



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA**  
**INSTITUTO DE GEOLOGÍA**

**DESCOMPOSICIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS GLICINA Y ALANINA EN  
CONDICIONES SIMULADAS DE METEORITAS, RELEVANCIA EN QUÍMICA  
PREBIÓTICA**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

**PRESENTA:**

**KAREN MELISSA LERIN MORALES**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DRA. MARÍA COLÍN GARCÍA**

**INSTITUTO DE GEOLOGÍA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX , DICIEMBRE, 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Posgrado en Ciencias de la Tierra UNAM por permitirme continuar mi formación académica en el programa de Maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al proyecto CONACyT A1-S-25341 por otorgar los recursos para llevar a cabo esta investigación

Al Laboratorio de Evolución Química del Instituto de Ciencias Nucleares por permitirme utilizar sus instalaciones en donde se realizó el trabajo experimental.

Al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica, LUCE-ICAT-UNAM y al Dr. José Ocotlán Flores Flores por su ayuda en la caracterización de las muestras mediante la Técnica de espectroscopía IR

A la Dra. María Colín García por permitirme trabajar bajo su tutoría, por todos sus consejos que ayudaron a mi formación y sobre todo por su paciencia.

A la Dra. Alicia Negrón Mendoza y a la Dra. Karina Elizabeth cervantes por ser parte del comité de tutores y por su apoyo en la realización de este trabajo y en mi formación.

A la Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcua y al Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia por aceptar ser parte del jurado y por sus valiosas observaciones.

Al Fis. Francisco García y al M. en C. Benjamín Leal, por su ayuda con la irradiación de las muestras

A la Q.F.B. Claudia Camargo por su ayuda en el Laboratorio.

A todos mis compañeros del laboratorio, a la M.C. Lucía A. Gonzales López por su ayuda en la estandarización de la técnica para cuantificación de aminoácidos por UHPLC y por estar al pendiente de mí, ayudándome en todo. A la M.C. Abigail E. Cruz Hernández y al M.C. Saúl A. Villafañe Barajas por su apoyo en el uso de la técnica de cuantificación de aminoácidos por ninhidrina. Al Lic. Claudio A. Fuentes Carreón y la M.C. M. Luisa Ramírez por su apoyo en el uso del cromatógrafo. Y a mis demás compañeros Paty, Ulises, Anayelly, Daniel, Rosy y Guadalupe por hacer la estancia en el laboratorio más divertida.

## Contenido

Resumen.....	1
Capítulo 1 .....	3
1.    Introducción .....	3
1.1. Química prebiótica .....	3
1.2 Meteoritas.....	3
1.3. Condritas .....	4
1.4. Materia orgánica en condritas carbonáceas.....	5
1.5. Estudios de aminoácidos en ambientes prebióticos.....	12
1.6. Aminoácidos y minerales utilizados en este trabajo.....	13
2.    Planteamiento del problema .....	15
3.    Justificación .....	15
4.    Hipótesis.....	16
5.    Objetivos .....	16
Objetivo general.....	16
Objetivos específicos:.....	16
6.    Referencias.....	17
Capítulo 2 .....	25
Método.....	25
Experimentos de sorción.....	25
Experimentos de irradiación .....	28
Referencias.....	29
Capítulo 3 .....	30
Resultados y discusión .....	30
Punto de carga cero .....	30
Sorciones .....	35
Análisis IR .....	45
Cinéticas de sorción .....	55
Isotermas de sorción .....	57
Descomposición de los aminoácidos en presencia de radiación y los minerales .....	63
Relevancia en estudios de química prebiótica .....	71
Referencias.....	72

Capitulo 4 .....	77
Conclusiones .....	77
Anexos .....	78
Anexo 1. Curvas de calibración con el método de ninhidrina.....	78
Anexo 2. Curvas de titulación para el cálculo del p.z.c. de los minerales por el método 1. ....	79
Anexo 3. Reporte técnico de cuantificación de aminoácidos por HPLC con el método de derivatización con fenilisotiocianato. ....	80
Anexo 4. Ajuste de los datos de descomposición de los aminoácidos en presencia de minerales al modelo exponencial. ....	94
Anexo 5. Cálculos de G.....	95

## Resumen

Las meteoritas son cuerpos rocosos provenientes del espacio que han caído en la Tierra. Gracias a que se han podido recuperar muestras y a su análisis posterior, se ha logrado determinar que algunos de ellos son ricos en materia orgánica. Entre los compuestos orgánicos identificados en los meteoritas varios son importantes para la vida actual, entre ellos están los ácidos carboxílicos, los aminoácidos y bases nitrogenadas entre otros. Este hallazgo llevó a sugerir que las meteoritas pudieron aportar materia orgánica, necesaria para el surgimiento de la vida, a la Tierra primitiva.

Las condritas carbonosas han recibido mayor atención en los estudios de química prebiótica, debido a que poseen un contenido mayor de materia orgánica. Además, constituyen el material más primitivo del sistema solar porque no experimentaron diferenciación. A pesar de no estar diferenciadas, las condritas han estado expuestas a altas temperaturas y radiación, provocadas por la acreción (durante su formación) y por la presencia de isótopos radiactivos. Las temperaturas alcanzadas favorecieron la presencia de agua líquida en estos cuerpos; lo que a su vez permitió la formación de más minerales, además de sus constituyentes principales: olivinos y piroxenos. Algunos de los minerales que se formaron por la presencia de agua líquida incluyen a los carbonatos, los sulfatos, la magnetita y las arcillas.

Las meteoritas constituyen ambientes en los que las moléculas orgánicas pueden interactuar con minerales, estar expuestos a fuentes de energía. En estos cuerpos pueden ocurrir reacciones de descomposición y síntesis de las moléculas orgánicas. Estos procesos son relevantes en evolución química y pueden reproducirse a través de simulaciones en laboratorio.

En este trabajo se estudió el papel que pudieron tener las meteoritas tipo condritas como acarreadores de moléculas orgánicas, se estudiaron dos aminoácidos: glicina y alanina, constituyentes de las proteínas. Los experimentos se realizaron considerando dos factores que pueden tener un efecto en los aminoácidos: la radiación ionizante (que estuvo presente desde la formación de las meteoritas) y la presencia de dos minerales (olivino y montmorillonita) constituyentes de las meteoritas tipo condritas carbonáceas. Se realizaron pruebas de sorción de los aminoácidos en los minerales (olivino y montmorillonita) a distintas condiciones de pH, e isotermas para determinar las interacciones entre ellos. Posteriormente, se irradiaron con radiación gamma en dosis altas (hasta 3.5 MGy aproximadamente) para comprobar su estabilidad en presencia de los dos minerales.

Los resultados indican que las dos moléculas orgánicas estudiadas pueden interactuar con los minerales y que dicha interacción es dependiente del pH. Tanto la glicina como la L-alanina se unen preferentemente a la montmorillonita, respecto al olivino. El mecanismo principal es el intercambio catiónico, en el caso de la montmorillonita; e interacción por

cargas para el caso del olivino. En los experimentos de irradiación se observó que los aminoácidos son capaces de resistir dosis de hasta 3.5 MGy. La montmorillonita es el mineral que protege mejor a los aminoácidos debido a que estos se sorben en el canal interlaminar. Además, los valores de la constante de descomposición  $k$  indican que los aminoácidos se descomponen más rápido en presencia de minerales. Entonces, la interacción que tiene los minerales con los aminoácidos, no sólo puede ser protectora, sino también catalizadora.

Los resultados obtenidos son de relevancia para los estudios de química prebiótica pues se observó, por un lado, que los aminoácidos son resistentes ante grandes dosis de radiación; y por el otro, que la presencia de minerales afecta la descomposición de los aminoácidos. De esta manera, se pudo comprobar que las reacciones que ocurren en las meteoritas son complejas y que la persistencia de la materia orgánica (en particular de los aminoácidos) que contienen podría estar relacionada con la composición de la matriz mineral.

# Capítulo 1

## 1. Introducción

### 1.1. Química prebiótica

La química prebiótica es una disciplina teórica, práctica y observacional, que estudia la síntesis y organización de los compuestos orgánicos que originaron la vida en entornos geológicos plausibles (Cleaves, 2012). Los entornos plausibles en los que pudo haber ocurrido la síntesis de moléculas orgánicas en la Tierra primitiva son la atmósfera, los cuerpos de agua y los ambientes hidrotermales (Cleaves, 2013). En estos ambientes había fuentes de energía como las descargas eléctricas, el calor proveniente de la Tierra y de impactos, y la radiación ionizante de isótopos como el  $^{238}\text{U}$ ,  $^{235}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$  y  $^{40}\text{K}$  (Negrón Mendoza y Albarrán, 1992; Garzón y Garzón, 2001; Bada, 2013; Kitadai y Maruyama, 2018).

También se consideran entornos plausibles fuera de la Tierra cuerpos como los cometas, las meteoritas y el polvo interplanetario. Se propone que dichos cuerpos pudieron traer a la Tierra volátiles, agua y las moléculas orgánicas necesarias para el surgimiento de la vida (Greenberg, 1983; Oró, 1961; Oró *et al.*, 1992; Chyba y Sagan, 1992; Thomas *et al.*, 2006; Pizzarello, 2011). Las principales fuentes de energía en el espacio, para la formación de estos compuestos orgánicos, son los rayos cósmicos (radiación ionizante), y la radiación UV (proveniente del Sol) (Negrón Mendoza y Albarrán, 1992). En esta tesis, se evaluó el papel de las meteoritas, como posibles acarreadoras de compuestos orgánicos a la Tierra primitiva.

### 1.2 Meteoritas

Las meteoritas son cuerpos rocosos provenientes del espacio que han caído en la Tierra. Pueden provenir de planetesimales que sufrieron colisiones; un ejemplo son las meteoritas provenientes de la Luna o Marte. Otras son derivadas del material primordial que se condensó y acrecionó para formar al sistema solar. Algunas meteoritas probablemente son pedazos de asteroides fragmentados por colisiones (Lipschutz y Schultz, 2007; Elkins-Tanton, 2010).

La mayor parte de las meteoritas están compuestas por los mismos minerales que se encuentran en las rocas terrestres, entre ellos están los olivinos, los piroxenos y las arcillas. Sin embargo, las meteoritas poseen características que los distinguen de las rocas terrestres como su densidad, forma o la presencia de cóndrulos. Además, estos cuerpos extraterrestres presentan varias formas, tamaños, textura, composición, color y origen. Según su composición y textura, se dividen en: condritas, que provienen de cuerpos no diferenciados y las que provienen de cuerpos diferenciados las no condriticas y metálicas (Elkins-Tanton, 2010). A su vez, cada una de estas categorías se divide en grupos basándose en su composición química, mineralógica e isotopía de oxígeno (Krot *et al.*, 2014). Para

muchos estudios, en particular, los que tienen que ver con el origen de la vida, las condritas son el grupo de meteoritas más relevantes, de ellas se hablará en el siguiente apartado.

### 1.3. Condritas

Las condritas provienen del cinturón de asteroides y su composición es parecida a la del Sol (excepto por la abundancia de H y He). Son consideradas como el material más primitivo del sistema solar, ya que no han experimentado el reciclaje sufrido por cuerpos planetarios más grandes (Elkins-Tanton, 2010; Sephton, 2014). Las condritas se formaron hace aproximadamente 4568 millones de años, en la época en que el primer material comenzó a condensarse en el sistema solar (Lipschutz y Schultz, 2007).

Se llaman condritas porque muchas de ellas poseen cóndrulos, que son esferas de silicatos de diferentes tamaños, desde milímetros hasta centímetros. Estos cóndrulos representan el material más primitivo del sistema solar y se formaron por un enfriamiento rápido (aproximadamente 1000°C/h) de temperaturas cercanas a 1600 °C (Lipschutz y Schultz, 2007). Además, las condritas poseen inclusiones de carburo de silicio (SiC) y diamantes (que representan el material presolar), e inclusiones de calcio y aluminio, denominadas CAI's por sus siglas en inglés (*Calcium-Aluminium Inclusions*). Estas inclusiones son agregados de minerales que se formaron a muy altas temperaturas (1700 °C o más) y que sufrieron un enfriamiento lento. Se ha determinado que las CAI's se formaron antes que otros materiales y, por lo tanto, representan productos de condensación primarios de la nebulosa que formó el sistema solar (Lipschutz y Schultz, 2007).

Aunque las condritas provienen de cuerpos que no experimentaron diferenciación, sí han sufrido alteración o procesamiento, provocado por el calentamiento a distintas temperaturas. Este calentamiento pudo ser provocado por el fenómeno de acreción durante su formación, o bien por la presencia de isótopos radiactivos. Los isótopos  $^{40}\text{K}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{235}\text{U}$  y  $^{238}\text{U}$  aún existen en ellas, mientras que el  $^{26}\text{Al}$ , el isótopo más abundante en el sistema solar temprano, ya está extinto (Lipschutz y Schultz, 2007).

Las alteraciones térmicas que sufrieron las meteoritas incluyen metamorfismo y alteraciones acuosas, estos procesos son evidentes por la presencia de minerales como carbonatos, sulfatos, magnetita, arcillas tipo esmectitas y serpentinas (Burns y Fisher, 1991). Además, las alteraciones tienen diferentes grados; Van Schmus y Wood (1967) propusieron el uso del llamado número petrológico para identificar el grado de alteración. Así, las condritas con alteración acuosa poseen números petrológicos del 1 al 3, donde el mayor grado de alteración acuosa corresponde al 1. A los cuerpos que sufrieron metamorfismo se le asigna números petrológicos que van del 3 al 7; el 7 es un tipo raramente encontrado que se caracteriza por la ausencia de cóndrulos.

El grupo de las condritas se divide en cinco tipos, de acuerdo a su composición química, mineralógica, isotopía de oxígeno y petrología: i) ordinarias, ii) enstatitas, iii) carbonáceas, iv) rumurutii y v) kakangari (Krot *et al.*, 2014; Sephton, 2002). Las meteoritas de tipo

**condritas carbonáceas** destacan por el contenido de carbono, que va de 0.3 a >3 % en peso, por lo que son relevantes en estudios sobre el origen de la vida (Cronin y Chang, 1993). El carbono presente en las condritas puede estar en varias formas: carbonatos, grafito, carburo de silicio, diamante y materia orgánica; este grupo de meteoritas se caracteriza porque la mayor proporción del carbono que contienen está en forma de materia orgánica. Se considera que los cuerpos que dieron lugar a este tipo de condritas fueron pequeños, ya que los compuestos orgánicos no pudieron haber sobrevivido a un gran procesamiento como el que ocurre en cuerpos más grandes (Sephton, 2014).

Existen ocho grupos de condritas carbonáceas bien establecidos: CI, CM, CR, CH, CB, CV, CK y CO. La segunda letra indica un espécimen característico: CI (Ivuna), CM (Mighei), CO (Ornans), CR (Renazzo), CH (ALH85085), CB (Bencubbin), CV (Vigarano) y CK (Karoonda). La única excepción es el tipo CH, donde la H (High) indica el alto contenido de hierro. Las condritas de tipo CI (Ivuna) y CM (Mighei) son las que contienen la mayor cantidad de carbono en forma de materia orgánica (Cronin y Chang, 1993). Los ejemplos más estudiados de estos dos tipos de condritas son las meteoritas de Murchison (CM2) y Orgueil (CI1), que poseen cierto grado de alteración acuosa, como lo indica su número petrológico. Se ha determinado que la temperatura a la cual se produjo la alteración acuosa en condritas CM está entre 20 y 71 °C (Guo y Eiler, 2007) y entre -31 y 65 °C para las condritas CI (Guo *et al.*, 2007).

#### 1.4. Materia orgánica en condritas carbonáceas.

Las primeras publicaciones sobre la presencia de materia orgánica en meteoritas fueron proporcionados por Emil Wilhelm Cohen en 1894; desde ese momento, y hasta la década de los 60's, el estudio de los compuestos orgánicos en meteoritas se mantuvo muy poco activo (Hayes, 1967). Gracias al programa Apolo de exploración espacial, se desarrollaron técnicas de análisis que pudieron aplicarse al estudio de la materia orgánica en meteoritas. En ese tiempo, los trabajos sobre la materia orgánica en meteoritas estaban enfocados en encontrar compuestos que indicaran la posibilidad de vida extraterrestre (Hayes, 1967).

La caída de la meteorita de Murchison en 1969 representó otra razón por la que los estudios de materia orgánica tuvieron gran auge. Esta meteorita tipo condrita proporcionó una gran cantidad (aproximadamente 100 kg) de material extraterrestre, libre de contaminación e intemperismo que podía ser estudiada (Schmitt-Kopplin *et al.*, 2010). Las primeras moléculas detectadas en esta condrita fueron: alcanos, alquenos, hidrocarburos aromáticos y aminoácidos, entre otros (Levy *et al.*, 1973; Oró *et al.*, 1971).

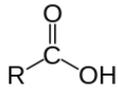
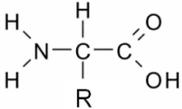
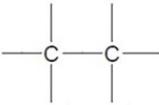
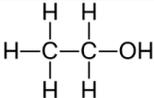
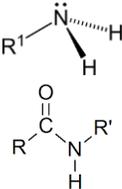
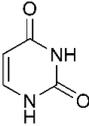
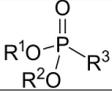
La implementación de técnicas modernas, como la espectrometría de masas y la cromatografía de líquidos (HPLC y UHPLC) permitieron una mejor identificación y caracterización de los compuestos presentes en la meteorita de Murchison. Se encontró que la diversidad de materia orgánica contenida en condritas es mayor a la terrestre, esta última derivada de actividad biológica y biogeoquímica (Schmitt-Kopplin *et al.*, 2010). A

partir de estos hallazgos, la meteorita de Murchison (CM2) es la referencia para el estudio de materia orgánica en meteoritas.

La materia orgánica en condritas ha sido estudiada por técnicas de extracción con disolventes, de naturaleza orgánica o agua. De acuerdo con este enfoque, la materia orgánica, se puede encontrar en dos formas, una corresponde a la fracción insoluble y no extraíble, compuesta por moléculas de alto peso molecular que representan el 75 % de la materia orgánica total. El 25 % restante representa la fracción soluble formada por compuestos orgánicos de bajo peso molecular, estos pueden ser extraídos con disolventes orgánicos comunes. Dentro de las moléculas de bajo peso molecular se han encontrado compuestos importantes para la vida (Tabla 1) como los ácidos carboxílicos, los ácidos sulfónicos y fosfónicos, aminoácidos, hidrocarburos aromáticos y alifáticos, amidas, aminas, alcoholes, aldehídos y cetonas (Cronin y Chang, 1993).

La medición de la composición isotópica permite revelar el origen de un material. La composición isotópica de los compuestos orgánicos puede estar determinada por procesos de fraccionamiento isotópico. En el caso de la materia orgánica, se miden las abundancias de los isótopos estables más pesados de C, N, O y H ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$  y D). El enriquecimiento en los isótopos más pesados, comparado con los valores estándares terrestres, puede confirmar el origen extraterrestre de la materia orgánica. Además, estos valores proporcionan información sobre los ambientes en los que pudieron formarse las condritas. Por ejemplo, un enriquecimiento en deuterio indica un origen en el espacio interestelar (Sephton, 2014). En las secciones siguientes se describen algunos grupos de moléculas orgánicas detectadas en condritas y se hace una recopilación de sus características generales.

Tabla 1. Tipos de moléculas orgánicas presentes en condritas carbonáceas.

Molécula orgánica	Estructura	Ejemplos	Referencias
Ácidos carboxílicos		Láctico, fumárico, maléico, oxálico, benzoico y $\gamma$ -hidroxibutírico	Cronin <i>et al.</i> ; 1995; Cronin <i>et al.</i> , 1993; Huang <i>et al.</i> , 2005; Lawless, 1979; Peltzer <i>et al.</i> , 1984; Pizzarello, 2011
Aminoácidos		Glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina, ácido aspártico y ácido glutámico	Cronin y Pizzarello, 1983; Jarosewich, 1971
Hidrocarburos		Metano, etano, propano, benceno, pireno	Belsky y Kaplan, 1970; Hayes y Biemann, 1968
Alcoholes		Polioles	Cooper <i>et al.</i> , 2001
Aldehídos		Formaldehído	Basile <i>et al.</i> , 1984; Breger <i>et al.</i> , 1972; Jungclaus <i>et al.</i> , 1976
Cetonas		Cetonas aromáticas	Basile, <i>et al.</i> , 1984
Aminas y amidas		Guanilurea, posiblemente urea, fenilurea, N-acetil aminoácidos, lactamas, lactimas carboxilactamas, e hidantoínas	Cooper y Cronin, 1995, Hayatsu <i>et al.</i> , 1968
Nitrógeno heterocíclico		Adenina, guanina, triazinas, uracilo	(Hayatsu <i>et al.</i> , 1975; Stoks y Schwartz, 1979)
Azufre heterocíclico		Tiofeno, bezotiofeno, dibenzotiofeno	(Hayes y Biemann, 1968)
Ácidos sulfónicos		Metilsulfónico, etilsulfónico, propilsulfónico	(Cooper <i>et al.</i> , 1992)
Ácidos fosfónicos		Ácido metilfosfónico y etilfosfónico	(Cooper <i>et al.</i> , 1992)

#### 1.4.1. Ácidos carboxílicos

Algunos ácidos carboxílicos importantes para los seres vivos son los ácidos cítrico, succínico, fumárico y oxalacético que son intermediarios en el ciclo de Krebs; una parte fundamental de la respiración celular. También son importantes para los seres vivos los ácidos carboxílicos de cadena larga porque son parte de las membranas celulares (Gargaud *et al.*, 2011).

En las condritas, los ácidos carboxílicos son los compuestos más abundantes en los extractos obtenidos con disolvente, encontrándose en cantidades hasta 50 veces mayores que el aminoácido más abundante (Lawless, 1979). Se han detectado desde el ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ), hasta el octanoíco ( $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$ ) por mencionar algunos (Briscoe y Moore, 1993). Sólo en la meteorita de Murchison se han detectado alrededor de 50 ácidos carboxílicos distintos, con una gran diversidad estructural, los de menor número de carbonos son los más abundantes (Huang *et al.*, 2005). Los ácidos carboxílicos en esta condrita poseen un enriquecimiento en deuterio, lo que los exime de ser considerados como contaminación terrestre (Cronin *et al.*, 1993). Además el enriquecimiento de deuterio medido en el ácido fórmico sugiere su origen interestelar (Sephton, 2014).

Se han encontrado 40 ácidos dicarboxílicos en las condritas, entre ellos el fumárico, el maléico y el oxálico (Lawless, 1979; Cronin *et al.*, 1993). Los precursores de los ácidos dicarboxílicos parecen ser los nitrilos saturados, los parcialmente saturados y los dinitrilos; ya que la hidrólisis de estos compuestos, en presencia de agua, puede producir ácidos dicarboxílicos (Pizzarello y Huang, 2002). Hasta la fecha no han sido detectados ácidos tricarboxílicos (Monroe y Pizzarello, 2011).

También se han encontrado ácidos carboxílicos aromáticos, como el benzoico, el metilbenzoico, el ftálico e hidroxibenzoico (Huang *et al.*, 2005). Algunos ácidos como el 1,2 y 1,4 ftálico fueron considerados como contaminación terrestre, debido a su isotopía. Al parecer, se encuentran todos los posibles isómeros de los ácidos benzoicos y ftálicos (Martins *et al.*, 2006).

En cuanto a los ácidos carboxílicos de cadena larga detectados, se encontró que dominaban los formados por 16 y 18 carbonos. Estos corresponden a los que se encuentran comúnmente en la Tierra, lo que sugirió que se trataba de contaminación (Kaplan *et al.*, 1963). Además, se han encontrado ácidos hidroxicarboxílicos como el gamma hidroxibutírico y láctico (Peltzer *et al.*, 1984, Cronin *et al.*, 1995; Monroe y Pizzarello, 2011). En el ácido láctico se reportó un exceso enantiomérico de la forma L (Pizzarello, 2011). En las mismas condritas en las que se han encontrado ácidos hidroxicarboxílicos, también se han detectado sus aminoácidos correspondientes; esto sugiere que la abundancia de uno o de otro está determinada por la disponibilidad de amoníaco durante su formación. Cuando la concentración de amoníaco es alta, se sintetizan aminoácidos por la síntesis de Strecker; mientras que cuando la cantidad de amoníaco es limitada se prefiere la síntesis de los hidroxiaácidos por la reacción de HCN con aldehídos (Peltzer *et al.*, 1984).

#### 1.4.2. Bases nitrogenadas

Las bases nitrogenadas son importantes para la vida porque conforman los ácidos nucleicos que cumplen con la función de almacenamiento de información y catálisis. Además, otras bases actúan como señalizadores, como moléculas que almacenan energía y como coenzimas. Las bases nitrogenadas que se han encontrado en condritas son pocas, comunes en la biología, y carecen de la diversidad estructural que caracteriza a los demás compuestos orgánicos solubles detectados en dichos cuerpos (Callahan *et al.*, 2011).

La adenina y guanina fueron las primeras bases nitrogenadas de importancia biológica detectadas en la meteorita de Orgueil (CI1). En este cuerpo se detectaron compuestos de este tipo que carecen de importancia biológica como las triazinas (Hayatsu *et al.*, 1975). Más tarde, en 1979 Stoks y Schwartz detectaron uracilo. Los valores isotópicos de carbono medidos en el uracilo y la xantina sugieren que no se originaron en la Tierra, y por tanto son originarios de las condritas (Martins *et al.*, 2008).

Las bases nitrogenadas son difíciles de extraer y se requiere realizar una hidrólisis con ácido clorhídrico, ácido fórmico o ácido trifluoroacético (Sephton, 2014). En extracciones con ácido fórmico se detectaron las bases púricas xantina, hipoxantina y guanina, pero no se detectó la presencia de bases pirimídicas (van der Velden y Schwartz, 1977). Esto apunta a que podrían estar presentes como entidades macromoleculares (Hayatsu *et al.*, 1975).

En un experimento realizado por Callahan *et al.* (2011), los productos de reacción de cianuro de amonio resultaron ser las mismas bases nitrogenadas que se detectaron en las condritas. Por ello, se propone que las bases nitrogenadas son producto de reacción del cianuro de amonio, y que su síntesis se pudo haber dado en el asteroide que dio origen a la condrita, suponiendo que las moléculas detectadas tuvieron un origen extraterrestre.

#### 1.4.3. Aldehídos, cetonas y azúcares

Los aldehídos y cetonas son considerados precursores de los azúcares. Los azúcares son moléculas que se consideran como la forma primaria de almacenamiento y consumo de energía en los seres vivos. La glucosa, una hexosa, es el principio de la ruta metabólica de energía, la glucólisis. Otros azúcares son constituyentes de los nucleótidos que forman los ácidos nucleicos y forman parte de macromoléculas con diversas funciones. Pequeñas cantidades de aldehídos y cetonas fueron detectadas en condritas tipo CM2, CI1 y CV3, entre ellos formaldehído y cetonas aromáticas (Breger *et al.*, 1972; Jungclaus *et al.*, 1976; Basile *et al.*, 1984). El mecanismo de formación propuesto para cetonas aromáticas consiste en una oxidación de hidrocarburos aromáticos en el espacio interestelar o durante la alteración acuosa del cuerpo que dio origen a la condrita (Bernstein *et al.*, 1999).

En la meteorita tipo condrita Murray (CM2) se han detectado azúcares. (Kaplan *et al.*, (1963), lo que llevó a que se comprobara la existencia de aquéllos que ya habían sido publicados por Degens y Bajor (1962). En Murchison se detectaron compuestos relacionados con los azúcares como los polioles (Cooper *et al.*, 2001). Se encontró que las abundancias de los polioles detectados son similares a las abundancias de los aminoácidos y muestran características de otros compuestos solubles de origen meteorítico apuntando a su origen extraterrestre. Los polioles con mayor número de átomos de carbono en su estructura son menos abundantes y muestran una diversidad de compuestos raramente encontrados en la Tierra. Más pruebas de su origen extraterrestre fueron dadas por medidas isotópicas de  $^{13}\text{C}$  y D que son distintas a los valores terrestres (Sephton, 2014).

#### 1.4.4. Aminas y amidas

Las guanilurea, posiblemente urea, y fenilurea fueron detectadas en Murchison por Hayatsu *et al.* (1968). Al igual que otros compuestos solubles, su abundancia decrece cuando aumenta el número de carbonos en la estructura, dominan las moléculas con cadenas ramificadas (Sephton, 2014). El enriquecimiento en los isótopos más pesados ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  y D) es consistente con una síntesis en el medio interestelar (Pizzarello *et al.*, 1994). Al tener valores isotópicos similares a los de los aminoácidos, se propone que las aminas pueden formarse por la descarboxilación de alfa aminoácidos. Alrededor de 20 aminas alifáticas han sido encontradas en la meteorita de Murchison; 16 de ellas pueden formarse por descarboxilación de los aminoácidos presentes la misma condrita (Pizzarello *et al.*, 1994). Las amidas que fueron detectadas en la meteorita Murchison por Cooper y Cronin (1995) son cíclicas en su mayoría: lactamas, carboxilactamas, lactimas y pequeñas cantidades de N-acetil aminoácidos e hidantoínas (cuya hidrólisis produce aminoácidos).

#### 1.4.5. Aminoácidos

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen un grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) y un grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ ). Se pueden clasificar de acuerdo a la posición del grupo amino en: alfa, beta, gamma, o delta aminoácidos. El átomo de carbono junto al grupo carboxilo es llamado carbono alfa, cuando el grupo amino está unido a éste se denominan alfa aminoácidos. Cuando el grupo amino está ubicado en el segundo carbono, después del grupo carboxilo, corresponde a un aminoácido beta. En los aminoácidos gamma, el grupo amino está en el tercer carbono a continuación del grupo carboxilo.

En los aminoácidos alfa que conforman las proteínas en los seres vivos, al carbono alfa se encuentra unida una cadena lateral (-R) que determina la identidad y las propiedades de cada aminoácido. Todos los aminoácidos, excepto la glicina, tienen el carbono alfa asimétrico (con cuatro sustituyentes distintos), lo que les confiere actividad óptica, siendo las formas L las más relevantes para los seres vivos, pues constituyen a las proteínas (Nelson *et al.*, 2013).

Los dos grupos funcionales (amino y carboxilo) que poseen los aminoácidos tienen hidrógenos, por esta razón son susceptibles a los cambios de pH. A pH bajo los aminoácidos

se encuentran mayoritariamente en su forma catiónica; mientras que a pH alto se encuentran en su forma aniónica. Existe un pH específico para cada aminoácido en el que la molécula posee carga positiva y negativa, en conjunto la molécula es eléctricamente neutra; en este estado se dice que el aminoácido se encuentra en su forma de ion dipolar o zwitterión (Ege, 1998).

Los aminoácidos han sido uno de los compuestos más estudiados en la materia orgánica meteorítica por su gran importancia biológica. Al ser constituyentes de las proteínas en los seres vivos, se pensaba que su presencia podría indicar vida extraterrestre (Hayes, 1967). Aunque fueron encontrados en las condritas desde 1962, se pensó que eran producto de contaminación (Degens y Bajor, 1962). Cuando la meteorita de Murchison cayó se propusieron los siguientes criterios para determinar si eran o no de origen extraterrestre: ser no proteicos, estar presentes en mezclas racémicas y poseer una diversidad estructural (Sephton, 2002).

En los primeros estudios realizados en Murchison se pudieron detectar cinco aminoácidos proteicos (Jarosewich, 1971). Hasta el momento se han encontrado 80 aminoácidos en condritas CI, CM y CR, de los cuales ocho son proteicos (glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina, ácido aspártico y ácido glutámico) y once están presentes en la Tierra (Cronin y Pizzarello, 1983). El resto sólo se ha detectado en condritas (Sephton, 2002). Los aminoácidos encontrados tiene una concentración de aproximadamente 60 ppm, tienen entre dos y ocho átomos de carbono y todos los isómeros posibles están presentes (Remusat, 2014),

Los datos isotópicos de los aminoácidos indican que su origen es complejo, la ruta de síntesis y evolución depende del cuerpo parental (Sephton, 2002). Se ha encontrado una correlación entre los aminoácidos y los ácidos hidroxicarboxílicos lo que sugiere que los aminoácidos fueron sintetizados por la reacción de Strecker (Cronin *et al.*, 1995). Esta reacción consiste en la síntesis de aminoácidos a partir de un aldehído o cetona, ácido cianhídrico y amoniaco (Figura 1).

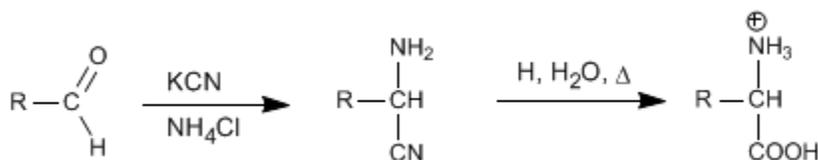


Figura 1. Síntesis de Strecker

Los aminoácidos detectados en condritas generalmente poseen dos tipos de estructuras: ácidos monoamino carboxílicos y ácidos monoamino dicarboxílicos, aunque también se han reportado aminoácidos con dos grupos amino en Murchison (Meierhenrich *et al.*, 2004). Entre los dos tipos de estructuras hay una diversidad estructural completa y predominan los isómeros de cadena ramificada. En lo referente a su abundancia, hay una preferencia

estructural: alfa>gamma>beta, y se observa un decrecimiento exponencial en su abundancia con el incremento del número de carbonos en la estructura (Sephton, 2002).

Los enantiómeros están presentes en cantidades aproximadamente equivalentes, con un pequeño exceso de la forma L (no mayor al 18 %), tanto en aminoácidos proteicos como no proteicos (Sephton, 2002; Cronin y Pizzarello, 1997). Para descartar una posible contaminación terrestre se realizaron medidas isotópicas de los enantiómeros. Los resultados mostraron valores diferentes entre los aminoácidos detectados y los terrestres, indicando que el exceso de L aminoácidos es propio de la condrita y no contaminación (Sephton, 2002).

La alteración acuosa parece contribuir en la distribución de los aminoácidos en condritas (Elsila *et al.*, 2016). El grado de alteración acuosa o metamorfismo térmico que sufrieron las condritas impacta en las abundancias y distribución de los compuestos orgánicos solubles, favoreciendo o desfavoreciendo las síntesis de Fischer Tropsch/ Haber-Bosh (Martins, 2015). Los aminoácidos son moléculas orgánicas fundamentales para los seres vivos actuales y tenemos un gran interés en estudiar su comportamiento en condiciones parecidas a las que existen en las meteoritas de tipo condrita.

#### 1.5. Estudios de aminoácidos en ambientes prebióticos

Los aminoácidos son importantes en estudios de química prebiótica debido a que son los constituyentes de las proteínas que conforman a los seres vivos. Los estudios realizados con aminoácidos simulando ambientes prebióticos están orientados principalmente a resolver las siguientes cuestiones: a) estudiar la interacción de las moléculas orgánicas con superficies minerales; b) determinar si hay polimerización; c) evaluar la formación de otros productos, y d) estudiar la estabilidad de estos compuestos en ambientes prebióticos. En las siguientes secciones se describen algunos de los estudios que se han realizado.

##### 1.5.1. Interacción de aminoácidos con superficies minerales

Los minerales pueden concentrar moléculas, debido a su capacidad de sorción. Friebele y *et al.* (1980) estudiaron la sorción de aminoácidos proteicos y no proteicos en montmorillonita de sodio, con el propósito de comprobar si había una sorción selectiva de los aminoácidos proteicos sobre los no proteicos; encontrando que no hay sorción selectiva favorecida a los aminoácidos proteicos. Por otro lado, Farias *et al.* en 2016 y 2014 estudiaron la sorción de glicina,  $\alpha$ -alanina y  $\beta$ -alanina en goethita (un óxido de hierro muy distribuido en la Tierra primitiva) y montmorillonita.

##### 1.5.2. Polimerización

Se ha comprobado que varios aminoácidos como la glicina, la alanina, el ácido glutámico y la tirosina, pueden formar enlaces peptídicos en condiciones que simulan ambientes prebióticos (ej. Weber y Orgel, 1979; Lawless y Levi, 1979; Hartmann *et al.*, 1981; Dose *et al.*, 1982; Liu y Orgel, 1998; Orgel, 1998). Las condiciones estudiadas principalmente son

ciclos de hidratación y secado en presencia o no de minerales, la adición de agentes para la oligomerización y la presencia de minerales como catalizadores en solución acuosa (Zaia, 2004). Por ejemplo, Bujdák y Rode (1997) estudiaron la formación de enlaces peptídicos entre alanina, alanina más glicina, diglicina y glicina cíclica. Las condiciones primitivas que simularon incluyeron el secado e hidratación a altas temperaturas y los minerales utilizados fueron montmorillonita, hectorita, alúmina y sílica; encontrando que cada mineral tiene un efecto distinto ya sea formando oligómeros o elongando la cadena de aminoácidos.

#### *1.5.3 Formación de productos*

Cuando se estudia la formación de productos a partir de aminoácidos sencillos (glicina y alanina) en ambientes con altas temperaturas los principales productos son etilamina y metilamina (Umeda *et al.*, 2016). Cuando se trata de radiólisis algunos estudios no identifican los productos (Cherubini y Ursini, 2015). Draganić *et al.* (1985) detectaron compuestos más sencillos y complejos que la molécula de partida al irradiar soluciones de glicina, algunos de ellos con importancia para la evolución química.

#### *1.5.4. Estabilidad de los aminoácidos en ambientes prebióticos*

Umeda *et al.* (2016) estudiaron cómo la energía térmica, generada por los impactos de meteoritas, en la Tierra primitiva pudo afectar a los aminoácidos presentes en la Tierra primitiva. Dichos autores encontraron que los aminoácidos pueden resistir parcialmente a los impactos. También se ha estudiado la estabilidad de estas moléculas en ambientes con radiación ionizante en estado sólido (Cataldo *et al.*, 2011; Portugal *et al.*, 2014), adsorbidos en arcillas (Aguilar-Ovando y Negrón-Mendoza, 2013) o en presencia de análogos de polvo interestelar (Maté *et al.*, 2014). Estos trabajos concluyeron que las moléculas en estado sólido no desaparecen completamente después de irradiarlas con dosis aproximadas a la que recibirían los cuerpos en escalas de  $10^9$  años (Portugal *et al.*, 2014), y que en presencia de minerales la descomposición de las moléculas es menor.

### *1.6. Aminoácidos y minerales utilizados en este trabajo*

Los aminoácidos que se utilizaron en este trabajo son la glicina y L-alanina; y se eligieron pues son los más sencillos de este grupo de moléculas, ambas tienen una gran importancia biológica ya que forman parte de las proteínas que conforman a los seres vivos y ambas se han detectado en condritas (Sephton, 2002) y el medio interestelar (Kuan *et al.*, 2003). Además, se ha comprobado su síntesis en simulaciones de diversos ambientes prebióticos incluyendo tanto a los endógenos como a los exógenos (Pascal *et al.*, 2005). La glicina y L-alanina se han logrado sintetizar juntas en ambientes prebióticos a partir de monóxido de carbono, nitrógeno y agua (Takahashi *et al.*, 1999); formaldehído e hidroxilamina (Kamaluddin, *et al.* 1979; Sakurai y Yanagawa, 1984); bicarbonato de amonio, acetileno, hidrógeno y oxígeno (Marshall, 1994); etanolamina (Zhang *et al.*, 2017) y formamida (Saladino *et al.*, 2015). En la Tabla 2 se presentan algunas propiedades químicas de la glicina y la alanina, y a continuación se explican las características estructurales e importancia biológica de cada uno.

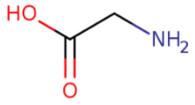
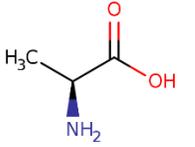
### 1.6.1 Glicina

La glicina es el aminoácido más pequeño, su grupo R es un hidrógeno no ionizable y por ello califica como un aminoácido no polar. Es el único  $\alpha$ -aminoácido que no posee actividad óptica y, como todos los aminoácidos, la carga depende del pH del medio en el que se encuentran. A pH's menores a 2.34 predomina la forma protonada del grupo amino. A pH mayores a 9.6 predomina la forma aniónica donde el grupo carboxilo pierde un hidrógeno. Mientras que a valores de pH intermedio entre estos valores, predomina la forma de zwitterion, es decir, posee las dos cargas. Este aminoácido es importante para la vida porque es el segundo aminoácido más abundantes en las proteínas de los seres vivos conformando un 7.5% (McKee y McKee, 2013). Además de formar parte de las proteínas, la glicina en su forma libre tiene otras funciones como precursor en la biosíntesis de moléculas no proteicas como purinas (material genético), coenzimas (glutati6n) y fosfolípidos; y también actúan como un neurotransmisor en mamíferos (McKee y McKee, 2013).

### 1.6.2. Alanina

La alanina, en relación a su peso molecular, es el aminoácido que sigue a la glicina. En este caso su grupo R también es no ionizable. Este grupo R es un metilo, lo que permite poseer actividad óptica, siendo el enanti6mero L el de importancia biológica al ser el único que est6 en las proteínas. La carga depende del pH, a valores menores a 2.3 predomina la forma protonada del grupo amino. A pH mayores a 9.6 predomina la forma aniónica donde el grupo carboxilo pierde un hidrógeno, Mientras que a pH intermedio entre los valores, predomina la forma de zwitterion. Es el aminoácido más abundante en las proteínas representando en promedio un 9 % de total. La alanina en su forma libre se puede transformar en piruvato mediante una desaminaci6n, conectando rutas metab6licas como la glucólisis, la gluconeogénesis y el ciclo de Krebs (Mathews y Ahern, 2002).

Tabla 2. Estructura y algunas propiedades físicas y químicas de los aminoácidos glicina y L-alanina. Fuente: Howard y Co, 1996.

Aminoácido	Peso molecular (g/mol)	Punto de fusión (°C)	pKa carboxilo	pKa amino	Solubilidad en agua 25°C (g/l)
<p><b>Glicina</b></p> 	75.0666	233	2.34	9.60	25
<p><b>L-Alanina</b></p> 	89.09318	314-316	2.34	9.69	166.5

## 2. Planteamiento del problema

Es muy importante investigar el comportamiento y la formación de moléculas prebióticas en ambientes extraterrestres para determinar su potencial contribución como fuentes de orgánicos para la Tierra primitiva (Gerakines *et al.*, 2012). En estos ambientes abunda la radiación ionizante, que es un factor relevante en la síntesis y destrucción de moléculas en el espacio. Por estas razones, en este estudio se decidió estudiar la descomposición de aminoácidos (glicina y L-alanina) inducida por radiación ionizante, simulando *grosso modo*, las condiciones presentes en una meteorita tipo condrita. En la mayor parte de los trabajos que estudian la descomposición de moléculas orgánicas ante la radiación ionizante, los experimentos de radiación se hacen en disolución acuosa y las dosis utilizadas son relativamente bajas. En este sentido, es importante estudiar el rol de los minerales (presentes en las condritas) en la descomposición de aminoácidos sin la presencia de una gran cantidad de agua (condiciones similares a las encontradas en las condritas) y en dosis cercanas a la cantidad de radiación recibida por las condritas desde su formación.

## 3. Justificación

A través de una simulación en el laboratorio de ambientes asteroidales (tipo condritas carbonáceas) que considere, por un lado, el tipo de radiación y la dosis que recibieron estos cuerpos y, por otro, los minerales y las moléculas presentes en condritas, se podrá determinar la estabilidad de dichas moléculas en estos ambientes y qué factores las afectan.

En los experimentos de simulación se abordan los siguientes factores:

- 1) La presencia de fases **minerales**. Se eligieron dos minerales presentes en condritas del tipo CI1 y CM2 (olivino y montmorillonita) que son las más ricas en materia orgánica y por tanto las más relevantes para los estudios de química prebiótica.
- 2) El **tipo de radiación**. Se eligió a la radiación ionizante (gamma) para simular la radiación proveniente de isotópos radiactivos contenidos en condritas.
- 3) La **dosis** empleada es de hasta 3 MGy, del mismo orden de magnitud a la que estuvieron expuestas las condritas carbonáceas desde su formación (aproximadamente 14 MGy).

#### 4. Hipótesis

Las moléculas orgánicas presentes en ambientes extraterrestres están expuestas continuamente a la acción de la radiación. La presencia de minerales en estos ambientes posiblemente juega un papel en la estabilidad de estas moléculas. Por lo tanto, si en los experimentos de radiólisis se observa una diferencia en la descomposición de los aminoácidos, en las simulaciones que incluyen un mineral respecto a las que no lo incluyen, se podrá sugerir que el mineral efectivamente afecta la estabilidad de dichas moléculas en las condiciones estudiadas.

#### 5. Objetivos

##### Objetivo general

Estudiar el papel de dos minerales (olivino o montmorillonita) en la estabilidad de dos aminoácidos (glicina y L-alanina) expuestos a condiciones que simulan las presentes los cuerpos parentales condriticos antes de su impacto en la Tierra.

##### Objetivos específicos:

- Determinar el mecanismo de sorción de las moléculas en los minerales a utilizar, mediante perfiles de pH, cinéticas de sorción e isothermas de sorción.
- Determinar el papel de la interacción mineral-orgánico en la descomposición de glicina y L-alanina mediante la irradiación de muestras solidas secas de aminoácidos sorbidos o no en los minerales.

## 6. Referencias

- Aguilar-Ovando, E. Y., & Negrón-Mendoza, A. (2013). Radiolysis of alanine adsorbed in a clay mineral. *AIP Conference Proceedings*, 1544(1), 7–10. <https://doi.org/10.1063/1.4813453>
- Bada, J. L. (2013). New insights into prebiotic chemistry from Stanley Miller's spark discharge experiments. *Chemical Society Reviews*, 42(5), 2186–2196. <https://doi.org/10.1039/C3CS35433D>
- Basile, B. P., Middleditch, B. S., & Oró, J. (1984). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the Murchison meteorite. *Organic Geochemistry*, 5(4), 211–216. [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(84\)90008-1](https://doi.org/10.1016/0146-6380(84)90008-1)
- Belsky, T., & Kaplan, I. R. (1970). Light hydrocarbon gases, C13, and origin of organic matter in carbonaceous chondrites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 34(3), 257–278. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(70\)90105-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(70)90105-5)
- Bernstein, M. P., Sandford, S. A., Allamandola, L. J., Gillette, J. S., Clemett, S. J., & Zare, R. N. (1999). UV Irradiation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ices: Production of Alcohols, Quinones, and Ethers. *Science*, 283(5405), 1135–1138. <https://doi.org/10.1126/science.283.5405.1135>
- Breger, I. A., Zubovic, P., Chandler, J. C., & Jun, R. S. C. (1972). Occurrence and Significance of Formaldehyde in the Allende Carbonaceous Chondrite. *Nature*, 236(5343), 155–158. <https://doi.org/10.1038/236155a0>
- Briscoe, J. F., & Moore, C. B. (1993). Determination of Formic and Acetic Acid in Chondritic Meteorites. *Meteoritics*, 28. <http://adsabs.harvard.edu/abs/1993Metic..28..330B>
- Bujdák, J., & Rode, B. M. (1997). Silica, Alumina, and Clay-Catalyzed Alanine Peptide Bond Formation. *Journal of Molecular Evolution*, 45(5), 457–466. <https://doi.org/10.1007/PL00006250>
- Burns, R. G., & Fisher, D. S. (1991). Pre-Terrestrial Oxidation Products of Iron Minerals in Carbonaceous Meteorites Identified in Mossbauer Spectra. <http://adsabs.harvard.edu/full/1991LPI....22..389F>
- Callahan, M. P., Smith, K. E., Cleaves, H. J., Ruzicka, J., Stern, J. C., Glavin, D. P., House, C. H., & Dworkin, J. P. (2011). Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 13995–13998. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106493108>
- Cataldo, F., Ragni, P., Iglesias-Groth, S., & Manchado, A. (2011). Solid state radiolysis of sulphur-containing amino acids: Cysteine, cystine and methionine. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 287(2), 573–580. <https://doi.org/10.1007/s10967-010-0787-y>
- Cherubini, C., & Ursini, O. (2015). Amino acids chemical stability submitted to solid state irradiation: The case study of leucine, isoleucine and valine. *SpringerPlus*, 4. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1332-9>

- Chyba, C., & Sagan, C. (1992). Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: An inventory for the origins of life. *Nature*, 355, 125–132. <https://doi.org/10.1038/355125a0>
- Cleaves, H. James. (2012). Prebiotic Chemistry: What We Know, What We Don't. *Evolution: Education and Outreach*, 5(3), 342–360. <https://doi.org/10.1007/s12052-012-0443-9>
- Cleaves, Henderson James. (2013). Prebiotic Chemistry: Geochemical Context and Reaction Screening. *Life*, 3(2), 331–345. <https://doi.org/10.3390/life3020331>
- Cooper, G., Kimmich, N., Belisle, W., Sarinana, J., Brabham, K., & Garrel, L. (2001). Carbonaceous meteorites as a source of sugar-related organic compounds for the early Earth. *Nature*, 414(6866), 879–883. <https://doi.org/10.1038/414879a>
- Cooper, G. W., & Cronin, J. R. (1995). Linear and cyclic aliphatic carboxamides of the Murchison meteorite: Hydrolyzable derivatives of amino acids and other carboxylic acids. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 59(5), 1003–1015.
- Cooper, George W, Onwo, W. M., & Cronin, J. R. (1992). Alkyl phosphonic acids and sulfonic acids in the Murchison meteorite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 56(11), 4109–4115. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(92\)90023-C](https://doi.org/10.1016/0016-7037(92)90023-C)
- Cronin, J. R., Cooper, G. W., & Pizzarello, S. (1995). Characteristics and formation of amino acids and hydroxy acids of the Murchison meteorite. *Advances in Space Research: The Official Journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 15(3), 91–97.
- Cronin, J. R., & Pizzarello, S. (1983). Amino acids in meteorites. *Advances in Space Research: The Official Journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 3(9), 5–18.
- Cronin, J. R., & Pizzarello, S. (1997). Enantiomeric excesses in meteoritic amino acids. *Science (New York, N.Y.)*, 275(5302), 951–955.
- Cronin, J. R, Pizzarello, S., Epstein, S., & Krishnamurthy, R. V. (1993). Molecular and isotopic analyses of the hydroxy acids, dicarboxylic acids, and hydroxydicarboxylic acids of the Murchison meteorite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57(19), 4745–4752. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(93\)90197-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(93)90197-5)
- Cronin, John R., & Chang, S. (1993). Organic Matter in Meteorites: Molecular and Isotopic Analyses of the Murchison Meteorite. En *The Chemistry of Life's Origins* (pp. 209–258). Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1936-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1936-8_9)
- Degens, E. T., & Bajor, M. (1962). Amino acids and sugars in the Bruderheim and Murray meteorite. *Naturwissenschaften*, 49, 605–606. <https://doi.org/10.1007/BF01178050>
- Dose, K., Hartmann, J., & Brand, M. C. (1982). Formation of specific amino acid sequences during carbodiimide-mediated condensation of amino acids in aqueous solution. *Bio Systems*, 15(3), 195–200. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(82\)90004-1](https://doi.org/10.1016/0303-2647(82)90004-1)

- Draganić, Z. D., Niketić, V., & Vujošević, S. I. (1985). Radiation chemistry of an aqueous solution of glycine: Compounds of interest to chemical evolution studies. *Journal of Molecular Evolution*, 22(1), 82–90. <https://doi.org/10.1007/BF02105808>
- Ege, S. (1998). *Química orgánica: Estructura y reactividad*. Reverte.
- Elkins-Tanton, L. T. (2010). *Asteroids, Meteorites, and Comets*. Infobase Publishing.
- Elsila, J. E., Aponte, J. C., Blackmond, D. G., Burton, A. S., Dworkin, J. P., & Glavin, D. P. (2016). Meteoritic Amino Acids: Diversity in Compositions Reflects Parent Body Histories. *ACS Central Science*, 2(6), 370–379. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00074>
- Farias, A. P. S. F., Carneiro, C. E. A., de Batista Fonseca, I. C., Zaia, C. T. B. V., & Zaia, D. A. M. (2016). The adsorption of amino acids and cations onto goethite: A prebiotic chemistry experiment. *Amino Acids*, 48(6), 1401–1412. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2191-6>
- Farias, A. P. S. F., Tadayozzi, Y. S., Carneiro, C. E. A., & Zaia, D. A. M. (2014). Salinity and pH affect Na<sup>+</sup>-montmorillonite dissolution and amino acid adsorption: A prebiotic chemistry study. *International Journal of Astrobiology*, 13(3), 259–270. <https://doi.org/10.1017/S1473550414000044>
- Friebele, E., Shimoyama, A., & Ponnampereuma, C. (1980). Adsorption of protein and non-protein amino acids on a clay mineral: A possible role of selection in chemical evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 16(3), 269–278. <https://doi.org/10.1007/BF01804978>
- Gargaud, M., Amils, R., & Cleaves, H. J. (2011). *Encyclopedia of Astrobiology*. Springer Science & Business Media.
- Garzón, L., & Garzón, M. L. (2001). Radioactivity as a Significant Energy Source in Prebiotic Synthesis. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 31(1–2), 3–13. <https://doi.org/10.1023/A:1006664230212>
- Gerakines, P. A., Hudson, R. L., Moore, M. H., & Bell, J.-L. (2012). In situ measurements of the radiation stability of amino acids at 15–140K. *Icarus*, 220(2), 647–659. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.06.001>
- Greenberg, J. M. (1983). Chemical evolution in space—A source of prebiotic molecules. *Advances in Space Research: The Official Journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 3(9), 19–33.
- Guo, W., Perronnet, M., Zolensky, M. E., & Eiler, J. M. (2007). Temperatures of aqueous alteration on carbonaceous chondrite parent bodies. *Meteoritics and Planetary Science*, 42, A61.
- Guo, Weifu, & Eiler, J. M. (2007). Temperatures of aqueous alteration and evidence for methane generation on the parent bodies of the CM chondrites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(22), 5565–5575. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2007.07.029>

- Hartmann, J., Brand, M. C., & Dose, K. (1981). Formation of specific amino acid sequences during thermal polymerization of amino acids. *Bio Systems*, 13(3), 141–147. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(81\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0303-2647(81)90055-1)
- Hayatsu, R., Studier, M. H., Moore, L. P., & Anders, E. (1975). Purines and triazines in the Murchison meteorite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 39(4), 471–488. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(75\)90101-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(75)90101-5)
- Hayatsu, R., Studier, M. H., Oda, A., Fuse, K., & Anders, E. (1968). Origin of organic matter in early solar system—II. Nitrogen compounds. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 32(2), 175–190. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(68\)80003-1](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(68)80003-1)
- Hayes, J. M. (1967). Organic constituents of meteorites—A review. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 31(9), 1395–1440. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(67\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(67)90019-1)
- Hayes, J. M., & Biemann, K. (1968). High resolution mass spectrometric investigations of the organic constituents of the Murray and Holbrook chondrites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 32(2), 239–267. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(68\)80006-7](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(68)80006-7)
- Howard, P. H., & Co, T. S. R. (1996). *Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals*. CRC Press.
- Huang, Y., Wang, Y., Alexandre, M. R., Lee, T., Rose-Petruck, C., Fuller, M., & Pizzarello, S. (2005). Molecular and compound-specific isotopic characterization of monocarboxylic acids in carbonaceous meteorites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(4), 1073–1084. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2004.07.030>
- Jarosewich, E. (1971). Chemical Analysis of the Murchison Meteorite. *Meteoritics*, 6. <http://adsabs.harvard.edu/abs/1971Metic...6...49J>
- Jungclaus, G. A., Yuen, G. U., Moore, C. B., & Lawless, J. G. (1976). Evidence for the presence of low molecular weight alcohols and carbonyl compounds in the Murchison meteorite. *Meteoritics*, 11, 231–237.
- Kamaluddin, Yanagawa, H., & Egami, F. (1979). Formation of Molecules of Biological Interest from Formaldehyde and Hydroxylamine in a Modified Sea Medium. *The Journal of Biochemistry*, 85(6), 1503–1507. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a132479>
- Kaplan, I. R., Degens, E. T., & Reuter, J. H. (1963). Organic compounds in stony meteorites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 27(7), 805–834. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(63\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0016-7037(63)90045-0)
- Kitadai, N., & Maruyama, S. (2018). Origins of building blocks of life: A review. *Geoscience Frontiers*, 9(4), 1117–1153. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2017.07.007>
- Krot, A. N., Keil, K., Scott, E. R. D., Goodrich, C. A., & Weisberg, M. K. (2014). Classification of Meteorites and Their Genetic Relationships. *En Meteorites and Cosmochemical Processes* (pp. 1–63). <http://adsabs.harvard.edu/abs/2014mcp..book....1K>

- Kuan, Y.-J., Charnley, S. B., Huang, H.-C., Tseng, W.-L., & Kisiel, Z. (2003). Interstellar Glycine. *The Astrophysical Journal*, 593(2), 848. <https://doi.org/10.1086/375637>
- Lawless, J. G., & Levi, N. (1979). The role of metal ions in chemical evolution: Polymerization of alanine and glycine in a cation-exchanged clay environment. *Journal of Molecular Evolution*, 13(4), 281–286. <https://doi.org/10.1007/BF01731368>
- Lawless, J. G. Y. (1979). Quantification of monocarboxylic acids in the Murchison carbonaceous meteorite. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/282396a0>
- Levy, R. L., Grayson, M. A., & Wolf, C. J. (1973). The organic analysis of the murchison meteorite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 37(3), 467–483. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(73\)90212-3](https://doi.org/10.1016/0016-7037(73)90212-3)
- Lipschutz, M. E., & Schultz, L. (2007). CHAPTER 13—Meteorites\*\*Actual meteorite (chondrite) dust is embedded in the stamp reproduced above. The stamp was issued by the Austrian postal service in 2006. En L.-A. McFadden, P. R. Weissman, & T. V. Johnson (Eds.), *Encyclopedia of the Solar System (Second Edition)* (pp. 251–282). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012088589-3/50017-7>
- Liu, R., & Orgel, L. E. (1998). Polymerization of  $\beta$ -amino Acids in Aqueous Solution. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 28(1), 47–60. <https://doi.org/10.1023/A:1006580918298>
- Marshall, W. L. (1994). Hydrothermal synthesis of amino acids. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58(9), 2099–2106. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(94\)90288-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(94)90288-7)
- Martins, Z., Watson, J. S., Sephton, M. A., Botta, O., Ehrenfreund, P., & Gilmour, I. (2006). Free dicarboxylic and aromatic acids in the carbonaceous chondrites Murchison and Orgueil. *Meteoritics & Planetary Science*, 41(7), 1073–1080. <https://doi.org/10.1111/j.1945-5100.2006.tb00505.x>
- Martins, Zita. (2015). Organic Molecules in Meteorites. *IAU General Assembly*, 22, 2253637.
- Martins, Zita, Botta, O., Fogel, M. L., Sephton, M. A., Glavin, D. P., Watson, J. S., Dworkin, J. P., Schwartz, A. W., & Ehrenfreund, P. (2008). Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. *Earth and Planetary Science Letters*, 270(1–2), 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2008.03.026>
- Maté, B., Tanarro, I., Moreno, M. A., Jiménez-Redondo, M., Escribano, R., & Herrero, V. J. (2014). Stability of carbonaceous dust analogues and glycine under UV irradiation and electron bombardment. *Faraday Discussions*, 168(0), 267–285. <https://doi.org/10.1039/C3FD00132F>
- Mathews, C. K., & Ahern, K. G. (2002). *Bioquímica*. Pearson Educación.
- McKee, T., & McKee, J. R. (2013). *Bioquímica: Las bases moleculares de la vida*. McGraw-Hill Interamericana.
- Meierhenrich, U. J., Muñoz Caro, G. M., Bredehöft, J. H., Jessberger, E. K., & Thiemann, W. H.-P. (2004). Identification of diamino acids in the Murchison meteorite. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America, 101(25), 9182–9186. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403043101>

Monroe, A. A., & Pizzarello, S. (2011). The soluble organic compounds of the Bells meteorite: Not a unique or unusual composition. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 7585–7595. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.09.041>

Negron Mendoza, A., & Albarran, G. (1992). Chemical effects of ionizing radiation and sonic energy in the context of chemical evolution. [http://inis.iaea.org/Search/search.aspx?orig\\_q=RN:24018254](http://inis.iaea.org/Search/search.aspx?orig_q=RN:24018254)

Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2013). *Lehninger principios de bioquímica*. Omega.

Orgel, L. E. (1998). Polymerization on the Rocks: Theoretical Introduction. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 28(3), 227–234. <https://doi.org/10.1023/A:1006595411403>

Oró, J. (1961). Comets and the Formation of Biochemical Compounds on the Primitive Earth. *Nature*, 190(4774), 389. <https://doi.org/10.1038/190389a0>

Oró, J., Gibert, J., Lichtenstein, H., Wikstrom, S., & Flory, D. A. (1971). Amino-acids, Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons in the Murchison Meteorite. *Nature*, 230(5289), 105–106. <https://doi.org/10.1038/230105a0>

Oró, J., Mills, T., & Lazcano, A. (1992). Comets and the formation of biochemical compounds on the primitive Earth—A review. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere: The Journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 21(5–6), 267–277.

Pascal, R., Boiteau, L., & Commeyras, A. (2005). From the Prebiotic Synthesis of  $\alpha$ -Amino Acids Towards a Primitive Translation Apparatus for the Synthesis of Peptides. En P. Walde (Ed.), *Prebiotic Chemistry* (pp. 69–122). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/b136707>

Peltzer, E. T., Bada, J. L., Schlesinger, G., & Miller, S. L. (1984). The chemical conditions on the parent body of the Murchison meteorite: Some conclusions based on amino, hydroxy and dicarboxylic acids. *Advances in Space Research: The Official Journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 4(12), 69–74.

Pizzarello, S., Feng, X., Epstein, S., & Cronin, J. R. (1994). Isotopic analyses of nitrogenous compounds from the Murchison meteorite: Ammonia, amines, amino acids, and polar hydrocarbons. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58(24), 5579–5587. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(94\)90251-8](https://doi.org/10.1016/0016-7037(94)90251-8)

Pizzarello, Sandra. (2011). Prebiotic chemical evolution: A meteoritic perspective. *Rendiconti Lincei*, 22(2), 153–163. <https://doi.org/10.1007/s12210-011-0124-6>

Pizzarello, Sandra, & Huang, Y. (2002). Molecular and isotopic analyses of Tagish Lake alkyl dicarboxylic acids. *Meteoritics & Planetary Science Archives*, 37(5), 687–696.

Portugal, W., Pilling, S., Boduch, P., Rothard, H., & Andrade, D. P. P. (2014). Radiolysis of amino acids by heavy and energetic cosmic ray analogues in simulated space environments:  $\alpha$ -glycine zwitterion

form. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 441, 3209–3225. <https://doi.org/10.1093/mnras/stu656>

Remusat, L. (2014). Organic material in meteorites and the link to the origin of life. *BIO Web of Conferences*, 2, 03001. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20140203001>

Sakurai, M., & Yanagawa, H. (1984). Prebiotic synthesis of amino acids from formaldehyde and hydroxylamine in a modified sea medium. *Origins of Life*, 14(1), 171–176. <https://doi.org/10.1007/BF00933655>

Saladino, R., Carota, E., Botta, G., Kapralov, M., Timoshenko, G. N., Rozanov, A. Y., Krasavin, E., & Di Mauro, E. (2015). Meteorite-catalyzed syntheses of nucleosides and of other prebiotic compounds from formamide under proton irradiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(21), E2746–E2755. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422225112>

Schmitt-Kopplin, P., Gabelica, Z., Gougeon, R. D., Fekete, A., Kanawati, B., Harir, M., Gebefuegi, I., Eckel, G., & Hertkorn, N. (2010). High molecular diversity of extraterrestrial organic matter in Murchison meteorite revealed 40 years after its fall. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), 2763–2768. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912157107>

Sephton, M. A. (2014). 12.1—Organic Geochemistry of Meteorites. En H. D. Holland & K. K. Turekian (Eds.), *Treatise on Geochemistry (Second Edition)* (pp. 1–31). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.01002-0>

Sephton, Mark A. (2002a). Organic compounds in carbonaceous meteorites. *Natural Product Reports*, 19(3), 292–311. <https://doi.org/10.1039/b103775g>

Sephton, Mark A. (2002b). Organic compounds in carbonaceous meteorites. *Natural Product Reports*, 19(3), 292–311.

Stoks, P. G., & Schwartz, A. W. (1979). Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature*, 282(5740), 709–710. <https://doi.org/10.1038/282709a0>

Takahashi, J., Hosokawa, T., Masuda, H., Kaneko, T., Kobayashi, K., Saito, T., & Utsumi, Y. (1999). Abiotic synthesis of amino acids by x-ray irradiation of simple inorganic gases. *Applied Physics Letters*, 74(6), 877–879. <https://doi.org/10.1063/1.123396>

Thomas, P. J., Hicks, R. D., Chyba, C. F., & McKay, C. P. (Eds.). (2006). *Comets and the Origin and Evolution of Life*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/10903490>

Umeda, Y., Fukunaga, N., Sekine, T., Furukawa, Y., Kakegawa, T., Kobayashi, T., & Nakazawa, H. (2016). Survivability and reactivity of glycine and alanine in early oceans: Effects of meteorite impacts. *Journal of Biological Physics*, 42(1), 177–198. <https://doi.org/10.1007/s10867-015-9400-5>

Van der Velden, W., & Schwartz, A. W. (1977). Search for purines and pyrimidines in the Murchison meteorite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 41(7), 961–968. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(77\)90155-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(77)90155-7)

Van Schmus, W. R., & Wood, J. A. (1967). A chemical-petrologic classification for the chondritic meteorites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 31(5), 747–765. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(67\)80030-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(67)80030-9)

Weber, A. L., & Orgel, L. E. (1979). The formation of dipeptides from amino acids and the 2'(3')-glycyl ester of an adenylate. *Journal of Molecular Evolution*, 13(3), 185–192. <https://doi.org/10.1007/BF01739478>

Zaia, D. A. M. (2004). A review of adsorption of amino acids on minerals: Was it important for origin of life? *Amino Acids*, 27(1), 113–118. <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0106-4>

Zhang, X., Tian, G., Gao, J., Han, M., Su, R., Wang, Y., & Feng, S. (2017). Prebiotic Synthesis of Glycine from Ethanolamine in Simulated Archean Alkaline Hydrothermal Vents. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere: The Journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 47(4), 413–425. <https://doi.org/10.1007/s11084-016-9520-3>

## Capítulo 2

### Método

#### Experimentos de sorción

##### *Determinación del punto de carga cero de los minerales*

El punto de carga cero (p.z.c.) se midió para ambos minerales: la montmorillonita y el olivino, por dos métodos distintos, uno que consiste en el registro de un cambio de pH (Souza *et al.*, 2013) y otro con la construcción de curvas de titulación (Ibanez *et al.*, 2008). A continuación se describen ambos.

**Método 1.** Se prepararon dos muestras de la siguiente manera. En dos tubos de centrifuga se agregaron 600 mg de olivino, a uno se agregaron 1.5 mL de agua desionizada y al otro 1.5 mL de una solución de KCl, 1M. Para la montmorillonita se utilizaron 30 mg de mineral. Las muestras se agitaron por 24 horas, al término de las cuales se midió el pH final. Se aplicó la siguiente fórmula para determinar el punto de carga cero.

$$pH_{pzc} = 2pH_{KCl} - pH_{H_2O}$$

Donde:

$pH_{pzc}$  es el punto de carga cero

$pH_{KCl}$  es el pH del mineral agitado con la solución de KCl

$pH_{H_2O}$  es el pH del tubo agitado con agua

**Método 2.** Consiste en la construcción de dos curvas de titulación: una correspondiente a un blanco -en el que no se incluye al mineral-, y otra a la muestra, que si lo incluye. Las curvas se prepararon de la siguiente forma:

*Curva del blanco.* A 3 mL de  $KNO_3$  [0.1 M] se agregaron 6 mL de agua desionizada y se agitó, posteriormente se agregó 1 mL de KOH [0.01 M], se agitó y se midió el pH. La titulación se realizó agregando cantidades de 0.1 mL de  $HNO_3$  y determinando el pH en cada uno de estos pasos, hasta que no se observó cambio.

*Curva de la muestra.* A 3 mL de  $KNO_3$  0.1 M se agregaron 6 mL de agua desionizada y se agitó, posteriormente se agregaron 50 mg del mineral y se agitó por 10 minutos. Luego se añadió 1 mL de KOH 0.01 M y se determinó el pH. La titulación se realizó agregando cantidades de 0.1 mL de  $HNO_3$  y determinando el pH en cada uno de estos pasos, hasta que no se observó cambio en el valor medido.

Se graficó el volumen de  $\text{HNO}_3$  usado contra el pH de cada una de las curvas y el punto de carga cero se determinó como el valor en el que se intersectan la curva del blanco con la de la muestra.

#### *Sorciones*

Para evaluar la interacción de los aminoácidos glicina y L-alanina con los minerales se realizaron pruebas de sorción. Para ello, 3 mL de una solución de glicina o L-alanina 0.001 M a distinto pH, se pusieron en agitación durante 24 horas, con 100 mg de olivino o montmorillonita. El pH de las soluciones de aminoácido se ajustó con HCl [0.01 M] o NaOH [0.01 M]. Posteriormente se separó el mineral de la solución centrifugando a 15000 rpm por 30 minutos y se determinó la concentración del aminoácido en el sobrenadante por la técnica de ninhidrina que se describe mas adelante; y el mineral se secó por liofilización para su análisis por IR.

Los valores de pH de las soluciones utilizadas para olivino fueron 2, 6.5 (natural de la solución) y 12. Después del tiempo de agitación, el pH cambió y los pH's finales fueron 4.6, 9.5 y 11.9. Para los experimentos con montmorillonita, se utilizaron soluciones de los aminoácidos ajustadas a pH 2, 6.5 y 12. Los valores de pH cambiaron después del tiempo de contacto a 7.5, 9.5 y 12. También se realizaron experimentos de sorción agregando una solución de aminoácido a pH natural a 100 mg de montmorillonita, y a esta suspensión se le ajustó el pH a 2.6 con HCl [0.1M] y se agitó por 24 horas.

#### *Determinación de la concentración de aminoácidos*

La concentración del aminoácido en el sobrenadante fue determinada por la técnica colorimétrica de la ninhidrina (Mundo *et al.*, 2007) Se hizo una curva de calibración con concentraciones de  $1 \times 10^{-5}$  M hasta  $1 \times 10^{-3}$  M para cada aminoácido). El procedimiento para analizar cada muestra con la técnica de ninhidrina fue el siguiente: a 1 mL del sobrenadante se le agregó 1 mL de reactivo de ninhidrina (3 g de ninhidrina, solución amortiguadora de acetatos 0.2 M (pH 5.5), cloruro estano y etilenglicol) y se agitó. Posteriormente, se calentó a baño maría a una temperatura de 96 °C durante 10 minutos. Se dejó enfriar y se agregaron 2 mL de una solución etanol agua al 50 % y se agitaron. Finalmente, se determinó la absorbancia de las muestras a 570 nm en un espectrofotómetro UV-vis. En cada determinación se utilizó un estándar con concentración 0.001 M y pH cercano al de la muestra para comparar la diferencia de concentración.

#### *Análisis de las muestras secas de sorciones por IR*

Se realizó un análisis infrarrojo de las muestras de minerales con los aminoácidos sorbidos, impregnados (la descripción de las muestras impregnadas se encuentra en la Tabla 13), de los minerales puros y de las moléculas orgánicas en sólido para comprobar la interacción de las moléculas orgánicas con los minerales. El mineral separado durante la centrifugación se secó por liofilización y se prepararon pastillas con bromuro de potasio (KBr) para ser

analizadas por espectroscopía de infrarrojo. Aproximadamente 1 mg de muestra se mezcló con suficiente KBr para completar 100 mg y se colocaron en una pastilladora a una presión de 300 psi. Las pastillas fueron analizadas en un equipo de espectroscopía infrarrojo Nicolet Nexus 670, en un intervalo de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> realizando 100 escaneos.

$$\% \text{ sorción} = 100 - \frac{Abs_m \times 100}{Abs_e}$$

Abs<sub>m</sub>= Absorbancia de la muestra

Abs<sub>e</sub>= Absorbancia del estándar

#### *Cinéticas de sorción*

Para determinar el tiempo necesario para que se logre el máximo de sorción de los aminoácidos en los minerales, a las condiciones ensayadas, se realizaron cinéticas de sorción desde 1 a 24 horas. El procedimiento fue el siguiente: a 100 mg del mineral (olivino o montmorillonita) se agregaron 3 mL de una solución de glicina o L-alanina [0.001 M] a pH 2. Se agitaron durante 1, 2, 4, 6, 8, 14 y 24 horas. Se separó el mineral de la solución por centrifugación y se analizó la concentración del aminoácido en el sobrenadante usando la técnica de derivatización con ninhidrina. Cada muestra se realizó por triplicado y el experimento se repitió 3 veces.

#### *Isotermas de sorción*

Se realizaron isotermas de sorción para comprender el tipo de interacción entre los aminoácidos y los minerales. Alícuotas (3 mL) de glicina o L-alanina en concentraciones de 0.0001 M a 0.001 M se pusieron en contacto con 100 mg de olivino o montmorillonita y se agitaron por 24 horas. Las muestras se centrifugaron y se midió la concentración en el equilibrio del aminoácido en el sobrenadante por el método de ninhidrina. Se graficó la concentración de los aminoácidos en el equilibrio contra la concentración del aminoácido en el mineral, esta última se determinó mediante la resta de la concentración inicial del aminoácido menos la concentración en el sobrenadante. Las muestras se realizaron por duplicado en cada experimento y los experimentos se repitieron un total de 3 veces.

## Experimentos de irradiación

### *Preparación de muestras para irradiación*

Se irradiaron mezclas sólidas (aminoácido + mineral) en presencia de oxígeno preparadas en dos formas distintas: una en que las moléculas se sorbieron y otra que consistió en un método de impregnación. Aproximadamente 10 g de cada una de las muestras (sorción e impregnación) se colocó en tubos de vidrios limpios y tapados. Cada muestra se hizo por duplicado. Para eliminar cualquier resto de contaminación de los tubos de vidrio, se calentaron previamente por 12 h en una mufla a 250 °C. Las irradiaciones se efectuaron en la fuente Gamma-beam 651-PT, localizada en el Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM. Cada semana o dos se tomaron muestras de todos los tubos y se analizó la concentración de aminoácidos.

*Muestras sorbidas.* Una vez conociendo las mejores condiciones de sorción (tiempo de contacto y pH), se prepararon las muestras de la siguiente forma: por cada gramo de mineral se agregaron 30 mL de la solución de glicina o L-alanina a pH 2, para el caso del olivino el tiempo de contacto fue de 24 horas y para la montmorillonita 15 horas. Se separó el mineral de la solución por centrifugación y se cuantificó la concentración del aminoácido en el sobrenadante, obteniendo los siguientes porcentajes de sorción: glicina en montmorillonita 41.4 %, L-alanina con montmorillonita 32.9 %, glicina en olivino 19.5 %, L-alanina en olivino 14.2 %.

*Muestras con el método de Impregnación.* Se prepararon soluciones de los aminoácidos para igualar la cantidad de aminoácidos sorbidos calculados con las pruebas de sorción para cada sistema. Así para el sistema montmorillonita-glicina se preparó una solución  $7.2 \times 10^{-4}$  M de glicina y para el sistema montmorillonita-alanina se preparó una solución  $5.4 \times 10^{-4}$  M. Se agregaron 10 mL de la solución por cada gramo de montmorillonita, las muestras se homogeneizaron y posteriormente se secaron por liofilización. Para el sistema olivino-glicina se preparó una solución  $3.6 \times 10^{-3}$  M y para el sistema olivino-alanina se preparó la solución en una concentración  $2.7 \times 10^{-3}$  M. Estas soluciones se agregaron en proporciones de 1 mL de solución por gramo de olivino y posteriormente se homogeneizaron y se secaron por liofilización.

### *Desorción y cuantificación de los aminoácidos*

La desorción fue necesaria para cuantificar la cantidad de aminoácido que se podía recuperar del mineral después de irradiar. Como prueba se colocaron 3 mL de agua destilada por cada 100 mg de muestra sin irradiar, se agitó por 1 hora y se centrifugó por 25 minutos a 24,000 rpm. Este procedimiento se repitió una vez más en las mismas muestras (segunda desorción) con el fin de determinar el total de aminoácido que se podía recuperar. La cantidad de aminoácido desorbida en el sobrenadante se determinó por la técnica de ninhidrina. Para cuantificar la cantidad de aminoácido remanente después de la

irradiación, las muestras se desorbieron una sola vez, como se explicó anteriormente, y se filtraron con un filtro de disco de 0.20 micras. Se tomaron 250 uL de muestra filtrada y se secaron en liofilizadora; posteriormente se derivatizaron con fenilisotiocianato y se cuantificaron por HPLC. El procedimiento de derivatización y separación por cromatografía de los aminoácidos se describe en el Anexo 3. Reporte técnico de cuantificación de aminoácidos por HPLC con el método de derivatización con fenilisotiocianato.

## Referencias

Ibanez, J. G., Hernandez-Esparza, M., Doria-Serrano, C., Fregoso-Infante, A., & Singh, M. M. (2008). The Point of Zero Charge of Oxides. En J. G. Ibanez, M. Hernandez-Esparza, C. Doria-Serrano, A. Fregoso-Infante, & M. M. Singh (Eds.), *Environmental Chemistry: Microscale Laboratory Experiments* (pp. 70–78). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-49493-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-49493-7_5)

Mundo, B., Cruz, A., & Colín-García, M. (2007). Cuantificación de aminoácidos libres por reacción con ninhidrina. Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM; Informe Técnico.

Souza, C. M. D. de, Carneiro, C. E. A., Baú, J. P. T., Costa, A. C. S. da, Ivashita, F. F., Paesano, A., Mauro, E. di, Santana, H. de, Holm, N. G., Neubeck, A., Zaia, C. T. B. V., & Zaia, D. A. M. (2013). Interaction of forsterite-91 with distilled water and artificial seawater: A prebiotic chemistry experiment. *International Journal of Astrobiology*, 12(2), 135–143. <https://doi.org/10.1017/S147355041200050X>

## Capítulo 3

### Resultados y discusión

#### Punto de carga cero

Cuando un mineral está en solución acuosa, desarrolla cargas en su superficie como consecuencia de la reacción con iones en la solución o bien de sustituciones isomórficas en su estructura. Estas cargas pueden ser de tres tipos (Stumm, 1992):

1. Carga estructural, que no depende del pH.
2. La carga que depende de la cantidad de  $H^+$  sorbidos o desorbidos en la interfaz de la superficie mineral y la solución acuosa.
3. La carga que confieren los iones sorbidos, que son diferentes de  $H^+$  y  $OH^-$ .

El punto de carga cero ha sido definido como el valor de pH al que alguno de los tres tipos de carga superficial es igual a cero; este valor se define a determinados valores de temperatura, presión y composición de la solución acuosa (Stumm, 1992). Por ello, existen tres definiciones estándar del punto de carga cero según Sposito (1998):

*Point of zero net proton charge* (p.z.n.p.c.). Es el pH al que la carga neta de protones en la superficie mineral es cero.

*Point of zero net charge* (p.z.n.c.). Es el valor de pH al cual la carga neta de iones sorbidos es igual a cero. Esta incluye la carga estructural y la de los protones.

*Point of zero charge* (p.z.c.). Es el valor de pH al que la carga neta de la partícula es igual a cero. Incluyendo la carga de la capa externa.

En minerales sin carga estructural, como el olivino, el p.z.n.p.c. = p.z.n.c.; y en ausencia de iones distintos a  $H^+$  y  $OH^-$  el p.z.n.c.=p.z.c. (Ibanez *et al.*, 2008). Para la montmorillonita, una bentonita, esto no se cumple porque posee carga estructural. En las arcillas tipo 2:1 se puede considerar al p.z.n.p.c. de una sola curva de titulación, a una fuerza iónica determinada, como el p.z.c. (Duc *et al.*, 2005).

Los valores de punto de carga cero obtenidos para los minerales muestran cómo se comporta la carga superficial en función del pH. Para el olivino los valores determinados fueron 10.14 y 7.08 usando el método 1 y 2 respectivamente (Tabla 3). Como los valores publicados de 4.2 (Oelkers *et al.*, 2009) y 10 (Pokrovsky y Schott, 2000) son muy lejanos entre sí, se decidió tomar en cuenta el valor medido en este trabajo, que es más cercano a los publicados en otros trabajos (10.14). Esto implica que la carga neta superficial a pH menor a 10.1 es positiva, mientras que a pH mayor a 10.1 es negativa (Figura 2). Para la montmorillonita, los valores estimados fueron 6.8 y 7.1 usando el método 1 y 2

respectivamente (Tabla 4). Entonces, la carga superficial, dependiente del pH, en la montmorillonita es positiva a pH menor a ~ 7 y negativa a pH mayor a ~ 7 (Figura 2).

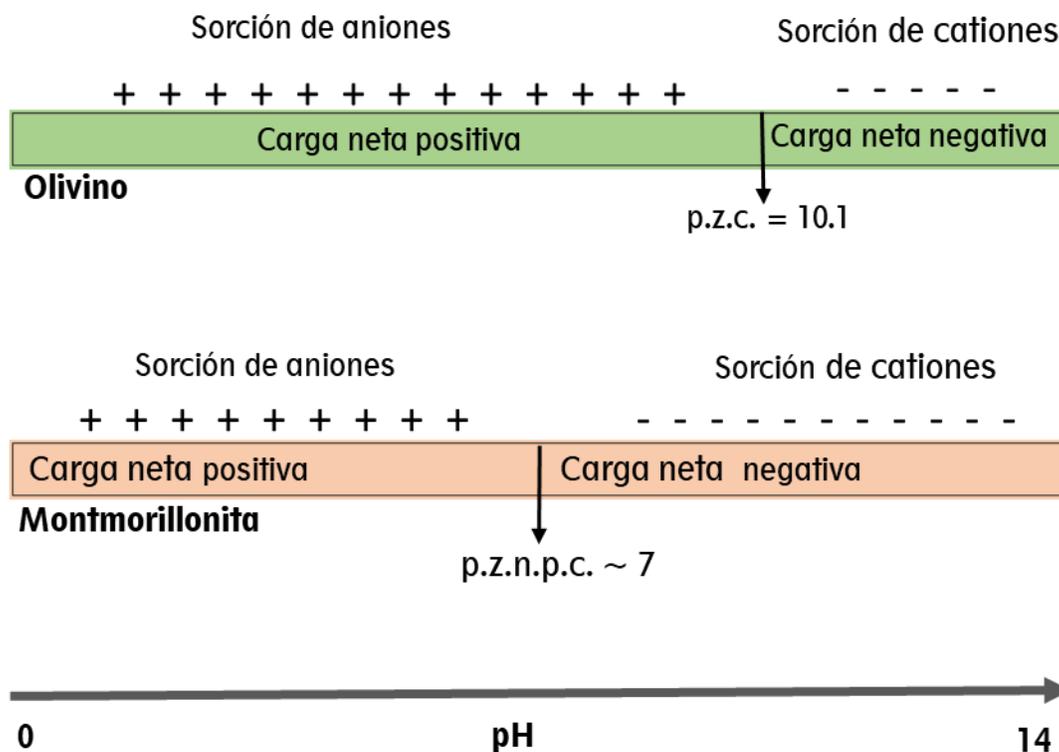


Figura 2. Punto de carga cero para los minerales olivino y montmorillonita, se muestra la representación de la carga neta de la superficie del mineral con respecto al pH.

Hay una gran diferencia en los valores de p.z.c. publicados para el olivino (Tabla 3); esto puede ser debido a que los olivinos en los trabajos publicados tienen diferente origen y, por lo tanto, son diferentes entre sí composicionalmente. También se aprecia que el punto de carga cero reportado depende del método que se utilizó para medirlo, ya que las titulaciones potenciométricas solo proporcionan un punto de carga cero aparente (Oelkers *et al.*, 2018). Mientras que el punto de carga cero medido por el método de titulación potenciométrica resulta en valores de pH entre 8.8 y 9.8, el medido a través del punto isoeléctrico resulta en valores cercanos a 4 (Tabla 3). En las titulaciones potenciométricas, el punto de carga cero se determina midiendo el número de protones consumidos durante la titulación; el número de protones consumidos se atribuye a los adsorbidos en la superficie del mineral (Ibanez *et al.*, 2008). Oelkers y col. (2009) indican que el consumo de protones en las titulaciones potenciométricas no sólo depende de los protones adsorbidos en la superficie del mineral; sino de otras reacciones que incluyen: intercambio de protones por cationes metálicos en el mineral; reacciones de disolución; y reacciones de adsorción de protones en los sitios internos. Esto implica que el punto de carga cero se sobreestima al

medirlo mediante titulaciones potenciométricas. En el olivino la reacción de intercambio entre protones y  $Mg^{2+}$  es, posiblemente, la que más contribuye al consumo de protones durante la titulación potenciométrica y a esto se debe la diferencia entre los *p.z.c.* medidos por titulaciones y el punto isoeléctrico (Oelkers *et al.*, 2009).

El *p.z.n.p.c.* de la montmorillonita medido en este estudio también difiere de los publicados en otros trabajos (Tabla 4). Dicha diferencia también puede deberse a que las muestras de minerales son distintas (su composición varía según su origen) o a los métodos utilizados para medirlo. Duc *et al.*, (2005a) sugieren que el procedimiento experimental es el causante de las discrepancias entre los valores publicados para el *p.z.n.p.c.* de arcillas tipo 2:1. Dicho autor atribuye las diferencias a tres factores: 1) El protocolo de purificación de la arcilla; 2) las condiciones de almacenamiento de las arcillas purificadas; y 3) las condiciones analíticas seleccionadas. A diferencia de los trabajos publicados, en este estudio el método no incluyó un paso previo de purificación de la montmorillonita y las condiciones analíticas utilizadas fueron distintas. La fuerza iónica, es una condición analítica importante, ya que cuanto mayor es la fuerza iónica del medio, el valor de *p.z.n.p.c.* de la montmorillonita disminuye (Hao *et al.*, 2018). Esto coincide con lo reportado en este estudio; para el método 1 se utilizó una fuerza iónica de 1M de KCl y para el método 2 una fuerza iónica de 0.01 M de  $KNO_3$ , así el *p.z.n.p.c.* medido con el método 1 (6.8) es menor al medido con el método 2 (7.1).

Otra condición analítica importante es la atmósfera en que se lleva a cabo la titulación. En este trabajo se realizó bajo una atmósfera de aire, donde el  $CO_2$  atmosférico se disuelve en el agua y forma carbonatos (Skoog y West, 1996), éstos constituyen una fuente de contaminación en las titulaciones (Duc *et al.*, 2005). La única medida que se tomó en este estudio para evitar la contaminación de gases disueltos en el agua en la titulación fue calentar el agua desionizada; sin embargo, esto no fue suficiente, por lo que se recomienda realizar las titulaciones bajo una atmósfera de nitrógeno.

Tabla 3. Valores del punto de carga cero de olivino medido comparado con algunos puntos de carga cero publicados.

<b>Método</b>	<b>p.z.c.</b>	<b>Muestra</b>	<b>Referencia</b>
<b>Método 1</b>	10.14	Forsterita	Este estudio
<b>Método 2</b>	7.08	Forsterita	Este estudio
<b>Método 1</b>	9.85	Forsterita-91	Souza <i>et al.</i> , 2013
<b>Titulación potenciométrica</b>	8.9	Forsterita-91	Luce y Parks, 1973
<b>Punto isoeléctrico</b>	4.5	Forsterita-91 (San Carlos)	Pokrovsky y Schott, 2000
<b>Titulación potenciométrica</b>	~10	Forsterita-91 (San Carlos)	Pokrovsky y Schott, 2000
<b>Punto isoeléctrico</b>	4.38	--	Cárdenas-Espinosa y Vargas, 2010
<b>Punto isoeléctrico</b>	~4	Forsterita (Gabbs , Nevada)	Ney, 1973
<b>Titulación potenciométrica</b>	8.8	Forsterita-91 (San Carlos)	Oelkers <i>et al.</i> , 2009
<b>Punto isoeléctrico</b>	4.2	Forsterita-91 (San Carlos)	Oelkers <i>et al.</i> , 2009

Tabla 4. Valores del punto de carga neta protónica cero (p.z.n.p.c.) obtenidos para la montmorillonita de sodio, se comparan con algunos valores ya reportados.

<b>Método</b>	<b>p.z.n.p.c</b>	<b>Muestra</b>	<b>Referencia</b>
<b>1</b>	6.8	SWy-2	Este estudio
<b>2</b>	7.1	SWy-2	Este estudio
<b>Método de Mular-Roberts de adición de sal.</b>	8.7 - 8.8	SWy-2(Crook County, wyoming, USA	Au y Leong, 2016
<b>Titulación potenciométrica</b>	9.6 – 9.8	SWy-2(Clay mineral society , sourceclayrepository)	Hao <i>et al.</i> , 2018
<b>Titulación potenciométrica</b>	8- 8.5	Cerro Banderita (Argentina)	Avena y De Pauli, 1998
<b>Titulación potenciométrica</b>	menor a 5	SWy2 (ClayMineralsRepository)	Duc <i>et al.</i> , 2005b
<b>Método de sorción rápida</b>	2.6	Heishancountyprovince in China	Zhuang y Yu, 2002
<b>Titulación potenciométrica</b>	6.1	Bentonite MX-80 (American ColloidBentonite)	Wanner <i>et al.</i> , 1994
<b>Titulación potenciométrica</b>	7.5	Cerro Banderita (Argentina)	Helmy <i>et al.</i> , 1994
<b>Titulación potenciométrica</b>	8.11	Wayoming, USA	Kriaa <i>et al.</i> , 2007

## Sorciones

### *Sorciones en olivino*

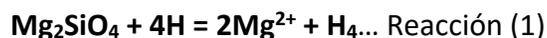
La sorción de glicina y L-alanina en olivino es dependiente del pH como se muestra en la Figura 3, los valores de sorción más altos corresponden al pH más bajo. A pH 2.6 hay un 39.9 % de sorción de glicina y 38.2 % de sorción de L-alanina. A pH 9.7, se observa una gran diferencia entre la cantidad de glicina y alanina sorbida. La cantidad de glicina sorbida es mayor, con un 27.3 %, comparado con un 14.7 % de sorción de L-alanina.

A pH 11.9 no se observó la sorción de ninguno de los aminoácidos en la superficie del olivino. Esta ausencia de sorción coincide con que a este valor de pH, la carga de los aminoácidos (Figura 4 y Figura 5) y la superficie mineral son negativas (Figura 6); por lo tanto no puede haber una interacción de cargas contrarias que resulte en un proceso de sorción por este mecanismo. A pH 9.7 el proceso de sorción se puede dar mediante la interacción del grupo carbonilo de los aminoácidos en forma de zwitterion o en su forma negativa (Figura 4 y Figura 5) y la superficie positiva del olivino (Figura 3).

La sorción a pH 4.6 también se puede dar de la misma forma que a pH 9.7, por la presencia de la forma zwitterion de los dos aminoácidos (Figura 4 y Figura 5). Sin embargo, hay una proporción de aminoácidos cargados positivamente, lo que implicaría un porcentaje menor de sorción que a pH 9.7. Esto no es así, como ya se mencionó el porcentaje de sorción es mayor a pH 4.6. Este comportamiento podría explicarse suponiendo que: 1) que el número de sitios cargados positivamente en la superficie del mineral sea mucho mayor a pH 4.6 que a pH 9.7 (valor cercano al p.z.c.); así muy pocas moléculas cargadas negativamente tendrían la oportunidad de sorberse por la escases de sitios a pH 9.7; 2) el p.z.c. medido es “aparente” como ya se mencionó anteriormente y no representa correctamente el comportamiento de la superficie del olivino; y 3) el mecanismo de sorción es complejo e incluye la formación de complejos organometálicos. La presencia de metales puede favorecer la sorción de moléculas orgánicas en superficies minerales (Harter y Naidu, 1995), el  $Mg^{2+}$  y  $Fe^{2+}$  presentes en el olivino pueden favorecer la sorción de los aminoácidos mediante la formación de complejos con los aminoácidos glicina y alanina (Yin *et al.*, 2017; Perkins, 1953; Albert, 1950).

Si se considera que el valor de p.z.c. medido con el punto isoeléctrico es el que mejor representa el comportamiento de la superficie de olivino (Figura 7). Podemos observar que a pH 4.6 los aminoácidos cargados positivamente y en su forma de zwitterion pueden sorberse en la superficie negativa del olivino. En cambio, a pH 9.7 donde hay aminoácidos tanto en la forma de zwitterion, como cargados negativamente, sólo los que están en forma de zwitterion podrían sorberse a la superficie negativa.

Además, en medio ácido el Mg y el Fe presentes en la estructura del olivino participan en reacciones de intercambio con  $H^+$  y se liberan al medio acuoso en forma de cationes (Wogelius yWalther, 1991; Lacroix *et al.*, 2014; Oelkers *et al.*, 2018)(reacciones 1 y 2) creando una superficie similar a la del  $SiO_2$  (Oelkers *et al.*, 2009). Esto implicaría que la superficie del olivino en las sorciones a pH 4.6 podría estar relativamente empobrecida en Mg y Fe; y por lo tanto, ser composicionalmente similar a la superficie del  $SiO_2$ .



Si comparamos lo que publicó Meng *et al.*(2004) en su trabajo de sorción de glicina en  $SiO_2$  con las sorciones de glicina en olivino en este trabajo hay similitudes. Meng y col. encontraron que la sorción de glicina en  $SiO_2$  es dependiente del pH y publicaron cantidades de glicina sorbida menores a 0.01 mmol/g de  $SiO_2$  para una concentración inicial de la solución de 0.01M y pH=6. En este trabajo se utilizó una concentración inicial de los aminoácidos de 0.001M, y el valor de sorción máxima publicada fue 0.0119 mmol/g de olivino a pH 4.6 y 0.0082 mmol/g de olivino para pH 9.7 (*Tabla 5*).

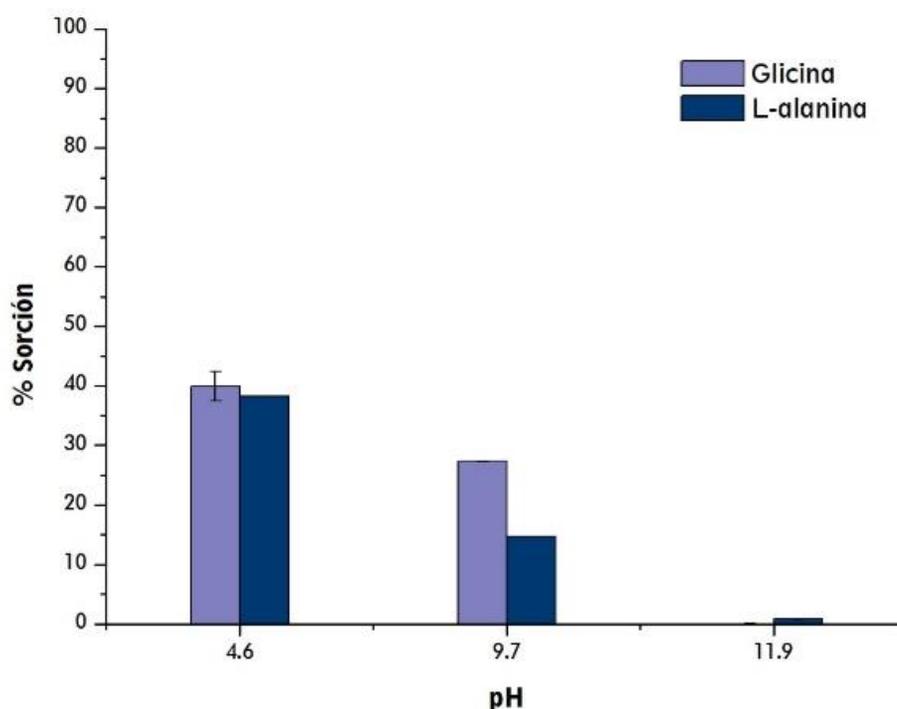


Figura 3. Sorción de glicina y L-alanina en olivino, se muestran los experimentos a diferentes valores de pH

Tabla 5. Cantidad de glicina y L-alanina sorbida en olivino a diferente pH

pH	Cantidad sorbida de aminoácido (mmol de aminoácido /g de mineral)	
	Glicina	L-alanina
4.6	0.0119	0.0114
9.7	0.0082	0.0044
11.9	0	0.0002

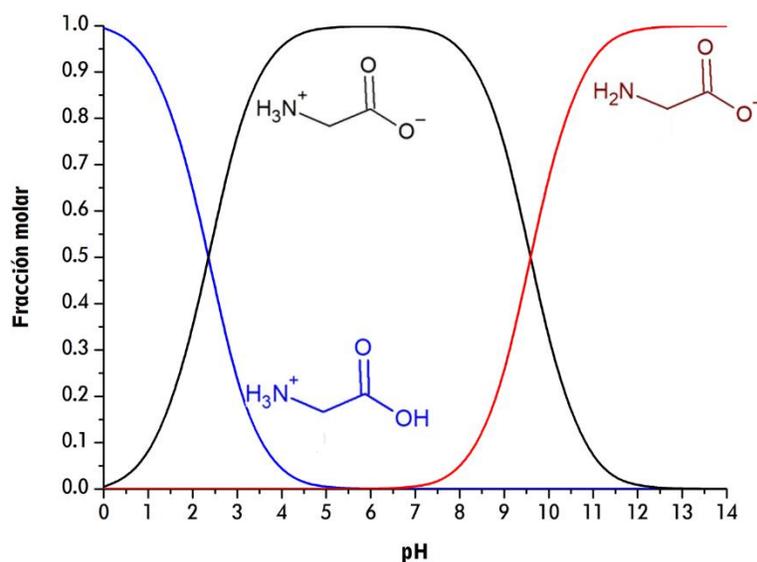


Figura 4. Abundancia de las especies de glicina en solución acuosa en función del pH. Cálculos realizados con los datos de pKa proporcionados por Budavari (1996):  $pK_{a1} = 2.34$ ,  $pK_{a2} = 9.60$

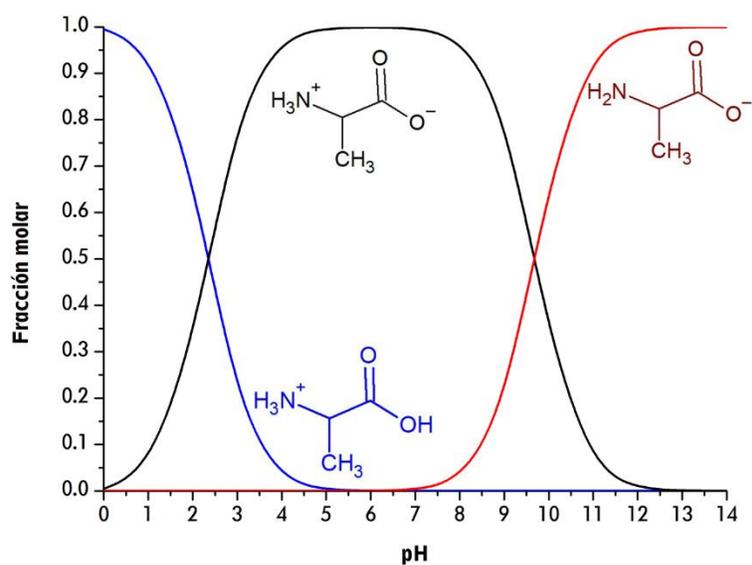


Figura 5. Abundancia de las especies de L-alanina en solución acuosa en función del pH y su estructura. Cálculos realizados con los datos de pKa proporcionados por Budavari (1996):  $pK_{a1}=2.34$ ,  $pK_{a2}=9.69$

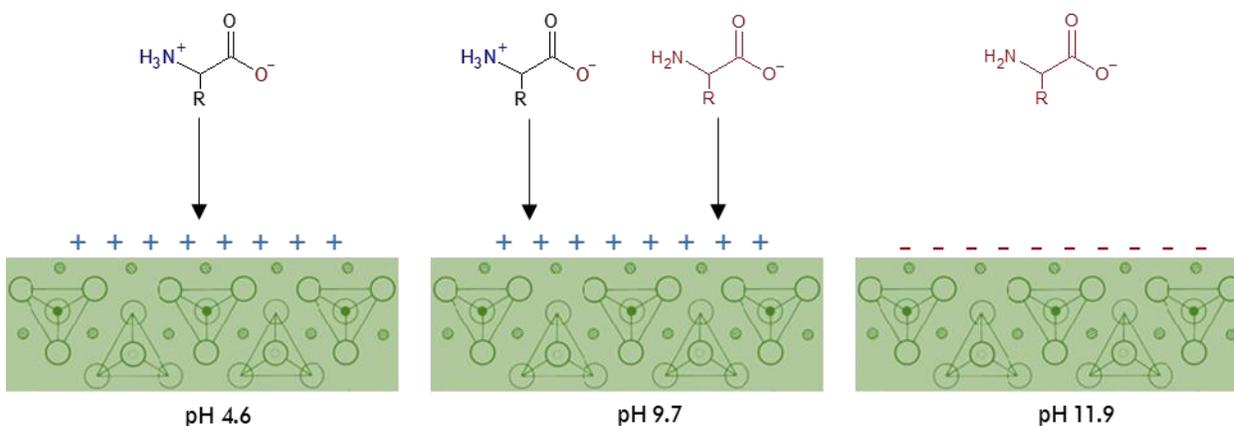


Figura 6. Esquema que muestra cómo se encuentra cargada la superficie mineral (verde) y las especies de los aminoácidos a los pH de sorción manejados tomando el valor de p.z.c. del olivino de 10.14. Las flechas indican la posibilidad de sorción de las especies en la superficie mineral por interacción de cargas.

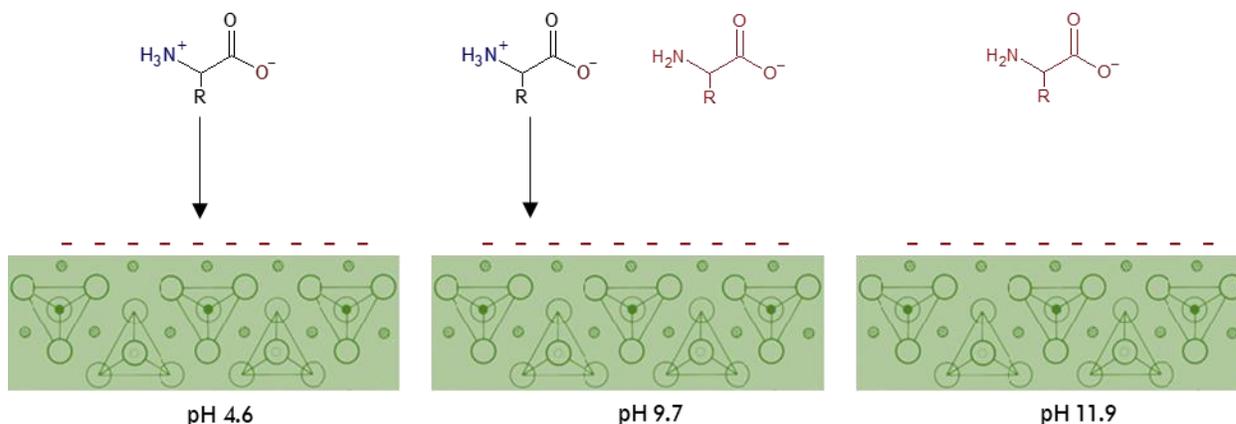
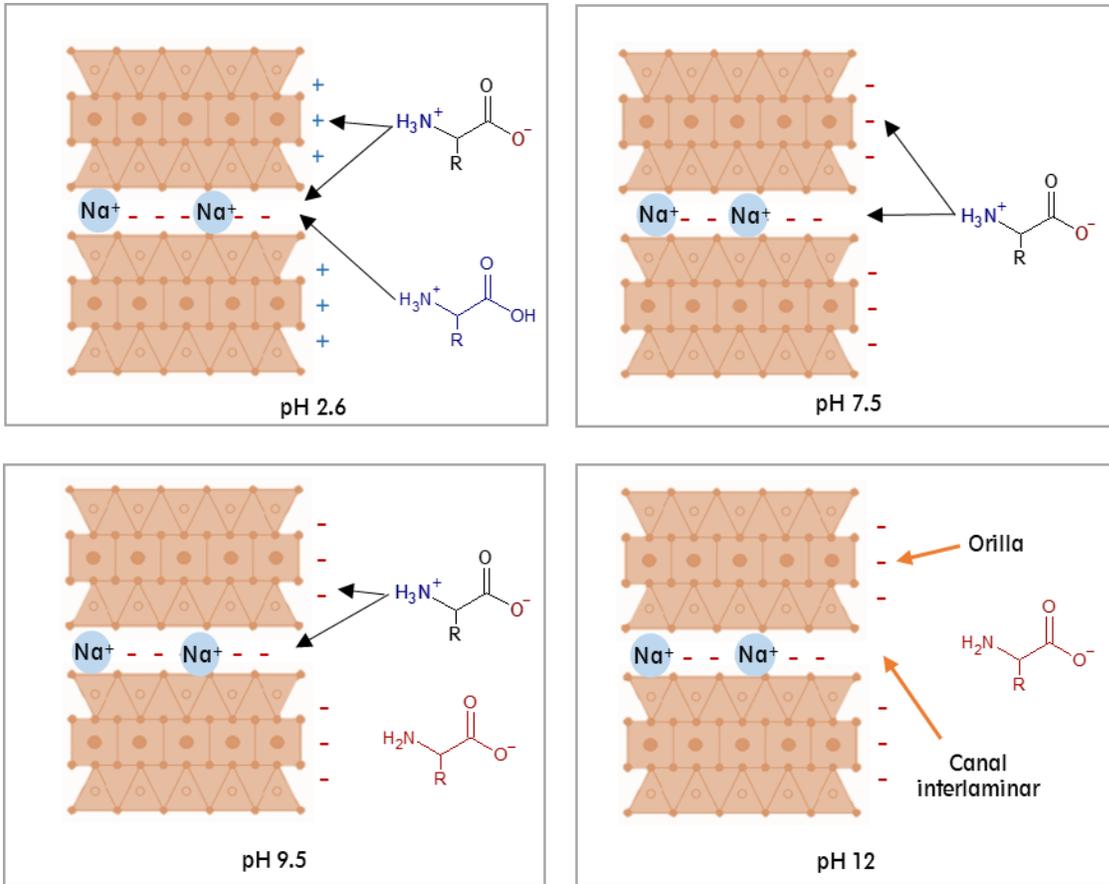


Figura 7. Esquema que muestra cómo se encuentra cargada la superficie mineral (verde) y las especies de los aminoácidos a los pH de sorción manejados tomando el valor de p.z.c. del olivino como su punto isoeléctrico (4 – 4.5). Las flechas indican la posibilidad de sorción de las especies en la superficie mineral por interacción de cargas.

#### *Sorciones en montmorillonita*

En la Figura 8 se observa que la sorción de los aminoácidos glicina y L-alanina en montmorillonita también es dependiente del pH, lo que coincide con la adsorción de otras moléculas orgánicas en montmorillonita (Aguilar-Ovando, 2010; Meléndez-López, 2008; Guzman-Marmolejo, 2006, 2003) incluyendo aminoácidos (Farias et al., 2014; Ramos y Huertas, 2013; Friebele et al., 1980; Greenland et al., 1962).

Los porcentajes de sorción disminuyen con el aumento del pH, esto coincide con lo que reportan Ramos y Huertas (2013), Friebele et al. (1980) (Aguilar-Ovando y Negrón, 2015). Como la glicina y L-alanina son los aminoácidos más sencillos y se parecen estructuralmente, tienen un comportamiento parecido en la sorción. Las cantidades sorbidas de glicina son parecidas a las de L-alanina (Tabla 6), al igual que lo reportado por Friebele et al. (1980) y Hedges y Hare (1987). El mayor porcentaje de sorción para los dos aminoácidos se observa a pH 2.6, donde hay un 61% de sorción de glicina y 56% de L-alanina. La cantidad de glicina sorbida en montmorillonita a los distintos valores de pH (Tabla 6) concuerdan con las cantidades reportadas por Ramos et al. (2011).



La montmorillonita posee cargas dependientes del pH, al igual que los aminoácidos. En la

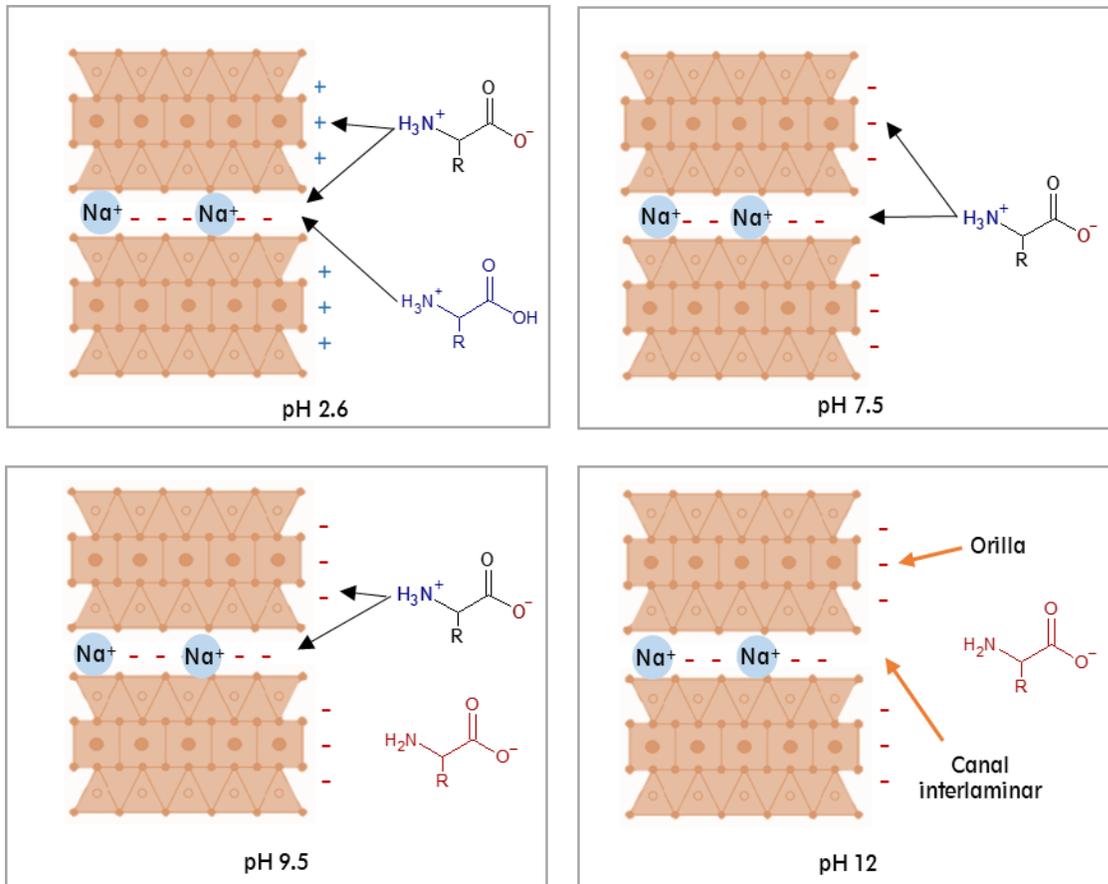


Figura 9 se presenta como podrían encontrarse las cargas del mineral y los aminoácidos a los valores de pH en que se realizaron las sorciones. A pH 12 los aminoácidos se encuentran cargados negativamente, al igual que el mineral (puntos de carga cero), por lo que no se espera que exista adsorción por interacción de cargas. A pH 7.5 la superficie mineral está cargada negativamente y los aminoácidos predominan en forma de zwitterion, permitiendo así la sorción de los aminoácidos a la superficie mineral por medio del grupo amino. De la misma manera ocurre la sorción a pH 9.5, pero en menor proporción debido a que los aminoácidos están, en una proporción en forma de zwitterion y otra en su forma negativa.

A pH 2 la mayor parte de los aminoácidos se encuentra cargados positivamente y una proporción menor en forma de zwitterion, por su parte, los minerales poseen también una carga neta positiva. A este pH la sorción en los minerales puede darse por interacción de cargas entre el grupo carboxilo del aminoácido y la carga positiva en la superficie del mineral.

Además de las cargas dependientes del pH, la montmorillonita posee una carga negativa permanente (en el canal interlaminaar) que no depende del pH (Wanner *et al.*, 1994). Gracias a esta característica, los aminoácidos podrían sorberse en la montmorillonita por medio del grupo amino en el canal interlaminaar a pH bajo. Para comprobar lo anterior, Ramos y

Huertas (2013) midieron la cantidad de  $K^+$  liberado en el sobrenadante de suspensiones de montmorillonita de potasio en disoluciones de glicina a distintas concentraciones. Encontraron una relación entre la cantidad de glicina adsorbida a la montmorillonita y el  $K^+$  en el sobrenadante (desorbido); la concentración de  $K^+$  desorbida incrementa con la concentración de glicina, demostrando que la glicina puede absorberse en la montmorillonita por un mecanismo de intercambio catiónico. Aguilar-Ovando y Negron (2015) comprobaron que la L-alanina se adsorbe en el canal interlaminar de la montmorillonita; bloquearon el canal interlaminar con bromuro de hexadeciltrimetilamonio y observaron que no ocurría sorción cuando estaba bloqueado. Lo anterior explicaría por qué a valores de pH más bajos, donde la carga superficial de la montmorillonita es positiva al igual que la de los aminoácidos, la cantidad sorbida es mayor.

Comparando los dos minerales ensayados, se observaron mayores porcentajes de sorción en la montmorillonita de sodio. Su capacidad de sorción superior a la del olivino se puede atribuir a que posee cargas negativas permanentes, y canales interlaminares en los que se pueden intercalar moléculas orgánicas (Chen *et al.*, 1987). Estudios realizados por Pearson y col. (2002) determinaron que la materia orgánica en los meteoritos se encuentra fuertemente asociada a arcillas y sugieren que éstas tuvieron un papel importante en los procesos de evolución química actuando como sorbentes y catalizadores.

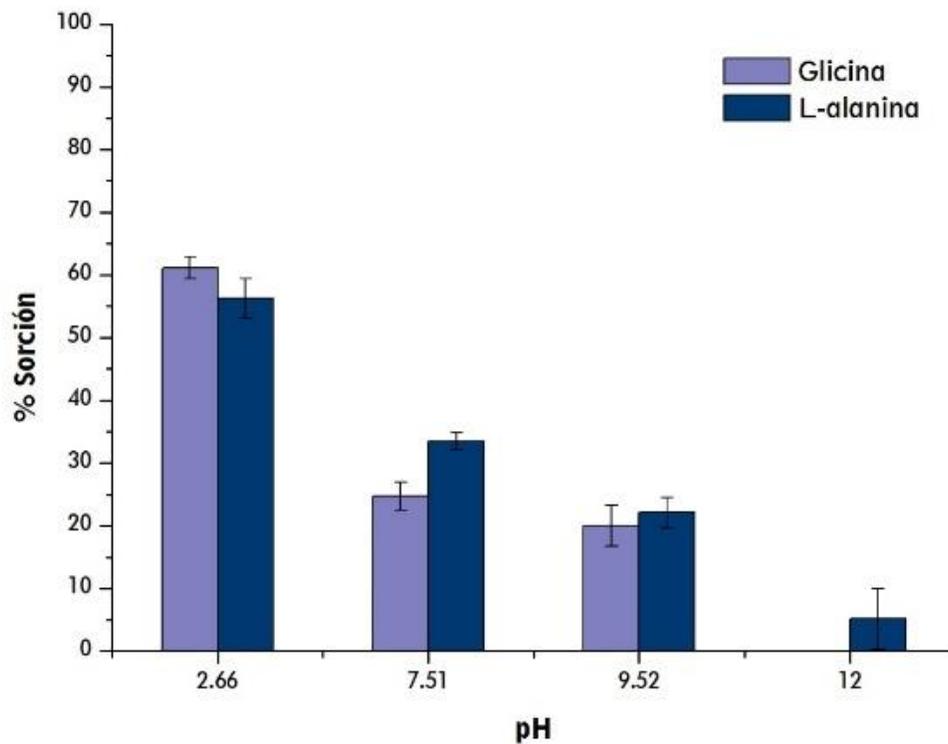


Figura 8. Porcentaje de sorción de glicina y L-alanina en montmorillonita de sodio, se muestran los experimentos realizados a diferentes valores de pH.

Tabla 6. Cantidad de glicina y L-alanina sorbida sorbida en montmorillonita a diferente pH

pH	Cantidad sorbida de aminoácido (mmol de aminoácido /g de mineral)	
	Glicina	L-alanina
2.6	0.0183	0.0168
7.5	0.0074	0.01005
9.5	0.0060	0.0066
12.0	0	0.0015

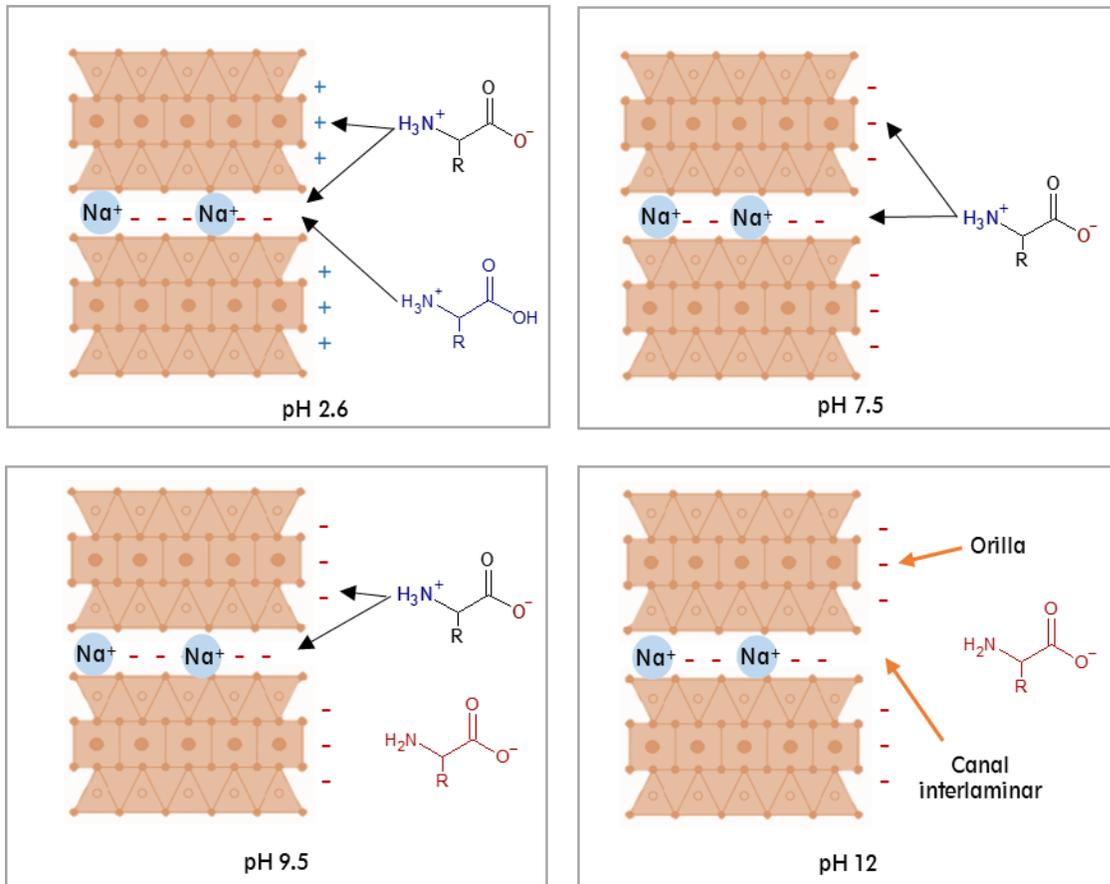


Figura 9. Esquema que representa la carga de la superficie mineral y las especies del aminoácido presentes en los diferentes valores de pH manejados. Las flechas naranjas indican los sitios de sorción posibles: canal interlaminaar y orilla. Las flechas negras indican los sitios donde puede ocurrir sorción por interacción de cargas.

## Análisis IR

### *Montmorillonita*

En la Figura 10 se presenta el espectro IR de la montmorillonita. La banda que se observa en  $3627\text{ cm}^{-1}$  se debe a la vibración de los grupos OH estructurales. Las bandas que aparecen en  $3429\text{ cm}^{-1}$  y  $1644\text{ cm}^{-1}$  están asociadas a la vibración de moléculas de agua superficiales, esta última banda posee un sobretono que se observa como un hombro en  $3238\text{ cm}^{-1}$  (Danková, *et al.*, 2014). Las bandas que aparecen entre  $1046\text{ cm}^{-1}$  y  $467\text{ cm}^{-1}$  son características de la estructura de los enlaces de silicio, oxígeno y aluminio que conforman a la montmorillonita. En la Tabla 7 se muestran las bandas y los modos vibracionales a los que están asociadas.

### *Olivino*

En la Figura 11 se observan las bandas principales para el olivino, que se encuentran entre  $1000$  y  $925\text{ cm}^{-1}$  ( $991, 987, 954\text{ cm}^{-1}$ ) y corresponden a los enlaces Si-O (Tabla 8). Las bandas que se encuentran en  $474$  y  $414\text{ cm}^{-1}$ , corresponden a los enlaces Mg-O<sub>6</sub> (Taret, 1962; Jeanloz, 1980). La banda en  $3456\text{ cm}^{-1}$  pertenece al agua. El espectro IR de olivino obtenido, al igual que el de montmorillonita coinciden con los publicados por Chukanov (2014).

### *Glicina y L-alanina*

En las Figura 12 y Figura 13 se muestran los espectros de infrarrojo de los aminoácidos. Las bandas características del grupo amino se encuentran en la región  $3000$  y  $2000\text{ cm}^{-1}$  y son similares para los dos aminoácidos. Las bandas que están en la región de  $1500$  a  $500\text{ cm}^{-1}$  son propias de los enlaces C-N, C-C y COO (Leifer y Lippincott, 1957). También se observan diferencias en la región entre  $1500$  y  $500\text{ cm}^{-1}$ ; se observa una mayor cantidad de bandas en el espectro de la L-alanina. Las bandas de en esta región pertenecen en su mayoría a enlaces CH, CH<sub>2</sub> y C-C que coincide con la presencia del grupo R del aminoácido, en este caso un metilo (CH<sub>3</sub>) para L-alanina.

### *Sorciones e impregnaciones*

No se logró observar ninguna de las bandas que puedan atribuirse al aminoácido en los espectros de infrarrojo de las muestras de sorción (Figura 14 y Figura 15) debido a que las concentraciones de los aminoácidos manejadas fueron muy bajas (Ramos y Huertas, 2013). Sin embargo, si se observó un cambio en los espectros de infrarrojo de las sorciones en montmorillonita a pH 7.5; la intensidad de las bandas que se encuentran aproximadamente en  $1040\text{ cm}^{-1}$ ,  $3420\text{ cm}^{-1}$  y  $3620\text{ cm}^{-1}$  disminuyó con respecto a la del espectro del mineral; la primera corresponde al Si-O y las dos últimas al agua. En los espectros de las sorciones en olivino a pH=2 también se observó una disminución en la intensidad de la banda que está aproximadamente en  $984, 887$  y  $838\text{ cm}^{-1}$ , las cuales también corresponde a enlaces Si-O.

Danková *et al.*, (2014) estudiaron los cambios en los espectros de montmorillonita sometida a tratamientos ácidos, encontrando una disminución en las bandas que corresponden al agua debido a la sustitución de grupos OH<sup>-</sup> por H<sup>+</sup> y atribuyen el cambio en las bandas de Si-O por una posible dilución de los tetraedros de SiO<sub>4</sub>.

En los experimentos con olivino se observa la reducción de las bandas en 887, 604, 504 cm<sup>-1</sup> (Figura 15), que pertenece al SiO<sub>4</sub>; y de las bandas en 471 y 415 cm<sup>-1</sup> que son atribuidas al Mg. Este cambio en el tamaño de las bandas pudo ocurrir debido a la disolución del olivino. En el proceso de disolución el olivino en medio acuoso pierde Mg y Si; a menor pH más pérdida de estos dos elementos (Oelkers *et al.*, 2018; Pokrovsky y Schott, 2000). Por lo tanto, la disminución de dichas bandas confirma que el Mg se está perdiendo de la superficie del mineral.

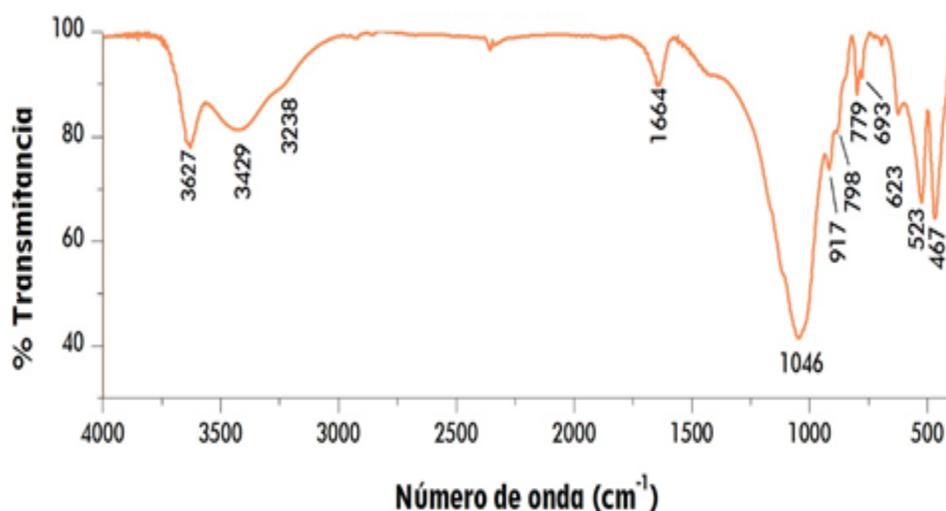


Figura 10. Espectro infrarrojo de una muestra seca de la montmorillonita de sodio que fue utilizada para realizar los experimentos de sorción. Para identificar la bandas asignadas consultar la tabla 7.

Tabla 7. Bandas del espectro infrarrojo de montmorillonita y los grupos a los que se atribuyen.

<b>Grupos</b>	<b>Bandas publicadas por (danková <i>et al.</i>, 2014)</b>	<b>Banda encontradas en este trabajo (cm<sup>-1</sup>)</b>
<b>Vibración de OH estructural</b>	3626	3627
<b>Estiramiento del h<sub>2</sub>o</b>	3420-3450	3429
<b>Sobretono de la flexión del H<sub>2</sub>O</b>	3330 (hombro)	3238
<b>Flexión de oh del agua que está en la superficie</b>	1656	1644
<b>Estiramiento de Si-O</b>	1040	1046
<b>Flexión de Al-Al-OH</b>	916	917
<b>Flexión de Al-OH</b>	840	--
<b>Bandas atribuidas al cuarzo</b>	797	798
	693	693
<b>Vibración de Al-O y Si-O</b>	625	623
<b>Flexiones de Al-O-Si</b>	523	523
<b>Flexiones de Si-O-Si</b>	470	467

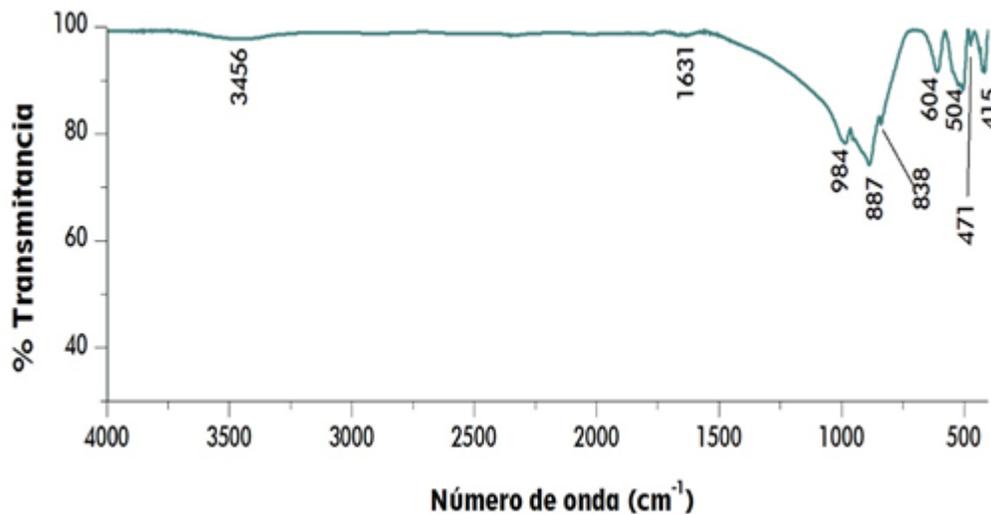


Figura 11. Espectro infrarrojo de una muestra seca de olivino (forsterita) con tamaño de partícula menor a 125  $\mu\text{m}$ , que fue utilizada para realizar los experimentos de sorción. La asignación de las bandas puede ser consultada en la Tabla 8.

Tabla 8. Bandas del espectro infrarrojo de olivino y los grupos a los que se atribuyen

Grupos	Bandas publicadas por (jeanloz, 1980)	Bandas encontradas en este trabajo ( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>Flexión de <math>\text{SiO}_4</math></b>	1003	--
	985	984
	957	954
	925 (hombro)	--
	884	887
<b>Vibración simétrica de <math>\text{SiO}_4</math></b>	839	838
<b>Vibración asimétrica de <math>\text{SiO}_4</math></b>	609	604
	547 (hombro)	--
	527	526
	507	504
<b>Bandas atribuidas a <math>\text{MgO}_6</math></b>	475	471
	420	415

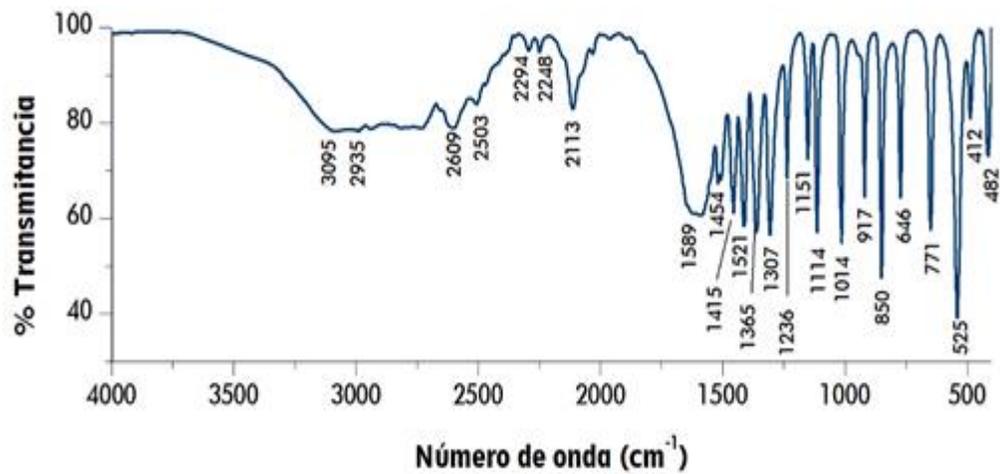


Figura 12. Espectro infrarrojo de una muestra de cristales secos de L-alanina. La asignación de las bandas puede ser consultada en la

Tabla 9.

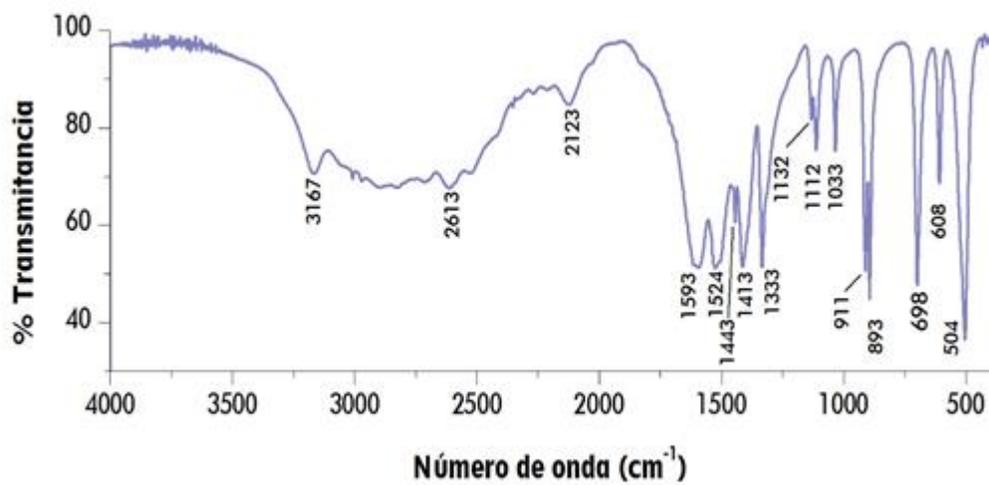


Figura 13. Espectro infrarrojo de una muestra de cristales secos de glicina. La asignación de bandas se puede consultar en la tabla 10.

Tabla 9. Bandas del espectro infrarrojo de alanina y los grupos a los que se atribuyen

<b>Grupos</b>	<b>Bandas encontradas por Anbu Chudar Azhagan y Ganesan (2017) (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Bandas encontradas en este trabajo (cm<sup>-1</sup>)</b>
<b>Estiramiento asimétrico NH<sub>2</sub></b>	3099	3095
<b>Estiramiento asimétrico CH<sub>3</sub></b>	2969	2935
<b>Estiramiento NH</b>	2604	2609
<b>Flexión de NH<sub>2</sub></b>	1595	1589
	1354	1365
<b>Flexión de NH<sub>3</sub></b>	1307	1307
<b>Flexión de los grupos VH, CH<sub>2</sub></b>	1149	1151
<b>Estiramiento de CH</b>	1114	1114
<b>Flexión de H-N-C-C</b>	1014	1014
<b>Flexión de CNH</b>	918	917
<b>Estiramiento de CN y C-C</b>	850	850
<b>Flexión de HNC y CCH</b>	769	771
<b>Flexión de CCO y COO</b>	646	646
<b>Flexión de COOH</b>	543	525
<b>Flexión de OH</b>	412	412

Tabla 10. Bandas del espectro infrarrojo de glicina y los grupos a los que se atribuyen

<b>Grupo</b>	<b>Bandas encontradas por Anbu Chudar Azhagan y Ganesan (2017) (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Bandas encontradas en este trabajo (cm<sup>-1</sup>)</b>
<b>Flexión del COO</b>	502	504
	606	608
	683	698
<b>Vibración simétrica de CCN</b>	898	893
<b>Vibración asimétrica de CCN</b>	1030	1033
<b>Flexión de NH<sub>3</sub></b>	1109	1112
<b>Flexión de CH<sub>2</sub></b>	1328	1333
<b>Vibración simétrica de COO</b>	1409	1413
<b>Banda atribuida a NH<sub>3</sub></b>	1513	1524
<b>Vibración asimétrica de CO<sub>2</sub></b>	1609	1593
<b>Estiramiento simétrico de CH<sub>3</sub></b>	2614	2613
<b>Estiramiento simétrico de NH<sub>3</sub></b>	3159	3167

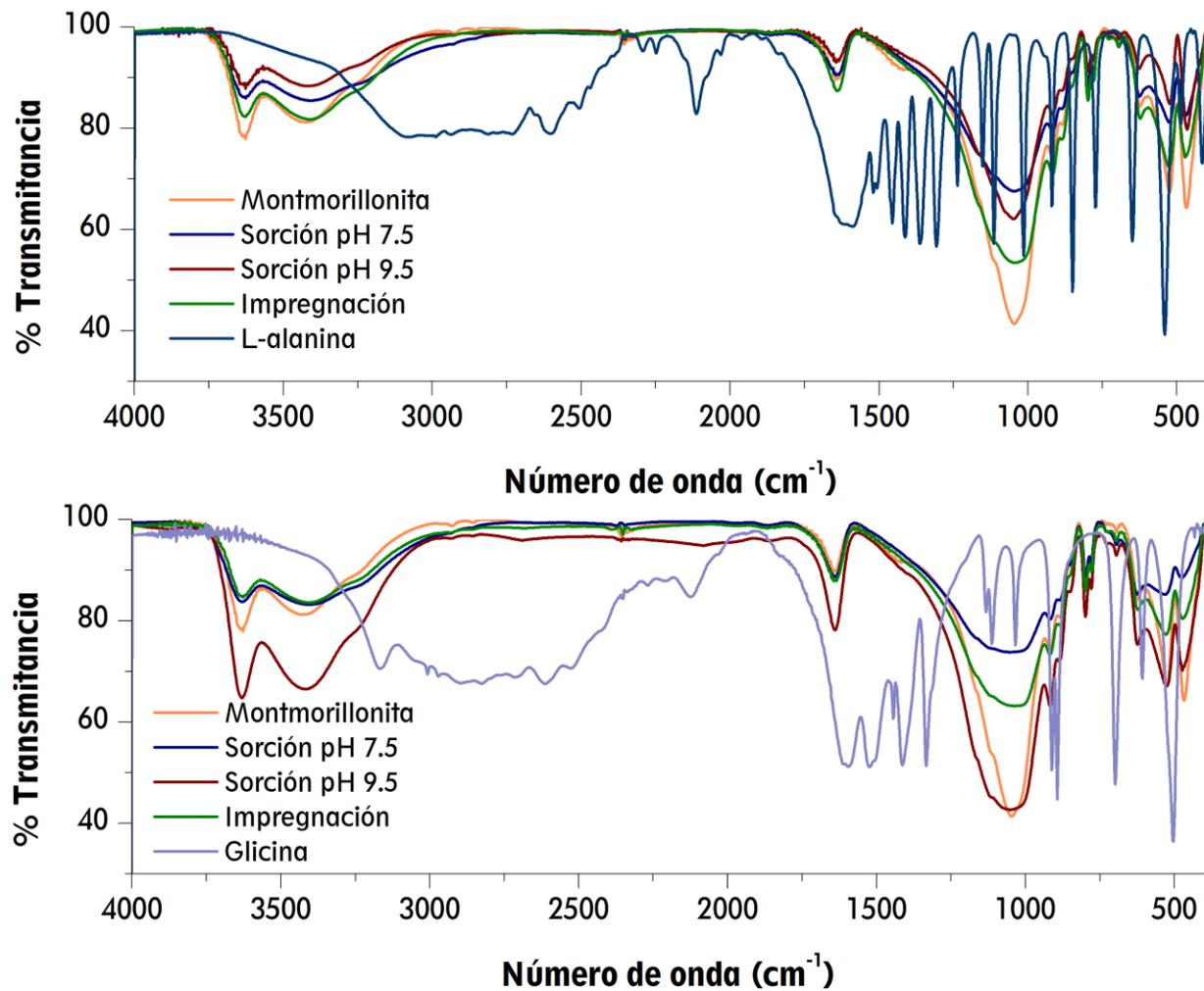


Figura 14. Espectros de infrarrojo de la sorción e impregnación de L-alanina y glicina en montmorillonita. Se muestran los espectros del mineral puro (montmorillonita), el aminoácido puro (glicina o alanina), las sorciones a distintos pH's y de una muestra de mineral que estuvo en contacto con el aminoácido en solución que se secó inmediatamente para no permitir el tiempo necesario para que ocurriera la sorción (impregnación).

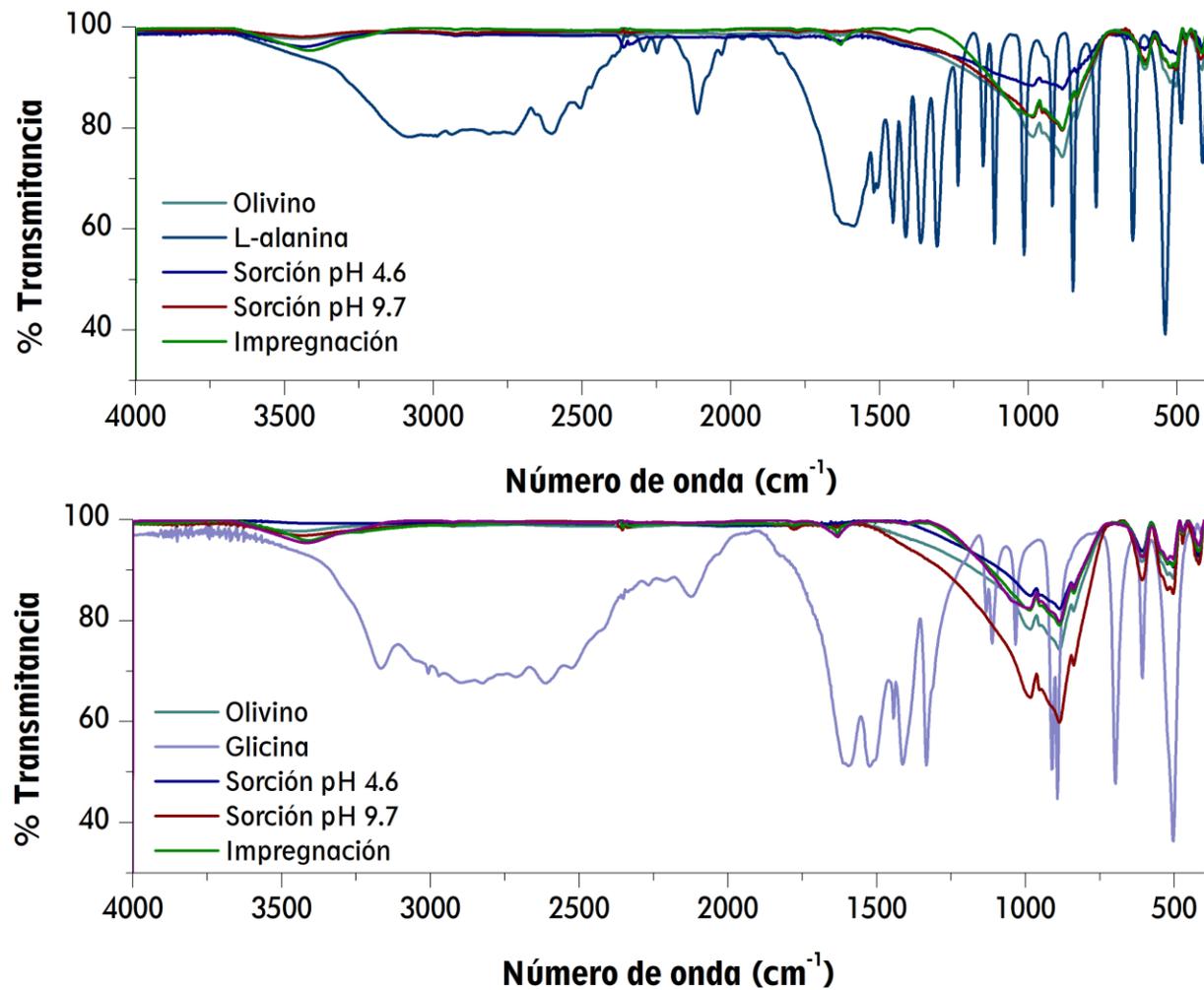


Figura 15. Espectros de infrarrojo de la sorción e impregnación de L-alanina y glicina en olivino. Se muestran los espectros del mineral puro (olivino), el aminoácido puro (glicina o alanina), las sorciones a distintos pH's y de una muestra de mineral que estuvo en contacto con el aminoácido en solución que se secó inmediatamente para no permitir el tiempo necesario para que ocurriera la sorción (impregnación).

### Cinéticas de sorción

Las cinéticas de sorción muestran que el tiempo necesario de contacto para que la L-alanina y glicina se sorban al máximo en montmorillonita es rápido, de una hora; mientras que para los sistemas de glicina y L-alanina en olivino, la sorción es lenta (*Figura 16*). En contrapartida, el equilibrio de sorción de los aminoácidos en montmorillonita ocurre a las 24 horas, observándose una desorción a las 2 horas (*Figura 16*). Esta desorción se produce por el aumento de pH en el medio; y este aumento de pH es provocado por la reacción de intercambio iónico en el canal interlamilar: el  $\text{Na}^+$  es liberado, mientras que el  $\text{H}^+$  se sorbe en el canal (Wanner *et al.*, 1994). De esta manera la concentración de  $\text{H}^+$  en medio acuoso disminuye, lo que se traduce en un aumento de pH.

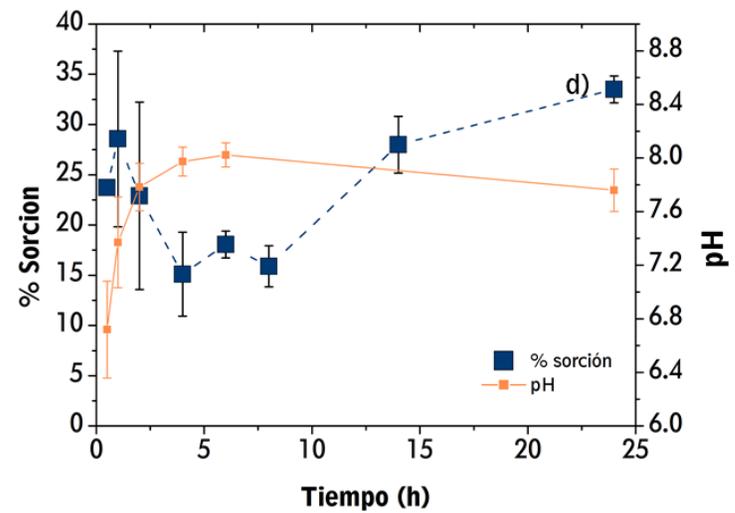
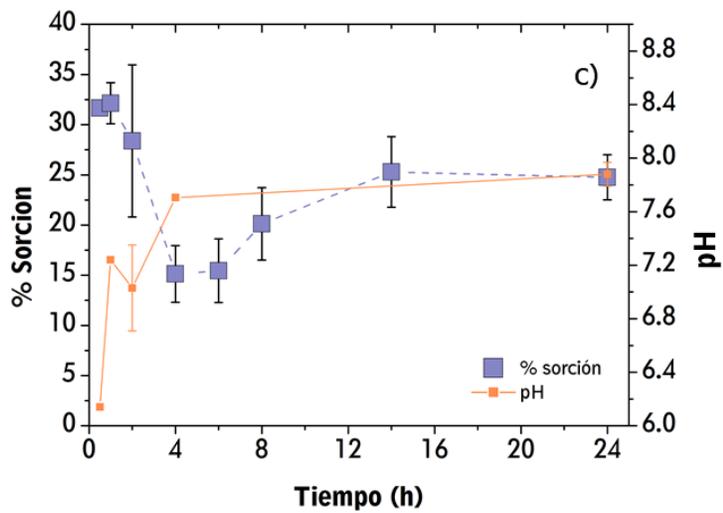
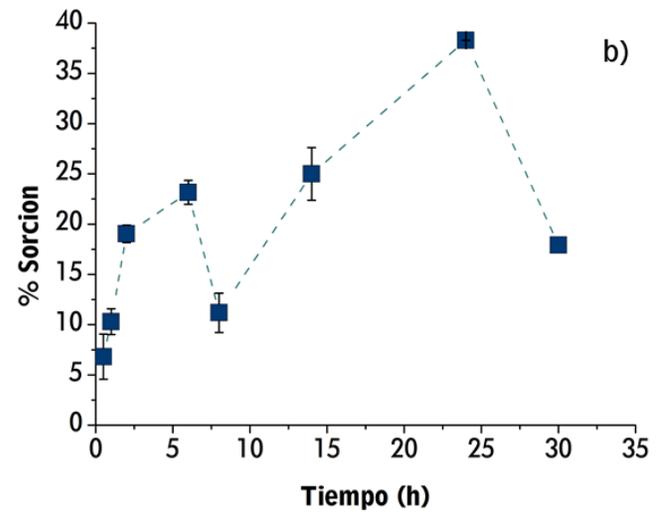
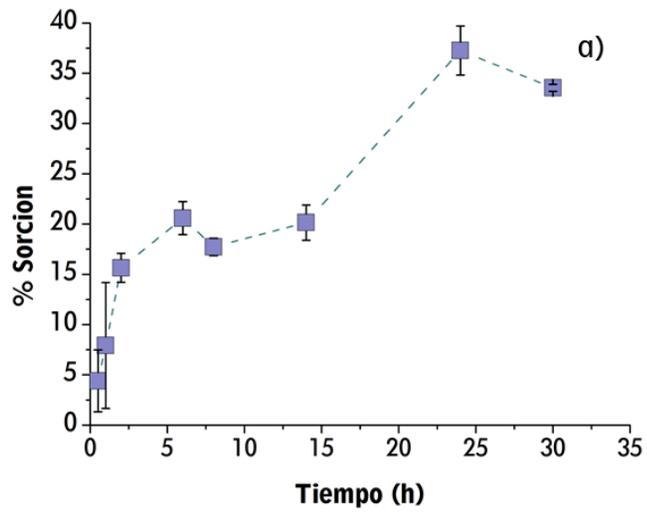


Figura 16. Porcentaje sorbido de los aminoácidos en los minerales en función del tiempo: a) glicina en olivino, b) L-alanina en olivino, c) glicina en montmorillonita d) L-alanina en montmorillonita.

## Isotermas de sorción

Para todas las muestras se realizaron ajustes para encontrar qué modelo describía mejor el comportamiento de la sorción. Se realizó un ajuste a los modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich y BET en su forma no lineal; ya que los parámetros calculados con ajustes no lineales representan mejor las características de sorción que sus ajustes a formas lineales (Subramanyam y Das, 2009). A continuación se describe cada uno.

- Langmuir

La isoterma de Langmuir representa una relación de equilibrio entre las tasa relativas de adsorción y desorción (equilibrio dinámico). Considera una sorción en monocapa y que todos los sitios de sorción tienen la misma energía (superficie homogénea). La ecuación que la describe es la siguiente:

$$q_e = q_m \frac{k_L C_e}{1 + k_L C_e}$$

Donde  $C_e$  es la concentración del adsorbato en el equilibrio y  $k_L$  es la constante de Langmuir que está asociada a la capacidad de adsorción y  $q_m$  es la capacidad máxima de sorción. A partir del valor de  $k_L$  se puede calcular una constante adimensional llamada factor de separación  $R_L$ :

$$R_L = \frac{1}{1 + k_L C_0}$$

- Freundlich

A diferencia del modelo de isoterma de Langmuir, Freundlich trata de explicar el proceso de sorción en superficies heterogéneas. El isoterma de Freundlich expresa qué tan heterogénea es la superficie y la distribución exponencial de los sitios activos y sus energías mediante la siguiente ecuación (Freundlich, 1909):

$$q_e = k_F C_e^{1/n}$$

Donde  $k_F$  es la constante de Freundlich que es indicativa de la capacidad de sorción y  $1/n$  es la intensidad de sorción, que también involucra la distribución de energía y heterogeneidad de los sitios de sorción. Cuando  $n > 1$ , la sorción es favorable; cuando  $n = 1$  la isoterma tiene forma lineal; y cuando  $n < 1$ , la sorción no es favorable (Giles *et al.*, 1974).

- Modelo BET

El modelo BET es utilizado para sorciones multicapa de gases en sólidos. Ebadi *et al.* (2009) proponen una forma de la ecuación de BET para ser aplicada en isotermas en fase líquida. Esta forma considera dos constantes de equilibrio separadas: para la primera capa y las capas superiores. La ecuación resulta ser:

$$q_e = q_m \frac{k_s C_e}{(1 - k_l C_e)(1 - k_l C_e + k_s k_l C_e)}$$

Donde  $q_m$  es la capacidad máxima de sorción de la primera capa,  $k_s$  es la constante de equilibrio de la primera capa y  $k_l$  es la constante de equilibrio de las capas superiores.

Ajuste de las isotermas a los modelos.

En la Tabla 11 se observa que las isotermas de los aminoácidos en olivino y montmorillonita tienen buen ajuste a los modelos de Langmuir y BET, en el intervalo de concentraciones entre  $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3} \text{M}$ . A excepción de la isoterma de alanina en montmorillonita, que no tiene buen ajuste a ninguno de los modelos. En otros trabajos publicaos indican que la forma de las isotermas de diferentes aminoácidos en montmorillonita es de tipo Langmuir (Dashman y Stotzky, 1982; Greenland *et al.*, 1962, 1965; Kalra *et al.*, 2000; Parbhakar *et al.*, 2007; Ramos y Huertas, 2013), aunque cabe resaltar que dichos trabajos emplean concentraciones del aminoácido mayores a las usadas en este.

Tabla 11. Parámetros calculados con el ajuste de cada isoterma a los tres modelos

Modelo	Parámetros	Oliv-gli	Oliv-ala	Mont-gli	Mont-ala
Langmuir	R <sup>2</sup>	<b>0.9355</b>	0.9785	0.9101	0.7877
	Q <sub>m</sub>	<b>0.9666</b>	1.07873	0.57398	0.3294
	K <sub>l</sub>	<b>0.0059</b>	0.0053	0.0090	0.0246
Freundlich	R <sup>2</sup>	0.9255	<b>0.9799</b>	0.8486	0.7141
	N	1.0857	<b>1.2316</b>	0.8120	1.6053
	K <sub>f</sub>	0.0062	<b>0.0093</b>	0.0017	0.01465
BET	R <sup>2</sup>	0.9355	<b>0.9800</b>	<b>0.9566</b>	0.7877
	Q <sub>m</sub>	0.9666	<b>0.31097</b>	<b>0.06935</b>	0.32941
	K <sub>l</sub>	0	<b>0.004</b>	<b>0.0121</b>	0
	K <sub>s</sub>	0.0059	<b>0.02165</b>	<b>0.1472</b>	0.0247

La isoterma obtenida para el sistema glicina en olivino tiene el mismo ajuste al modelo de Langmuir y BET, puesto que el modelo BET es una forma más generalizada del modelo de Langmuir. De hecho, cuando la sorción ocurre en una sola capa, el modelo BET es igual al de Langmuir (Dąbrowski, 2001). Por ello, los dos modelos arrojan el mismo valor para  $q_m$

(0.9666 mg/g), para  $k_L$  y  $k_s$  (0.0059 unidades) y un valor de cero para  $k_i$ , lo que indica la sorción ocurre en una sola capa. A pesar de que el modelo de Langmuir es el que mejor se ajusta a los datos, lo curva predicha no es similar a la experimental en la concentración más alta (Figura 17).

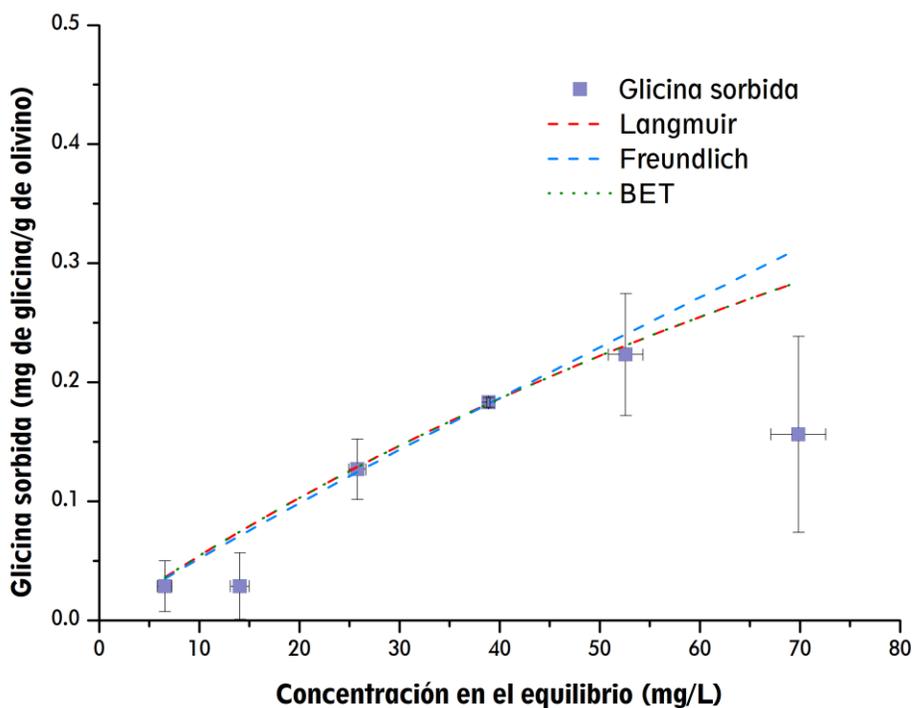


Figura 17. Isoterma de sorción de glicina en olivino a pH 4

Los datos calculados con los tres modelos se ajustan bien y de manera muy similar a la isoterma experimental de L-alanina en olivino (Figura 18). El modelo BET es el que mejor se ajusta a los datos e indica un proceso de sorción en más de una capa. Como la isoterma no alcanzó la capacidad máxima de sorción y el máximo de sorción calculado para la primera capa (Tabla 11) coincide con el valor experimental más alto, no es posible saber si hay un proceso de sorción multicapa. Es necesario realizar más experimentos de sorción con concentraciones de L-alanina más altas para comprobarlo.

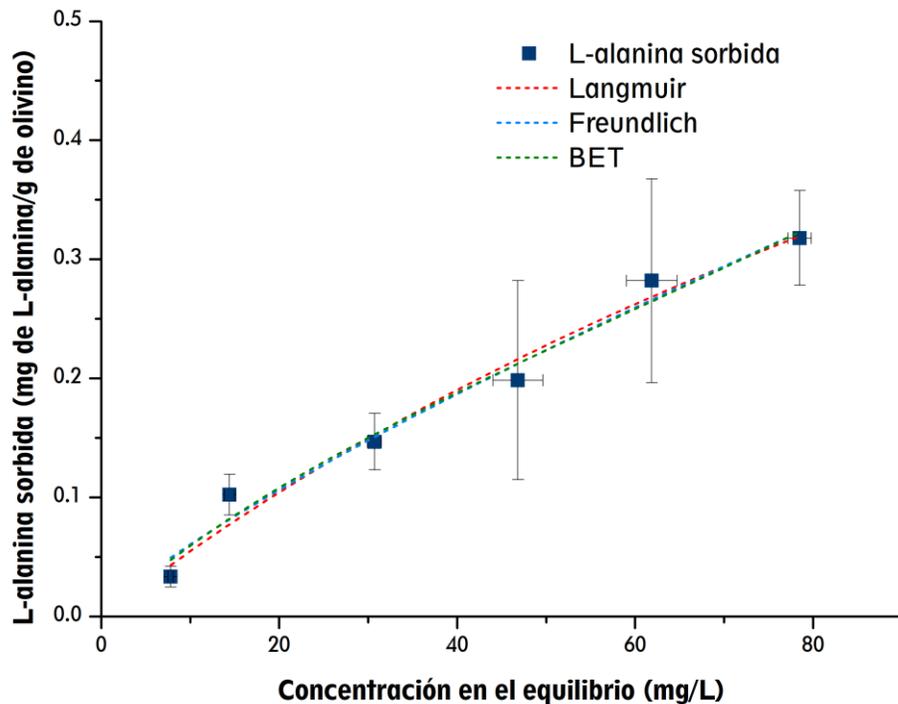


Figura 18. Isoterma de sorción de L-alanina en olivino a pH 4.

En la isoterma de glicina en montmorillonita es posible ver una inflexión entre 13 y 25 mg/g que podría señalar la formación de una capa superior (Figura 19). El modelo BET predice que la capacidad máxima de sorción para la primera capa es de 0.0693 mg/g y las capas posteriores se forman a concentraciones mayores a esta. Esta isoterma difiere a las reportadas en otros trabajos, que resultan ser de tipo Langmuir (Greenland *et al.*, 1962; Kalra *et al.*, 2000; Ramos y Huertas, 2013).

Aunque en los trabajos antes mencionados no se reporta la sorción en multicapa, Ramos y Huertas, 2013 mencionan que el mecanismo de sorción de glicina en montmorillonita es dependiente de la concentración del aminoácido. A bajas concentraciones la glicina se adsorbe en las orilla, una vez saturados todos estos sitios (cuando la concentración de glicina es más alta) comienza la sorción en el canal interlaminar. Es posible que la inflexión observada en la isoterma indique la saturación en las orillas y el comienzo de la sorción en el canal interlaminar.

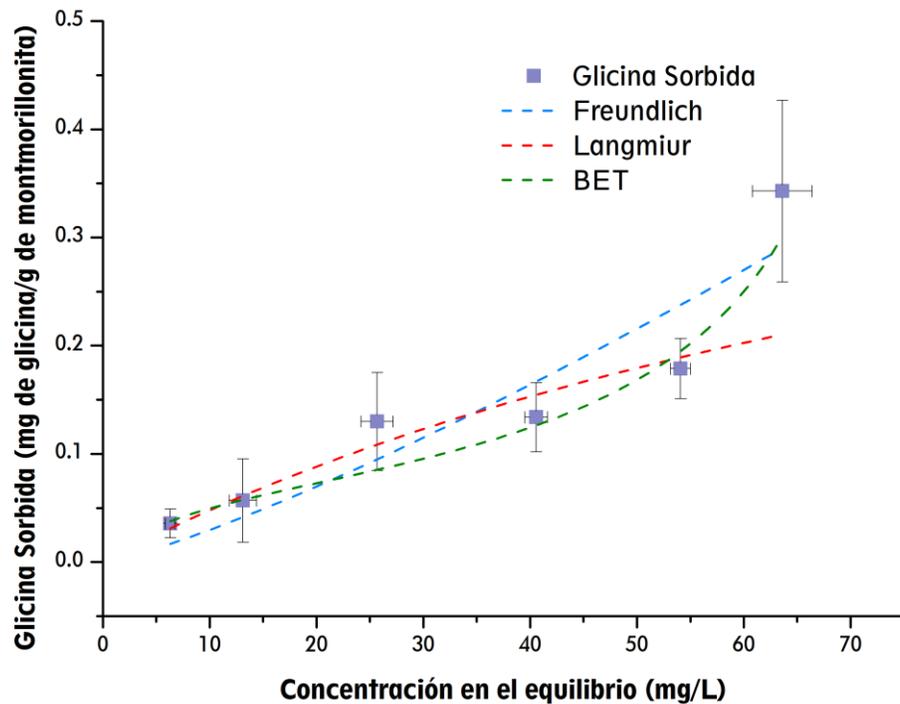


Figura 19. Isotherma de sorción de glicina en montmorillonita a pH 7.

Como ya se mencionó anteriormente no se obtuvo un buen ajuste (con ninguno de los modelos probados) de la isoterma de alanina en montmorillonita. Según Giles *et al.* (1974), la isoterma es de tipo L (Figura 20), lo que indica un aumento de la cantidad de L-alanina sorbida con el incremento en la concentración, hasta alcanzar la saturación de los sitios. Después de la saturación la cantidad sorbida es independiente de la concentración, y ésta es la cantidad máxima de sorción. El máximo de sorción para la isoterma de L-alanina en montmorillonita se observa a partir de concentraciones mayores a 25 mg/L y su valor es de aproximadamente 0.25 mg/g.

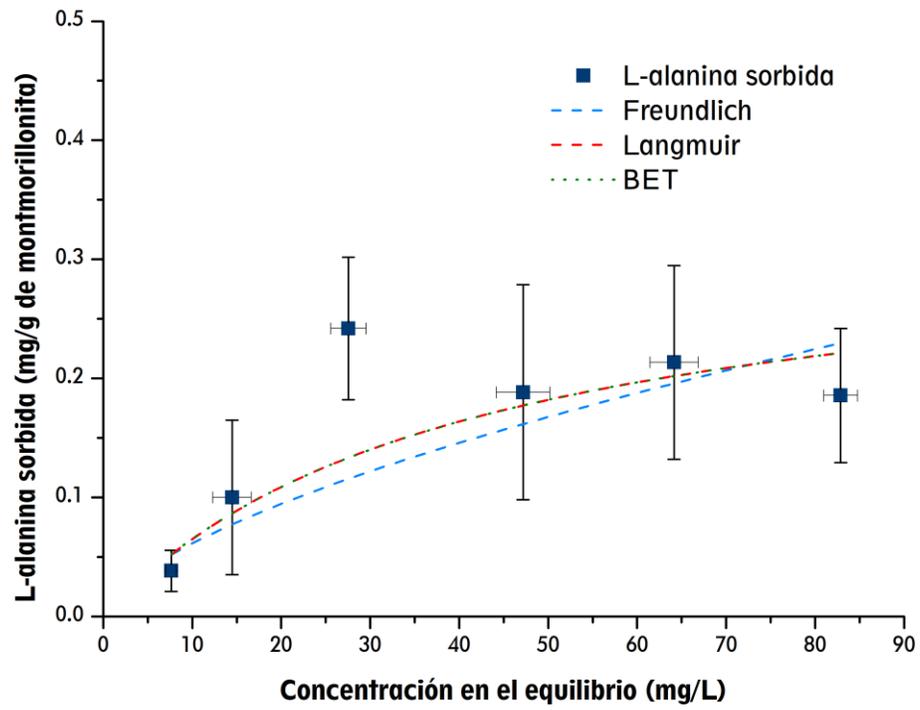


Figura 20. Isotherma de sorción de L-alanina en montmorillonita a pH 7

Descomposición de los aminoácidos en presencia de radiación y los minerales

Se irradiaron un total de ocho sistemas hasta dosis de aproximadamente 3 MGy. Se tomaron 5 muestras de cada uno de los sistemas cuando ya habían recibido determinada dosis (Tabla 12); la descripción de cada sistema se encuentra en la Tabla 13.

Tabla 12. Dosis a las que se tomaron muestras para medir la concentración de los aminoácidos en cada uno de los sistemas

<b>Toma de muestra</b>	<b>Dosis (kGy)</b>
<b>Primera</b>	438.8
<b>Segunda</b>	788.1
<b>Tercera</b>	1157.7
<b>Cuarta</b>	1863.1
<b>Quinta</b>	3585.8

Tabla 13. Diferentes sistemas irradiados y su descripción

<b>Sistema</b>	<b>Descripción</b>
<b>Olivino-glicina-Sorción</b>	Por cada 100 mg de mineral se agregaron 3 mL de aminoácido [0.001M] y se agitaron 24 h. Se centrifugó para separar las fases, se eliminó el sobrenadante y se secó el botón.
<b>Olivino-alanina-Sorción</b>	
<b>Montmorillonita-glicina-Sorción</b>	
<b>Montmorillonita alanina-Sorción</b>	
<b>Olivino-glicina-Impregnación</b>	Se agregó una cantidad de aminoácido igual a la que se sorbió en los sistemas de sorción, se agitó para preparar la suspensión y se secó inmediatamente (por liofilización).
<b>Olivino-alanina-Impregnación</b>	
<b>Montmorillonita-glicina-Impregnación</b>	
<b>Montmorillonita-alanina-Impregnación</b>	

#### *Desorciones*

No se logró recuperar la cantidad total de aminoácidos (sorbidos o agregados). En particular para los sistemas: montmorillonita-impregnación y olivino-sorción no se logró recuperar una cantidad cuantificable. Por esta razón solo se indica la descomposición de los aminoácidos en los sistemas de montmorillonita sorción y olivino impregnación.

Tabla 14. Cantidad de aminoácido que se logró recuperar de la desorción con agua y 24 horas de agitación de muestras sin irradiar. El porcentaje corresponde al recuperado del total sorbido o impregnado. La cuantificación se realizó por el método de ninhidrina.

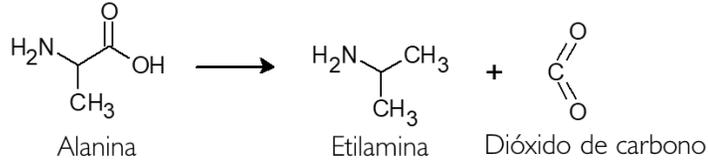
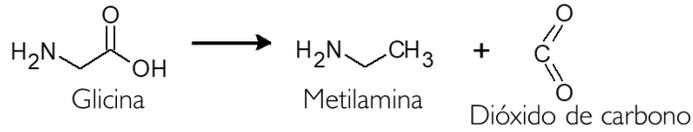
<b>Sistema</b>	<b>Cantidad desorbida (%) Primera desorción</b>	<b>Cantidad desorbida (%) Segunda desorción</b>	<b>Total desorbido (%)</b>
<b>Olivino-glicina-Sorción</b>	0	--	0
<b>Olivino-alanina-Sorción</b>	0	--	0
<b>Montmorillonita-glicina-Sorción</b>	40.09	0	40.09
<b>Montmorillonita alanina-Sorción</b>	43.44	3.41	46.85
<b>Olivino-glicina- Impregnación</b>	40.95	0	40.95
<b>Olivino-alanina- Impregnación</b>	40.42	1.93	42.35
<b>Montmorillonita-glicina- Impregnación</b>	6.01	0.97	6.98
<b>Montmorillonita-alanina- Impregnación</b>	12.03	1.46	13.49

#### Descomposición

Las reacciones principales que ocurren por la expuestos descomposición de aminoácidos ante la radiación son: la descarboxilación (la principal) y la desaminación (Gerakines y Hudson, 2013; Gerakines *et al.*, 2012; Sagstuen *et al.*, 2004; Minegishi *et al.*, 1967; Meshitsuka *et al.*, 1964; Swallow, 1960); dando como productos finales dióxido de carbono, aminas, amoniaco y ácidos carboxílicos (Tabla 15). En la Figura 21 se muestran las dos reacciones antes mencionadas para cada uno de los aminoácidos tratados en este trabajo.

La descomposición de los aminoácidos en sólido ocurre por la acción directa de la radiación sobre la molécula formando diversos radicales. Los radicales toman diferentes rutas (Sagstuen *et al.*, 2004) para formar los productos finales ya mencionados. Después de disolver en agua al aminoácido irradiado para analizarlo (Swallow, 1960). Sagstuen *et al.* (2004) describieron la formación de radicales, inducida por la irradiación en estado sólido de glicina y alanina. La formación de los diversos radicales inicia con la reducción y oxidación de los aminoácidos. En las *Figura 22* y *Figura 23* se presentan las reacciones que propusieron.

**Descarboxilación:**



**Desaminación:**

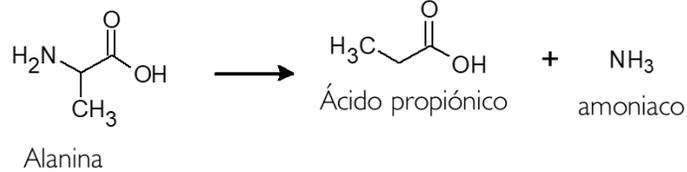
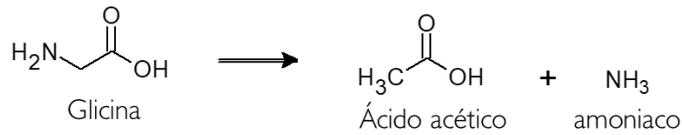


Figura 21. Reacciones de descarboxilación y desaminación en la radiólisis de glicina y alanina irradiadas en sólido. En la descarboxilación se produce metilamina en el caso de la descomposición de la glicina y etilamina en el caso de alanina. La desaminación produce ácidos carboxílicos, ácido acético y ácido propiónico para la descomposición de glicina y alanina respectivamente.

Tabla 15. Productos publicado en la radiólisis de glicina y L-alanina en estado sólido. Datos tomados de *Minegishi et al. (1967)*.

<b>Alanina</b>	<b>Glicina</b>
H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
NH <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub>
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	CH <sub>3</sub> COOH
CH <sub>3</sub> COCOOH	HCOCOOH
CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>
CH <sub>3</sub> CHO	HCHO
CH <sub>4</sub>	

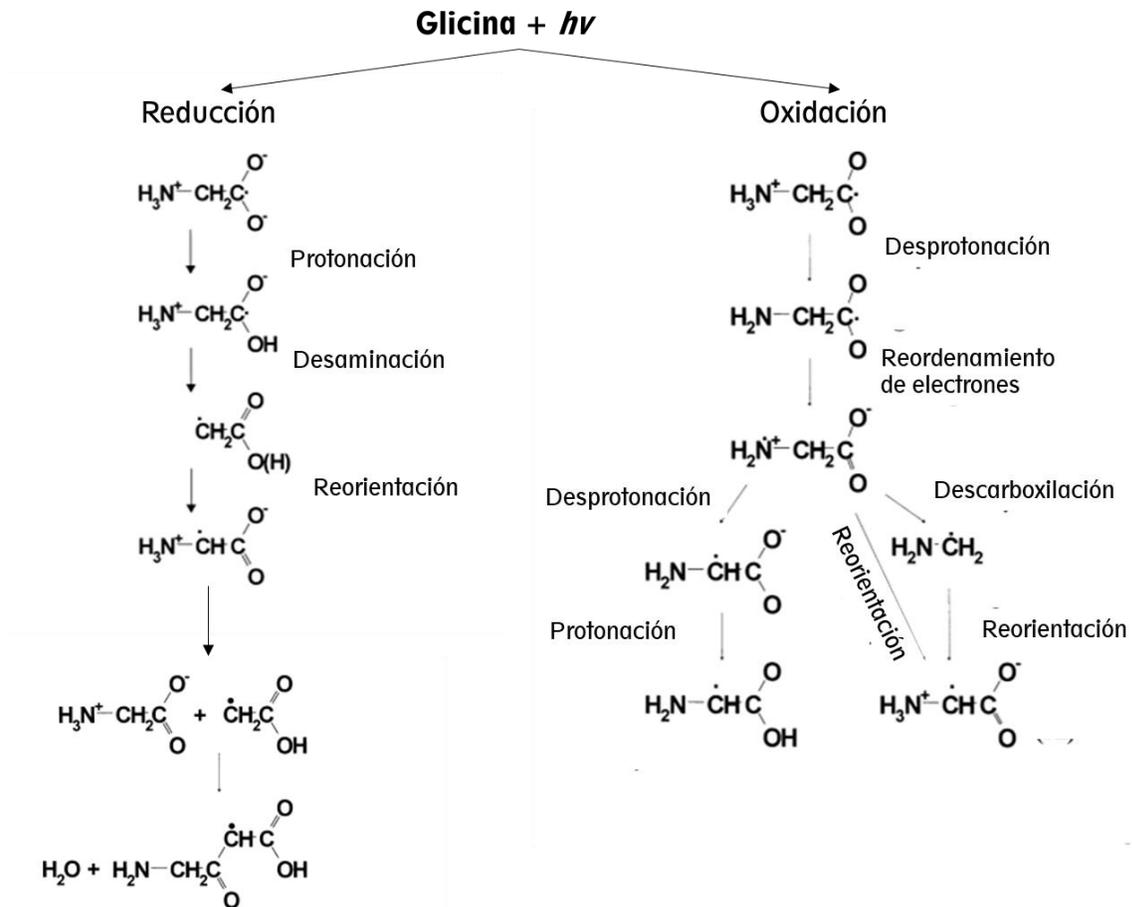


Figura 22. Secuencia de reducción y oxidación de glicina inducida por la radiación gamma. Modificado de *Sagstuen et al. (2004)*

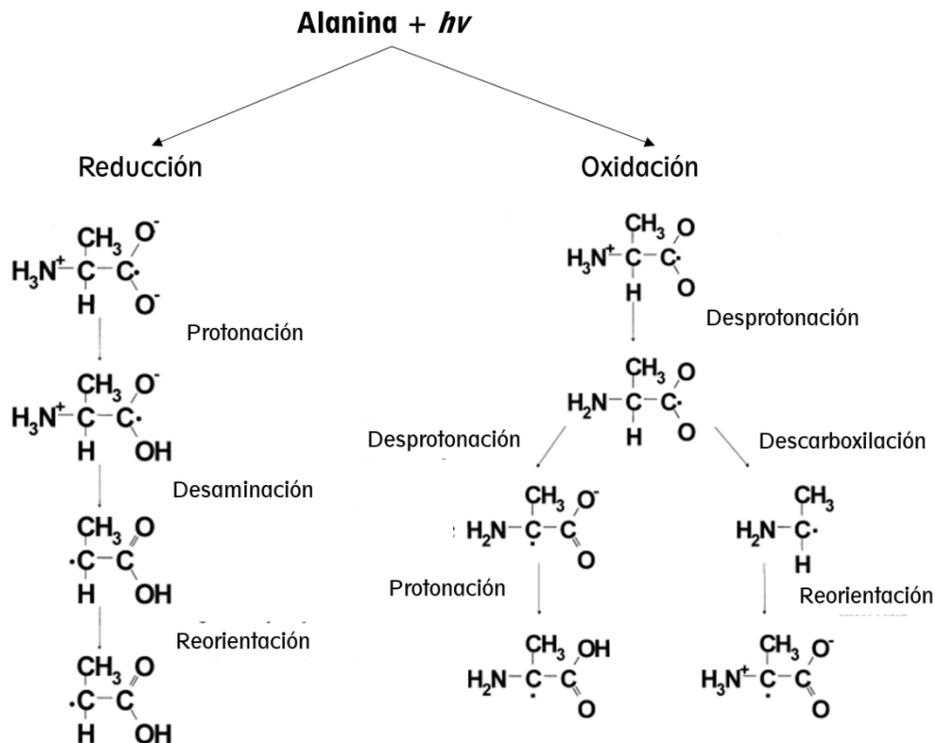


Figura 23. Secuencia de reducción y oxidación de alanina inducida por la radiación gamma. Modificado de Sagstuen *et al.* (2004)

### *Influencia de los minerales en la descomposición*

El porcentaje remanente de aminoácidos fue calculado como la relación  $C/C_0$  (%), donde  $C$  es la cantidad de cada aminoácido que no se descompuso y pudo desorberse; y  $C_0$  es la cantidad total de aminoácido desorbido de una muestra equivalente preparada en las mismas condiciones, pero sin irradiarse. Para una mejor comparación de la descomposición de los aminoácidos en presencia de los minerales, se calculó el rendimiento  $G$  (número de moléculas destruidas por cada 100 eV) y la tasa de destrucción  $k$  para cada sistema. Los valores de  $G$  se calcularon de acuerdo al procedimiento de Gerakines *et al* (2012). Dicho procedimiento consiste en graficar el número de moléculas de glicina en el sistema (escalada a  $10^{18}$ ) vs el total de energía absorbida en eV (escalado a  $10^{20}$ ), a continuación se calcula la pendiente de la gráfica en el intervalo lineal inicial de cada curva, el valor absoluto de la pendiente es el valor de  $G$  (Anexo 5. Cálculos de  $G$ ). Para calcular los valores de  $k$  cada curva de descomposición se ajustó al modelo exponencial como lo hicieron Kminek y Bada (2006) para explicar la radiólisis de aminoácidos en estado sólido. La ecuación es la siguiente:

$$\ln \left( \frac{N}{N_0} \right) = -kD$$

Donde  $N$  es la cantidad de aminoácido remanente (%) después de irradiar,  $N_0$  es la cantidad de aminoácido inicial antes de irradiar ( $N_0=100\%$ ),  $k$  es la tasa de destrucción en  $\text{MGy}^{-1}$  y  $D$  es la dosis de radiación en  $\text{MGy}$ . La tasa de destrucción  $k$  es una medida de la destrucción del aminoácido por unidad de dosis, respecto al número inicial de moléculas de aminoácido entre más alto el valor, mayor es el número de moléculas destruidas por unidad de dosis (Gerakines y Hudson, 2015).

La tendencia de las gráficas de descomposición (*Figura 24* y *Figura 25*) y los valores de  $k$  (*Tabla 16*) indican que la glicina y alanina son más estables cuando los minerales no están presentes. Kminek y Bada (2006) demostraron que hay un remanente del 40-70% después de irradiar aminoácidos en estado sólido (incluyendo glicina y alanina) a una dosis de 5.42  $\text{MGy}$ . En presencia de minerales después de irradiar a los aminoácidos hasta dosis de hasta 3.585  $\text{MGy}$  se observa que aún hay remanente de L-alanina, 21.4% en presencia de montmorillonita y 8% con olivino. En el caso de la glicina, los porcentajes remanentes son menores: 12.2% en montmorillonita, mientras que ya no se observa remanente para las muestras que contienen olivino. Esto indica que la glicina es menos resistente a la radiación, lo que puede atribuirse a que su estructura es menos compleja como lo señalan Gerakines *et al* (2012). Los valores de  $G$  y de la constante  $k$  de la glicina pura (7.481 y 0.4259  $\text{MGy}^{-1}$  respectivamente) también indican que es menos resistente a la radiación que la L-alanina pura, cuyo valor de  $G$  es 2.69 y el valor de  $k$  es 0.2578  $\text{MGy}^{-1}$  (*Tabla 16*).

Los dos minerales tienen distinto grado en su influencia en la descomposición de los aminoácidos: hay menor descomposición de glicina y L-alanina cuando la montmorillonita de sodio está presente. Esto indican los valores de  $k$  más altos para los sistemas con olivino, comparados con los de los sistemas con montmorillonita. Es probable que la montmorillonita de sodio proteja mejor al aminoácido debido a que éste se adsorbe en el canal interlamilar, como ya se discutió anteriormente.

Por otro lado, los valores de  $G$  calculados (*Tabla 16*) para los sistemas con minerales en general son menores que el valor de  $G$  para los aminoácidos puros. Esto implica que se destruyen menos moléculas por cada 100 eV suministrados a los sistemas cuando los minerales están presentes, lo que parecería contradecir lo que indican los valores de  $k$  según lo discutido anteriormente (*Tabla 16*). Sin embargo, esto puede explicarse de la siguiente forma: en los sistemas sin mineral, la energía total suministrada es adsorbida por el aminoácido; si se administra la misma cantidad de energía a los sistemas con mineral una parte de ésta es recibida por el mineral y otra parte es recibida por el aminoácido. De esta manera se podría decir que, en los sistemas con mineral, los aminoácidos reciben menos energía por cantidad de aminoácido que los sistemas sin mineral y, por lo tanto, se descomponen un menor número de moléculas. Gerakines y Hudson (2013) también observaron que el valor de  $G$  para un sistema de Glicina y  $\text{H}_2\text{O}$  a una temperatura de 15 K (estado sólido) es menor al de un sistema solo con glicina a la misma temperatura. En este

caso el H<sub>2</sub>O recibe parte de la energía suministrada al sistema como lo haría el mineral en este trabajo.

En la gráfica de descomposición de los sistemas con L-alanina (*Figura 25*) se observa que a dosis de 1.863 MGy hay un aumento aparente en el porcentaje de alanina remanente. Este aumento no se observa en la curva de descomposición de L-alanina pura, por lo que se puede atribuir a una característica de descomposición sólo en presencia de los dos minerales. Una explicación a este aumento puede ser la regeneración de la alanina a esa dosis o la formación de un producto que no fue posible separar por la técnica empleada. Para esclarecer esta cuestión es necesario realizar más experimentos a dosis cercanas a 1.863 MGy o emplear una técnica de separación mas adecuada.

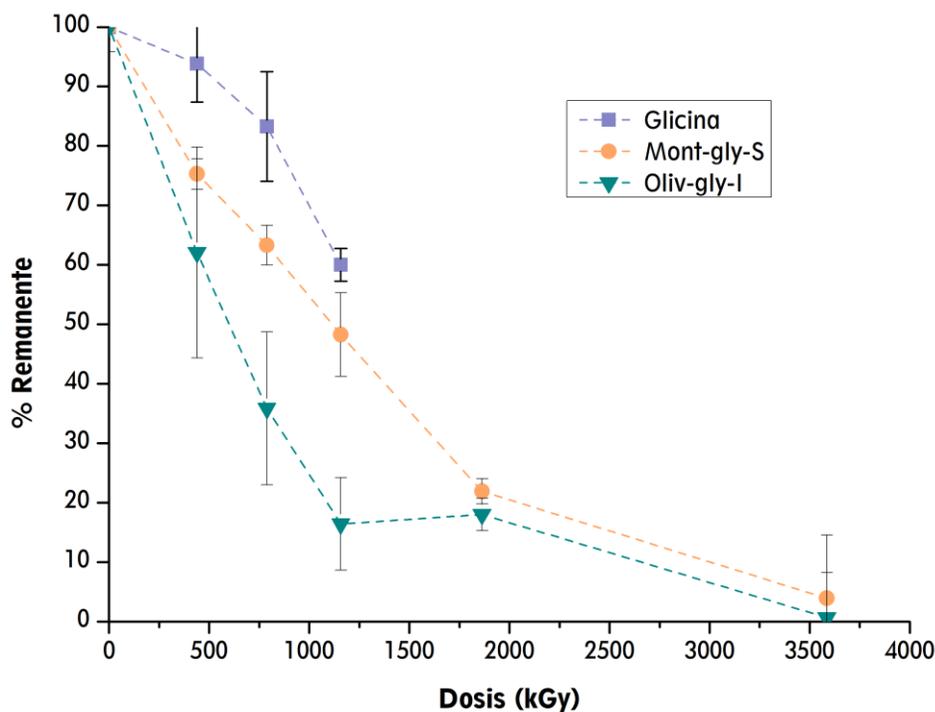


Figura 24. Porcentaje de glicina recuperada en las desorciones de los sistemas irradiados. Mont-gly-S: Glicina sorbida en montmorillonita, Oliv-gly-I: glicina impregnada en olivino, Glicina: glicina irradiada en sólido.

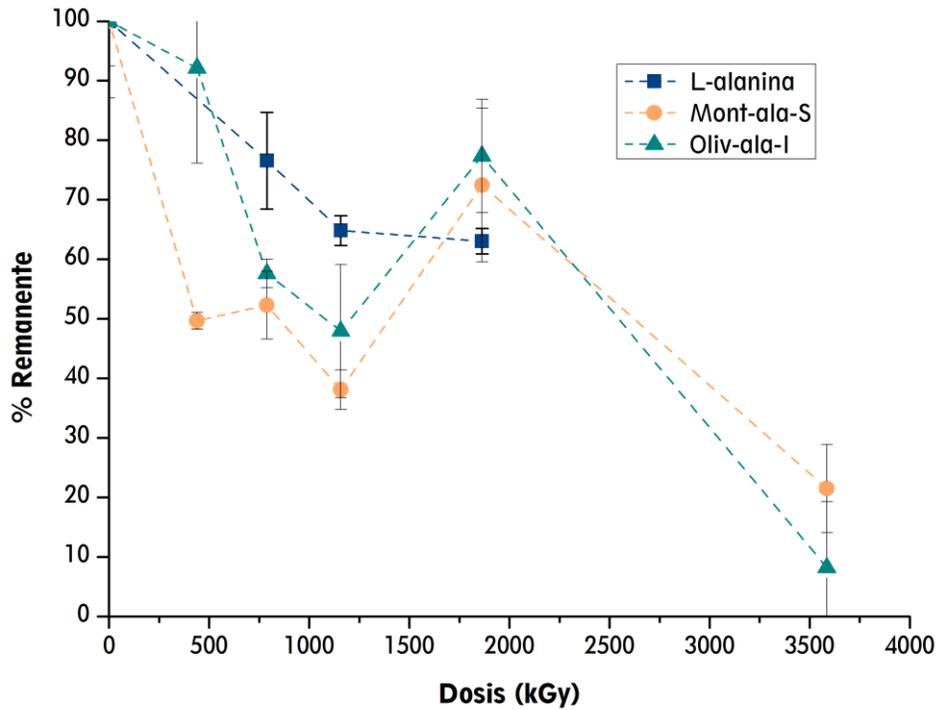


Figura 25. Porcentaje de L-alanina recuperada en las desorciones de los sistemas irradiados. Mont-ala-S: alanina sorbida en montmorillonita, Oliv-ala-I: alanina impregnada en olivino, L-alanina: alanina irradiada en sólido.

Tabla 16. Valores de rendimiento radiolítico (G) calculado para cada sistema y valor de la constante k obtenido de los ajustes al modelo de decaimiento.

Sistema	G* (moléculas/100 eV)	k(MGy <sup>-1</sup> )
<b>Alanina</b>	<b>2.691</b>	0.2578
<b>Olivino-alanina-Impregnación</b>	0.799	0.6506
<b>Montmorillonita alanina-Sorción</b>	1.657	0.3150
<b>Glicina</b>	7.481	0.4259
<b>Olivino-glicina-Impregnación</b>	0.765	1.3517
<b>Montmorillonita-glicina-Sorción</b>	2.304	0.9244

\*Método de Gerakines *et al.* 2012.

## Relevancia en estudios de química prebiótica

Este estudio mostró que los aminoácidos glicina y alanina (moléculas relevantes para los seres vivos) son capaces de persistir, aún expuestas a altas dosis de radiación (del orden de MGy), como las que han recibido las condritas desde su formación. La estabilidad que poseen se refleja en que son los aminoácidos proteicos con mayor abundancia encontrados en la meteorita Murchison (Cronin y Pizzarello, 1983). Entonces, las condritas pudieron ser una fuente importante de glicina y alanina para tierra primitiva.

Por otro lado, las interacciones con minerales son relevantes en la estabilidad de los aminoácidos ante la radiación. En este estudio se tomó a la montmorillonita como representante de las arcillas tipo esmectita, que están presentes en condritas y al olivino como representante de los silicatos. A pesar de que ambos minerales tienen la capacidad de actuar como sorbentes, sus diferentes estructuras permiten que las moléculas se protejan mejor en unos que en otros. La montmorillonita puede atrapar a las moléculas de aminoácido en el canal interlamina y lo hace rápidamente como se demostró en la cinética de sorción; además Pearson *et al.* (2002) encontraron que la materia orgánica en los meteoritos se encuentra fuertemente asociada a arcillas. Por las arcillas como la montmorillonita tienen mejor capacidad para proteger a los aminoácidos que los silicatos.

La interacción que tiene los minerales con los aminoácidos, no solo puede ser protectora, sino también catalizadora. Los minerales interaccionan con la energía y la transfieren a las moléculas adsorbidas, modificando su descomposición. En este estudio se observó que en presencia de minerales las moléculas orgánicas se descomponen más rápido que cuando estos no están presentes. Además, es posible que los dos minerales tengan un efecto catalizador en la alanina a dosis de 1.683 MGy. Ya se ha demostrado que las arcillas y silicatos tienen la capacidad de catalizar la formación de péptidos (*p. ej.* Bujdák y Rode, 1997; Lambert, 2008; Beck, 2011; Fuchida *et al.*, 2014). Así los minerales ensayados pudieron ser relevantes al actuar como sorbentes que ayudaron a la protección de moléculas orgánicas en condritas y permitieron que estas moléculas orgánicas llegaran a la Tierra primitiva. Y también pudieron servir como catalizadores contribuyendo al aumento de la complejidad de moléculas orgánicas.

## Referencias

- Aguilar-Ovando, E., & Negron, A. (2015). Stability of alanine in a high radiation field, adsorbed onto solid surfaces. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 304. <https://doi.org/10.1007/s10967-014-3735-4>
- Albert, A. (1950). Quantitative studies on the avidity of naturally occurring substances for trace metals. 1. Amino-acids having only two ionizing groups. *Biochemical Journal*, 47(5), 531–538.
- Anbu Chudar Azhagan, S., & Ganesan, S. (2017). Effect of zinc acetate addition on crystal growth, structural, optical, thermal properties of glycine single crystals. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2615–S2624. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.041>
- Au, P.-I., & Leong, Y.-K. (2016). Surface Chemistry and Rheology of Slurries of Kaolinite and Montmorillonite from Different Sources. *KONA Powder and Particle Journal*, 33(0), 17–32. <https://doi.org/10.14356/kona.2016007>
- Avena, M. J., & De Pauli, C. P. (1998). Proton Adsorption and Electrokinetics of an Argentinean Montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 202(1), 195–204. <https://doi.org/10.1006/jcis.1998.5402>
- Beck, W. (2011). Metal Complexes of Biologically Important Ligands, CLXXVI.[1] Formation of Peptides within the Coordination Sphere of Metal Ions and of Classical and Organometallic Complexes and Some Aspects of Prebiotic Chemistry. *Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemie*, 637(12), 1647–1672. <https://doi.org/10.1002/zaac.201100137>
- Bujdák, J., & Rode, B. M. (1997). Silica, Alumina, and Clay-Catalyzed Alanine Peptide Bond Formation. *Journal of Molecular Evolution*, 45(5), 457–466. <https://doi.org/10.1007/PL00006250>
- Cárdenas-Espinosa, D. C., & Vargas, J. C. (2010). Influence of the preparation conditions of Ca doped Ni/olivine catalysts on the improvement of gas quality produced by biomass gasification. En E. M. Gaigneaux, M. Devillers, S. Hermans, P. A. Jacobs, J. A. Martens, & P. Ruiz (Eds.), *Studies in Surface Science and Catalysis* (Vol. 175, pp. 385–388). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0167-2991\(10\)75066-7](https://doi.org/10.1016/S0167-2991(10)75066-7)
- Chen, S., Low, P. F., Cushman, J. H., & Roth, C. B. (1987). Organic Compound Effects on Swelling and Flocculation of Upton Montmorillonite. *Soil Science Society of America Journal*, 51(6), 1444. <https://doi.org/10.2136/sssaj1987.03615995005100060009x>
- Chukanov, N. V. (2014). IR Spectra of Minerals and Reference Samples Data. En N. V. Chukanov (Ed.), *Infrared spectra of mineral species: Extended library* (pp. 21–1701). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-7128-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7128-4_2)
- Cronin, J. R., & Pizzarello, S. (1983). Amino acids in meteorites. *Advances in Space Research: The Official Journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 3(9), 5–18.
- Dąbrowski, A. (2001). Adsorption—From theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science*, 93(1), 135–224. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(00\)00082-8](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(00)00082-8)

- Danková, Z., Mockovčiaková, A., & Dolinská, S. (2014). Influence of ultrasound irradiation on cadmium cations adsorption by montmorillonite. *Desalination and Water Treatment*, 52(28–30), 5462–5469. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.814006>
- Dashman, T., & Stotzky, G. (1982). Adsorption and binding of amino acids on homoionic montmorillonite and kaolinite. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(5), 447–456. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90103-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90103-1)
- Duc, M., Gaboriaud, F., & Thomas, F. (2005). Sensitivity of the acid–base properties of clays to the methods of preparation and measurement: 1. Literature review. *Journal of Colloid and Interface Science*, 289(1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.060>
- Ebadi, A., Soltan Mohammadzadeh, J. S., & Khudiev, A. (2009). What is the correct form of BET isotherm for modeling liquid phase adsorption? *Adsorption*, 15(1), 65–73. <https://doi.org/10.1007/s10450-009-9151-3>
- Freundlich, H. (1909). *Kapillarchemie; eine darstellung der chemie der kolloide und verwandter gebiete.*. Akademische verlagsgesellschaft m. b. h.
- Friebele, E., Shimoyama, A., & Ponnampereuma, C. (1980). Adsorption of protein and non-protein amino acids on a clay mineral: A possible role of selection in chemical evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 16(3), 269–278. <https://doi.org/10.1007/BF01804978>
- Fuchida, S., Masuda, H., & Shinoda, K. (2014). Peptide Formation Mechanism on Montmorillonite Under Thermal Conditions. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 44(1), 13–28. <https://doi.org/10.1007/s11084-014-9359-4>
- Gerakines, P. A., & Hudson, R. L. (2013). Glycine’s Radiolytic Destruction in Ices: First in situ Laboratory Measurements for Mars. *Astrobiology*, 13(7), 647–655. <https://doi.org/10.1089/ast.2012.0943>
- Gerakines, P. A., & Hudson, R. L. (2015). The radiation stability of glycine in solid CO<sub>2</sub> – In situ laboratory measurements with applications to Mars. *Icarus*, 252, 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2015.02.008>
- Gerakines, P. A., Hudson, R. L., Moore, M. H., & Bell, J.-L. (2012). In situ measurements of the radiation stability of amino acids at 15–140K. *Icarus*, 220(2), 647–659. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.06.001>
- Giles, C. H., Smith, D., & Huitson, A. (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science*, 47(3), 755–765. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(74\)90252-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(74)90252-5)
- Greenland, D. J., Laby, R. H., & Quirk, J. P. (1962). Adsorption of glycine and its di-, tri-, and tetra-peptides by montmorillonite. *Transactions of the Faraday Society*, 58(0), 829–841. <https://doi.org/10.1039/TF9625800829>

- Greenland, D. J., Laby, R. H., & Quirk, J. P. (1965). Adsorption of amino-acids and peptides by montmorillonite and illite. Part 1.—Cation exchange and proton transfer. *Transactions of the Faraday Society*, 61(0), 2013–2023. <https://doi.org/10.1039/TF9656102013>
- Hao, W., Flynn, S. L., Alessi, D. S., & Konhauser, K. O. (2018). Change of the point of zero net proton charge (pHPZNPC) of clay minerals with ionic strength. *Chemical Geology*, 493, 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2018.06.023>
- Harter, R. D., & Naidu, R. (1995). Role of Metal-Organic complexation in metal sorption by Soils. En D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 55, pp. 219–263). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60541-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60541-6)
- Hedges, J. I., & Hare, P. E. (1987). Amino acid adsorption by clay minerals in distilled water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51(2), 255–259. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(87\)90237-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(87)90237-7)
- Helmy, A. K., Ferreira, E. A., & de Bussetti, S. G. (1994). Cation Exchange Capacity and Condition of Zero Charge of Hydroxy-Al Montmorillonite. *Clays and Clay Minerals*, 42(4), 444–450. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1994.0420410>
- Ibanez, J. G., Hernandez-Esparza, M., Doria-Serrano, C., Fregoso-Infante, A., & Singh, M. M. (2008). The Point of Zero Charge of Oxides. En J. G. Ibanez, M. Hernandez-Esparza, C. Doria-Serrano, A. Fregoso-Infante, & M. M. Singh (Eds.), *Environmental Chemistry: Microscale Laboratory Experiments* (pp. 70–78). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-49493-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-49493-7_5)
- Jeanloz, R. (1980). Infrared spectra of olivine polymorphs:  $\alpha$ ,  $\beta$  phase and spinel. *Physics and Chemistry of Minerals*, 5(4), 327–341. <https://doi.org/10.1007/BF00307542>
- Kalra, S., Pant, C. K., Pathak, H. D., & Mehta, M. S. (2000). Adsorption of glycine and alanine on montmorillonite with or without coordinated divalent cations. *IJBB Vol.37(5)* [October 2000]. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/19841>
- Kminek, G., & Bada, J. L. (2006). The effect of ionizing radiation on the preservation of amino acids on Mars. *Earth and Planetary Science Letters*, 245(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2006.03.008>
- Kriaa, A., Hamdi, N., & Srasra, E. (2007). Acid-base chemistry of montmorillonitic and beidellitic-montmorillonitic smectite. *Russian Journal of Electrochemistry*, 43(2), 167–177. <https://doi.org/10.1134/S102319350702005X>
- Lacroix, E., Brovelli, A., Holliger, C., & Barry, D. A. (2014). Control of groundwater pH during bioremediation: Improvement and validation of a geochemical model to assess the buffering potential of ground silicate minerals. *Journal of Contaminant Hydrology*, 160, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2014.01.006>
- Lambert, J.-F. (2008). Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 38(3), 211–242. <https://doi.org/10.1007/s11084-008-9128-3>

- Leifer, A., & Lippincott, E. R. (1957). The Infrared Spectra of Some Amino Acids. *Journal of the American Chemical Society*, 79(19), 5098–5101. <https://doi.org/10.1021/ja01576a006>
- Luce, R. W., & Parks, G. A. (1973). Point of zero charge of weathered forsterite. *Chemical Geology*, 12(2), 147–153. [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(73\)90112-5](https://doi.org/10.1016/0009-2541(73)90112-5)
- Meng, M., Stievano, L., & Lambert, J.-F. (2004). Adsorption and Thermal Condensation Mechanisms of Amino Acids on Oxide Supports. 1. Glycine on Silica. *Langmuir*, 20(3), 914–923. <https://doi.org/10.1021/la035336b>
- Meshitsuka, G., Shindo, K., Minegishi, A., Suguro, H., & Shinozaki, Y. (1964). Radiolysis of Solid Glycine. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 37(7), 928–930. <https://doi.org/10.1246/bcsj.37.928>
- Minegishi, A., Shinozaki, Y., & Meshitsuka, G. (1967). Radiolysis of Solid L- $\alpha$ -Alanine. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 40(5), 1271–1272. <https://doi.org/10.1246/bcsj.40.1271>
- Ney, P. (1973). *Zeta-Potentiale und Flotierbarkeit von Mineralen*. Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-8324-3>
- Oelkers, E. H., Declercq, J., Saldi, G. D., Gislason, S. R., & Schott, J. (2018). Olivine dissolution rates: A critical review. *Chemical Geology*, 500, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2018.10.008>
- Oelkers, E. H., Golubev, S. V., Chairat, C., Pokrovsky, O. S., & Schott, J. (2009). The surface chemistry of multi-oxide silicates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73(16), 4617–4634. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2009.05.028>
- Parbhakar, A., Cuadros, J., Sephton, M. A., Dubbin, W., Coles, B. J., & Weiss, D. (2007). Adsorption of l-lysine on montmorillonite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 307(1), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.05.022>
- Pearson, V. K., Sephton, M. A., Kearsley, A. T., Bland, P. A., Franchi, I. A., & Gilmour, I. (2002). Clay mineral-organic matter relationships in the early solar system. *Meteoritics & Planetary Science*, 37(12), 1829–1833. <https://doi.org/10.1111/j.1945-5100.2002.tb01166.x>
- Perkins, D. J. (1953). A study of the effect of amino acid structure on the stabilities of the complexes formed with metals of group II of the periodic classification. *Biochemical Journal*, 55(4), 649–652.
- Pokrovsky, O. S., & Schott, J. (2000). Forsterite surface composition in aqueous solutions: A combined potentiometric, electrokinetic, and spectroscopic approach. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(19), 3299–3312. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(00\)00435-X](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00435-X)
- Ramos, M. E., Cappelli, C., Rozalén, M., Fiore, S., & Huertas, F. J. (2011). Effect of lactate, glycine, and citrate on the kinetics of montmorillonite dissolution. *American Mineralogist*, 96(5–6), 768–780. <https://doi.org/10.2138/am.2011.3694>
- Ramos, M. E., & Huertas, F. J. (2013). Adsorption of glycine on montmorillonite in aqueous solutions. *Applied Clay Science*, 80–81, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2013.05.007>

- Sagstuen, E., Sanderud, A., & Hole, E. O. (2004). The Solid-State Radiation Chemistry of Simple Amino Acids, Revisited. *Radiation Research*, 162(2), 112–119. <https://doi.org/10.1667/RR3215>
- Skoog, D. A., & West, D. M. (1996). *Fundamentos de química analítica*. Reverte.
- Souza, C. M. D. de, Carneiro, C. E. A., Baú, J. P. T., Costa, A. C. S. da, Ivashita, F. F., Paesano, A., Mauro, E. di, Santana, H. de, Holm, N. G., Neubeck, A., Zaia, C. T. B. V., & Zaia, D. A. M. (2013). Interaction of forsterite-91 with distilled water and artificial seawater: A prebiotic chemistry experiment. *International Journal of Astrobiology*, 12(2), 135–143. <https://doi.org/10.1017/S147355041200050X>
- Sposito, G. (1998). On Points of Zero Charge. *Environmental Science & Technology*, 32(19), 2815–2819. <https://doi.org/10.1021/es9802347>
- Stumm, W. (1992). *Chemistry of the Solid-Water Interface: Processes at the Mineral-Water and Particle-Water Interface in Natural Systems*. Wiley.
- Subramanyam, B., & Das, A. (2009). Linearized and non-linearized isotherm models comparative study on adsorption of aqueous phenol solution in soil. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 6(4), 633–640. <https://doi.org/10.1007/BF03326104>
- Swallow, A. J. (1960). CHAPTER VIII - SOME SUBSTANCES OF BIOLOGICAL INTEREST. En A. J. Swallow (Ed.), *Radiation Chemistry of Organic Compounds* (pp. 186–241). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-009297-3.50012-6>
- Taret, P. (1962). Etude infra-rouge des orthosilicates et des orthogermanates Une nouvelle methode d'interprétation des spectres. *Spectrochimica Acta*, 18(4), 467–483. [https://doi.org/10.1016/S0371-1951\(62\)80159-3](https://doi.org/10.1016/S0371-1951(62)80159-3)
- Wanner, H., Albinsson, Y., Karnland, O., Wieland, E., Charlet, L., & Wersin, P. (1994). The Acid/Base Chemistry of Montmorillonite. *Radiochimica Acta*, 66–67(Supplement), 157–162. <https://doi.org/10.1524/ract.1994.6667.special-issue.157>
- Wogelius, R. A., & Walther, J. V. (1991). Olivine dissolution at 25°C: Effects of pH, CO<sub>2</sub>, and organic acids. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55(4), 943–954. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(91\)90153-V](https://doi.org/10.1016/0016-7037(91)90153-V)
- Yin, W., Huang, L., Pedersen, E. B., Frandsen, C., & Hansen, H. C. B. (2017). Glycine buffered synthesis of layered iron(II)-iron(III) hydroxides (green rusts). *Journal of Colloid and Interface Science*, 497, 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.11.076>
- Zhuang, J., & Yu, G.-R. (2002). Effects of surface coatings on electrochemical properties and contaminant sorption of clay minerals. *Chemosphere*, 49(6), 619–628. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00332-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00332-6)

## Capítulo 4

### Conclusiones

La glicina y alanina se sorben en los minerales montmorillonita y olivino mediante un proceso dependiente del pH. El pH ácido favorece la sorción de ambas moléculas en ambos minerales.

El mecanismo predominante en la sorción de los aminoácidos en montmorillonita es el intercambio catiónico en el canal interlaminar, y en menor cantidad en las orillas. En el olivino, el mecanismo de sorción propuesto es una interacción por fuerzas electrostáticas en la superficie del mineral.

Los dos aminoácidos se unen mejor a la montmorillonita por su estructura más compleja, por ello las arcillas son muy relevantes en los ambientes asteroidales, pues pueden ser capaces de proteger de moléculas orgánicas y catalizadoras en ambientes espaciales.

En las desorciones no fue posible recuperar en su totalidad la cantidad de aminoácidos sorbidos en los dos minerales; e incluso en los sistemas donde se sorbieron los aminoácidos en olivino, no se pudo recuperar ninguno de los aminoácidos. Por esta razón no se pudo comprobar si la molécula sorbida en el mineral tendría algún efecto distinto a la sola presencia del mineral en la estabilidad del aminoácido ante la radiación.

Los aminoácidos glicina y alanina son capaces de persistir a las dosis que han recibido las condritas desde su formación. La glicina y alanina en estado sólido son estables ante dosis de radiación de hasta 3.5 MGy y tienen un comportamiento parecido.

Con la presencia de minerales la estabilidad de los aminoácidos disminuye, de acuerdo a lo que dicen los valores de la tasa de descomposición  $k$ . Entre minerales, la montmorillonita protege mejor a los aminoácidos que el olivino. Por otro lado, los valores de  $G$  indican que se descomponen menos moléculas de aminoácido cuando están presentes los minerales que cuando están puros.

En los experimentos de irradiación se observa que la glicina es más propensa a descomponerse por acción de la radiación en todos los sistemas. Debido a que el comportamiento de los dos aminoácidos es muy similar en los experimentos de sorción, la mayor descomposición de la glicina se debe más bien a su estructura.

Se pudo comprobar que aún expuestos a altas dosis de radiación (del mismo orden de magnitud a la que han recibido las condritas desde que se formaron) los aminoácidos glicina y alanina aún pueden ser detectados en los experimentos. Esto tiene una gran importancia en los estudios que tratan de evaluar la participación de las condritas en los procesos de química prebiótica; pues si los aminoácidos son capaces de resistir en esas condiciones es probable que las condritas depositaran su contenido de materia orgánica en la superficie de la Tierra, incluyendo algunos aminoácidos.

## Anexos

### Anexo 1. Curvas de calibración con el método de ninhidrina.

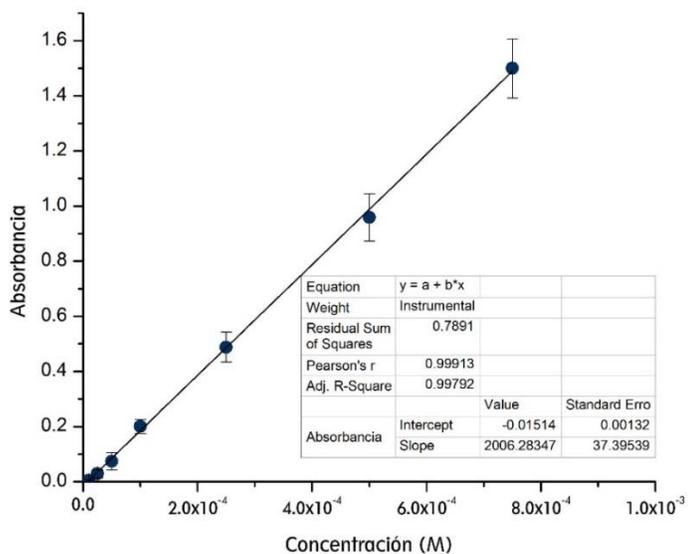


Figura 26 Curva de calibración de L-alanina por el método de derivatización con ninhidrina en espectrofotometría. La absorbancia se determinó a una longitud de onda de 540 nm

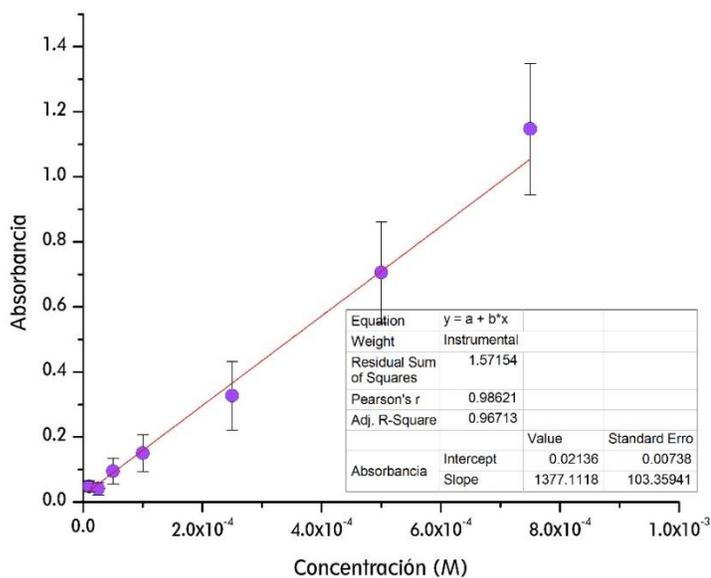


Figura 27 Curva de calibración de glicina por el método de derivatización con ninhidrina por espectrofotometría. La absorbancia se determinó a una longitud de onda de 540 nm.

Anexo 2. Curvas de titulación para el cálculo del p.z.c. de los minerales por el método 1.

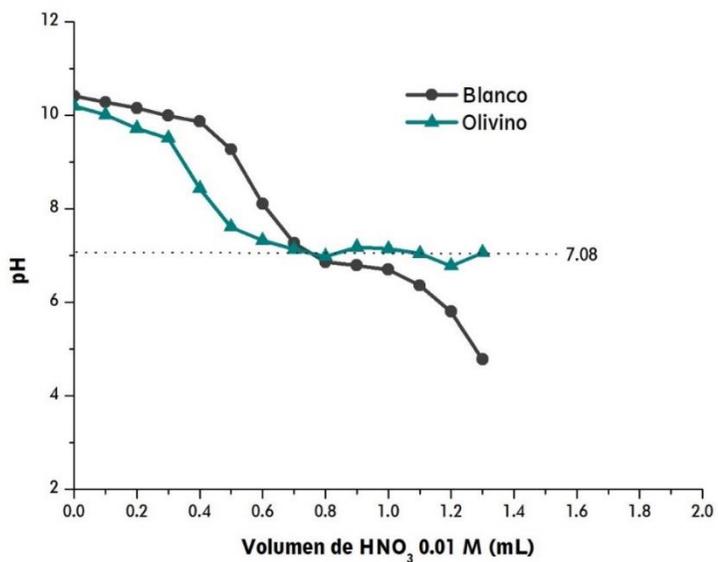


Ilustración 1. Curva de titulación olivino (método 1).

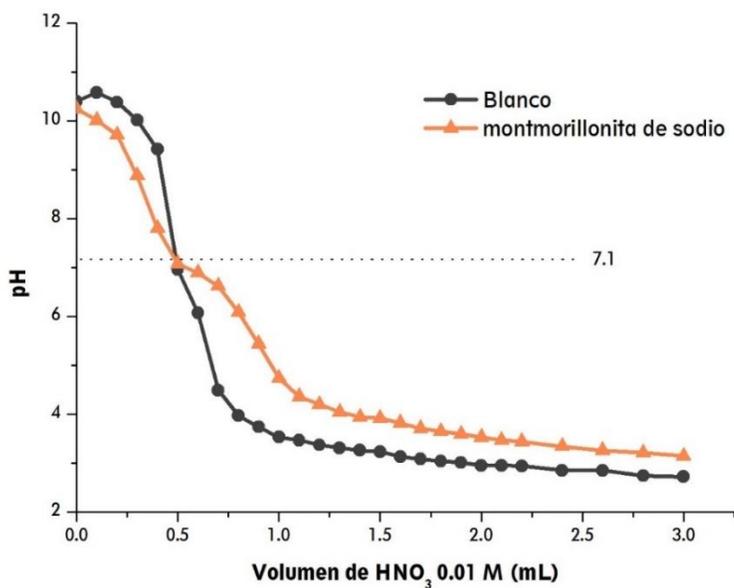


Ilustración 2. Curva de titulación de montmorillonita de sodio (método 1).

Anexo 3. Reporte técnico de cuantificación de aminoácidos por HPLC con el método de derivatización con fenilisotiocianato.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE GEOLOGÍA



## INFORME TÉCNICO

# DERIVATIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS CON FENILISOTIOCIANATO Y SU CUANTIFICACIÓN POR UHPLC

<sup>1,2</sup>MELISSA LERIN-MORALES, <sup>1,2</sup>LUCÍA A. GONZÁLEZ-LÓPEZ, <sup>1</sup>MARÍA COLÍN-GARCÍA\*

<sup>1</sup> Programa de Maestría y Doctorado, Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM

<sup>2</sup> Departamento de Dinámica Terrestre Superficial, Instituto de Geología, UNAM

\*[mcolin@geologia.unam.mx](mailto:mcolin@geologia.unam.mx)

## RESUMEN

Los aminoácidos son moléculas que se sintetizan fácilmente en experimentos de química prebiótica y por ello, su separación y cuantificación es sumamente importante. En este documento se muestra la sistematización de una técnica de derivatización de aminoácidos y su posterior cuantificación por cromatografía de líquidos de ultra alta eficiencia. Para ello, se modificó el procedimiento conocido como reacción de Edman, en la que el fenilisotiocianato se hace reaccionar con el grupo amino-terminal de un aminoácido, formando un feniltiocarbamil (PTC) aminoácido. El procedimiento se probó para dos aminoácidos, glicina y alanina. El método que aquí se presenta demostró ser eficiente para cuantificar los dos aminoácidos y elimina la necesidad de contar con un equipo adicional para llevar a cabo la reacción. Se presentan, además, las condiciones cromatográficas adecuadas para cuantificar a ambos aminoácidos.

**Palabras clave:** aminoácidos, derivados defenilisotiocianato, UHPLC, cuantificación.

## INTRODUCCIÓN

Los aminoácidos son moléculas orgánicas constituidas por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y, en menor medida, azufre, presente en sólo algunas de ellas. Los aminoácidos son importantes pues al unirse en cadenas forman proteínas, unos de los compuestos básicos de los seres vivos.

Los aminoácidos son moléculas orgánicas muy abundantes en los organismos, 20 de ellos son comunes en las proteínas de todos, pero existen más de 500 de estos compuestos (Wagner y Musso, 1983). En los seres vivos, los aminoácidos realizan muchas funciones importantes: actúan como señalizadores, como reguladores de la expresión de genes, como precursores para la producción de hormonas, etc. (Wu, 2009).

Estructuralmente, los aminoácidos son moléculas que contienen un grupo amino y uno carboxilo. Estos grupos dan propiedades muy interesantes a los aminoácidos, pues responden a los cambios de pH, liberando protones o aceptándolos, al hacerlo los aminoácidos adquieren cargas. En función del pH los aminoácidos pueden tener una carga neta positiva, negativa o no tener carga. Además, los aminoácidos poseen centros quirales, a excepción de la glicina, y se pueden encontrar en dos formas especulares entre sí llamadas formas enantioméricas (L y D).

Los aminoácidos han sido detectados en ambientes extraterrestres, como cometas (Altwegg, et al. 2016) y meteoritas (por ejemplo, Glavinet *et al.*, 2010; Burton *et al.*, 2012; Elsila *et al.*, 2016, Koga y Naraoka, 2017) y son moléculas que se obtienen abundantemente en experimentos de química prebiótica, a partir de precursores muy sencillos (por ejemplo, Miller, 1953; Troop, 2011). Por todas estas razones, es importante contar con herramientas analíticas para cuantificar e identificar a los aminoácidos en experimentos de química prebiótica.

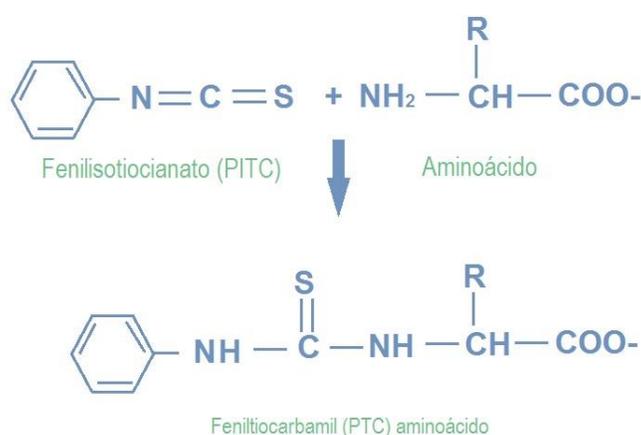
### Fundamento teórico (reacción de derivatización)

Dada la relevancia de los aminoácidos en distintas áreas, se han desarrollado muchos métodos de analíticos para separarlos en mezclas complejas, y para caracterizarlos y cuantificarlos. Una de las técnicas más desarrolladas es la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) y la altamente eficiente UHPLC.

Un aspecto importante es que para analizar a los aminoácidos es necesario, en muchas ocasiones, realizar derivatizaciones. La derivatización con fenilisotiocianato (PITC) es uno de los métodos más utilizados

para cuantificar aminoácidos por las ventajas que posee: 1) reacciona con aminas primarias y secundarias a temperatura ambiente, 2) la reacción es rápida (5 minutos) y 3) se considera que los derivados son relativamente estables (Molnár-Perl, 2005).

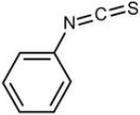
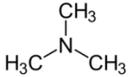
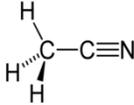
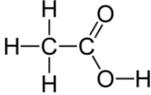
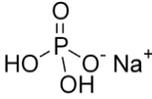
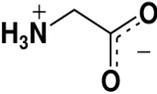
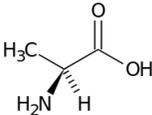
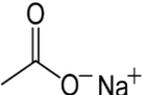
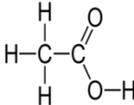
Propuesto por Tarr (1986), el método de derivatización de aminoácidos con PITC constituye el primer paso de la degradación de Edman (método para secuenciación de proteínas) (Figura 1). Dicho método consiste en producir feniltiocarbamil (PTC) aminoácidos, al hacer reaccionar a los aminoácidos con fenilisotiocianato (PITC) en medio básico. El medio básico es proporcionado por una amina terciaria (como la trietilamina). Los compuestos formados se analizan posteriormente por HPLC y UHPLC.



**Figura 1.** Primer paso de la degradación de Edman, el fenilisotiocianato (PITC) reacciona con el residuo amino de un aminoácido, formando un feniltiocarbamil (PTC) aminoácido. **Figura modificada de White et al. (1986).**

Si bien existen mucha literatura sobre el proceso de derivatización de aminoácidos con fenilisotiocianato, la técnica debe adecuarse para realizar la derivatización eficientemente, sin contar con una estación de hidrólisis / derivación (*i.e.* PicoTag-Waters®). En este informe se presenta un procedimiento que ha sido revisado, adecuado y sistematizado cuidadosamente para analizar dos aminoácidos (glicina, Gly; y alanina Ala); ambas moléculas son sintetizadas frecuentemente en los experimentos de química prebiótica.

## I. REACTIVOS

<p>Fenilisotiocianato</p> <p><math>C_6H_5NCS</math> 135.18 g/mol</p> 	<p>Metanol</p> <p><math>CH_3OH</math> 32.04 g/mol</p> 
<p>Trietilamina</p> <p><math>N(CH_3)_3</math> 59.11 g/mol</p> 	<p>Acetonitrilo</p> <p><math>C_2H_3N</math> 41.05 g/mol</p> 
<p>Ácido acético</p> <p><math>CH_3COOH</math> 60.02 g/mol</p> 	<p>Fosfato disódico</p> <p><math>Na_2HPO_4</math> 141.96 g/mol</p> 
<p>Glicina</p> <p><math>C_2H_5NO_2</math> 75.07 g/mol</p> 	<p>Alanina</p> <p><math>C_3H_7NO_2</math> 89.09 g/mol</p> 
<p>Acetato de sodio</p> <p><math>CH_3COONa</math> 82.04 g/mol</p> 	<p>Ácido acético</p> <p><math>CH_3COOH</math> 60.021 g/mol</p> 
<p>Heptano</p> <p><math>C_7H_{16}</math> 100.2019 g/mol</p> 	

**Nota:** Los reactivos usados para preparar la fase móvil deben ser de grado cromatográfico (HPLC).

## II. PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE BUFFER DE FOSFATOS-ACETONITRILLO (ACN)

La preparación consiste en dos pasos:

**A) Preparación de buffer de fosfatos.** Preparar un buffer de fosfato disódico, con una concentración  $5 \times 10^{-3}$  M. Para 250 mL de buffer, disolver 0.1807 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Completar el aforo a 250 mL con agua desionizada o tridestilada.

**B) Buffer +ACN.** Para preparar 100 mL de esta disolución colocar en un matraz 6 mL de acetonitrilo y completar el volumen (100 mL) con la disolución de fosfato disódico ( $5 \times 10^{-3}$  M) preparada en el paso anterior.

### III. PREPARACIÓN DEL REACTIVO PARA DERIVATIZAR (REACTIVO PITC)

Se prepara una mezcla de metanol/agua/trietilamina/fenilisotiocinato en proporciones 7:1:1:1, respectivamente (procedimiento de Cohen *et al.* 1986). Para 1 mL, colocar 0.7 mL de metanol, 0.1 mL de agua, 0.1 mL de trietilamina y 0.1 mL de fenilisotiocinato en un matraz, agitar. La cantidad preparada dependerá del número de muestras a analizar, sin embargo, se recomienda preparar 300  $\mu\text{L}$  en un microtubo, mezclando 210  $\mu\text{L}$  de metanol, 30  $\mu\text{L}$  de agua, 30  $\mu\text{L}$  de trietilamina y 30  $\mu\text{L}$  de fenilisotiocinato.

**Nota:** El reactivo debe prepararse cada día debido a que solo puede utilizarse hasta 3 horas después de su elaboración (Checa-Moreno *et al.*, 2008).

### IV. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

#### Curvas de calibración

Preparar una disolución  $1 \times 10^{-2}$  M del aminoácido respectivo (Gly o Ala, en este caso). Para preparar 50 mL de una disolución de glicina  $1 \times 10^{-2}$  M se pesan 37.5 mg del aminoácido, se colocan en un matraz aforado, se agrega un poco de agua y una vez disuelto se completa el aforo con agua. Para preparar la disolución de L-alanina  $1 \times 10^{-2}$  M se disuelven 44.5 mg en 50 mL de agua, siguiendo el procedimiento arriba descrito.

**Nota:** Usar siempre agua desionizada o tridestilada.

De esta disolución madre hacer diluciones en matraces aforados de 10 mL, para obtener las concentraciones que se presentan en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Concentraciones de las diluciones de aminoácidos para construir las curvas de calibración.

Concentración de la disolución madre (mol.L <sup>-1</sup> )	Volumen de la disolución madre (mL)	Volumen final (mL)	Concentración final (mol.L <sup>-1</sup> )
1x10 <sup>-2</sup>	0.005	10	5x10 <sup>-6</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	0.01	10	1x10 <sup>-5</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	0.05	10	5x10 <sup>-5</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	0.1	10	1x10 <sup>-4</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	0.2	10	2x10 <sup>-4</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	0.4	10	4x10 <sup>-4</sup>
1x10 <sup>-2</sup>	1	10	1x10 <sup>-3</sup>

## V. DERIVATIZACIÓN

1. Colocar 250 µL de la muestra a analizar (estándar o muestra problema) en un microtubo.

**Nota:** Para evitar la pérdida de muestra, la tapa del microtubo debe ser previamente perforada con una jeringa.

2. Liofilizar la muestra en las siguientes condiciones, 3.5 Pa y -50 °C por 4 horas.

3. Una vez seca la muestra, agregar 25 µL de reactivo PITC.

4. Agitar en un vórtex y dejar reposar 10 minutos, el tubo debe estar bien tapado.

5. Agregar 125 µL de la disolución de buffer de fosfatos y acetonitrilo y 40 µL de heptano para extraer el fenilisotiocianato restante, este paso se sigue de acuerdo con las indicaciones de Inglis *et al.*, (1988).

6. Agitar ligeramente la disolución.

7. Dejar reposar hasta que se observe la separación de dos fases transparentes.

8. Eliminar la fase superior que contiene el heptano y el fenilisotiocianato en exceso.

**Nota.** Colectar los desechos en un frasco de vidrio y etiquetarlo para una correcta disposición de residuos.

## VI. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS POR UHPLC

### Condiciones del cromatógrafo.

Las condiciones de análisis que se describen a continuación se determinaron para el cromatógrafo Thermo Scientific® modelo Dionex Ultimate 300, con detector UV-vis del Laboratorio de Evolución Química, Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM. La detección de las muestras se realiza a una longitud de onda de 254 nm. Se utiliza una columna ACE Generix5 C18 de 150 x 4.6 mm (ACE).

**Nota:** El volumen de inyección en cada corrida es de 20 µL de muestra, medida a través de un loop.

### Cuantificación de glicina

La preparación de la fase móvil para separar glicina consta de una mezcla de metanol al 50 % en ácido acético (pH 4.5). La preparación consta de dos pasos:

**A. Disolución de ácido acético (pH 4.5).** Colocar 1.72 mL de ácido acético en 400 mL de agua, ajustar el pH con trietilamina (Tarr, 1981), hasta alcanzar un valor de 4.5. Transferir la disolución a un matraz aforado de 500 mL y completar el volumen con agua desionizada.

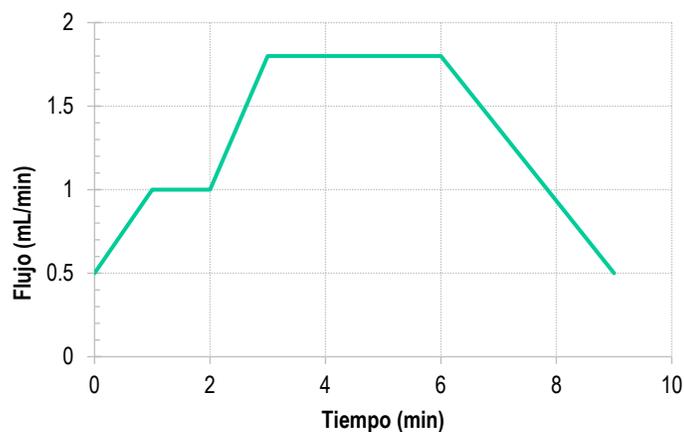
**Nota:** El pH de la disolución de ácido acético siempre debe ajustarse con trietilamina.

**B. Preparación de la fase móvil.** Preparar una disolución de metanol al 50% en ácido acético pH 4.5 (disolución preparada previamente). Para 1 L de fase móvil colocar 500 mL de metanol en un matraz aforado y completar el volumen con la disolución de ácido acético (pH 4.5).

**Flujo.** Se utiliza un flujo isocrático, el gradiente usado está basado en el que propone Tarr (1981). El programa de flujo es el que se indica en la **Tabla 2** y la **Figura 2**.

**Tabla 2.** Programa de elución utilizado para el aminoácido glicina.

Tiempo inicial (min)	Flujo inicial (mL/min)	Tiempo final (min)	Flujo final (mL/min)	Mantener por (min)
0	0.5	1	1.0	-
1	1.0	2	1.0	1
2	1.0	3	1.8	-
3	1.8	6	1.8	3
6	1.8	9	0.5	-



**Figura 2.** Gradiente de flujo usado para separar el derivado de fenilisotiocianato de glicina.

## Cuantificación de alanina

La fase móvil que se usa es una disolución de acetonitrilo (ACN) al 30 % preparada en una disolución de acetato de sodio. La preparación de la fase móvil se divide en dos fases:

**A. Disolución de acetato de sodio-TEA.** Para preparar 500 mL de disolución se disuelven 9.525 g de acetato de sodio en 400 mL de agua desionizada (o grado HPLC), después se agrega la trietilamina (0.5 mL) y, antes de aforar, se ajusta el pH con ácido acético a 6.3. Se afora con agua desionizada hasta 500 mL.

**B. Preparación de la fase móvil.** Disolución de acetonitrilo (30 %). En otro matraz aforado se agrega la cantidad necesaria de acetonitrilo y se afora con la disolución anterior. Para preparar 1 L de la disolución se colocan 300 mL de acetonitrilo y se afora a 1000 mL con la disolución de acetato de sodio.

**Flujo.** Se utiliza un flujo isocrático, se mantiene a 1mL/min con un tiempo de corrida de 27 minutos.

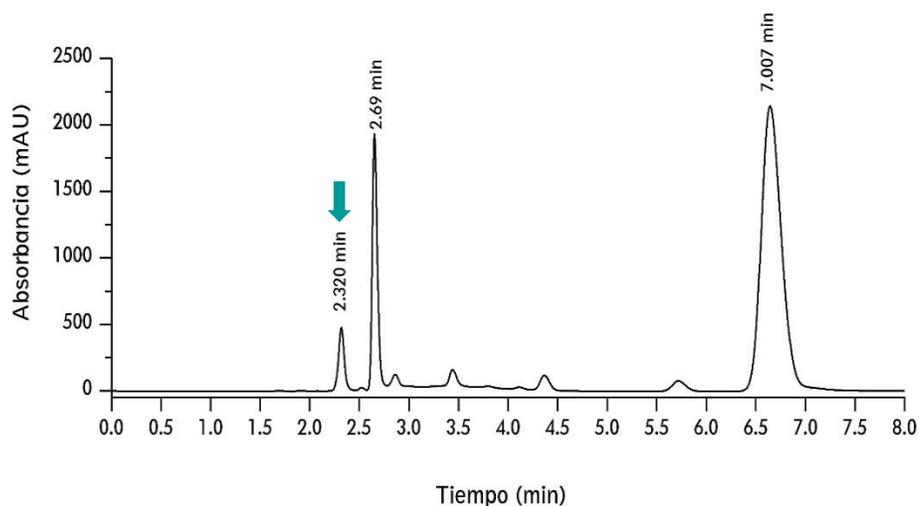
## RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan para cada uno de los aminoácidos de manera independiente.

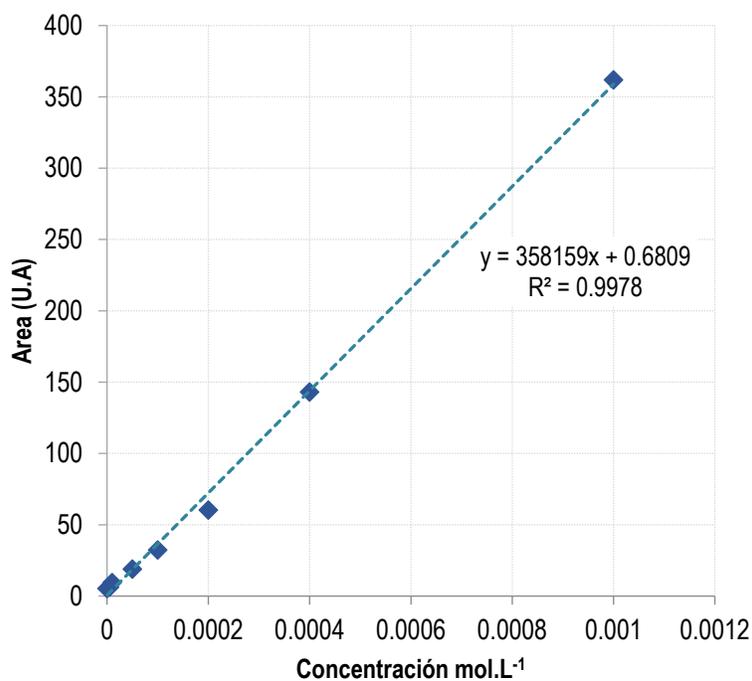
### Glicina

Fue posible separar la glicina con un gradiente isocrático, el tiempo de retención obtenido para este compuesto es de 2.320 min (**Figura 3**). Es importante hacer notar que el gradiente resultó efectivo, pues en general la separación se hace con gradientes no isocráticos. En el cromatograma se pueden apreciar otros dos picos que corresponden al PITC que no se logró extraer con el heptano y a los residuos del reactivo de derivatización del aminoácido (2.69 y 7.007 min). Ambos compuestos tienen tiempos de retención más grandes que la glicina. El tiempo de la corrida cromatográfica debe ser lo suficientemente grande para garantizar que los residuos del reactivo para derivatizar salgan de la columna y ésta se limpie, en este caso el tiempo de corrida se determinó en 8 min.

Se obtuvo una buena curva de calibración (**Figura 4**) para la glicina. Se puede observar que en el intervalo de concentración estudiado la respuesta se ajustó muy bien a una línea recta. En la Tabla 3 se muestran los valores de área obtenidos para cada concentración y los valores de desviación estándar. Se obtuvo un alto valor de correlación lineal ( $R^2=0.9978$ ), lo que indica que el método resultó eficiente para cuantificar al aminoácido. Es importante resaltar que el intervalo de concentración usada fue amplio (desde  $5 \times 10^{-6}$  hasta  $1 \times 10^{-3}$ M).



**Figura. 3.** Cromatograma de un estándar de glicina  $1 \times 10^{-4}$  M, derivatizado con fenilisotiocianato. El derivado corresponde al pico con tiempo de retención 2.320 min. Los picos en 2.69 y 7.007 min son residuos de PITC.



**Figura. 4.** Curva de calibración obtenida para la glicina por el método de derivatización con fenilisotiocianato. La cuantificación se hizo por UHPLC a una  $\lambda = 254$  nm. El aminoácido tiene un tiempo de retención 2.32 minutos.

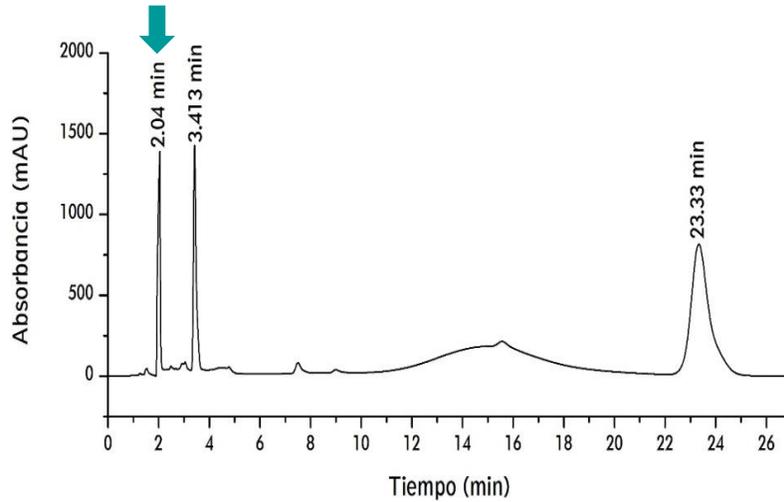
**Tabla 3.** Valores graficados para construir la curva de calibración de glicina.

Concentración (mol.L <sup>-1</sup> )	Área del pico	Desviación estándar
0	5.32234286	1.45360896
5x10 <sup>-6</sup>	6.328625	0.15588315
1x10 <sup>-5</sup>	9.44932857	0.86531818
5x10 <sup>-5</sup>	18.8967222	2.14252958
1x10 <sup>-4</sup>	32.3151	0.94748917
2x10 <sup>-4</sup>	60.2768333	2.91791568
4x10 <sup>-4</sup>	143.0867	4.59944054
1x10 <sup>-3</sup>	361.921414	13.9091678

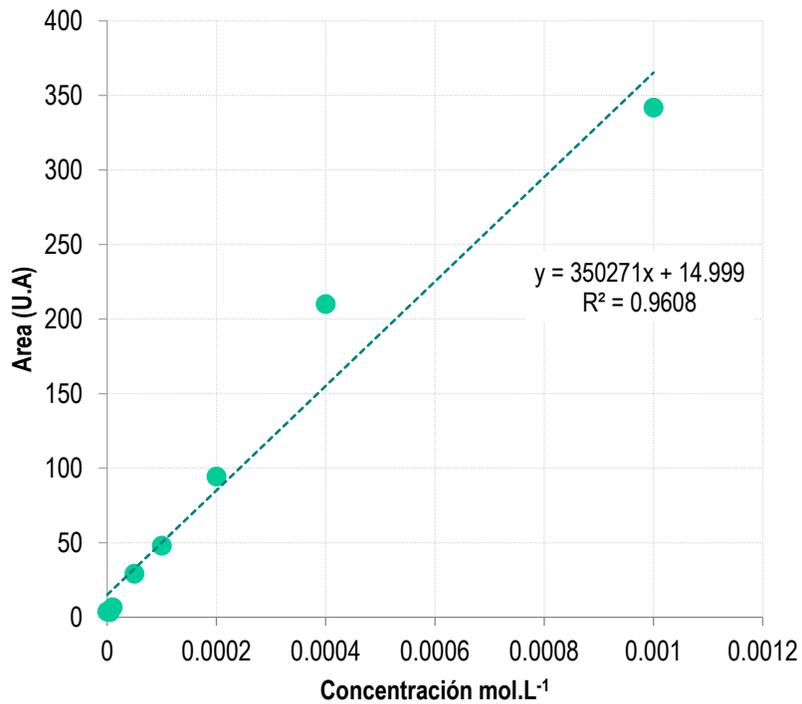
### L-alanina

También fue posible separar la L-alanina con un gradiente isocrático, pero sin variar el flujo. Pero, no fue posible cuantificar alanina con las mismas condiciones cromatográficas que se usaron para la glicina. En este caso, el T.R. fue de 2.04 min (**Figura 5**). Al igual que para la glicina aparecen los picos, correspondientes a el PITC y residuos del reactivo para derivatizar (3.413 y 23.33 min). En este caso el tiempo de corrida cromatográfica debe ser de 30 minutos, por lo que la separación es menos eficiente que para la glicina.

En este caso, también se obtuvo una buena correlación entre los valores de concentración y la respuesta cromatográfica (**Figura 6**), aunque la correlación fue mejor para la Gly. En la **Tabla 4** se muestran los valores de área obtenidos para cada concentración y los valores de desviación estándar. Se obtuvo un valor de correlación lineal ( $R^2=0.9608$ ), lo que indica que el método resultó eficiente para cuantificar al aminoácido. Se recomienda modificar el flujo de la fase móvil a fin de acortar el tiempo de análisis, pero con precaución, para no aumentar la presión de manera brusca.



**Figura. 5.** Cromatograma de un estándar de L-alanina  $4 \times 10^{-4} \text{M}$ , derivatizado con fenilisotiocianato. El derivado corresponde al pico con tiempo de retención 2.04 min, los picos en 3.413 y 23.33 min corresponden al residuo del reactivo para derivatizar.



**Figura. 6.** Curva de calibración obtenida para L-alanina por el método de derivatización con fenilisotiocianato. La cuantificación se hizo por UHPLC a una  $\lambda = 254 \text{ nm}$ . El aminoácido tiene un tiempo de retención 2.04 minutos.

**Tabla 4.** Valores graficados para construir la curva de calibración de L-alanina.

Concentración (mol.L <sup>-1</sup> )	Área del pico	Desviación estándar
0	3.92586	1.75629561
5x10 <sup>-6</sup>	3.59871429	1.56497281
1x10 <sup>-5</sup>	6.75028571	1.24382672
5x10 <sup>-5</sup>	29.3158571	0.42315381
1x10 <sup>-4</sup>	48.0736143	5.67508724
2x10 <sup>-4</sup>	94.48375	12.4087236
4x10 <sup>-4</sup>	210.1734	18.7279142
1x10 <sup>-3</sup>	341.89488	23.0221717

## CONCLUSIONES

El método de derivatización de aminoácidos con PITC que se describe en varias fuentes es adecuado para derivatizar aminoácidos, siempre que se cuente con una estación de trabajo PicoTag®. El método que se implementó en este informe no requiere el uso de este equipo de hidrólisis y derivatización.

El método resultó eficiente para preparar los derivados de los aminoácidos glicina y alanina. Luego de preparar los derivados fue posible determinar las condiciones cromatográficas de separación de cada aminoácido en un equipo UHPLC y realizar una curva de calibración confiable. Por ello, el método descrito es una herramienta útil para cuantificar aminoácidos en un laboratorio de química prebiótica o en otro interesado en el estudio y cuantificación de aminoácidos.

## REFERENCIAS CITADAS

Altwegg, K., Balsiger, H., Bar-Nun, A., Berthelier, J. J., Bieler, A., Bochsler, P., ... & De Keyser, J. (2016). Prebiotic chemicals—amino acid and phosphorus—in the coma of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko. *Science Advances*, 2(5), e1600285.

Burton, A. S., Stern, J. C., Elsila, J. E., Glavin, D. P., & Dworkin, J. P. (2012). Understanding prebiotic chemistry through the analysis of extraterrestrial amino acids and nucleobases in meteorites. *Chemical Society Reviews*, 41(16), 5459-5472.

Cohen, S. A., Bidlingmeyer, B. A., & Tarvin, T. L. (1986). PITC derivatives in amino acid analysis. *Nature*, 320(6064), 769-770.

Checa-Moreno, R., Manzano, E., Mirón, G., & Capitán-Vallvey, L. F. (2008). Revisitation of the phenylisothiocyanate-derivatives procedure

for amino acid determination by HPLC-UV. *Journal of separation science*, 31(22), 3817-3828.

Elsila, J. E., Aponte, J. C., Blackmond, D. G., Burton, A. S., Dworkin, J. P., & Glavin, D. P. (2016). Meteoritic amino acids: Diversity in compositions reflects parent body histories. *ACS Central Science*, 2(6), 370-379.

Glavin, D. P., Aubrey, A. D., Callahan, M. P., Dworkin, J. P., Elsila, J. E., Parker, E. T., ... & Shaddad, M. H. (2010). Extraterrestrial amino acids in the AlmahataSitta meteorite. *Meteoritics & Planetary Science*, 45(10-11), 1695-1709.

Inglis, A. S., Bartone, N. A., & Finlayson, J. R. (1988). Amino acids analysis using phenylisothiocyanate prederivatization: Elimination of

the drying steps. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 15(5), 249-254.

Koga, T., & Naraoka, H. (2017). A new family of extraterrestrial amino acids in the Murchison meteorite. *Scientific reports*, 7(1), 1-8.

Miller, S. L. (1953). A production of amino acids under possible primitive earth conditions. *Science*, 117(3046), 528-529.

Molnár-Perl, I. (2005). HPLC of amino acids as phenylthiocarbamoyl derivatives. In *Journal of Chromatography Library* (Vol. 70, pp. 137-162). Elsevier.

Throop, H. B. (2011). UV photolysis, organic molecules in young disks, and the origin of meteoritic amino acids. *Icarus*, 212(2), 885-895.

Tarr, G. E. (1981). Rapid separation of amino acid phenylthiohydantoins by isocratic high-performance liquid chromatography. *Analytical biochemistry*, 111(1), 27-32.

Tarr, G. E. (1986). Manual Edman sequencing system. In *Methods of protein microcharacterization* (pp. 155-194). Humana Press.

Wagner, I., & Musso, H. (1983). New naturally occurring amino acids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 22(11), 816-828.

White, J. A., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 8(4), 170-177.

Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*, 37(1), 1-17.

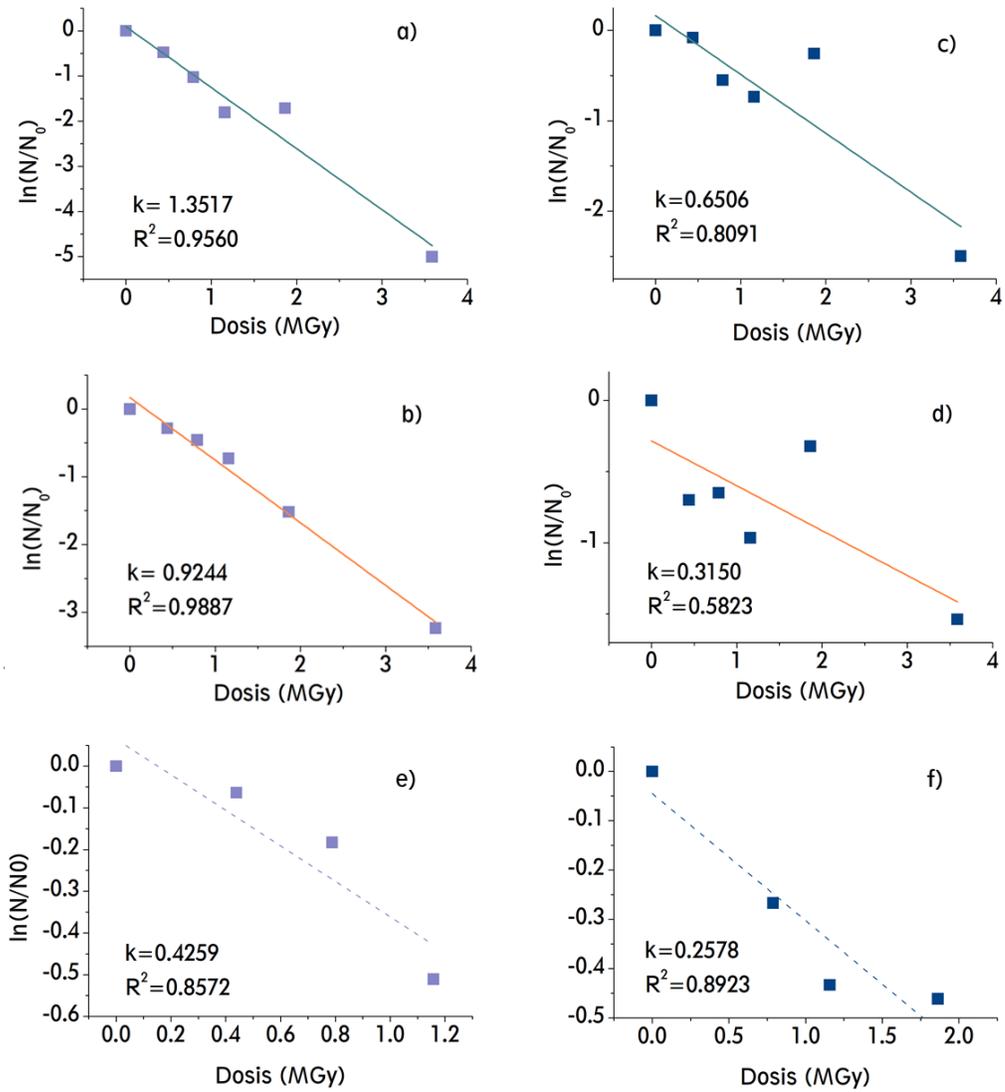
## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto en Ciencias Nucleares-UNAM, por permitirnos usar sus instalaciones para desarrollar la técnica aquí presentada; a la Q.F.B. Claudia Camargo por su apoyo técnico, a la Dra. Adriana Meléndez por la revisión técnica de este documento; al Posgrado en Ciencias de la Tierra-UNAM, donde MLM y LAGL realizan sus estudios y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo a esta investigación (A1-S-25341).

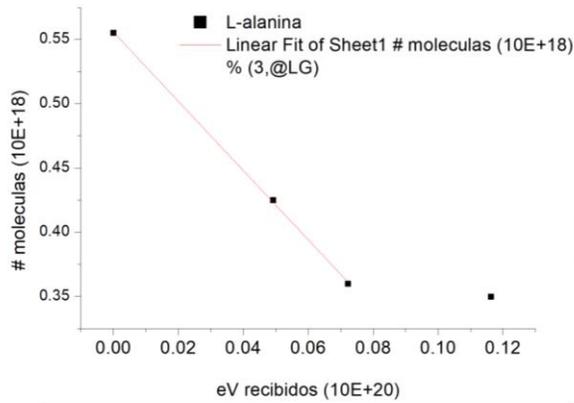
Abril, 2020.

Anexo 4. Ajuste de los datos de descomposición de los aminoácidos en presencia de minerales al modelo exponencial.

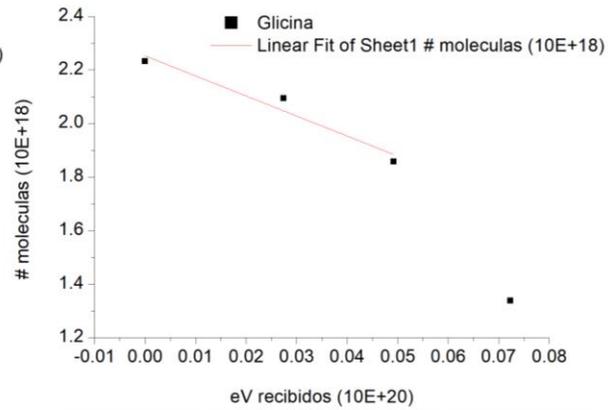
a) olivino-glicina impregnación, b) montmorillonita-glicina sorción, c) olivino- alanina impregnación, d) montmorillonita-alanina sorción, e) Glicina pura, f) L-Alanina pura.



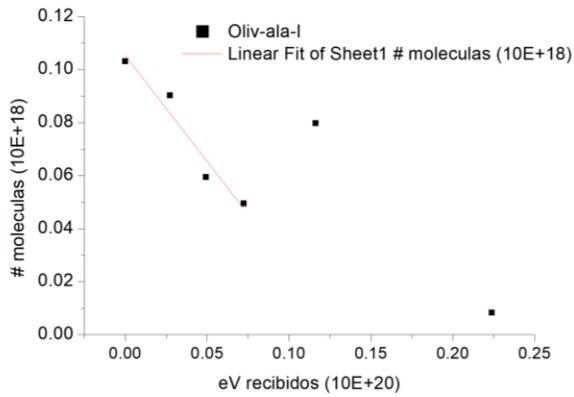
## Anexo 5. Cálculos de G



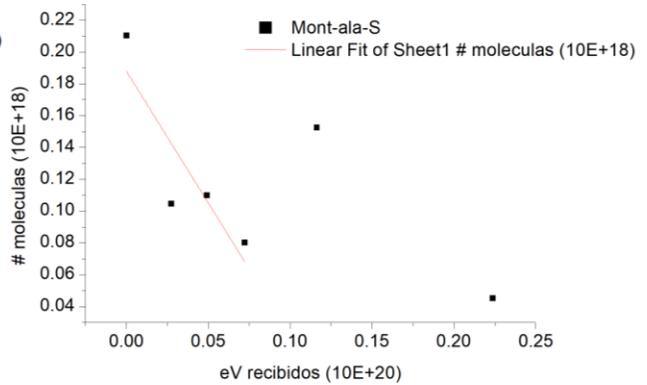
Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	4.89567E-6		
Pearson's r	-0.99988		
Adj. R-Square	0.9995		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	0.55569	0.00214
	Slope	-2.69187	0.04239



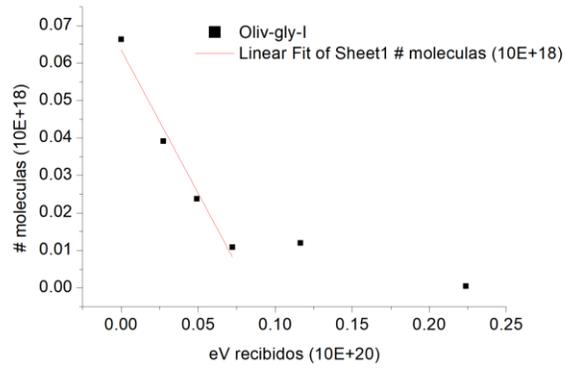
Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	0.00323		
Pearson's r	-0.97706		
Adj. R-Square	0.90928		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	2.25215	0.05301
	Slope	-7.48102	1.63073



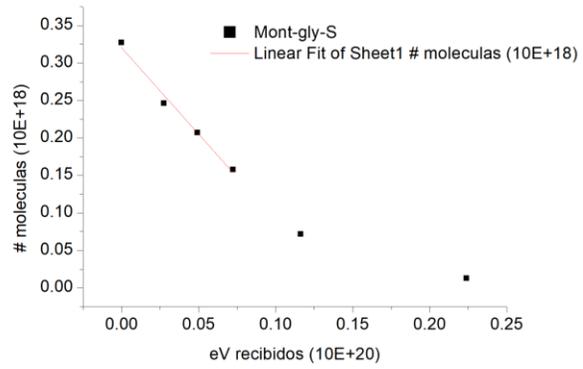
Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	9.85568E-5		
Pearson's r	-0.974		
Adj. R-Square	0.92302		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	0.10534	0.00602
	Slope	-0.79904	0.13142



Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	0.00211		
Pearson's r	-0.88766		
Adj. R-Square	0.6819		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	0.18796	0.02785
	Slope	-1.65716	0.60792



Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	3.1078E-5		
Pearson's r	-0.99084		
Adj. R-Square	0.97265		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	0.06352	0.00338
	Slope	-0.76583	0.0738



Equation	y = a + b*x		
Weight	No Weighting		
Residual Sum of Squares	1.82807E-4		
Pearson's r	-0.99402		
Adj. R-Square	0.98212		
		Value	Standard Error
# molecules (10E+18)	Intercept	0.32042	0.0082
	Slope	-2.30443	0.17898