled [¹⁵N]Adenines: Mass Spectral Fragmentation of Adenine. *Proc. Natl.*

- Acad. Sci.* **1981**, 78 (7), 3986–3988. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.7.3986>.
- (65) Occolowitz, J. L. Carbon-14 as a Label in Mass Spectrometry. *Chem. Commun.* **1968**, No. 1094, 1226–1227.
- (66) Sethi, S. K.; Gupta, S. P.; Jenkins, E. E.; Whitehead, C. W.; Townsend, L. B.; McCloskey, J. A. Mass Spectrometry of Nucleic Acid Constituents. Electron Ionization Spectra of Selectively Labeled Adenines. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104 (12), 3349–3353. <https://doi.org/10.1021/ja00376a017>.
- (67) Sadr-Arani, L.; Mignon, P.; Chermette, H.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M. Fragmentation Mechanisms of Cytosine, Adenine and Guanine Ionized Bases. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, 17 (17), 11813–11826. <https://doi.org/10.1039/c5cp00104h>.
- (68) Steinmau, H.; Rosenthal, I.; Elad, D. Photochemical and Y-Ray-Induced Reactions of Purines and Purine Nucleosides with 2-Propanol. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 13 (9), 4921–4923. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- (69) Marian, C. M. A New Pathway for the Rapid Decay of Electronically Excited Adenine. *J. Chem. Phys.* **2005**, 122 (10), 1–13. <https://doi.org/10.1063/1.1861452>.
- (70) Villabona-Monsalve, J. P.; Noria, R.; Matsika, S.; Peón, J. On the Accessibility to Conical Intersections in Purines: Hypoxanthine and Its Singly Protonated and Deprotonated Forms. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134 (18), 7820–7829. <https://doi.org/10.1021/ja300546x>.
- (71) Perun, S.; Sobolewski, A. L.; Domcke, W. Ab Initio Studies on the Radiationless Decay Mechanisms of the Lowest Excited Singlet States of 9H-Adenine. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (17), 6257–6265. <https://doi.org/10.1021/ja044321c>.
- (72) Plützer, C.; Kleinermanns, K. Tautomers and Electronic States of Jet-Cooled Adenine Investigated by Double Resonance Spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, 4 (20), 4877–4882. <https://doi.org/10.1039/B204595H>.
- (73) Kim, N. J.; Kang, H.; Park, Y. D.; Kim, S. K. Dispersed Fluorescence Spectroscopy of Jet-Cooled Adenine. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6 (10), 2802–2805. <https://doi.org/10.1039/b313467a>.
- (74) Blancafort, L. Excited-State Potential Energy Surface for the Photophysics of Adenine. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (1), 210–219. <https://doi.org/10.1021/ja054998f>.
- (75) Kim, N. J.; Kim, Y. S.; Jeong, G.; Ahn, T. K.; Kim, S. K. Hydration of DNA Base Cations in the Gas Phase. *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, 219, 11–21.
- (76) Kilday, M. V. Enthalpies of Solution of Nucleic Acid Bases. 1. Adenine in Water. *J. Res. Natl. Bur. Stand. (1934)*. **1978**, 83 (4), 347–370.
- (77) Devoe, H.; Wasik, S. P. Aqueous Solubilities and Enthalpies of Solution of Adenine and Guanine. *J. Solution Chem.* **1984**, 13 (1), 51–60.
- (78) Van Ness, H. C.; Soczek, C. A.; Peloquin, G. L.; Machado, R. L. Thermodynamic Excess Properties of Three Alcohol-Hydrocarbon Systems. *J. Chem. Eng. Data* **1967**, 12 (2), 217–224.