

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA DE LA ADENINA
POR TIEMPO DE VUELO.

LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2017

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA DE LA ADENINA
POR TIEMPO DE VUELO.

TESIS
PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
QUÍMICA

LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA

Director
Doctor en Ciencias Químicas
JUAN CARLOS POVEDA JARAMILLO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2017

Los resultados negativos son justo lo que quiero son tan valiosos para mí como los resultados positivos. No puedo encontrar lo que funciona mejor hasta que encuentre lo que no funciona.

Thomas Alva Edison

AGRADECIMIENTOS

Dr. Juan Carlos Poveda Jaramillo, LEAM, UIS

Dra. María del Carmen Cisneros Gudiño, ICF, UNAM

Dr. Ignacio Álvarez Torres, ICF, UNAM

Dr. Alfonso Guerrero Tapias, ICF, UNAM

Laboratorio de Colisiones Atómicas Moleculares y Óptica, ICF, UNAM

Fundación Cisneros- Álvarez

Sociedad Mexicana De Física

CONACYT-MÉXICO

DGAPA UNAM: Proyectos IN101215 y IN102516

Mis padres: **Raúl Hallado** y **María del Carmen Abaunza**

Compañeros de laboratorio: **Eladio, Teonanacalt, Jahir y Francisco**

La familia Solano quienes me acogieron durante mi estancia en México

CONTENIDO

	Pag
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	19
1.1. OBJETIVO GENERAL	19
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
3. MARCO CONCEPTUAL	22
3.1. ADENINA	22
3.2. LOS LÁSERES Y LA ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA	24
3.3. TEORÍA DE LOS PROCESOS MULTIFOTÓNICOS	28
3.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS POR TIEMPO DE VUELO APLICADA A LA ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA	35
4. SECCIÓN EXPERIMENTAL	38
4.1. EQUIPO Y ELECTRÓNICA EMPLEADO	38
4.1.1. Fuente de radiación láser	38
4.1.2. Oscilador paramétrico óptico (OPO)	39
4.1.3. Montaje para direccionar el haz	39
4.1.4. Generación del haz supersónico molecular	41
4.1.5. Espectrómetros de masas L-TOF	41
4.2. REGISTRO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	44
4.2.1. Para el tubo lineal.	44
4.2.2. Tubo de vuelo reflectron en modo lineal.	45
4.3. EJECUCIÓN Y MONTAJE	45
5. FUNDAMENTACIÓN DE LA MEDIDA	47
5.1. SIMULTANEIDAD	47
5.2. SINCRONÍA DEL PULSO LÁSER Y EL HAZ MOLECULAR	48

5.3. TIEMPOS Y VELOCIDAD DE LOS IONES.....	49
5.4. TIEMPOS DE DETECCIÓN.....	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN CURVA DE CALIBRACIÓN Y ESPECTROS DE MASAS	51
6.1. ADENINA CON EL OPO (440-660nm).	52
6.2. ADENINA CON EL LÁSER DE Nd:YAG 30Hz A 355 nm INCREMENTANDO POTENCIAS E IMPLEMENTANDO CALENTAMIENTO 230°C a 240°C Y EL USO DE GAS DE ARRASTRE. 52	
6.3. ADENINA CON EL OPO (410-660 nm)	56
6.4. ADENINA CON LÁSER Nd:YAG 10Hz A 355 nm.....	57
6.5. ADENINA CON DOS LÁSERES EL OPO (410-900 nm) ACOMPAÑÁNDOLO DEL LÁSER Nd:YAG 10Hz A 355 nm	60
7. CONCLUSIONES	72
8. RECOMENDACIONES.....	75
ANEXOS.....	76
BIBLIOGRAFÍA.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la adenina	22
Figura 2. Tautómeros de la adenina.	23
Figura 3. Fenómeno de inversión de la población	25
Figura 4. Analogía entre el Nd:YAG y un medio activo de cuatro niveles energéticos	26
Figura 5. Procesos de absorción: a) secuencial b) multifotónico.	28
Figura 6. Población de las moléculas en el estado ionizado.....	32
Figura 7. Tipos de ionización.	35
Figura 8. Esquema general de un espectrómetro lineal de masas	36
Figura 9. Oscilador paramétrico óptico.	39
Figura 10. Montaje óptico empleado.....	40
Figura 11. Representación del Tubo de Vuelo Lineal.	41
Figura 12. Representación del Tubo de Vuelo Reflectrón.	43
Figura 13. Diagrama de conexiones del detector Channeltron.	45
Figura 14. Zona de interacción.	47
Figura 15. Señal del láser observada en el osciloscopio.	49
Figura 16. Curva de calibración de la adenina a alta temperatura.....	51
Figura 17. Espectros de adenina a alta temperatura (230°C a 240°C).	53
Figura 18. Espectros de adenina a baja temperatura.	54
Figura 19. Cálculo de fotones para H ⁺ de la adenina a altas temperaturas	55
Figura 20. Espectros de adenina a 18mW y 30mW de potencia.	57
Figura 21. Espectros de adenina a una potencia de 30mW, junto con el OPO 497 nm y 660 nm a 665 nm.	59
Figura 22. Espectros de adenina sin normalizar	61
Figura 23. Espectros de adenina normalizados.	62
Figura 24. Comparación de espectros de adenina normalizados.	63
Figura 25. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 760 a 765 y de 660 a 665.	65

Figura 26. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 720nm a 785nm con el de 760nm a 765nm.....	67
Figura 27. Absorción múltiple de fotones para los iones generados.....	71

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Armónicos generados de un láser de Nd:YAG.	38
Tabla 2. Velocidades de los iones en el tubo de deriva y su tiempo de llegada al detector.....	49
Tabla 3. Número de fotones absorbidos por la adenina a altas temperaturas..	56
Tabla 4. Masa de los iones encontrados para cada uno de los experimentos realizados. .	69

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Ampliación de espectros de adenina a alta temperatura (230°C a 240°C).....	76
Anexo B. Cálculo de fotones para la adenina de 220 a 240°C.	77
Anexo C. Ampliación de espectros de adenina a una potencia de 30mW, junto con el OPO 497 nm y 660 nm a 665 nm.....	85
Anexo D. Ampliación de espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 760 a 765 y de 660 a 665.	86
Anexo E. Ampliación de espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 720nm a 780nm con el de 760nm a 765nm.....	87

GLOSARIO

CRISTAL KD*P potasio dideuterado fosfato para la conversión de frecuencias.

DICROISMO propiedad que tienen algunos cuerpos de presentar coloraciones diferentes según la dirección en que se los mire, debido a su capacidad para dividir un haz de luz en luz policromática.

EXCÍMER láser conformado por un gas inerte y un dímero gaseoso reactivo que al estimularlos eléctricamente generan radiación en el rango ultravioleta.

GLICOPÉPTIDOS péptido que contiene azúcar ligadas a sus aminoácidos.

IRRADIANCIA magnitud representada por el cociente entre la potencia y el área que recibe la radiación. Cantidad de energía que incide sobre un área en un tiempo determinado.

LÁSER del ingl. Laser, acró. de light amplification by stimulated emission of radiation 'Amplificación de luz mediante emisión inducida de radiación'. Dispositivo electrónico que basado en una emisión inducida, amplifica de manera extraordinaria un haz de luz monocromático y coherente.

POTENCIA cantidad de energía producida o consumida por unidad de tiempo.

PULSOS TTL pulso compatible con la lógica transistor- transistor.

REFLECTIVIDAD es cuán brillante es un objeto, depende de la intensidad de la luz que incide en su superficie y de los materiales de los que está elaborado.

TUNELAJE cuando una partícula penetra una barrera de energía potencial mayor que la energía cinética propia de la partícula.

RESUMEN

TITULO: ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA POR TIEMPO DE VUELO.*

AUTOR: LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA**

PALABRAS CLAVE: ADENINA, IONIZACIÓN MULTIFOTÓNICA, ABSORCIÓN DE FOTONES.

DESCRIPCIÓN:

Esta investigación aborda el proceso de fragmentación de la molécula adenina; una de las cinco bases nitrogenadas que conforman la estructura molecular del ADN y ARN que posee una estructura hetero-aromática. Se describe el arreglo experimental empleado para los procesos de ionización y detección de los fragmentos (iones) de esta molécula (adenina). Además, incluye el análisis de los resultados obtenidos. La experiencia es el resultado de los experimentos realizados para la excitación de la adenina utilizando láseres de Nd: YAG de 10 Hz y 30 Hz; los cuales se utilizan para incidir en el haz molecular (proveniente del *skimmer*), que viaja a velocidades supersónicas, y generar los procesos de ionización molecular. A los láseres se les dio el siguiente uso: Para ejecutar barridos en el rango de longitudes de onda de 410nm a 900nm se utiliza el primer láser (10 Hz); en tanto que el segundo láser (30Hz) se emplea para encontrar el rango de temperatura óptima y la potencia mínima en la cual se inicia la generación de los fragmentos, a partir de la excitación de la adenina, sometida al calentamiento a diferentes temperaturas. Mediante la aproximación de teoría probabilística multifotónica se presenta el estimado del número de fotones empleados en los procesos de ionización. La información obtenida complementa los conocimientos actuales de la fotofísica y fotoquímica de la adenina, esenciales en el estudio de los procesos de formación y control de las mutaciones carcinogénicas.

* Trabajo de grado

** Facultad de ciencias. Escuela de química. Director: Juan Carlos Poveda Jaramillo, Químico.

ABSTRACT

TITLE: MULTIPHOTON ABSORPTION ESPECTROSCOPY BY TIME OF FLIGHT*

AUTHOR: LUISA XIOMARA HALLADO ABAUNZA**

KEY WORDS: ADENINE, MULTYPHOTON IONIZATION, ABSORTION OF PHOTONS.

DESCRIPTION:

In this investigation is abrogated the fragmentation process of heteroaromatic molecule adenine, one of the five nitrogen bases that conform the AND and ARN. Describing the experimental assembly employed in the ionization processes and the detection of the fragments(ions) from that molecule(adenine). Also, is included the analysis of the obtained data. The experience is the result of the experiment done for the excitation of adenine employing Nd:YAG lasers of 10 and 30 (30Hz); that fall on the molecular jet that travels (comes from the skimmer), that travels at supersonic speeds, and generate de molecular ionization process. The lasers had the next uses: For executing scans in the range from 410 nm to 900 nm the first laser (10Hz) is employed; while the second laser is use for find the range of optimum temperature and the minimal potence in what the fragment generation is initiated, allowed by the excitation of adenine subjected to heating at different temperatures. Using the approximation of the probalistic multiphoton theory for stimating the number of photons employed in the studied ionization process of adenine. The improved information complements the actual knowledges of photo-physics and photo-chemistry of adenine, esencial in the study of the carcinogenic mutation formation process and control.

* Bacherlor Thesis

** Facultad de ciencias. Escuela de Química. Director: Juan Carlos Poveda Jaramillo, Químico

INTRODUCCIÓN

El interés por el estudio de moléculas biológicas, clústers y sus radicales, en los cuales se suelen considerar estructuras sencillas como aminoácidos, bases nitrogenadas, glicopépticos y polisacáridos, están focalizados sobre los efectos que ejerce la radiación en las macromoléculas superiores, ADN y ARN, ya que las radiaciones pueden ocasionar daños en el material biológico o la generación de mutaciones genéticas mediadas por radicales libres, aumentando el riesgo de cáncer. Es por esto, que las investigaciones tienden a los análisis de sus constituyentes ionizados, con ello se elucidaría el mecanismo del daño causado por la radiación sobre el ADN y a su vez se encontraría o establecería vías más eficaces para impedir la reproducción o multiplicación del daño genético soportadas en terapias radiativas específicas.¹

El estudio de biomoléculas es esencial para comprender el desarrollo de la vida y el por qué los procesos de replicación del ADN muestran bajos rendimientos de fluorescencia y unos estados de vida excitados muy cortos. Estas estructuras presentan una alta estabilidad relativa debido a que poseen una capa de valencia cerrada, pero es posible descomponerlos ya que son muy sensibles a cambios térmicos y suelen presentar una presión de vapor baja.²

La evolución de las técnicas espectroscópicas, como resultado de la optimización y generación de dispositivos tecnológicos junto con el refinamiento de las fuentes láser, permite el estudio de moléculas sencillas y ha incrementado los estudios fotoquímicos, fotofísicos y los efectos de la luz UV, en biomoléculas de estructura sencilla. Estas especies son utilizadas como modelos de estudio de moléculas cinéticamente inestables, al analizar los resultados se obtienen los mecanismos para la liberación del exceso de

¹ SCHWELL, Martin y HOCHLAF Majdi. Photoionization Spectroscopy of Nucleobases and Analogues in the Gas Phase Using Synchrotron Radiation as Excitation Light Source. En: Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids I. Nucleobases in the Gas Phase and in Solvents. 2015, Vol. 355, p. 155–208. ISBN: 978-3-319-13371-3

² FISCHER, Ingo. Time-Resolved Photoionisation of Radicals, Clusters and Biomolecules: Relevant Model Systems. En: Chemical Society Reviews ,2003, vol.32 ,p. 59–69.

energía por medio de relajaciones no radiactivas como vibraciones.³

Dentro de estos estudios se encuentra la espectroscopía de ionización multifotónica, esta técnica comprende una amplia gama de experimentos altamente sensibles, que estudian los procesos de interacción en el estado basal de átomos individuales o moléculas con dos o más fotones; que no es posible estudiar por medio de la espectroscopía convencional. Cuando en una interacción multifotónica, el sistema absorbe dos o más fotones, los procesos de absorción y emisión se encuentran estrechamente relacionados, el ejemplo más simple de este tipo de experimentos es cuando se involucra únicamente la absorción.^{4,5}

Esta técnica permite analizar muestras en fase líquida, sólida y gaseosa, matrices a bajas temperaturas y cristales moleculares; es por esto que debería aplicarse con mayor frecuencia en la caracterización de diversas moléculas que incluyan electrones π deslocalizados en su estructura tales como explosivos, compuestos poliaromáticos, drogas narcóticas, clústers, contaminantes, pesticidas e isómeros^{6,7,8,9,10,11,12,13,14}. Razón por la cual, se ha decidido trabajar con las bases nitrogenadas a las cuales se les han realizado acercamientos desde diversos puntos de vista: energéticos, estructurales y

³ SMOLAREK, S. UV and IR laser spectroscopy of isolated molecular structural dynamics. Tesis de Doctorado. Holanda: Universidad de Amsterdam. Van 't Hoff Institute for Molecular Sciences (HIMS), 2011. p. 81-101

⁴ ANDREWS, David L. Lasers in Chemistry. Berlin York, New Tokyo, London Paris: Heidelberg, Springer-Verlag, 1986. p. 124-130. ISBN: 978-3-540-16161-5.

⁵ TELLE, Helmut H.; URENA; Angel Gonzalez, y DONOVAN, Robert J. Laser Chemistry: Spectroscopy, Dynamics and Applications. Statewide Agricultural Land Use Baseline. Inglaterra: JohnWiley&Sons Ltd. Vol. 1, 2015. ISBN 978-0-471-48571-1

⁶ ASHFOLD, M.N.R., *et al.* Resonance Enhance Multiphoton Ionization (REMPI) and REMPI-Photoelectron Spectroscopy of Ammonia. En: The European Physical 1998, vol.4, p. 189-97.

⁷ ZIMMERMANN, Ralf, *et al.* A Mobile Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Device for On-Line Analysis of Aromatic Pollutants in Waste Incinerator Flue Gases: First Results. En: *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 1997, vol.11, p. 1095-1102.

⁸ LUBMAN, David M y KRONICK, Mel N.. Mass Spectrometry of Aromatic Molecules with Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization. En: *Analytical Chemistry*, 1982, vol. 54, p. 660-665.

⁹ GILLIÉRON, Carine. Spectroscopy and Structure of the Naphthalene Dimer. En: *Boomerang Transactions*, 2006, vol. 1, p. 1-6.

¹⁰ CAO, L, *et al.* "Resonance - Enhanced Multiphoton Ionization and VUV-Single Photon Ionization as Soft and Selective Laser Ionization Methods for On-Line Time-of-Flight Mass Spectrometry: Investigation of the Pyrolysis of Typical Organic Contaminants in the Steel Recycle. En: *Analytical Chemistry*, 2003, vol.75, p. 5639-5645.

¹¹ BEATTIE, David A, *et al.* (2 + 1) REMPI Spectra of the I₂ - Kr and I₂ - N₂ van der Waals Complexes and the (2 + 1') ZEKE-PFI Photoelectron Spectrum of I₂⁺ - Kr. En: *Faraday Transactions* 93 (1997), p. 4245-51.

¹² OSER, Harald, *et al.* Development of a Jet-REMPI (Resonantly Enhanced Multiphoton Ionization) Continuous Monitor for Environmental Applications. En: *Applied Optics* 2001, vol.40, no.6, p 859-865.

¹³ OREA, J M, *et al.* Analysis of Carbendazim in Agricultural Samples by Laser Desorption Ion and REMPI Time-of-Flight Mass Spectrometry. En: *Analytical Chemistry*, 1998, vol.70, no.3, p 491-497.

¹⁴ BLEASE, T.G., *et al.* (2 + 2) Resonance Enhanced Multiphoton Ionization Spectra of Jet-Cooled Ortho-, Meta- and Para-Xylene. En: *Laser Chemistry* 1988, vol.9, p. 241-263.

funcionales^{15,16}, pero con pocas aproximaciones al estudio de la estructura vibracional de estas.

Esta investigación estudia la adenina, uno de los constituyentes del ADN y ARN, la cual exhibe propiedades fotofísicas particulares, la fuerte absorción a 260nm puede desencadenar reacciones que generan efectos carcinogénicos y mutagénicos, esta molécula se concibe como un modelo para el estudio de sistemas heteroaromáticos que ayudaría a la comprensión del comportamiento fotoquímico y fotofísico general del ADN. ^{17,18}

En el capítulo 1 se describe los conceptos necesarios para la comprensión de las técnicas empleadas y los resultados obtenidos; los montajes y adecuaciones experimentales se describen en el capítulo 2; en el capítulo 3 se explica la sincronía instrumental presentada, los experimentos realizados y el análisis de los datos colectados se presentan en el capítulo 4; finalmente se presentan las conclusiones y recomendaciones. La información obtenida complementa los conocimientos actuales de la fotofísica y fotoquímica de la adenina, esenciales en el estudio de los procesos de formación y control de las mutaciones carcinogénicas.

¹⁵ ZWIEB, Christian. Fundamental Aspects of RNA. En: *RNA Nanotechnology*, 6, p. 15–76. San Antonio, Texas: Pan Stanford Publishing, 2014. ISBN 978-981-4411-64-6

¹⁶ YOKOYA, Akinari, *et al.* Spectroscopic of Radiation-Induced DNA Lesions and Their Susceptibility to Enzymatic Repair. En: *Charged Particle and Photon Interactions with Matter Recent Advances, Applications, and Interfaces*, edited by Yoshihiko Hanato, Yosuke Katsumura, y A Mozumder, 543-574. Tokio y Tokai, Japón: CRC Press, 2010.

¹⁷ NOLTING, Dirk, *et al.* Excited-State Relaxation of Protonated Adenine. En: *ChemPhysChem*, 2007, vol.8, p. 751–55.

¹⁸ KIM, Nam Joon, *et al.* Resonant Two-Photon Ionization and Laser Induced Fluorescence Spectroscopy of Jet-Cooled Adenine. En: *Journal of Chemical Physics*, 2000, vol.113, p. 10051–10055.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar los productos de la disociación-ionización multifotónica de la adenina, por medio de la adquisición de espectros de tiempo de vuelo empleando tubos lineales o en modo lineal junto con láseres Nd:YAG de 10 y 30 Hz.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir un arreglo experimental para el estudio de la disociación-ionización multifotónica de moléculas sobre enfriadas en un jet molecular.
- Caracterizar los productos de disociación – ionización molecular de la adenina utilizando como fuente de fotones un láser de Nd:YAG emitiendo en el tercer armónico (355nm)
- Evidenciar los efectos del uso de gas de arrastre y el aumento de la temperatura en la fragmentación de la adenina.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La evolución de las técnicas analíticas llevó al desarrollo de la espectroscopía de absorción multifotónica, por medio de estas técnicas se han desarrollado pruebas exitosas para el análisis de diversas moléculas en fase gaseosa, líquida y sólida, donde se han analizado las absorciones, desde dos hasta cinco fotones, por medio de espectros de masas de alta resolución. Entre las especies que se pueden estudiar se encuentran explosivos, compuestos poliaromáticos, drogas narcóticas, clusters, contaminantes, pesticidas e incluso llevar a cabo resolución de isómeros^{19,20,21,22,23,24,25,26,27}; también se han realizado estudios utilizando esta técnica en bases nitrogenadas cuyo enfoque usual son investigaciones sobre nucleósidos (base nitrogenada unida covalentemente con una pentosa) debido a la estabilidad térmica que presentan y gracias a sus altos pesos moleculares (unión de una ribosa junto con una base nitrogenada por medio de puentes de hidrógeno) los cuales hacen más fácil sus mediciones^{28,29}.

Las investigaciones sobre la interacción de las bases nitrogenadas en estado excitado usualmente se realizan por medio de simulaciones computacionales, pero su comportamiento real cuando incide radiación capaz de ocasionar eventos multifotónicos en dichas moléculas es casi desconocido. Con el fin de completar los estudios computacionales con experimentos de espectroscopía de absorción multifotónica en el campo de las moléculas que se encuentran dentro de la estructura del ADN y ARN de tipo purínico, se realiza este estudio sobre la adenina. A dicha molécula se le han realizado análisis por dispersión

¹⁹BLEASE, Op. cit.

²⁰ASHFOLD, Op. cit.

²¹BEATTIE, Op. cit.

²²OSER, Op. cit.

²³OREA, Op. cit.

²⁴ZIMMERMANN, Op. cit.

²⁵CAO, Op. cit.

²⁶GILLIÉRON, Op. cit.

²⁷LUBMAN, Op. cit.

²⁸Nir, E. , *et al.* "REMPI Spectroscopy of Laser Desorbed Guanosines" En: Journal American Chemical Society. 2000, vol. 122 , no.33, 8091–8092.

²⁹Nir, E. , *et al.* "REMPI spectroscopy of Jet-Cooled Guanine" En: Journal American Chemical Society. 1999, vol. 121 , no.20, 4896–4897.

Raman, Ultravioleta y demás técnicas básicas, las cuales solo brindan información de tipo estructural y vibracional en el estado basal, siendo el estado excitado poco explorado.^{30,31}

³⁰ OTTO, C, *et al.* " Surface enhanced Raman scattering of Derivatives of Adenine. The Importance of the External Amino Group in Adenine for Surface Binding" En: Journal Physical Chemistry. 1988, vol.92, 1626–310.

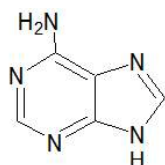
³¹ SHUKLA, Manoj K. y LESZCZYNSKI Jerzy . Radiation Induced Molecular Phenomena in Nucleic Acids: A Comprehensive Theoretical and Experimental Analysis . EN : CHALLENGES AND ADVANCES IN COMPUTATIONAL CHEMISTRY AND PHYSICS. United States of america: Springer, 2008,p. 1-14 .

3. MARCO CONCEPTUAL

3.1. ADENINA

Es una de las cinco bases nitrogenadas presentes en el ADN, posee un anillo purínico y usualmente se enlaza por medio de puentes de hidrógeno a su base complementaria (timina), otorgándole resistencia al daño en el código genético; cuando forma parte del ARN su base complementaria cambia a uracilo ³². Su fórmula molecular es $C_5H_5N_5$ (Figura 1) y su peso molecular de 135.13 g/mol, al ser estudiada mediante técnicas de impacto electrónico, su potencial de ionización está comprendido en el rango 8,3 eV y 8,9 eV \pm 0,1, y cuando se emplea la espectroscopía fotoelectrónica el rango está entre 8,44 eV y 8,48 eV \pm 0,03. Posee una afinidad electrónica de 0,0120 eV \pm 0,0050, su punto de fusión es de 220°C y se ha encontrado que hasta 240°C no presenta señales de descomposición térmica, posee un pH neutro, es inodora y a temperatura ambiente se encuentra como un sólido blanco. ³³

Figura 1. Estructura de la adenina



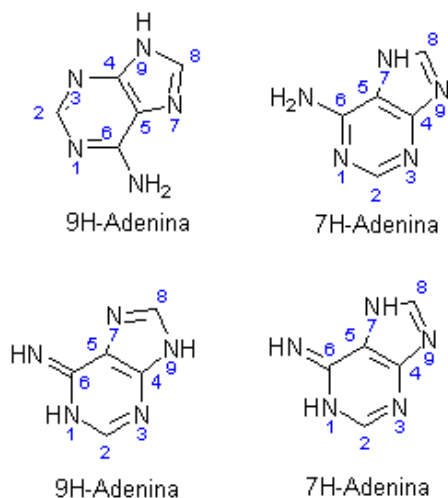
No obstante, su estabilidad térmica, es posible llevarla a fase gaseosa con la ayuda de calentamiento; en estas condiciones se pueden observar diversos tautómeros con energías similares que se observan en la figura 2. La parte superior presenta las formas amino y la inferior imino; siendo la especie más estable 9H-adenina.³⁴

³² MYERS, Richard L. *The 100 Most Important Chemical Compounds: A Reference Guide*. Westport, Connecticut: Greenwood Press, 2007. ISBN 978-0313337581

³³ KIM, Op. cit.

³⁴ KLEINERMANN, Karl y PLÜTZER Chr.. Tautomers and Electronic States of Jet-Cooled Adenine Investigated by Double Resonance Spectroscopy. En: *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2002, vol.4, p 4877–82.

Figura 2. Tautómeros de la adenina.



Fuente: PLÜTZER, Chr. IR-UV double –resonance spectroscopy of the nucleobase adenine

En el rango ultravioleta la adenina es altamente foto-estable (200nm - 400nm) a pesar de presentar su máximo de absorción en 260nm, debido a los cortos tiempos de vida para los estados excitados y la alta energía de ionización le permiten una rápida relajación energética, por medio del efecto “Quenching” de interconversión al estado basal, evitando así la disociación molecular. ^{35,36}

Se ha encontrado que al someter la molécula a pruebas con la técnica de espectroscopía multifotónica mejorada por resonancia (REMPI), su banda principal de absorción es observable al usar un solvente acuoso; al estudiar la excitación de clústers hidratados de adenina con láseres de femtosegundos (10^{-15} s) se encuentra que estos poseen tiempos de vida media en el primer estado excitado de 10^{-15} s mientras que la adenina permanecía en este estado durante un picosegundo (10^{-12} s), el segundo estado excitado presenta un tiempo muy corto debido a la disolución en agua. ³⁷

La adenina puede ser estudiada con la técnica de espectroscopía multifotónica debido a su aromaticidad, irradiándola en la región ultravioleta donde actúa como cromóforo (200nm-400nm). Se han realizado estudios sobre el origen

³⁵ Ibíd.

³⁶ NOLTING, Op. cit.

³⁷ SHUKLA, Op. cit.

espectral de las transiciones $\pi\pi^*$ y $n\pi^*$, Kim y otros sugirieron que estas corresponden respectivamente a 36.108cm^{-1} (276,9nm, 4,48eV) y 35503cm^{-1} (281,7nm, 4,40eV), en tanto que Luhrs y otros sugirieron que durante la introducción de la muestra el calentamiento generaba un tautómero, por lo cual solo se podía asignar que la primera transición $\pi\pi^*$ correspondía a los 36.105cm^{-1} (277, 4,48eV) y 36.136cm^{-1} (276,7nm, 4,48eV), lo cual coincidió con lo predicho por los otros autores.^{38,39,40}

3.2. LOS LÁSERES Y LA ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA

Los láseres, son un amplificador oscilante de la luz, es decir que en su salida el haz producido presenta coherencia (fotones poseen igual fase y dirección), es monocromático y coherente. El fenómeno que presenta se basa en la absorción y la emisión estimulada de un sistema de dos niveles de energía por medio de la inversión de la población (ver figura 3).

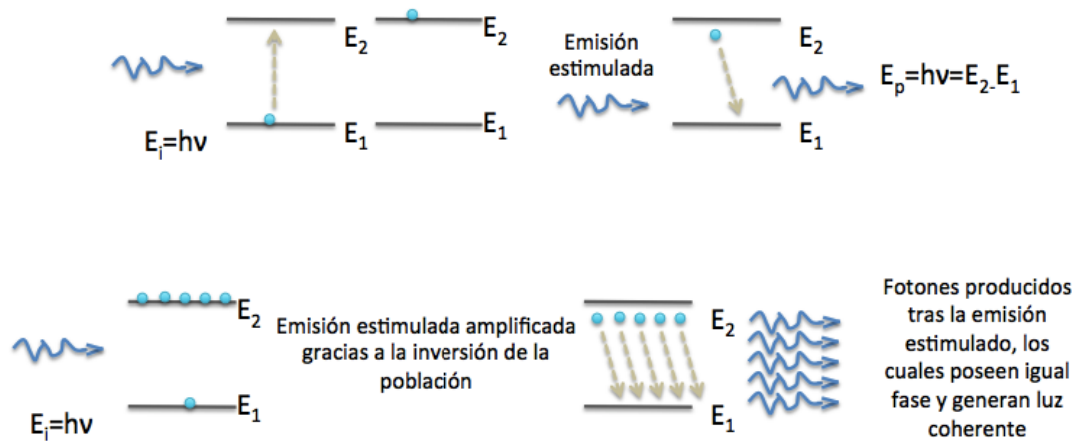
Cuando un material se encuentra en equilibrio térmico la mayoría de sus electrones están en el estado basal y al incidirle un haz de luz que posee la misma energía que una transición a un estado superior excitado ocurrirá un salto energético, la probabilidad de esta depende del flujo de la onda incidente, de allí que la población de E_1 igualará a la de E_2 y no podría superarla debido a que cada vez que hay una excitación también ocurre una relajación; de modo que se mantiene el equilibrio. Para que $E_2 > E_1$ el coeficiente de absorción debe ser diferente a cero, esto se logra cuando el material posee más de dos niveles energéticos como es el caso del Nd^{3+} .

³⁸ LÜHRS, D. C.; VIALON J. y FISCHER I. "Excited State Spectroscopy and Dynamics of Isolated Adenine and 9-Methyladenine." En: Physical Chemistry Chemical Physics, 2001, vol.3, no.10 ,p. 1827–1831.

³⁹ PERUN, Serhiy. AB INITIO STUDIES OF PHOTOPHYSICS OF ADENINE AND THYMINE MOLECULES AND OF THEIR DIMER . Tesis en Doctorado en Física. Instytut Fizyki Polska Akademia Nauk Serhiy Perun. Polish Academy of Sciences, 2006, p. 126

⁴⁰ KIM, Op. cit.

Figura 3. Fenómeno de inversión de la población

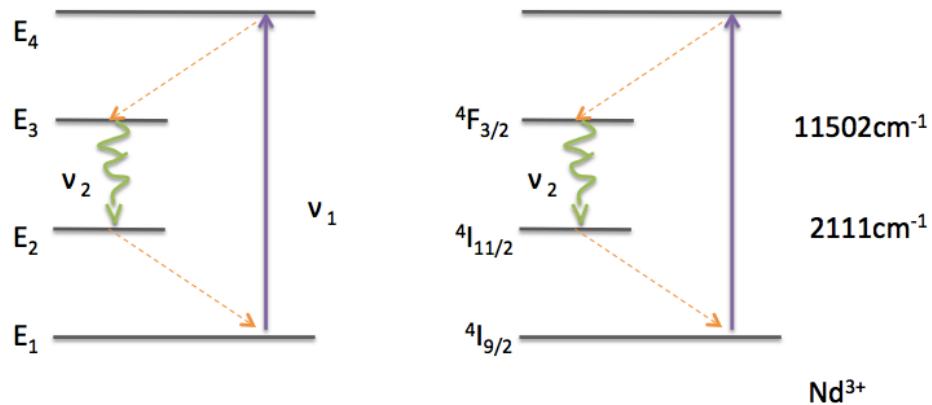


Cuando un material se encuentra en equilibrio térmico la mayoría de sus electrones están en el estado basal y al incidirle un haz de luz que posee la misma energía que una transición a un estado superior excitado ocurrirá un salto energético, la probabilidad de esta depende del flujo de la onda incidente, de allí que la población de E_1 igualará a la de E_2 y no podría superarla debido a que cada vez que hay una excitación también ocurre una relajación; de modo que se mantiene el equilibrio. Para que $E_2 > E_1$ el coeficiente de absorción debe ser diferente a cero, esto se logra cuando el material posee más de dos niveles energéticos como es el caso del Nd^{3+} .

En la figura 4, se presenta la analogía entre lo que se espera ver de un medio láser respecto a lo que ocurre experimentalmente en un medio activo de Nd:YAG; donde con una frecuencia ν_1 se excita de E_1 a E_4 , si la probabilidad de una transición de E_4 a E_3 es mayor que la de E_4 a E_1 y al mismo tiempo la vida en el estado E_4 es muy corta, entonces decae casi inmediatamente al E_3 . Si este último estado posee un tiempo de vida largo se poblará rápidamente y posteriormente los átomos decaerán en cascada a E_2 emitiendo un fotón de frecuencia ν_2 , si este es inestable los átomos decaen al estado basal y de esta forma la población en E_2 es muy baja por lo que no se realiza absorción de fotones de ν_2 y la población de E_3 seguirá siendo alta. Lo anterior describe la

inversión de la población entre E_3 y E_2 donde el coeficiente de absorción de ν_2 se hace negativo.

Figura 4. Analogía entre el Nd:YAG y un medio activo de cuatro niveles energéticos



La espectroscopía de absorción multifotónica acoplada a analizadores de tiempo de vuelo es la técnica más empleada para el estudio de diversos fenómenos fotofísicos como es el caso de la ionización de moléculas, identificación de la estructura vibracional, el cálculo de las energías involucradas en estos procesos, estudios de reactividad y generación de información para el desarrollo de cálculos teóricos de las energías de los estados de Rydberg. La radiación incidente sobre la molécula durante estos estudios proviene de un láser de alta intensidad el cual emite fotones modulados a diferentes frecuencias cuya energía puede ser acumulada en las moléculas para llevarlas a un estado excitado.

Si al ejecutar un experimento de ionización multifotónica se presenta un mejoramiento, es decir, aumento drástico de la probabilidad de la absorción de la molécula, se trataría de REMPI (Resonance Enhanced Multiphoton Ionization), espectroscopía de ionización multifotónica mejorada por resonancia, la probabilidad de la transición estudiada sería infinita para un proceso rigurosamente resonante, experimentalmente no se observa este

comportamiento si no que la absorción se daría de forma certera en una alta proporción. ⁴¹ Es posible realizar el acoplamiento *online* de este sistema instrumental a múltiples detectores, de esta forma se obtienen espectros en varias dimensiones.

La espectroscopía multifotónica evolucionó en tres etapas, en la primera se dio la mejora en la sintonización de los láseres a una longitud de onda específica, durante la cual se realizaron estudios en moléculas orgánicas en fase sólida líquida o vapor, también en este periodo se comprendió que la polarización del láser afecta la probabilidad de una transición bifotónica mientras que la unifotónica no es afectada; se presentaba una restricción al estudio de estos fenómenos en los estados excitados inferiores debido a que las metodologías de detección no lograban realizar lecturas de señal en moléculas excitadas.

La segunda etapa de evolución de esta técnica se enfocó en el desarrollo de mejores métodos para el análisis de los iones generados por las moléculas excitadas después de ser irradiadas a una longitud específica con un láser, una posterior amplificación de este pulso y el registro de la señal en función de la frecuencia del láser; de esta forma se alcanzó una alta sensibilidad en la detección de los iones, pero se podían generar solapamientos espectrales; a pesar de esto se alcanzaba a observar los estados de Rydberg: un estado excitado de los átomos con valores muy grandes en su número cuántico principal.

En la última etapa se introdujeron diversos detectores, como en el caso de la ionización multifotónica acoplada a un espectrómetro de masas (MPISMS) que provee información sobre los procesos de relajación y las fragmentaciones que ocurren tanto para estados excitados como en moléculas neutras; de esta forma se inició la identificación de los productos de ionización. ⁴²

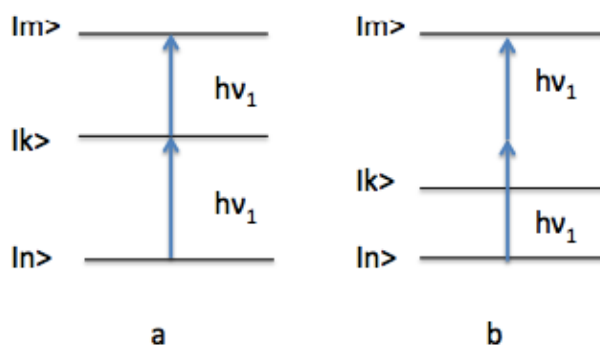
⁴¹ OSER, Op. cit.

⁴² LIN, Op. cit.

3.3. TEORÍA DE LOS PROCESOS MULTIFOTÓNICOS

Cuando un haz de luz de una alta intensidad interactúa con moléculas, genera eventos muy interesantes que no se presentan bajo condiciones normales de irradiación. Los procesos multifotónicos ocurren tras la absorción de dos o más fotones por parte del sistema atómico o molecular de forma concertada; usualmente se absorbe o emite un fotón a la vez (Ver figura 5), este evento puede ser a) secuencial cuando el paso del estado basal $|n\rangle$ al estado excitado $|m\rangle$ es mediado por un intermediario virtual o b) concertado, también llamado multifotónico, donde solo varía la población del nivel excitado sin la necesidad del paso por el intermediario virtual. De forma posterior se presenta una fotoionización.⁴³

Figura 5. Procesos de absorción: a) secuencial b) multifotónico.



Fuente: REQUENA RODRIGUEZ, Alberto y ZUÑIGA ROMÁN José. Espectroscopía. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, 2004.

La espectroscopía de ionización multifotónica permite el estudio de los estados excitados de las moléculas por medio del uso de láseres, ya que estas fuentes emiten una alta densidad de fotones, esencial para este proceso de absorción. Solo el 1% de las moléculas sufren este proceso, por lo que la detección convencional no permite medir dicha excitación; para su medición se deben realizar detecciones indirectas basadas en la fluorescencia y la ionización de las moléculas estudiadas.⁴⁴

⁴³ JOHNSON, Philip M. Molecular Multiphoton Ionization Spectroscopy. En: Accounts of Chemical Research, 1980, vol.13, p. 20–26.

⁴⁴ REQUENA RODRIGUEZ, Alberto y ZUÑIGA ROMÁN José. Espectroscopía. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, 2004. ISBN: 978-8420536774

Las transiciones multifotónicas dependen de la intensidad de la radiación, para el caso de dos fotones de acuerdo con la teoría de perturbación se tiene que la probabilidad de transición W , cuya proporcionalidad se presenta en la siguiente ecuación.

$$W \propto I^2 \left| \sum_m \frac{\langle n|\mu|k\rangle\langle k|\mu|m\rangle}{\Delta E_{kn} - \hbar\omega_r} \right|^2 :$$

Donde I es la intensidad del láser, k el estado intermediario virtual, ΔE_{kn} la diferencia energética del estado basal al intermediario, ω_r la frecuencia de radiación emitida por el láser, μ el momento dipolar; esta dependencia probabilística se puede generalizar como $W = \sigma I^n$ para una transición n -fotónica, donde σ corresponde a la sección eficaz de interacción.^{45,46,47}

Si al realizar el ajuste de la frecuencia de radiación emitida por el láser esta es equivalente a la de un estado electrónico intermedio, habrá un incremento drástico en la señal correspondiente al número de fotones absorbidos. Para que se presente $\Delta E_{ma} = h\omega_r$ ($h = 6,626 \times 10^{-34} J/s$), de esta forma la magnitud de la probabilidad de transición sería infinita; esta tendencia no se cumple del todo en la experimentación debido a la divergencia de las transiciones. Cabe resaltar que la estructura vibracional de una transición multifotónica resonante es diferente a una no resonante debido a las variaciones energéticas entre el estado inicial y final.⁴⁸

En los procesos de absorción multifotónica las reglas de selección son diferentes a las de los procesos unifotónicos: la excitación simultánea de dos electrones está permitida para una absorción de dos fotones pero está prohibida cuando hay absorción de un solo fotón, también se observan las

⁴⁵ LIN, Op. cit.

⁴⁶ SCHÄFER, Rolf, y SCHMID Peter C.. *Methods in Physical Chemistry Volume 1*. Weinheim, Alemania: Willey-VHC Verlag &Co, 2012. ISBN : 978-3527327454

⁴⁷ LAMBROPOULOS, P. Reaching VUV Transitions with Multiphoton Processes. *Applied Optics* , 1980, vol.19, no. 23 ,p 3926–3933.

⁴⁸ LIN, Op. cit.

transiciones en las moléculas que presentan centros de inversión gerade-gerade preferiblemente que gerade-ungerade, debido a que incorporan un número impar de fotones o restricción de paridad lo que las hace prohibidas en la espectroscopía unifotónica. Además, las transiciones electrónicas no se encuentran totalmente prohibidas, se presentan débilmente, debido al gran número de fotones disponibles en el experimento; causando limitación en la detección de estas absorciones si en la vecindad hay transiciones fuertemente permitidas, ya que las reglas de selección de espín siguen presentando efecto a diferencia del momento angular y angular rotacional.

El estudio del estado excitado: su estructura, determinación de la simetría detección de nuevos estados y la identidad de las transiciones que estos presentan, se puede analizar gracias a los cambios en las intensidades relativas que se obtienen al emplear técnicas multifotónicas que descongestionan el espectro, debido a un menor ancho de banda del láser que disminuye la presencia de Efecto Doppler y permite visualizar el tipo de fotones que generan transiciones a estados altamente excitados. Además, disminuyen las dificultades experimentales en el rango ultravioleta y de acuerdo con la polarización del láser se llegaría a determinar las características estructurales y la dinámica molecular.

La potencia del láser requerido (prueba) Nd:YAG (Granate de itrio-aluminio dopado con Nd^{3+}) o excímer en los experimentos rodea 10^8 Wcm^{-2} con pulsos que duran alrededor de 10ns; el sistema muchas veces se acompaña de osciladores paramétricos ópticos o láseres de colorantes al ejecutar los escaneos para excitar la molécula junto con el láser de excitación ⁴⁹. El empleo de láseres garantiza un buen volumen de muestra ionizada y un punto fijo de interacción con las moléculas.

Dentro de la espectroscopía de ionización multifotónica hay variantes que permiten obtener diferente información, tal como lo es la ionización

⁴⁹ SCHÄFER, Op. cit.

multifotónica potenciada por resonancia, su acrónimo en inglés REMPI, técnica comúnmente usada en experimentos con sustancias en fase gaseosa para alcanzar una mejor resolución⁵⁰; para observar este fenómeno se requiere que la probabilidad de realizar el salto energético del estado basal a un estado intermedio sea mayor a cero y la vida media en este sea estable por el tiempo necesario para alcanzar la ionización. Un estado intermediario resonante es aquel que se crea cuando ocurre la excitación coherente a altas intensidades y dos o más fotones son absorbidos simultáneamente gracias a la existencia de los estados virtuales, estos suelen ser estados de Rydberg.⁵¹ El efecto colectivo de las transiciones permitidas, promedio inverso de la diferencia de energía entre las frecuencias de radiación emitidas por el láser y la frecuencia de las transiciones individuales permitidas contribuyen mayoritariamente en la interacción eficaz de los fotones .⁵²

La ionización suave en REMPI permite que los iones padres se formen predominantemente, pero algunos de estos pueden llegar a absorber otro fotón y generar la fragmentación del ion, lo que dificultaría la detección del fenómeno, para impedir que esto ocurra la intensidad del láser (I) debe mantenerse lo más baja posible, aunque la ionización depende de la intensidad de este; teóricamente se ha determinado I^n para cualquier proceso REMPI (n+m) y experimentalmente se debe encontrar un equilibrio entre la sensibilidad de detección y la disminución de la fragmentación del ion padre³³. Otro estudio que puede realizarse a los espectros generados aplicando la espectroscopia de ionización multifotónica, donde la evolución del crecimiento de la señal del ion padre con respecto a la longitud de onda está relacionada con energía del intermediario involucrado en estado neutro, es comprobar la neutralidad molecular y sus propiedades iónicas.

Cuando la molécula después de su excitación sigue interactuando con la fuente de radiación puede absorber más fotones y sobrepasar la condición resonante,

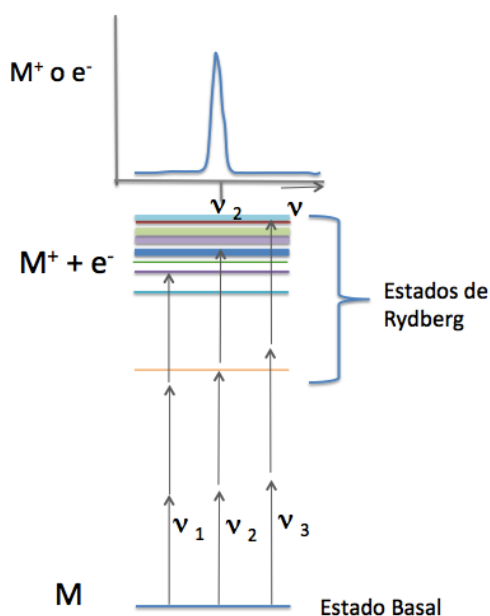
⁵⁰ REQUENA RODRIGUEZ, Op. cit.

⁵¹ SCHÄFER, Op. cit.

⁵² TELLE, Op. cit.

disociándose, reemitiendo fotones o ionizándose. En este último aspecto las técnicas de ionización multifotónicas son reconocidas por lograr la totalidad de la ionización de la muestra, sin llegar a la disociación gracias a la absorción multifotónica, accediendo así a regiones muy energéticas de los potenciales moleculares, estados de Rydberg o a estados electrónicos excitados de alta energía y de larga vida media tal como se observa en la figura 6, donde al sintonizar el láser a la ν_2 se presenta la mayor población de moléculas en estado ionizado.^{53,54}

Figura 6. Población de las moléculas en el estado ionizado.



Fuente: CHIAT, Lee. Resonance Enhanced Multiphoton Ionization. Disponible en: <https://dornsife.usc.edu/lee-chng/rempi/>

“Los átomos, cuando han alcanzado los estados de Rydberg presentan las siguientes características:

- Tras su formación pueden existir durante periodos de tiempo adecuados para participar en diferentes fenómenos; pueden ser detectados antes de relajarse y regresar a su estado fundamental.

⁵³ SOLÁ REIJA, Ignacio. *Teoría Y Simulación Del Control de La Dinámica Vibracional de Moléculas Sencillas Mediante Pulsos Láser Intensos*. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas . Madrid: Universidad Complutense de Madrid, 2000, p. 4–12

⁵⁴ LUBMAN, Op. cit.

- Las energías correspondientes a los electrones de valencia son negativas, su valor absoluto es pequeño, por lo cual los estados de Rydberg A^* son fácilmente ionizables.
- Se alteran con la interacción de campos eléctricos o magnéticos externos.
- Son altamente sensibles a la radiación en el rango de las microondas.
- La función de onda aproximada del electrón en el estado excitado describe una distribución de probabilidad con un máximo muy pronunciado a lo largo de una órbita circular clásica de la teoría de Bohr, con un número cuántico principal n muy grande. Siempre teniendo en cuenta que el electrón (electrones) externo está apantallado por los electrones internos, haciendo que el potencial coulombiano sentido por el electrón (electrones) de valencia sea similar al de un átomo de hidrógeno.
- En la longitud de dicha orbita circular clásica caben exactamente n longitudes de onda de Broglie.”⁵⁵

Como las reglas de selección de los procesos multifotónicos son diferentes a las de los procesos unifotónicos, no es necesario que la longitud de onda de la absorción corresponda a alguna resonancia, sino que depende de la intensidad del láser; la velocidad de absorción decrece cuando mayor número de fotones intervienen en el proceso. Al irradiar una molécula o átomo pueden ocurrir dos fenómenos de ionización regidos por el parámetro de Keldysh: la absorción multifotónica ($\gamma_k \gg 1$) o tunelaje ($\gamma_k \ll 1$).

La absorción multifotónica compite con el tunelaje. Para que ocurra la formación de iones múltiplemente cargados (proceso poco probable) se requiere una supresión total del potencial de barrera, esto ocurre para intensidades superiores a 10^{11} W/cm², donde el campo eléctrico de la radiación distorsiona el potencial electrostático de la molécula con la que interactúa, ocasionando una disminución en el potencial de ionización.^{56,57,58}

⁵⁵ SÁNCHEZ DEL RÍO, Carlos. T.3. CAVIDADES, ÁTOMOS DE RYDBERG E INTERACCIÓN FOTÓN- ÁTOMO APROXIMADA. En: *Física Cuántica*, 1151–1170. 5 ed. Madrid: Ediciones Pirámide, 2015. ISBN 9788436833058

⁵⁶ PUGLIESE, Silvina Norma. INVESTIGACIÓN DE PROCESOS DE IONIZACIÓN DE MOLÉCULAS DE AGUA POR INTERACCIÓN CON RADIACIÓN LÁSER. Tesis en Maestría en Ciencias Físicas. Argentina: Universidad Nacional de Cuyo, 2013, p. 65

El parámetro de Keldysh o parámetro de adiabaticidad describe átomos bajo irradiación de alta potencia, definido por la siguiente ecuación en función del potencial de ionización I_p y la energía cinética del electrón promediada en un ciclo del campo láser o energía ponderomotriz U_p :

$$\gamma_k = \sqrt{\frac{I_p}{2U_p}}$$

La ecuación que describe la energía ponderomotriz se muestra a continuación; donde F_0 corresponde a la amplitud del campo.

$$U_p = \left(F_0 / 2\omega \right)^2$$

Al alcanzar los niveles multifotónicos por encima del límite de ionización, se puede observar que los espectros de fotoelectrones se comportan como una repetición de datos, medidos en escala de I^N (I intensidad y N número de fotones absorbidos) en función de la energía.^{59,60} Otro fenómeno de los procesos no lineales de ionización de campo fuerte es la ionización por supresión de barrera, donde el máximo local de la barrera es equivalente a la energía de enlace.

Cuando la radiación es de alta intensidad y baja frecuencia, cuya energía no sobrepasa el potencial de ionización, el tunelaje es el mecanismo más efectivo para la absorción de la radiación, de forma tal que un electrón puede abandonar un átomo; para intensidades aún mayores la radiación suprime el potencial de barrera y el electrón al superar la energía de enlace escapa del

⁵⁷ MARTÍNEZ FARFÁN, Ana Denhi. Fotólisis del Nitrometano en el Límite de Transición Multifotónica. Tesis de Maestría en Ciencias Físicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en Ciencias Físicas, 2015.

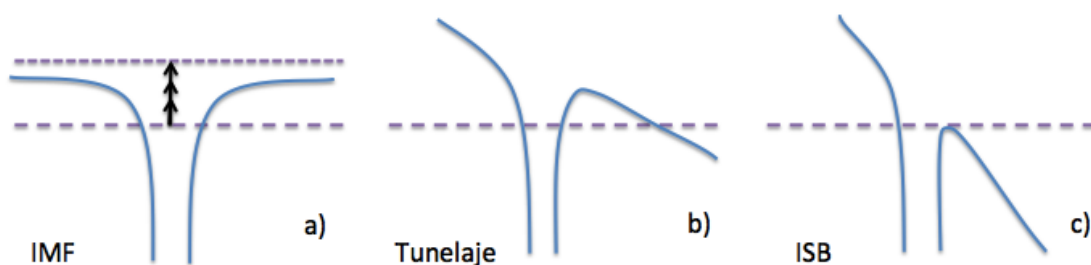
⁵⁸ POVEDA JARAMILLO, Juan Carlos. FOTOIONIZACIÓN Y FOTODISOCIACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS TESIS. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en Ciencias Químicas, 2003.

⁵⁹ MEVEL, Eric, *et al.* Atoms in Strong Optical Fields: Evolution from Multiphoton to Tunnel Ionization Eric. En: PHYSICAL REVIEW LETTERS, 1993, vol.36, no. 1,p. 406–409.

⁶⁰ KELDYSH, L.V. Ionization In The Field of a Strong Electromagnetic Wave. En: Soviet Physics, 1965, vol.20 , no.5 ,p 1307–1314.

átomo. Los límites energéticos que deben superar los átomos al interactuar con la radiación previamente descritos se muestran en la *figura 7*. a) Ionización multifotónica b) Ionización por tunelaje c) Ionización por supresión de barrera.⁶¹

Figura 7. Tipos de ionización.



Fuente: HERTEL, Ingolf V. y WÖSE, L. Chapter 3 Interaction of Strong Laser Fields with Matter. En: *Free Clusters and Free Molecules in Strong, Shaped Laser Fields*. DISSERTATIONEN ONLINE DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN p. 17–30, 2009.

3.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS POR TIEMPO DE VUELO APLICADA A LA ABSORCIÓN MULTIFOTÓNICA

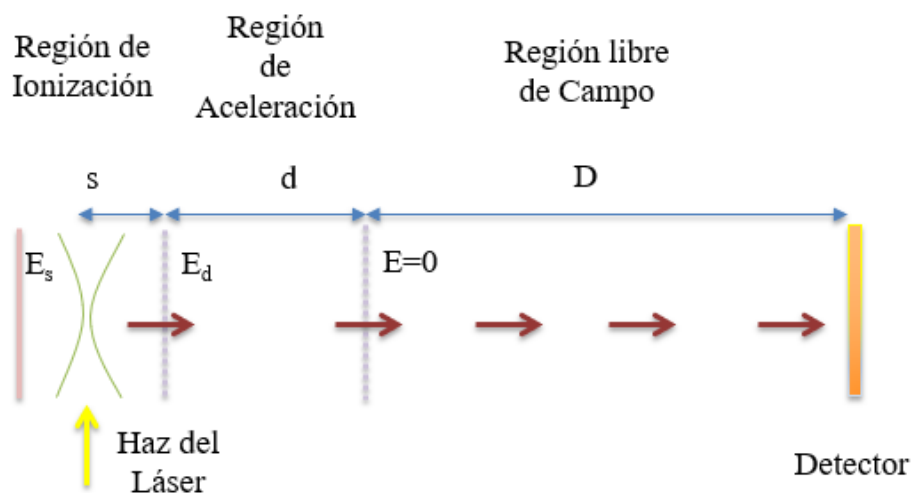
La espectrometría de masas de tiempo de vuelo es la combinación perfecta con los experimentos de excitación-detección realizados en los estudios multifotónicos. Permite la adquisición de la información respecto la población de los fragmentos ionizados con una alta sensibilidad, resolución, control en la fragmentación molecular y el análisis simultáneo de compuestos en una matriz usada como sustrato, de acuerdo con su relación masa/carga (m/z).

El esquema general de un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo tipo lineal se muestra en la figura 8, allí los iones son generados por la interacción de las moléculas con la radiación láser y acelerados por placas polarizadas con campos eléctricos E_s y E_d . Las rejillas metálicas (de 90-95% de transparencia) ubicadas en el centro de las placas, permiten dirigir los cationes hacia una

⁶¹ HERTEL, Ingolf V. y WÖSE, L.. Chapter 3 Interaction of Strong Laser Fields with Matter. En: *Free Clusters and Free Molecules in Strong, Shaped Laser Fields*. [En línea] DISSERTATIONEN ONLINE DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN p. 17–30, 2009. (Recuperado en Mayo 12 del 2017.) Disponible en http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000005776/.

región libre de campo, zona de deriva, donde los iones se separan según sus velocidades, que determinan diferentes tiempos de llegada al detector y generan una señal proporcional al número de iones que entran.

Figura 8. Esquema general de un espectrómetro lineal de masas



El tiempo de vuelo total T consiste en:

$$T = T_s + T_d + T_D$$

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

Para cada uno de los iones su tiempo de llegada depende de su masa m , carga z y energía potencial U_0 , junto con las características del instrumento empleado entre las que se encuentran las distancias recorridas s , d y D y los campos eléctricos que rodean la fuente de iones E_s y E_d , el comportamiento de los iones al aplicar un potencial eléctrico se representa por las ecuaciones:

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

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

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

Siendo

$$U = U_o + zsE_s + zdE_d$$

Si la energía cinética es cero, se encuentra aproximadamente que:

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

La resolución espectral alcanzada al emplear láseres pulsados de nanosegundos es de 10cm^{-1} , esta es afectada por la reproducibilidad, exactitud y ancho del pulso láser. Se puede presentar que dos iones posean la misma masa como es en el caso de D/H_2 por lo que en estas ocasiones la extracción y análisis de datos cualitativos debe ser realizada con sumo cuidado.^{62,33}

⁶² TELLE, Op. cit.

4. SECCIÓN EXPERIMENTAL

4.1. EQUIPO Y ELECTRÓNICA EMPLEADO

A continuación, se enuncian los elementos empleados la parte experimental.

4.1.1. Fuente de radiación láser El montaje experimental hizo uso de dos láseres Nd: YAG de 10Hz (Spectra-Physics Lasers Quanta Ray Modelo Pro 210) y 30 Hz (Spectra Physics Lab-130). Su medio activo, el neodimio triplemente ionizado es excitado por lámparas de destello (*flash lamp*) que emiten en el infrarrojo cercano y rojo-visible, y que llevan rápidamente los electrones al nivel $F_{3/2}$ que muestran estabilidad alrededor de $230\mu s$, para decaer al nivel $I_{11/2}$ emitiendo un fotón de 1064nm, para descender rápidamente al estado basal; este comportamiento manifiesta las características donde puede ocurrir fácilmente la inversión de la población entre estos dos niveles energéticos.

El acoplamiento de cristales de KD*P de tipo I o tipo II a los láseres permite generar diversos armónicos a partir del haz de 1064nm (tabla1); un haz de 532nm se genera con el uso de cristales tipo II, presenta una alta eficiencia de conversión, superior a la generada al utilizar cristales tipo I. Del paso del haz a través de un cristal doblador se obtiene un haz de 266nm. Mezclando el residual del fundamental de 1064nm con 266nm es posible llegar a 355nm.

^{63,64,65}

Tabla 1. Armónicos de un láser Nd:YAG.

1 ^{er} Armónico	2 ^{do} Armónico	3 ^{er} Armónico	4 ^{to} Armónico
1064nm	532nm	355nm	266nm
1,17eV	2,33eV	3,49eV	4,66eV

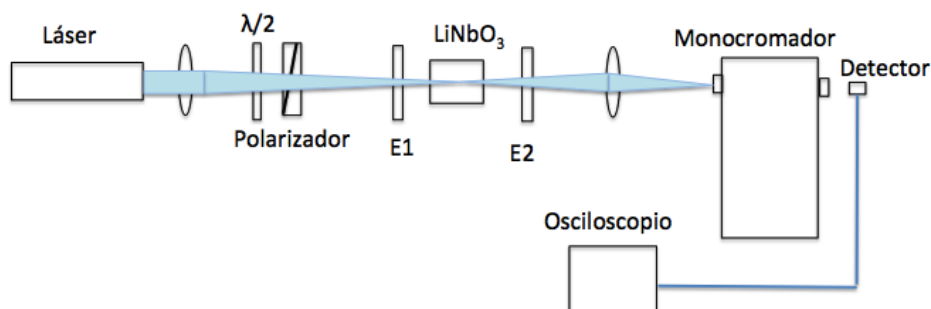
⁶³ Spectra-Physics. *Quanta -Ray PRO-Series Pulsed Nd:YAg Lasers User's Manial*. Mountain View, 1999.

⁶⁴ BERTOLOTTI, Op. cit.

⁶⁵ ANDREWS, Op. cit.

4.1.2. Oscilador paramétrico óptico (OPO) El OPO: Versa Scan /240/MB-UL (figura 9) sintoniza la luz incidente y genera luz monocromática cuando es excitado por el tercer armónico del láser de Nd:YAG. A partir de la sintonización (graduación de las frecuencias) del instrumento se obtienen dos longitudes de onda de frecuencias ω_s y ω_i , de valores menores a la de la onda de bombeo ω_b (la proveniente del láser de 10Hz). Este fenómeno ocurre por la interacción entre un campo eléctrico y un medio no lineal, ubicado dentro de una cavidad óptica resonante junto a una de las ondas generadas.⁶⁶

Figura 9. Oscilador paramétrico óptico.



Fuente: OROZCO ARELLANES, M J, y CUDNEY R S. Construcción Y Caracterización de Un Oscilador Óptico Paramétrico Con Niobato de Litio Periódicamente Polarizado. En: REVISTA MEXICANA DE FÍSICA, 2001, vol.47, no.5,p 460–466.

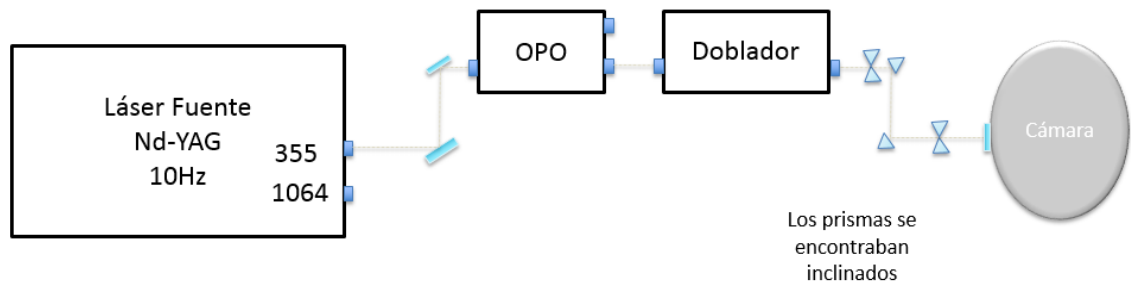
4.1.3. Montaje para direccionar el haz Espejos de alta reflectividad se usan para dirigir hacia una lente (distancia focal= 12cm), el haz proveniente de la fuente láser (10Hz o 30Hz) o del OPO, para canalizar la radiación en la zona de interacción con el jet de moléculas. El esquema final del montaje (figura10): parte a) empleado para el láser de 10Hz y dos tubos: Time-Of-Flight Mass Spectrometer Modelo: TOF-101 y D-850 ANGULAR REFLECTRON, Jordan TOF Products (operado en modo lineal), parte b) representa el montaje para el láser de 30 Hz y el tubo D-850 ANGULAR REFLECTRON, Jordan TOF Products.

⁶⁶ OROZCO ARELLANES, M J, y CUDNEY R S. Construcción Y Caracterización de Un Oscilador Óptico Paramétrico Con Niobato de Litio Periódicamente Polarizado. En: REVISTA MEXICANA DE FÍSICA, 2001, vol.47 ,no.5,p 460–466.

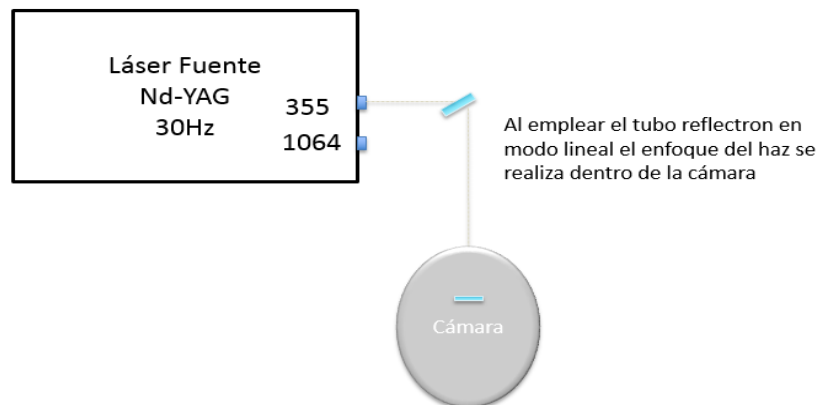
Los montajes optimizados dirigen el haz emitido por los láseres minimizando pérdidas de potencia y provocando mayor interacción con las moléculas de adenina, para llevarlas al estado excitado y así obtener la mayor cantidad posible de iones a partir de la fragmentación molecular.

Figura 10. Montaje óptico empleado.

a)



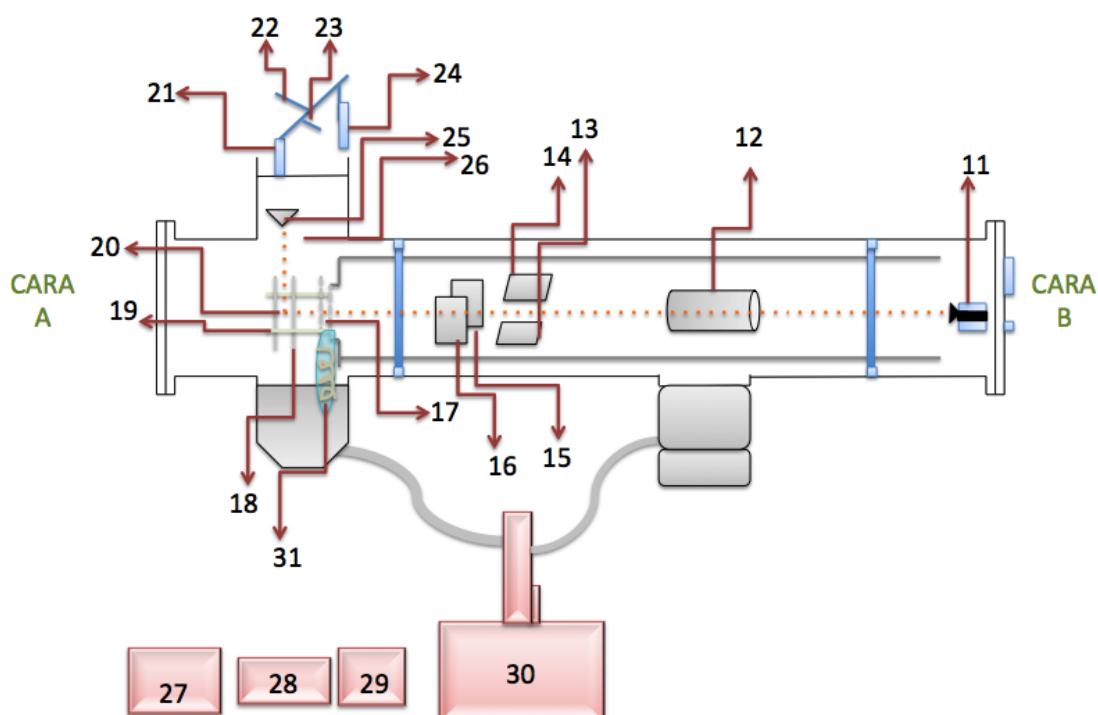
b)



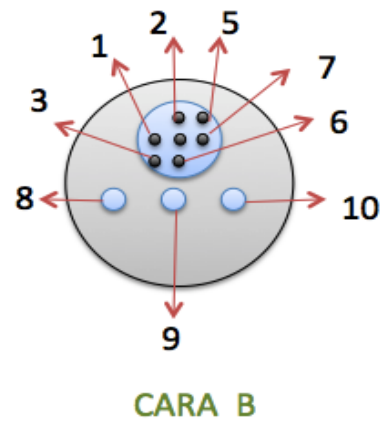
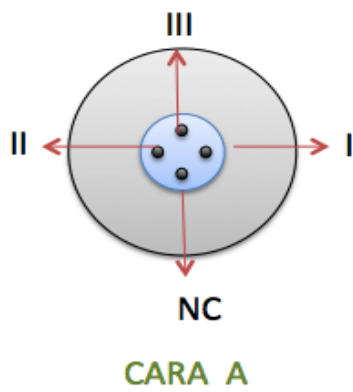
4.1.4. Generación del haz supersónico molecular La válvula pulsada, IOTA ONE PULSE DRIVER de PARKER INSTRUMENTATION, alimentada con adenina en estado gaseoso (entre 220°C y 240°C) genera un haz molecular colimado por un *skimmer*, ordena las moléculas una tras otra; así se garantiza que con la radiación laser enfocada se obtengan los iones, que son acelerados hacia el tubo de deriva y de este al detector. La señal detectada, se amplifica y se transduce a datos que forman los espectros.

4.1.5. Espectrómetros de masas L-TOF En el experimento se emplearon dos tubos de vuelo. El primer tubo corresponde al Time-Of-Flight Mass Spectrometer Modelo: TOF-101⁶⁷, cuyo esquema de partes se relacionan en la figura 11.

Figura 11. Representación del Tubo de Vuelo Lineal. .



⁶⁷ COMSTOCK INCORPORATED. TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETER MODEL TOF-101 OPERATION MANUAL. Oak Ridge, Tennessee, 1990.

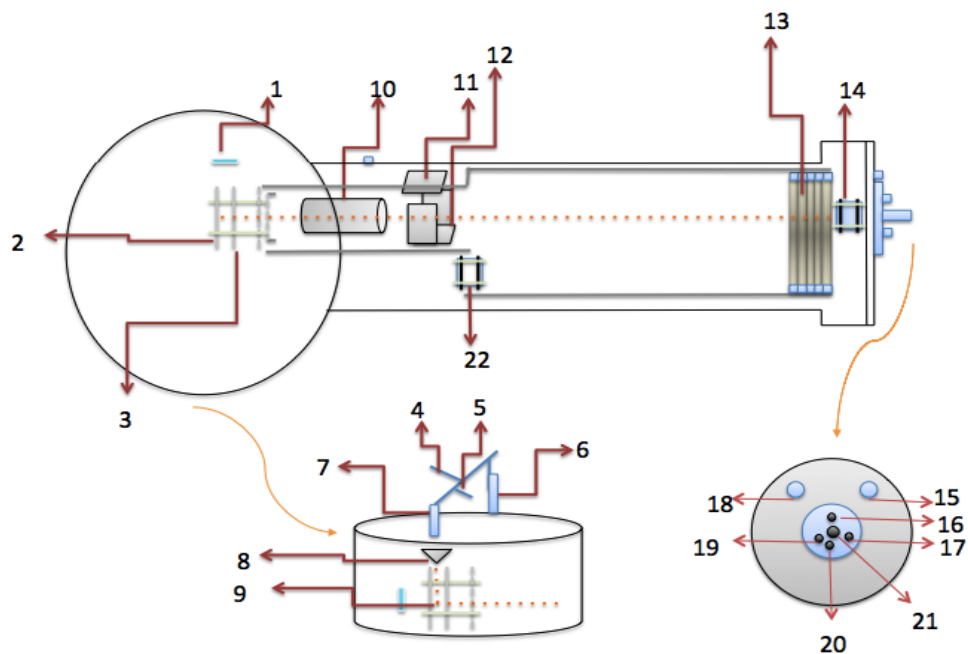


1. Conexión voltaje placa X₁
2. Conexión voltaje placa Y₂
3. Tubo interno
4. No tiene conexión
5. Conexión voltaje placa X₂
6. Conexión voltaje placa Y₁
7. Conexión voltaje para las lentes Einzel de enfoque
8. Conexión de alto voltaje del detector
9. Señal
10. Conexión a tierra del detector
11. Detector de masas Channeltron Photonics CEM 5901 MAGNUM
12. Lentes Einzel de enfoque
13. Placa Y₁
14. Placa Y₂
15. Placa X₁
16. Placa X₁
17. Placa III
18. Placa II
19. Placa I
20. Región de interacción: entre haz moléculas y radiación del láser
21. Válvula pulsada
22. Tubería del gas de arrastre
23. Tubería al medio exterior

- 24. Contenedor de muestra
- 25. Skimmer
- 26. Haz molecular
- 27. Controlador bomba turbo-molecular
- 28. Controlador del detector de vacío, Ion Gage
- 29. Controlador bomba turbo-molecular
- 30. Controlador y bomba mecánica
- 31. Ion Gage
 - I. Placa I
 - II. Placa I
 - III. IPlaca III

El segundo tubo corresponde al D-850 ANGULAR REFLECTRON, Jordan TOF Products ajustado en modo lineal, (ver figura 12). A diferencia del tubo anterior la lente de enfoque del láser está ubicada dentro de la cámara de ionización de muestras. En este tubo el orden de las componentes de direccionamiento de los iones es inverso al instrumento previo: lentes Einzel de enfoque seguidas por las placas.

Figura 12. Representación del Tubo de Vuelo Reflectrón.



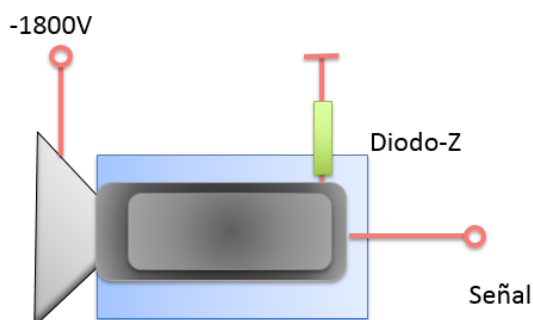
1. Lente de enfoque
2. Placa de aceleración V1
3. Placa de aceleración V2
4. Tubería del gas de arrastre
5. Tubería al medio exterior
6. Contenedor de muestra
7. Válvula pulsada
8. Skimmer
9. Zona de interacción haz del láser con el jet de moléculas
10. Lentes Einzel
11. Placa deflectoras
12. Placas deflectoras
13. Espejo electrostático reflector de iones de iones (No Usado)
14. Detector Microchannel Plate
15. Voltaje del espejo electrostático reflector de iones (No Usado)
16. Voltaje Placa de aceleración V1
17. Voltaje del detector
18. Voltaje del espejo electrostático reflector de iones (No Usado)
19. Voltaje Placa de aceleración V2
20. Tierra del Tubo
21. Salida señal

4.2. REGISTRO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

4.2.1. Tubo lineal. La región de interacción (20) de la adenina con el láser ocurre la fragmentación del haz molecular (figura 12). Los iones formados son acelerados por las placas I (17) y II (18) y enviados al tubo de deriva. Después de un recorrido por 103cm, los iones llegan al detector Channeltron Photonics CEM 5901 MAGNUM, se hace el registro de la corriente generada por cada ion en su interacción con la superficie semiconductor emisora secundaria del detector para generar la señal (figura 13). El diodo Zener estabiliza la diferencia de potencial

(100V) entre la superficie semiconductor emisor secundaria y el colector de carga; gracias a una amplificación en el orden de 10^6 se logra una cascada de electrones que producen un pulso de corriente.⁶⁸

Figura 13. Diagrama de conexiones del detector Channeltron.



4.2.2. Tubo de vuelo reflectron El tubo de vuelo D-850 ANGULAR REFLECTRON, Jordan TOF Products (figura 13) presenta una configuración diferente. Para el caso el detector (15) corresponde a un Microchannel Plate C-01701, que consta de una placa con pequeños orificios en los que choca el ion y permite la entrada de los electrones para realizar una posterior amplificación de la cascada de electrones, con tiempos de subida de sub-nanosegundos. El modo de trabajo empleado en este experimento fue lineal, no se aplicaron voltajes en (13), (15) ni en (22).

4.3. EJECUCIÓN Y MONTAJE

Los iones de muestra se obtienen, enfocando el haz del láser o del OPO en la zona de interacción de su correspondiente tubo de vuelo. Se mantuvo una diferencia de potencial de 2000 V, entre las placas de aceleración de los tubos. Con un retardo (150 μ s y 250 μ s para los láseres de 30 Hz y 10 Hz respectivamente) el controlador de la válvula permite el paso del argón y la adenina a la zona de interacción. La presión inicial del sistema fue de 1×10^{-7}

⁶⁸ COMSTOCK INCORPORATED. Op. cit.

torr. El ingreso de la muestra (argón y adenina), se incrementaba la presión llegando hasta 1×10^{-5} torr, para luego volver al valor inicial cuando la muestra se consumía. En algunos experimentos se calentó la adenina (220°C a 240°C) y hubo mejor comportamiento de las señales espectrales.

La señal registrada por cualquiera de los detectores pasa al amplificador FAST PREAMPLIFIER VT 120 EG&G-ORTEC, donde la señal de corriente genera un pulso de voltaje que se registra usando un analizador de picosegundos PICOSECOND TIME ANALIZER 9308 EG&G-ORTEC, el cual convierte la señal analógica a señal digital. La señal digital que se transporta a través de un bus de datos a la CPU del computador que tiene instalado el software ORTEC-pTA32 que efectúa la colección de espectros.

El software MATLAB convierte los archivos binarios a código ascii, para lo cual se cargó la carpeta con el archivo a convertir y se empleó el código:

```
>>[ArchivoID,mensaje]=fopen('nombrearchivo.pta','r');A=fread(ArchivoID,inf,'2*uint32');T=[0:0.00125:80];B=T';C=A(130:64130);D=A(130:64130);D=[B,C];save-ascii nombrearchivo.txt D
```

Para finalizar con el software ORIGIN se tratan los datos y se grafican los espectros.

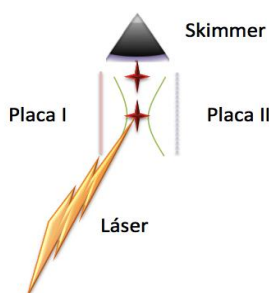
5. FUNDAMENTACIÓN DE LA MEDIDA

La exactitud y precisión de las mediciones están garantizados mediante cuatro etapas que verifican la sincronización de los tiempos:

5.1. SIMULTANEIDAD

El jet supersónico molecular generado con la muestra proveniente de la válvula pulsada, después de pasar por el skimmer interactúa con la radiación láser, en este instante las moléculas se encuentran 'congeladas', van muy despacio en comparación al pulso láser, de esta forma el haz interactúa eficazmente con las moléculas. Ver figura 14.

Figura 14. Zona de interacción.



La generación de la cantidad adecuada de fragmentos moleculares depende de la interacción del haz con la nube molecular, para ello se sitúan las moléculas en la zona de aceleración y posteriormente interactúa el haz con estas. Debe existir una sincronía entre la apertura de la válvula y el pulso láser, teniendo en cuenta el tiempo que tardan en desplazarse las moléculas a la zona de interacción.

5.2. SINCRONÍA DEL PULSO LÁSER Y EL HAZ MOLECULAR

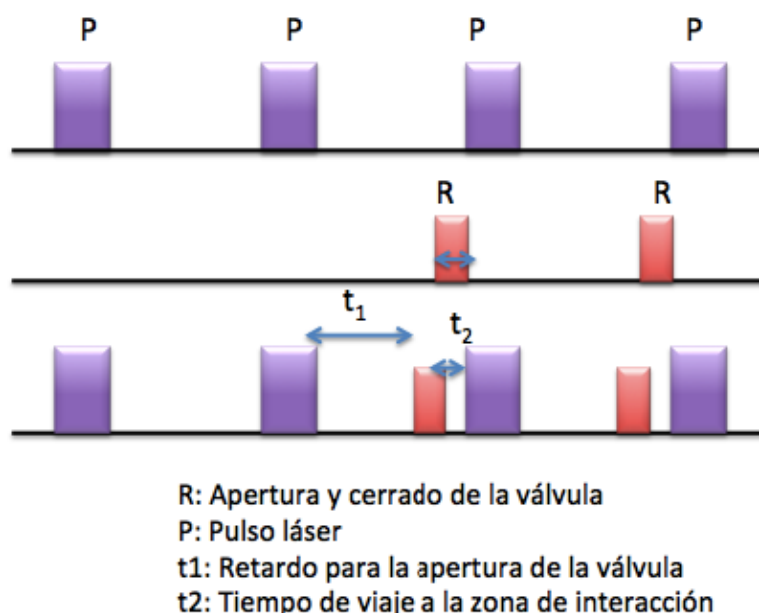
El pulso del láser debe ser controlado para su interacción con el haz molecular y esto se logra utilizando un retardador de pulsos. El haz molecular debe encontrarse en la zona de interacción del tubo de vuelo, para ser irradiado por el pulso del láser, la apertura de la válvula debe ser anterior a la llegada del pulso. Se debe asegurar la secuencia muestra, pulso láser, muestra, pulso láser.... Se genera un tren de pulsos como el mostrado en la figura 16, para lograr la sincronía en la apertura y cerramiento de la válvula para posibilitar o no el paso de las señales. Primero llega un pulso del láser (P) y después de un intervalo, retardo (R), la válvula se abre para la entrada de la muestra y se cierra, el siguiente pulso láser espera la llegada del siguiente pulso láser permite la entrada del antes de la llegada del siguiente pulso láser las moléculas se encuentren en la región de interacción.

Para la interacción con las moléculas la llegada del pulso láser debe ser controlada, de esta forma el haz molecular ya se encuentra en la zona de interacción cuando el pulso de radiación llega, por ello la apertura de la válvula debe ser anterior a la llegada del pulso, esto se consigue empleando un retardador de pulsos. Tal como se muestra en la figura 15 primero llega un pulso (P) y después de un intervalo, retardo (R), la válvula se abre de tal modo que cuando llega el siguiente pulso láser las moléculas se encuentran en la región de interacción.

La generación del retardo en la abertura de la válvula inicia con la señal del pulso láser que produce un pulso TTL, el cual es transmitido al sistema de retraso temporal y simultáneamente al analizador de picosegundos PTA (EG&G ORTEC 9308) junto con el controlador de la válvula; obteniendo como resultado un pulso retardado de un intervalo de tiempo fijo respecto a la señal del pulso láser. La incidencia del pulso retardado en el controlador de la válvula genera una señal de voltaje, donde el ancho del pulso determina el tiempo de

apertura de la válvula, el cual está adelantado respecto al segundo pulso del láser.

Figura 15. Señal del láser observada en el osciloscopio.



5.3. TIEMPOS Y VELOCIDAD DE LOS IONES

La velocidad supersónica de entrada de los iones al sistema garantiza unas mediciones adecuadas, otorgada por la apertura de la válvula y el tránsito molecular a altas velocidades, debido a la diferencia de presión (reservorio de muestra –tubo). Los iones generados por la interacción y el pulso molecular no se mezclan con los generados sucesivamente, gracias a la separación temporal de los componentes del equipo, tal como se muestran a continuación para algunos iones en la tabla 2.

Tabla 2. Velocidades de los iones en el tubo de deriva y su tiempo de llegada al detector.

Ión	Masa (uma)	Velocidad (cm/s)	Tiempo (s)
H ⁺	1	4,38x10 ⁷	2,28 x 10 ⁻⁶
H ₂ ⁺	12	3,09 x10 ⁷	3, 23 x 10 ⁻⁶
C ₅ N ₅ H ₄ ⁺	134	3,78 x10 ⁶	2,64 x 10 ⁻⁵
C ₅ N ₅ H ₅ ⁺	135	3,77 x10 ⁶	2,65 x 10 ⁻⁵

De la tabla 2 se resalta la diferencia entre los tiempos de llegada del primer ion y el último, por lo que la acumulación de la señal es propia de cada ion y no hay interferencia con otras masas.

5.4. TIEMPOS DE DETECCIÓN

Los detectores empleados son capaces de diferenciar los tiempos de llegada de cada ion, lo cual garantiza la amplificación y detección de la señal digitalizada, con un tiempo de respuesta del orden de los picosegundos (10^{-12}) y espectros en alta resolución que permite observar desde tres cuentas, lo que garantiza que se supere el nivel de ruido, que generalmente llega hasta las dos cuentas.

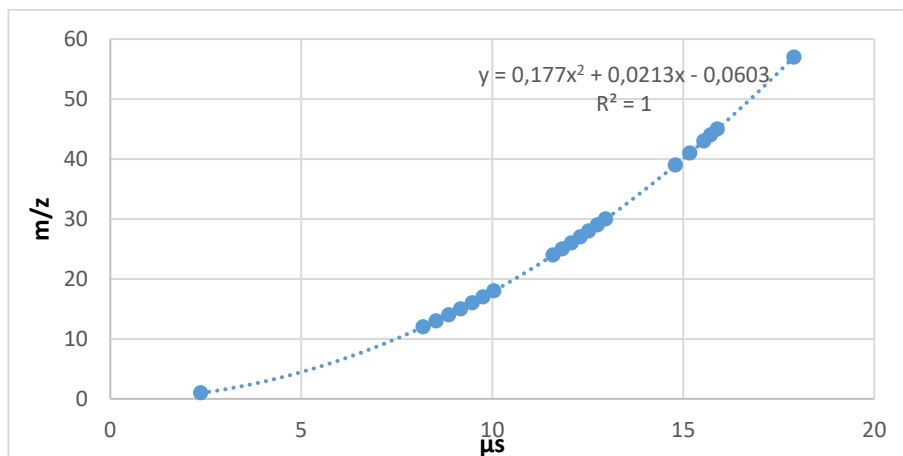
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN CURVA DE CALIBRACIÓN Y ESPECTROS DE MASAS

Mediante el análisis de los datos adquiridos se realiza el cálculo de la masa de los iones obtenidos y se realiza tomando el primer ion como el H⁺, a partir de este se realiza el cálculo empleando la relación:

$$Masa_n = \left(\frac{T_n}{T_1}\right)^2 Masa_1$$

Si el comportamiento no es adecuado se realiza la optimización empleando el segundo ion, asignándole la masa del carbono. Luego de esta asignación se realiza la aproximación de los valores de las masas y con estos se procede a determinar curvas de calibración polinómicas de segundo orden de acuerdo con las agrupaciones de datos. A continuación, se presenta la gráfica de calibración para la adenina a alta temperatura (figura 16), esta gráfica es equivalente a las obtenidas con los otros datos debido a que las condiciones de voltaje instrumentales eran las mismas; lo que corrobora la buena calidad de los datos adquiridos y confiabilidad del procedimiento.

Figura 16. Curva de calibración de la adenina a alta temperatura



Se realizaron cinco tipos de experimentos:

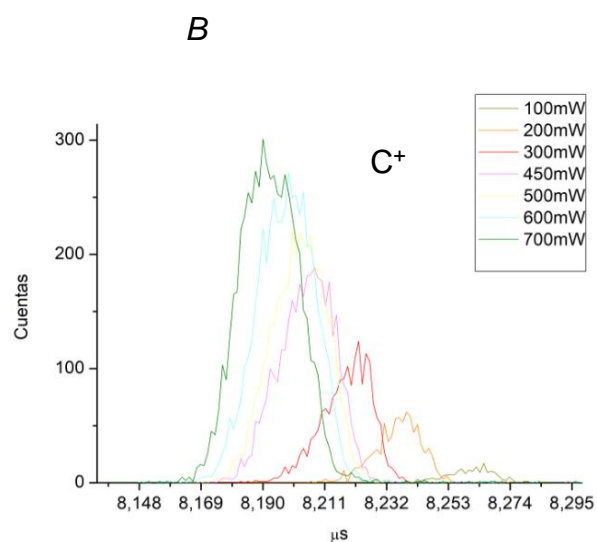
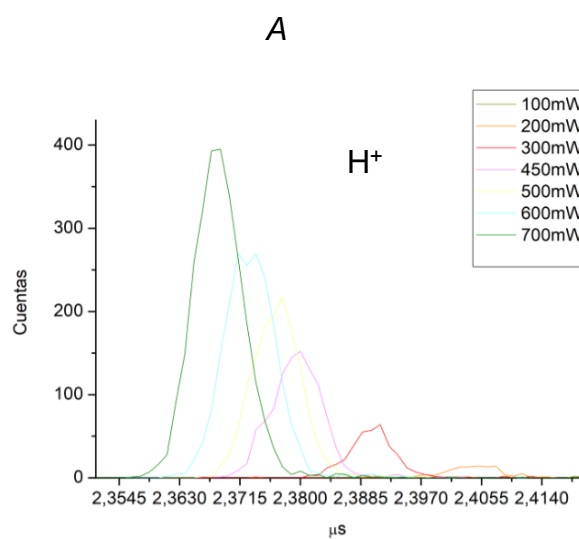
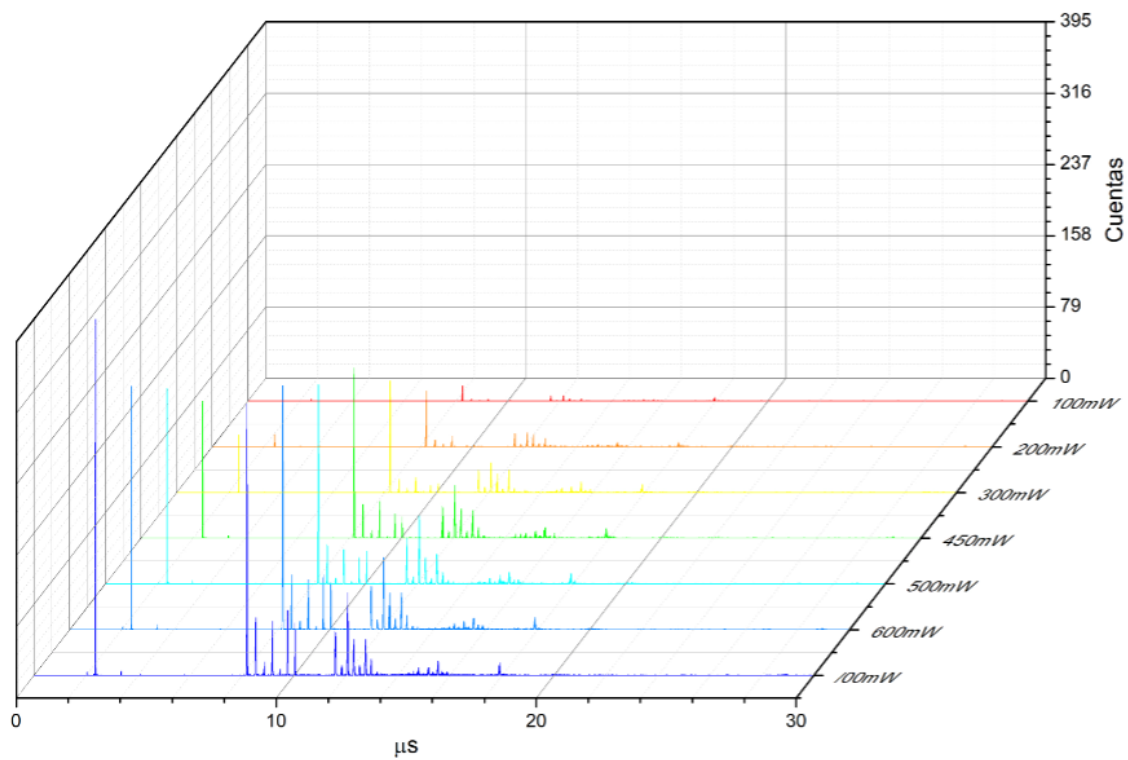
6.1. ADENINA CON EL OPO (440-660nm).

No se obtuvo ningún espectro con buen comportamiento al emplear el OPO como instrumento de excitación de la adenina en el tubo de vuelo D-850 ANGULAR REFLECTRON, Jordan TOF Products, debido a la baja potencia de la radiación.

6.2. ADENINA CON EL LÁSER DE Nd:YAG 30Hz A 355 nm INCREMENTANDO POTENCIAS E IMPLEMENTANDO CALENTAMIENTO 230°C a 240°C Y EL USO DE GAS DE ARRASTRE.

La figura 17 presenta los espectros de la adenina (sometida a calentamiento); la potencia del láser se incrementa, se emplea argón como gas de arrastre. Muestra además, una ampliación de la gráfica para los iones *A*: H^+ y *B*: C^+ , en el **ANEXO A** se encuentra *C* y *D* la señal más significativo de la familia de $C_nH_n^+$ y $C_nN_nH_n^+$ respectivamente y por último en *E*: $C_2N_2H_5^+$. Los espectros, como respuesta al incremento de la potencia presentan un desplazamiento hacia la izquierda y un incremento en el número de cuentas acumuladas para cada señal. A medida que se aumentó la potencia del haz de radiación se observó un incremento en los procesos de ionización-disociación. Bajo estas condiciones, se observan señales claras y bien definidas, esta forma indica que el índice de la fragmentación de la adenina es bastante elevado.

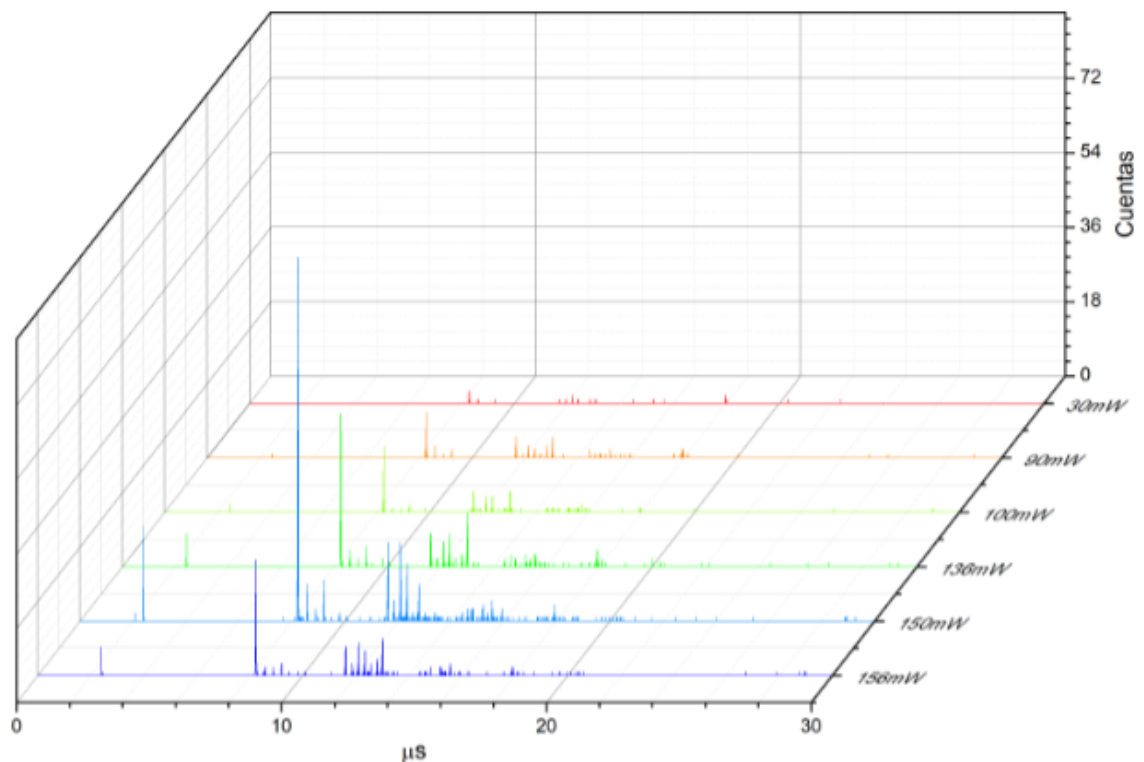
Figura 17. Espectros de adenina a alta temperatura (230°C a 240°C).



La figura 18 presenta los espectros de la adenina, sin someterse a calentamiento y excitada con diferentes potencias del láser, sin usar gas de arrastre. Las señales presentan menor amplitud y disminuye su nitidez, el no calentamiento de la adenina favorece las relajación térmica, dificultando alcanzar los estados excitados y la ionización de la molécula.

Se espera que la señal de fragmentación se incremente proporcionalmente con el aumento de la potencia del láser, pero se observó que a una potencia 150 mW, la señal fue mayor, que la presentada a una potencia de 156 mW. Esta situación anómala, puede obedecer a factores como: fallas en el sistema eléctrico, error experimental o falencias en el detector. El incremento en la potencia, no debe generar la una disminución en las cuentas, si no por el contrario debería corresponder a un incremento. Mayor densidad de fotones mayor cantidad de fragmentos deben ser generados .

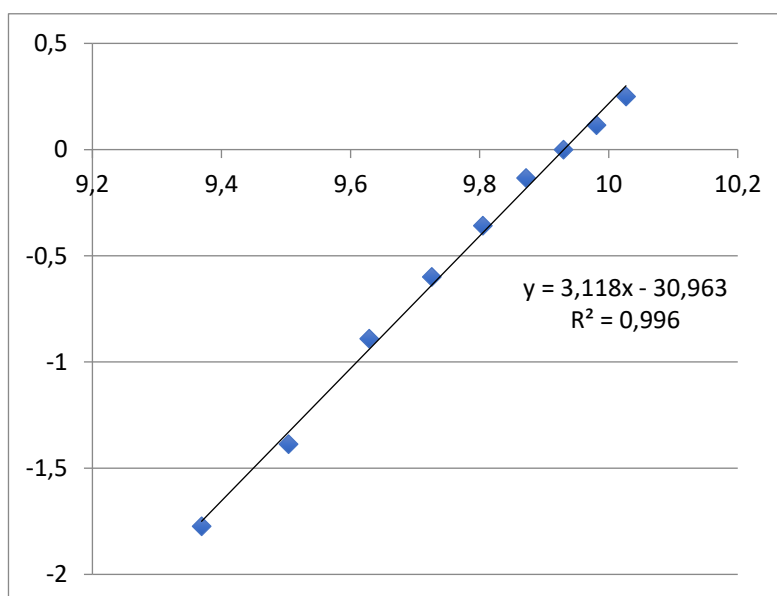
Figura 18. Espectros de adenina a baja temperatura.



A partir de los espectros, se realizó el cálculo del número de fotones absorbidos para la formación de los fragmentos ajustando una ecuación polinómica $y = ax^b$ ⁶⁹, donde y representa la intensidad, x la corriente iónica, a valor de ajuste y b el exponente de la línea de tendencia es equivalente a la energía requerida para la formación del correspondiente fragmento, esta última es señalada en la tabla 3.

Las gráficas de las figuras 19 y del **ANEXO B** representan el cálculo de fotones para cada uno de los iones presentados en los espectros a alta temperatura de la adenina (230 °C a 240°C). Las gráficas para el cálculo de fotones a baja temperatura de la adenina, no se muestran debido a que carecen de un comportamiento adecuado, al no someter la adenina a calentamiento no se genera señal detectable o se presenta ocultamiento al desplegarse el espectro; que imposibilita realizar el cálculo del número de fotones bajo estas condiciones experimentales. Se corrobora lo mencionado en otros estudios (Kim y otros) ⁷⁰, que para obtener información de calidad respecto a la fragmentación de la adenina es necesario someterla a calentamiento.

Figura 19. Cálculo de fotones para H⁺ de la adenina a altas temperaturas .



⁶⁹ MARTÍNEZ FARFÁN, Op. cit.

⁷⁰ KIM, Op. cit.

En la tabla 3 se consigna el resultado de la excitación de la adenina a altas temperaturas, el número de fotones absorbidos, actuando como fuente el láser de Nd :Yag de 30Hz determinados a partir de las gráficas obtenidas. Los resultados sugieren que la fragmentación de los iones H^+ y NH_3^+ se presenta con mayor probabilidad, como consecuencia de mayores absorciones energéticas; comportamiento opuesto al que presentan los iones $C_2N_2H_5^+$ y NH_3CN^+ , la baja altura de sus señales en los espectros sugiere con alta probabilidad que corresponden a clústeres.

Tabla 3. Número de fotones absorbidos por la adenina a altas temperaturas

Ion	Masa	Número de fotones	Energía (eV)
H^+	1	3,11	10,89
C^+	12	2,07	7,24
CH^+	13	2,56	8,94
NH^+	15	3,02	10,54
NH_3^+	17	3,80	13,27
H_2O^+ o NH_4^+	18	3,03	10,59
C_2^+	24	1,91	6,67
C_2H^+	25	1,28	4,47
CN^+ o $C_2H_2^+$	26	2,93	10,22
HCN^+	27	1,84	6,43
$HCNH^+$	28	1,84	6,45
NH_2CH^+	29	2,21	7,73
$N_2H_2^+$	30	2,00	6,99
$HCCN^+$	39	2,07	7,22
N_2HC^+	41	0,81	2,84
NH_3CN^+	43	0,74	2,58
$C_2N_2H_5^+$	57	1.11	3.88

6.3. ADENINA CON EL OPO (410-660 nm)

La adquisición de datos los espectros obtenidos incidiendo únicamente el haz del OPO a la adenina empleando el tubo de vuelo lineal, no son significativos, no se observa nada relevante y por tanto no hay elementos suficientes para su análisis.

6.4. ADENINA CON LÁSER Nd:YAG 10Hz A 355 nm

Los espectros resultado de la excitación de la adenina (220°C a 240°C) con el láser de Nd:YAG 10 Hz a 355nm, usando argón como gas de arrastre, incrementando la potencia del haz en el rango de 18 mW a 30 mW se representa en la figura 21; también se muestra las ampliaciones de los iones: A: H⁺, B: C⁺ y C: H₂O⁺ ó NH₄⁺.

Figura 20. Espectros de adenina a 18mW y 30mW de potencia.

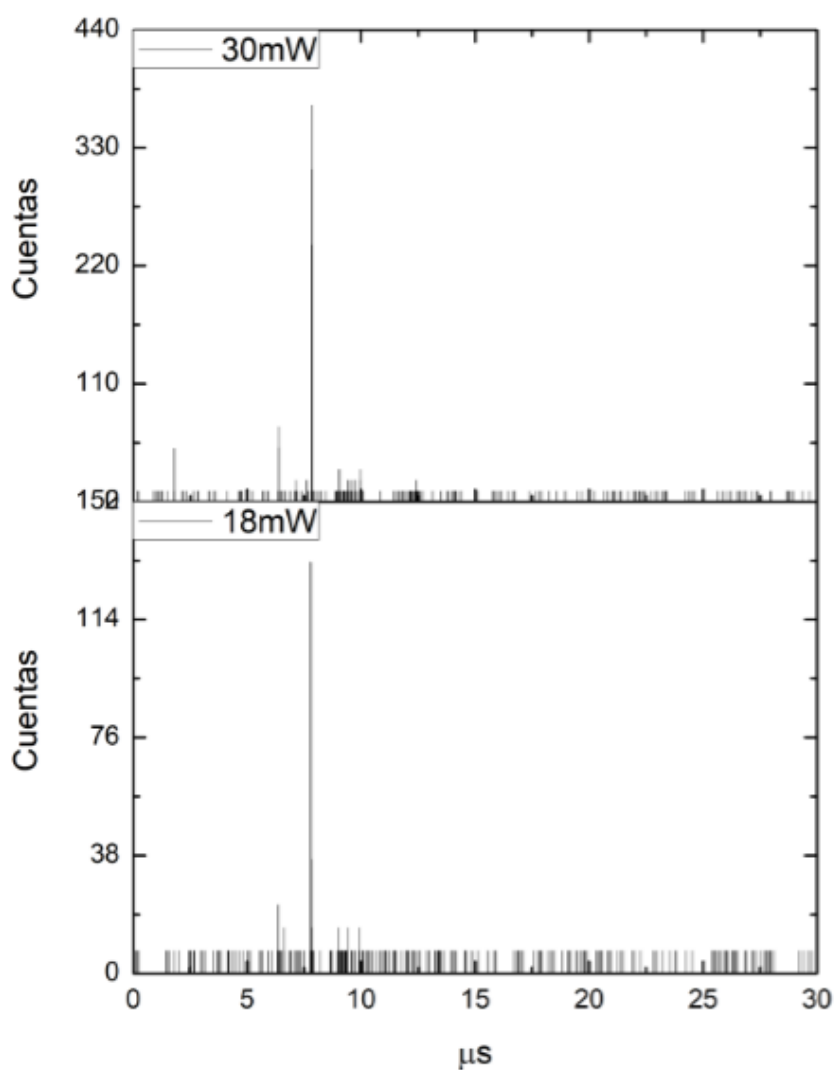
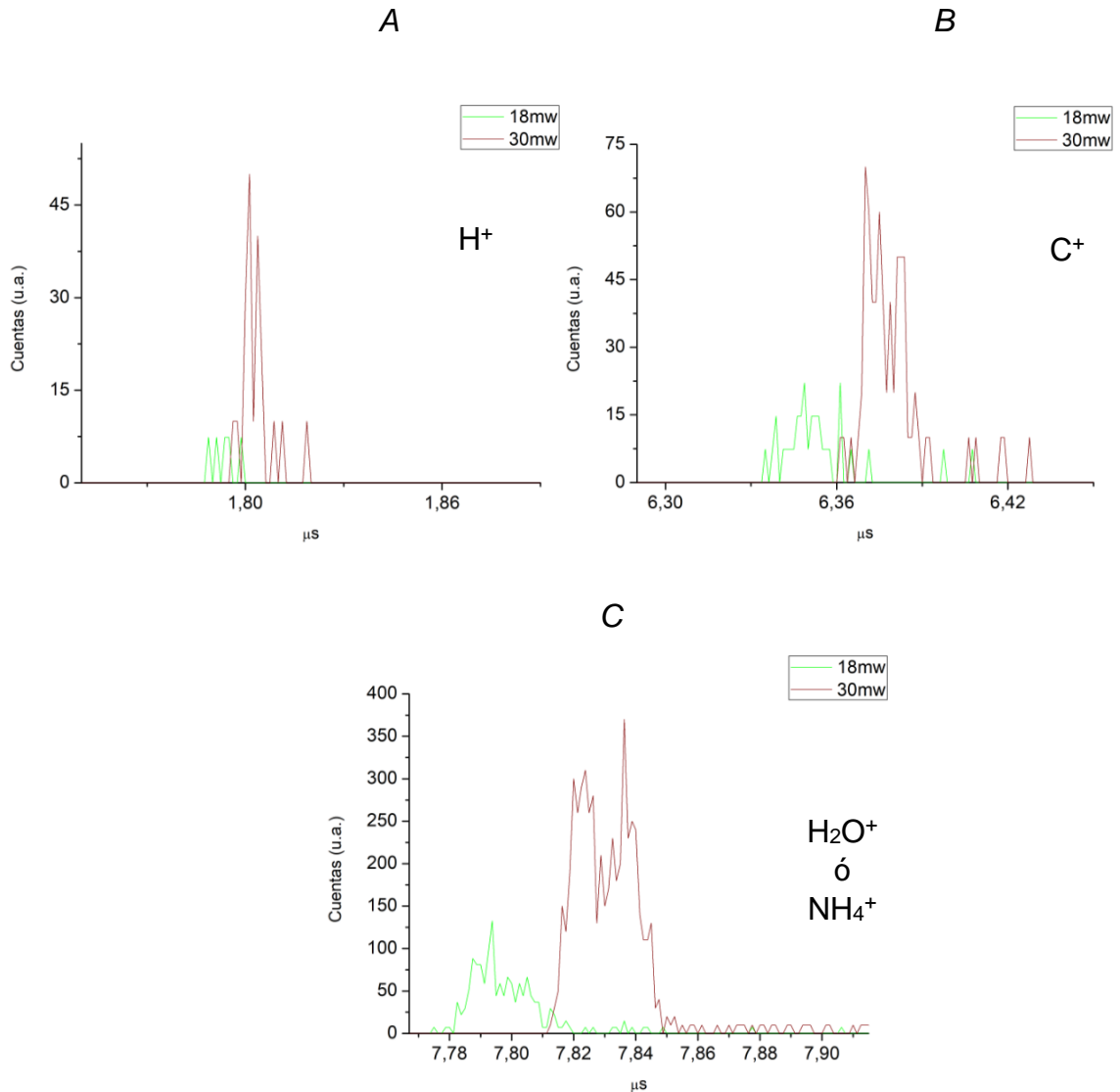


Figura 20. Espectros de adenina a 18mW y 30mW de potencia.



La observación de estos espectros permite comprobar que a mayor energía (30mW) suministrada a una molécula, se genera una señal de mayor intensidad, como consecuencia de un incremento de iones (resultado de la fragmentación) que llegan al detector para un igual número de barridos.

El láser de Nd:YAG 10 Hz a 355nm se calibra a una potencia de 30mW, se acopla al OPO, y la radiación residual del láser se utilizan para excitar la adenina (calentada, rango 220°C a 240°C), como resultado se presenta un incremento en la generación de los iones. Utilizando en particular las de 497 nm (línea amarilla) y 660 nm a 665 nm (línea verde). Analizando las

ampliaciones de los iones: A: H^+ y B: C^+ , en el **ANEXO C** se encuentran C: H_2O^+ ó NH_4^+ ; D: la señal más significativo de la familia de $C_nH_n^+$ y la del $C_nNH_n^+$; E: y la señal más significativo de la familia de $C_nN_nH_n^+$ (figura 21), se tiene que el comportamiento es el mismo, que se ilustra en la figura 17, mayores potencias provocan un desplazamiento a la izquierda (menores tiempos de llegada).

Figura 21. Espectros de adenina a una potencia de 30mW, junto con el OPO 497 nm y 660 nm a 665 nm .

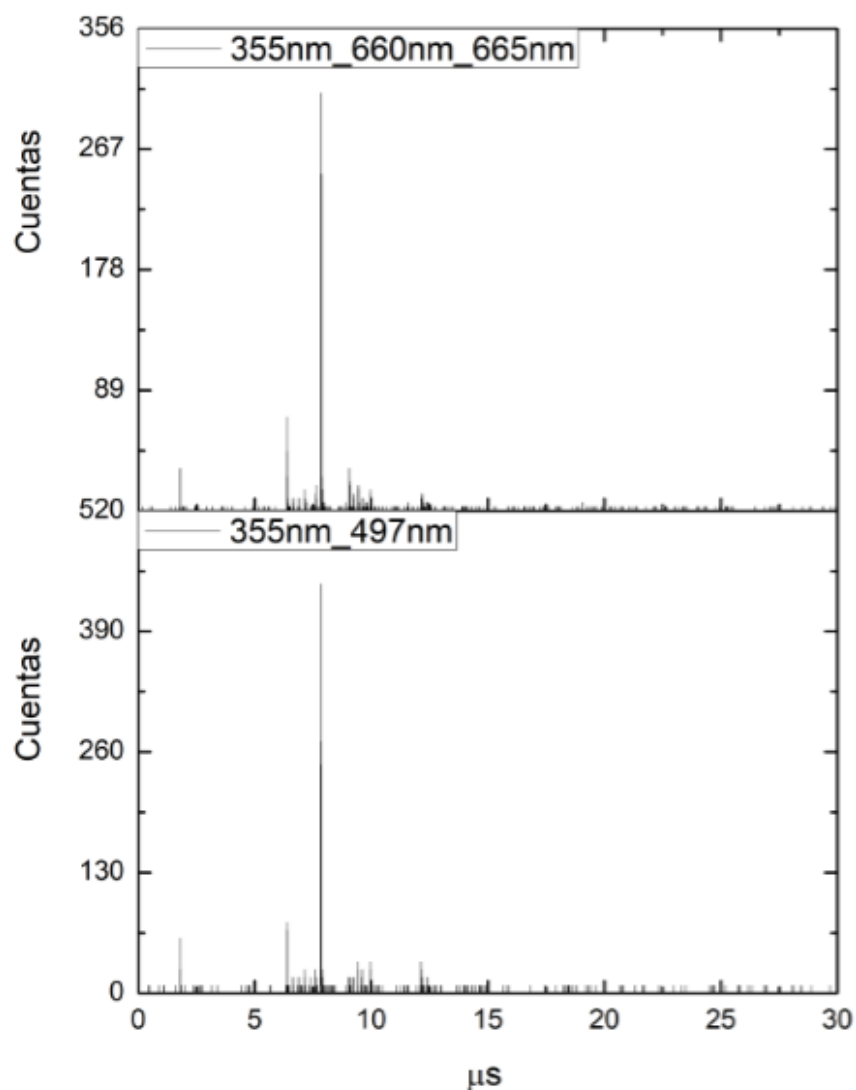
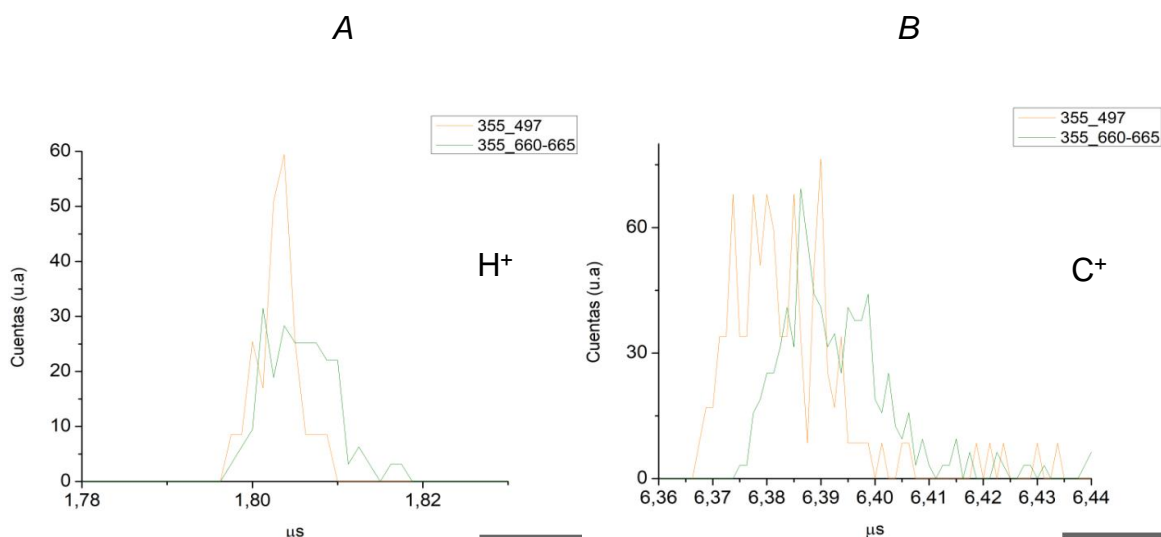


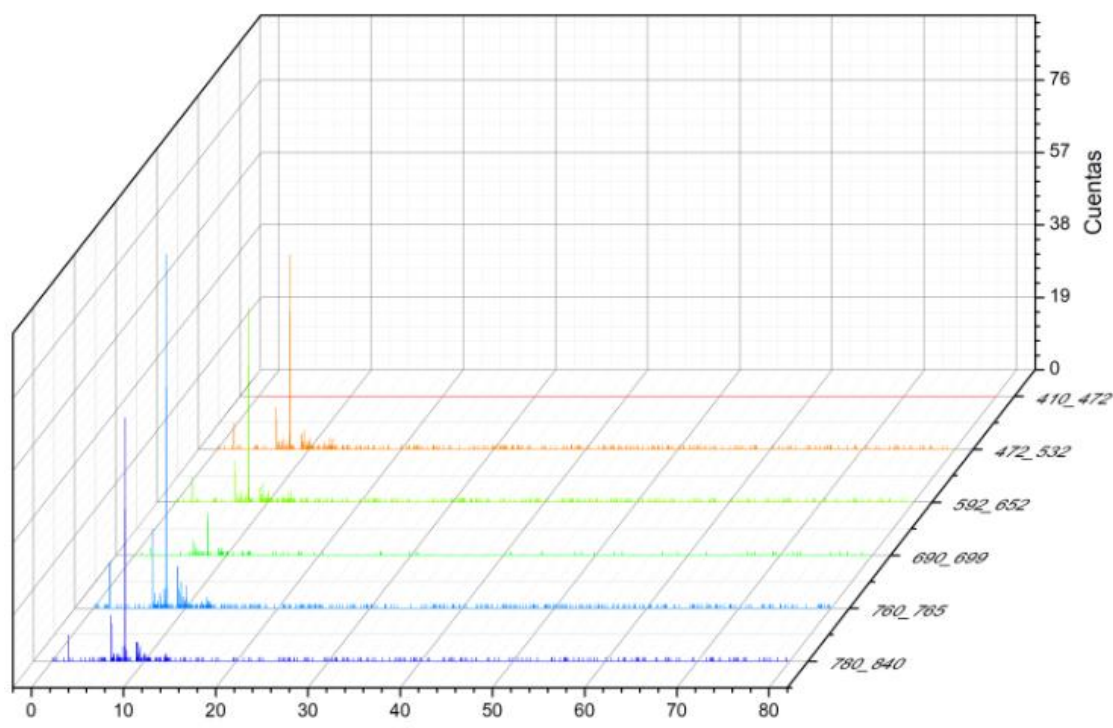
Figura 21. Espectros de adenina a una potencia de 30mW, junto con el OPO 497 nm y 660 nm a 665 nm .



6.5. ADENINA CON DOS LÁSERES EL OPO (410-900 nm) ACOMPAÑÁNDOLO DEL LÁSER Nd:YAG 10Hz A 355 nm

Los espectros mostrados en la figura 22, $C_nN_nH_n^+$ manteniendo los parámetros de voltaje de alimentación del equipo. La curva de calibración obtenida para diferentes tiempos de llegada de la señal al detector, coincide con la asignación de las masas dada a los iones generados de factor $R^2=1$ (asociado con el óptimo funcionamiento del equipo), la adenina (220°C a 240°C) excitada con el láser Nd:YAG de 10Hz a 355nm y el OPO (410 a 660nm), usando argón como gas de arrastre, es similar a la presentada en la figura 16.

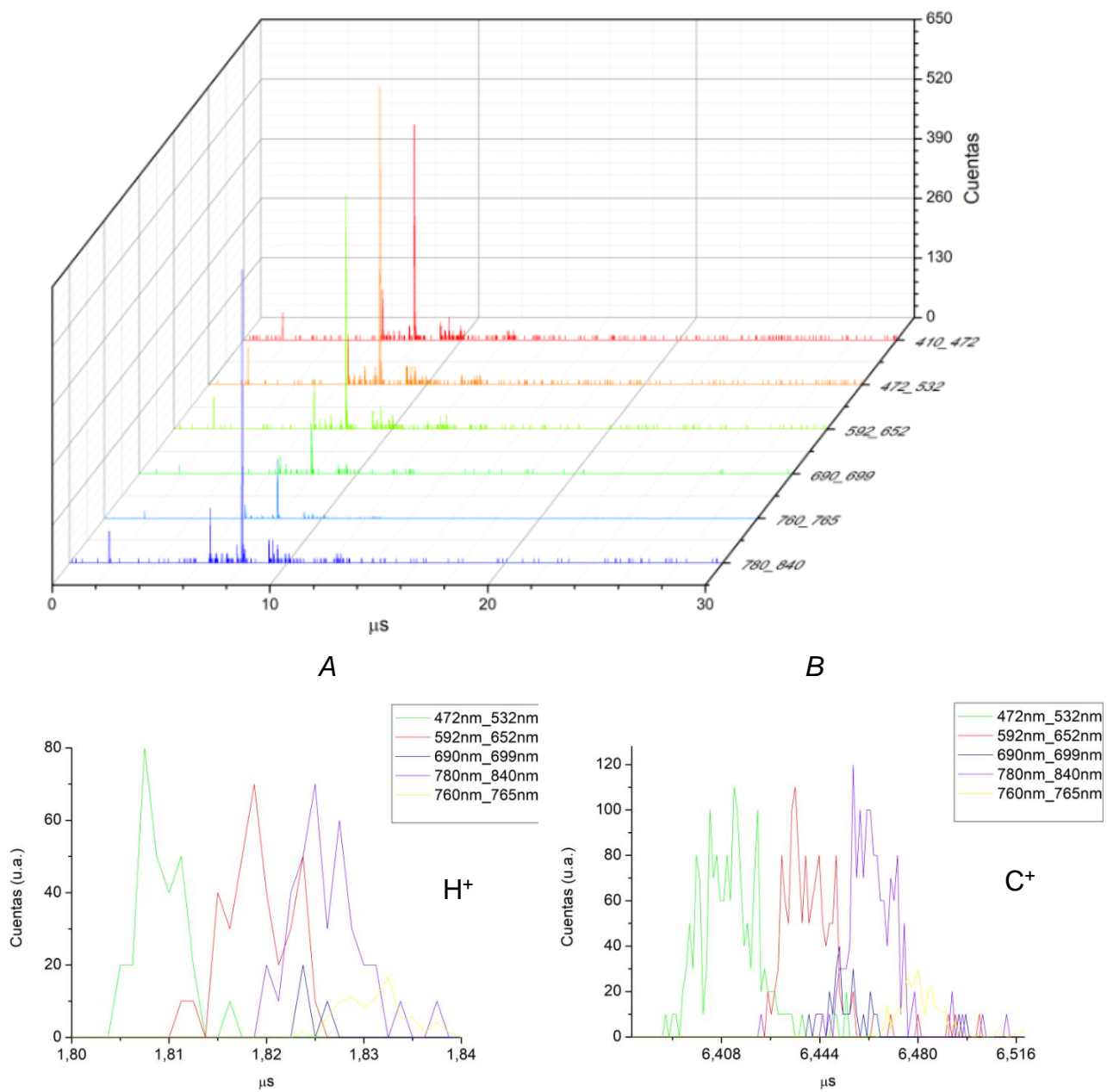
Figura 22. Espectros de adenina sin normalizar

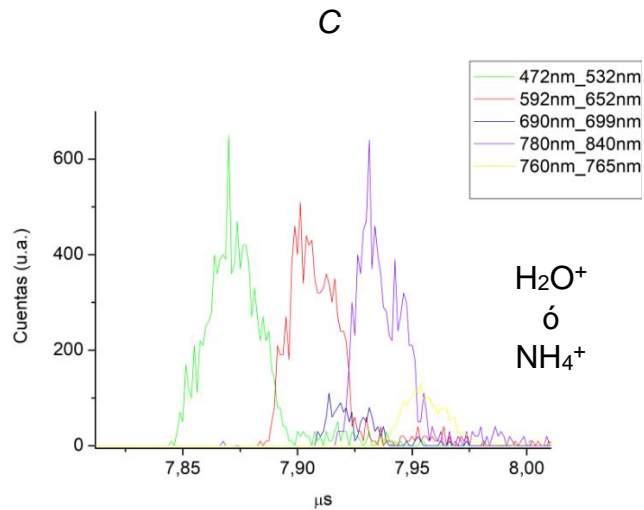


Es necesario normalizar los espectros respecto al número de puntos adquiridos, de acuerdo a la ecuación presentada, para observar el crecimiento real de los iones generados al irradiar la adenina con el láser de Nd:YAG 10Hz a 35 nm y el OPO (410nm- 660nm); empleando argón como gas de arrastre se presentan en la figura 23. También en esta figura se realiza la ampliación de los iones: A: H⁺, B: C⁺ y C: NH₄⁺ o H₂O⁺ en donde se vuelve a presentar el desplazamiento ya mencionado.

$$\text{Normalización} = \frac{\text{Cuentas (u. a)}}{\text{Número de barridos}}$$

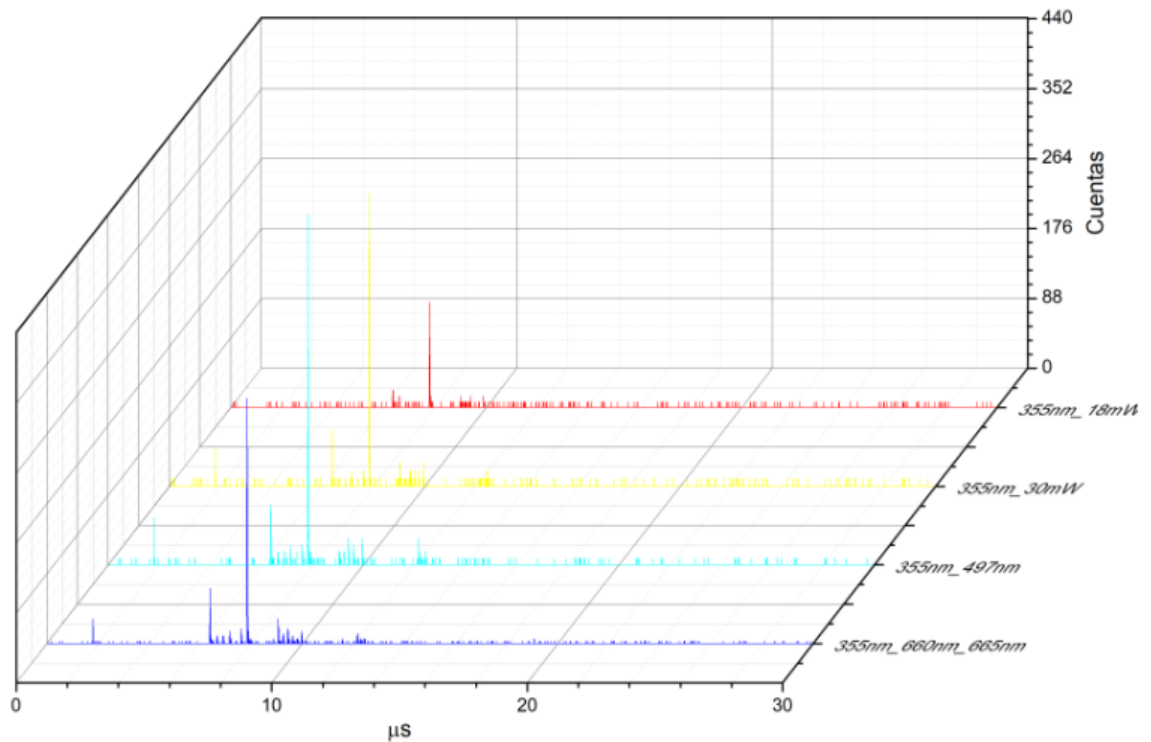
Figura 23. Espectros de adenina normalizados.





El estudio comparativo del comportamiento de los espectros de adenina normalizados al ir aumentando la potencia del haz láser de 355nm a 10 Hz y posteriormente incluir la radiación proveniente del OPO (497nm y el rango de 660nm a 665nm), representado en la figura 24, muestra que hay, un mayor crecimiento en los fragmentos de los espectros en los que la adenina se excitó con láser de mayor potencia, combinado con la menor longitud de onda.

Figura 24. Comparación de espectros de adenina normalizados.



En la figura 25 se muestran los espectros normalizados de adenina comparando los barridos del OPO 660nm a 665nm con el de 760nm a 765nm. También se representan los iones: *A*: H⁺ y *B*: C⁺, en el **ANEXO D** :*C*: H₂O ó NH₄ en *D* la señal más significativo de la familia de C_nH_n⁺ junto con C_nNH_n⁺ y la señal más significativo de la familia de C_nN_nH_n⁺ en *E*; donde el mayor crecimiento se da en el rango de 760nm a 765nm. Posiblemente en esta región se presente la resonancia, al realizar el barrido general en la zona de 660nm a 765nm se presentó un crecimiento abrupto en las cuentas, pero al realizar pequeños cambios en las longitudes de onda, junto con barridos de tres horas no se volvió a encontrar el comportamiento presentado.

Figura 25. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 760 a 765 y de 660 a 665.

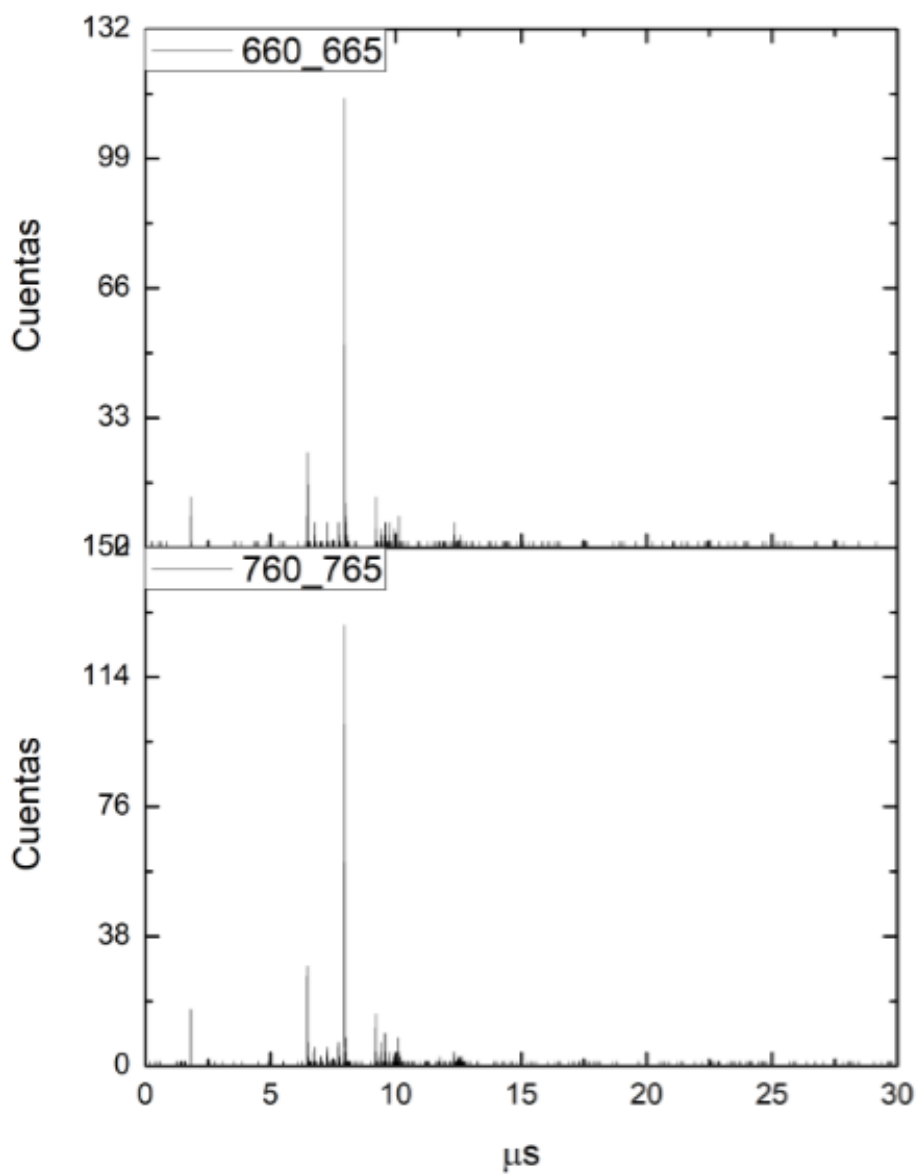
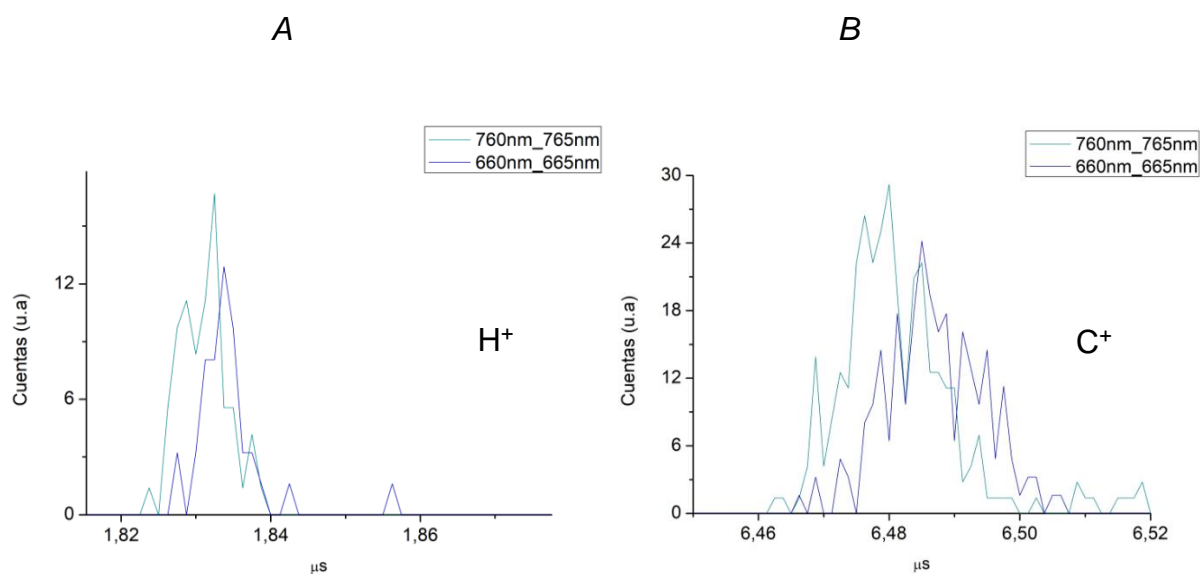


Figura 26. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 760 a 765 y de 660 a 665.



En la figura 26 se muestran los espectros de adenina normalizados comparando los barridos de 720nm a 785nm con el de 760nm a 765nm. Se representa los iones: A: H^+ y B: C^+ , en el **ANEXO E C**: H_2O ó NH_4 y la señal más significativo de la familia de en D: C_nH_n^+ , realizado con el fin de corroborar el comportamiento presentado en la figura 25, pero no se obtuvo información adicional que pudiera dar explicación de la presencia del incremento abrupto de la señal. En las ampliaciones se observa un mayor crecimiento en el rango de 720nm a 780nm, debido al suministro de un mayor rango de longitudes de onda de excitación.

Figura 26. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 720nm a 780nm con el de 760nm a 765nm.

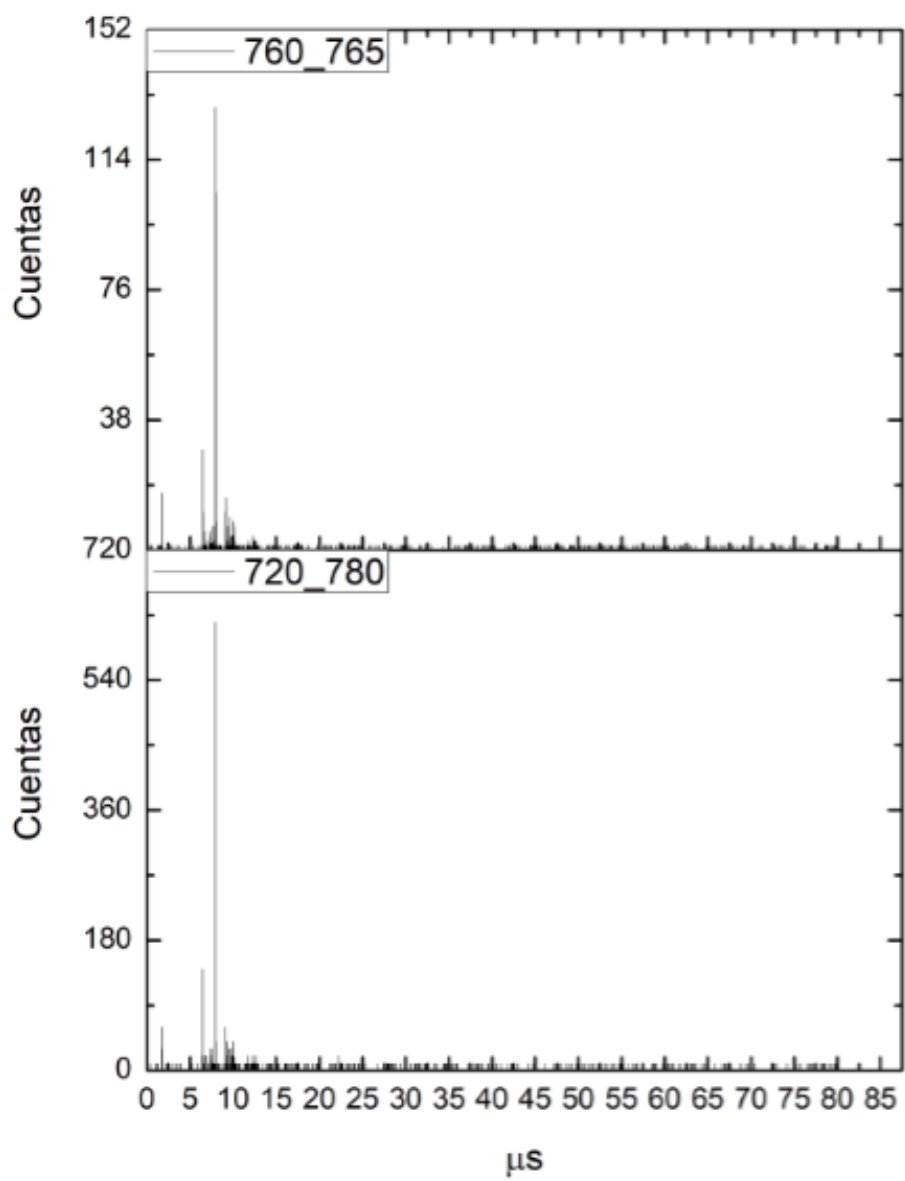
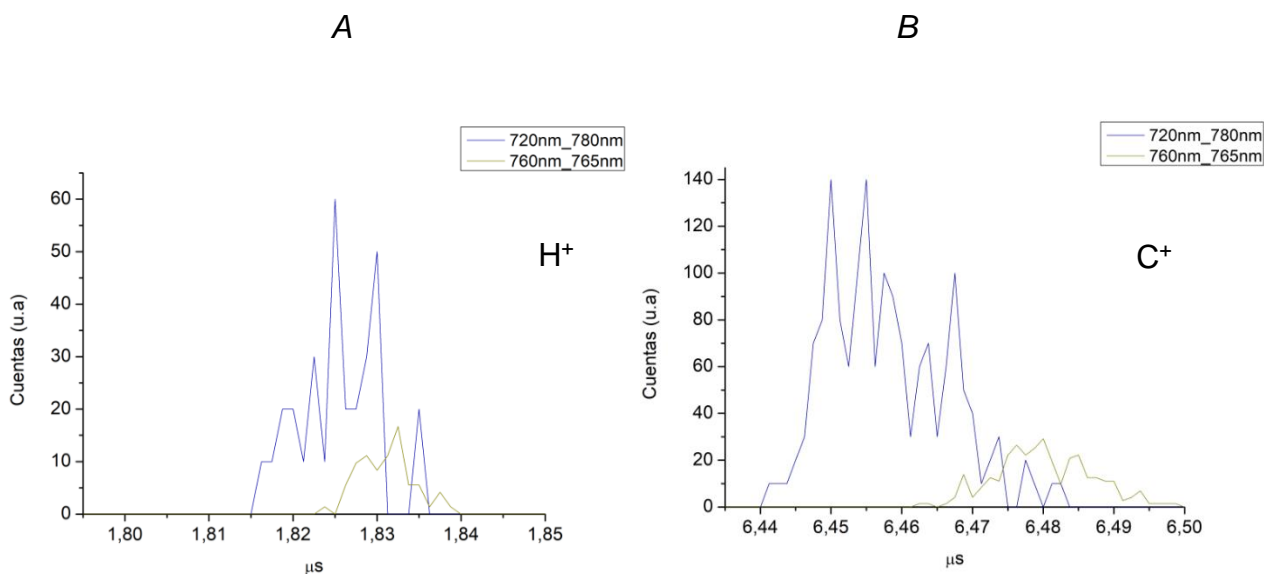


Figura 26. Espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 720nm a 780nm con el de 760nm a 765nm.



Después del cálculo de la masa se realiza la asignación del fragmento que lo produce, teniendo en cuenta los caminos de disociación de la adenina, la estabilidad de estos y su capacidad para formar clúster, los resultados se muestran en la tabla 4.^{71,72}

Los datos registrados en la tabla 4, sugieren que la molécula de adenina alcanza con facilidad los estados excitados y su posterior fragmentación e ionización al calentarse. De esta manera, la molécula no tiene la posibilidad de relajarse térmicamente. Se encuentra los iones de N_2H_2^+ y $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}_5^+$ son observables cuando se emplea el láser de 30 Hz (con o sin calentamiento de la adenina). Por otra parte, los iones de CN_2H_6^+ y N_2H_2^+ solo son observables cuando se emplea el láser de 10 Hz y la muestra con calentamiento, la ausencia de señal (iones de N_2H_2^+ y $\text{C}_2\text{N}_2\text{H}_5^+$), es consecuencia, del bajo suministro de energía, la energía para la excitación no alcanza a llevar la muestra al estado de fragmentación. La menor energía del láser no genera el estado de fragmentación, y por tanto la inexistencia de su señal. este hecho

⁷¹ JOCHIMS, Hans-Werner, *et al.* Photoion Mass Spectrometry of Adenine, Thymine and Uracil in the 6 – 22 eV Photon Energy Range. En: Chemical Physics, 2005, vol.314, p. 263–82.

⁷² SCHWELL, Martin *et al.* VUV Photochemistry of Small Biomolecules. En: Planetary Space Science. 2006, vol. 54, p. 1073–1085.

indica que la formación de los iones $N_2H_2^+$ y $C_2N_2H_5$, ocurre a mayores suministros energéticos. El láser de 30 Hz genera la estabilidad energética requerida para la formación de los iones $C_2N_2H_5^+$ y $N_2H_2^+$ (posiblemente corresponden a *clusters*).

Tabla 4. Masa de los iones encontrados para cada uno de los experimentos realizados.

Adenina 220-240°C + gas+ láser 30Hz		Adenina T. ambiente +láser 30Hz		Adenina con láser 10Hz		Adenina con láser 10 Hz + OPO		ION	MASA
Centro	Masa	Centro	Masa	Centro	Masa	Centro	Masa		
2,36	1	2,40	1	1,83	1	1,80	1	H ⁺	1
8,19	12	8,23	12	6,48	12	6,37	12	C ⁺	12
8,53	13	8,59	13	6,69	13	6,65	13	CH ⁺	13
8,86	14		14	7,00	14	6,91	14	N ⁺ , CH ₂ ⁺	14
9,17	15	9,24	15	7,26	15	7,1	15	NH ⁺	15
9,47	16			7,43	16			NH ₂ ⁺	16
9,76	17			7,72	17	7,60	17	NH ₃ ⁺	17
10,04	18			7,95	18	7,83	18	H ₂ O ⁺ o NH ₄ ⁺	18
11,59	24	11,63	24	9,19	24	9,04	24	C ₂	24
11,83	25			9,38	25	9,25	25	C ₂ H ⁺	25
12,07	26	12,10	26	9,57	26	9,42	26	CN ⁺ o C ₂ H ₂ ⁺	26
12,30	27	12,34	27	9,76	27	9,62	27	HCN ⁺	27
12,52	28			9,93	28	9,77	28	HCNH ⁺	28
12,75	29	12,79	29	10,11	29	9,96	29	NH ₂ CH ₊	29
12,96	30	13,01	30					N ₂ H ₂ ⁺ o	30
14,79	39			11,63	39	11,59	39	HCCN ⁺	39
				11,76	40			NCN ⁺	40
15,17	41							N ₂ HC ⁺	41
15,54	43	15,56	43	12,23	43	12,16	43	NH ₃ CN ₊	43
15,71	44			12,46	44	12,29	44	CN ₂ H ₄	44
15,89	45			12,43	45	12,42	45	CN ₂ H ₅ ⁺	45
				12,56	46	12,41	46	CN ₂ H ₆ ⁺	46
17,90	57	17,92	57					C ₂ N ₂ H ₅ ₊	57

El comportamiento de la potencia mínima de ionización de la adenina presenta una relación directa con la frecuencia del láser, menor frecuencia, menor energía y viceversa. La potencia mínima de ionización a 10 Hz es de 30mW y a 30 Hz 100mW. Al realizar el experimento que involucra el uso del OPO y el láser 10 Hz, se demuestra la capacidad de estabilización de esta molécula frente a la radiación de excitación en el rango de 410nm a 900nm.

El diagrama mostrado en la figura 27 relaciona el número de fotones de 355nm absorbidos por la molécula de adenina para generar los fragmentos indicados a continuación. Al dividir la gráfica en cuatro regiones (parte inferior a la superior) de acuerdo con el número de fotones absorbidos se obtiene:

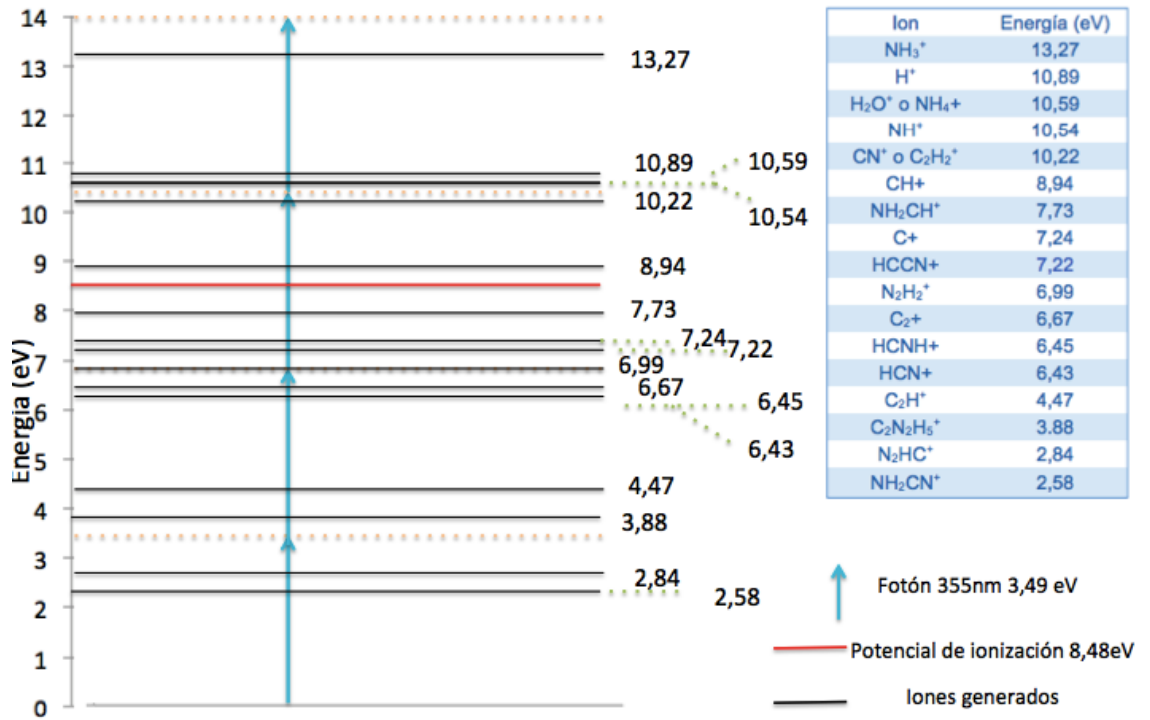
Menos de un fotón: Solo se observa el ion correspondiente a los iones N_2HC^+ y NH_3CN^+ cuya señal en los espectros presenta una baja intensidad que equivale a la baja probabilidad de realizar este proceso de excitación.

Uno a dos fotones: En esta región se presenta la generación de los iones $C_2N_2H_5^+$, C_2H^+ , HCN^+ , $HCNH^+$ y C_2^+ la molécula de adenina muestra alta afinidad para realizar saltos energéticos al absorber energía en el rango de 3,49 eV a 6,48 eV debido a la cercanía de este con el potencial de ionización de la adenina (8,48 eV)

Dos a tres fotones: Cuando la molécula absorbe una energía cercana al potencial de ionización se generan seis fragmentos $N_2H_2^+$, $HCCN^+$, C^+ , NH_2CH^+ , CH^+ y CN^+ o $C_2H_2^+$ sus señales espectrales se distinguen con facilidad, aunque estas no presentan una forma muy definida.

Tres a cuatro fotones: Esta es la última región con el tipo de radiación aplicada se llegan a observar los cuatro iones NH^+ , H_2O^+ o NH_4^+ , H^+ y NH_3^+ , cuyas señales en los espectros son las mejor comportadas debido a la alta energía que absorben.

Figura 27. Absorción múltiple de fotones para los iones generados.



7. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales y la instrumentación disponible en el laboratorio durante la ejecución de estos experimentos de absorción multifotónica por tiempo de vuelo se corroboran y complementan los conocimientos actuales de la fotofísica y fotoquímica de la adenina, esenciales en el estudio de los procesos de formación y control de las mutaciones carcinogénicas así:

El montaje implementado con láseres Nd:YAG de 10Hz y 30 Hz, Oscilador Paramétrico Óptico, doblador de frecuencias, espejos de alta reflectividad, tubos de vuelo, detectores y controladores permitieron la observación del fenómeno de espectroscopía de absorción multifotónica.

La sincronía entre el láser y el jet supersónico de moléculas de adenina produce una adecuada absorción multifotónica.

El calentamiento de la muestra (220°C a 240°C) y el uso de argón permite una mejor observación del crecimiento de los patrones de fragmentación de la adenina.

Los cationes obtenidos debido a la absorción de fotones en las moléculas ocasiona una fragmentación de estas, tal como se observa en los espectros donde se señala la presencia de los iones H^+ , C^+ , CH^+ , N^+ , CH_2^+ , NH^+ , NH_2^+ , NH_2^+ , H_2O^+ ó NH_4^+ , C_2^+ , C_2H^+ , CN^+ o $C_2H_2^+$, HCN^+ , $HCNH^+$, NH_2CH^+ , $N_2H_2^+$, $HCCN^+$, NCN^+ , N_2HC^+ , NH_3CN^+ , $CN_2H_4^+$, $CN_2H_6^+$ y $C_2N_2H_5^+$.

Los iones que se obtienen del proceso de fragmentación con mayor probabilidad son H^+ y NH^+ , debido a que presentan la mayor absorción energética; este comportamiento es opuesto al que presentan los iones $C_2N_2H_5^+$ y NH_3CN^+ , posiblemente corresponden a clústeres debido a la alta energía que requieren para su formación.

A partir del cálculo de fotones para los espectros de la adenina a altas temperaturas, empleando argón como gas de arrastre, se encuentra que el fragmento de masa 17 uma requiere mayor energía (13,27eV) para generarse mientras que el de masa 43 uma requiere menor energía (2,58eV).

Se encontró que los fragmentos observados de masa 25 uma se genera al absorber energías de 4,47 eV, este valor es cercano al determinado por Kim y otros 4.40 eV⁷³. El número de fotones absorbidos en este caso por la molécula de adenina para su fragmentación y posterior ionización es similar.

La fragmentación de la adenina es exitosa cuando interacciona con radiación láser de 355nm junto con el OPO (410nm-900nm), al incrementar la energía suministrada a la molécula de adenina los espectros presentan un corrimiento hacia la izquierda como una manifestación de la estabilización energética que realiza la sustancia. Lo que sugiere incipientemente que en el rango de longitudes de onda estudiado la adenina no se altera y es estable, no genera mutaciones, se requiere de estudios complementarios para corroborar este aspecto.

No fue posible la observación de absorciones multifotónicas vía un intermediario resonante (REMPI), porque la potencias generada con el OPO no son suficientes para llegar al estado de resonancia, aun cuando se combina

⁷³ KIM, Op. cit.

con un láser de Nd:YAG 10Hz sintonizado a 355nm. La situación presentada coincide con lo observado por D. C. Lührs y otros⁷⁴.

⁷⁴ LÜHRS, Op. cit.

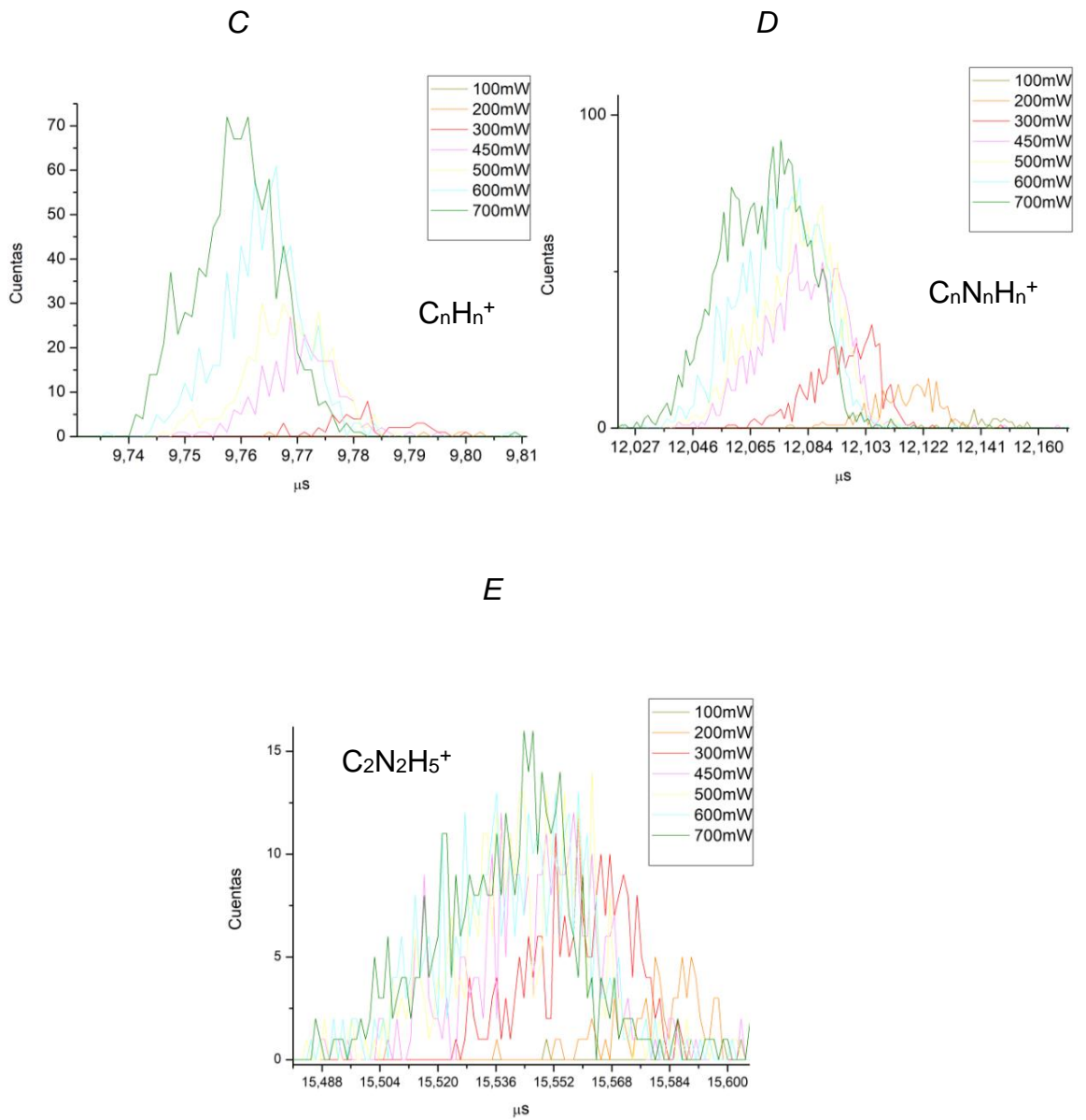
8. RECOMEDACIONES

Se requiere además del láser de Nd: YAG o un OPO (al ejecutar barridos), una fuente de excitación adicional, tal como un láser Nd: YAG adicional, ubicándola geométricamente con la ayuda de espejos de alta reflectividad, de forma tal que permita realizar la experiencia de excitación-detección en los experimentos de absorción multifotónica.

Para aplicación del fenómeno REMPI en diversas moléculas, es preciso iniciar el plan de trabajo con sustancias que posean bajo potencial de ionización, baja masa molecular y una estructura sencilla para facilitar la familiarización con la detección e interpretación de los espectros moleculares, información que puede extrapolarse cuando se empleen sustancias con estructuras más complejas con mayor potencial de ionización, mayor masa molecular. Además, se establecería un protocolo de investigación apropiado.

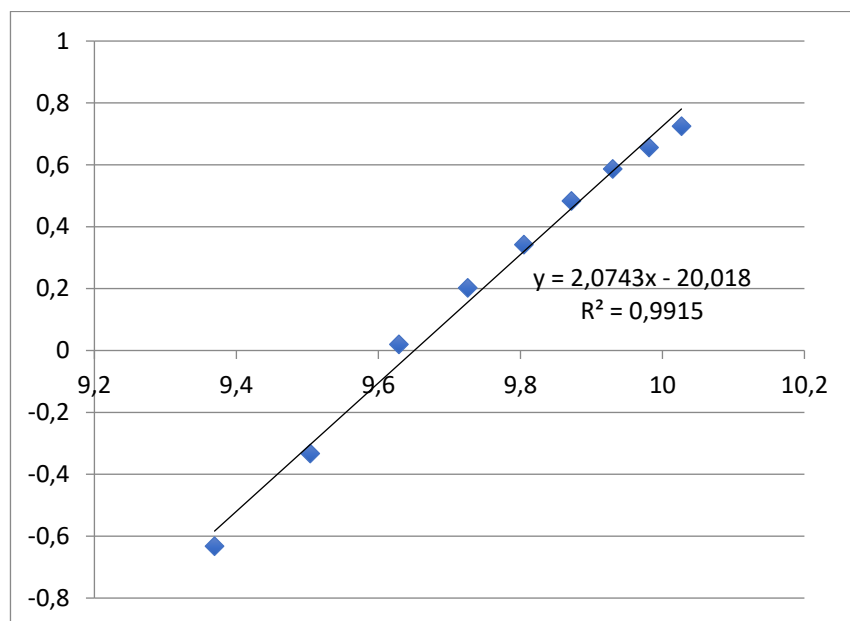
ANEXOS

Anexo A. Ampliación de espectros de adenina a alta temperatura (230°C a 240°C).

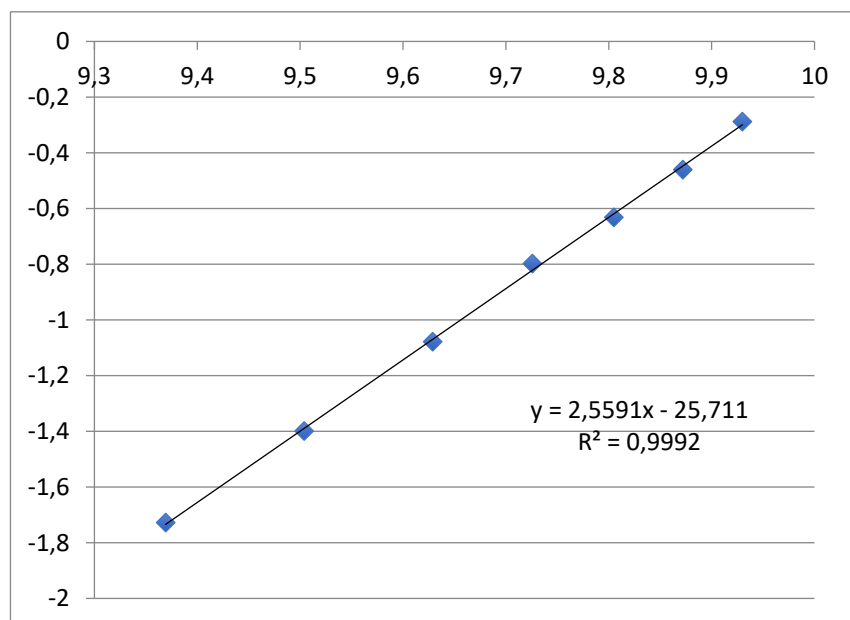


Anexo B. Cálculo de fotones para la adenina de 220 a 240°C.

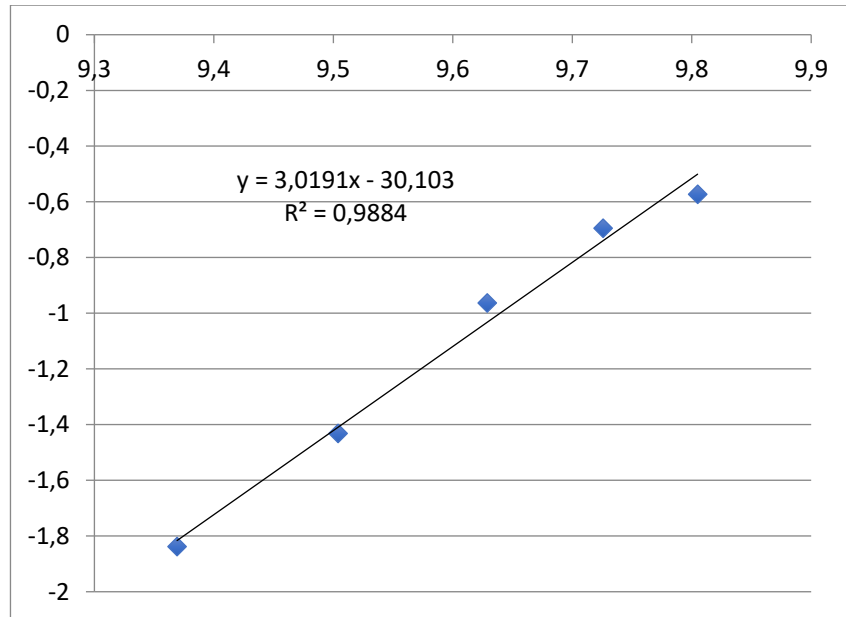
Cálculo de fotones para C⁺ de la adenina a altas temperaturas .



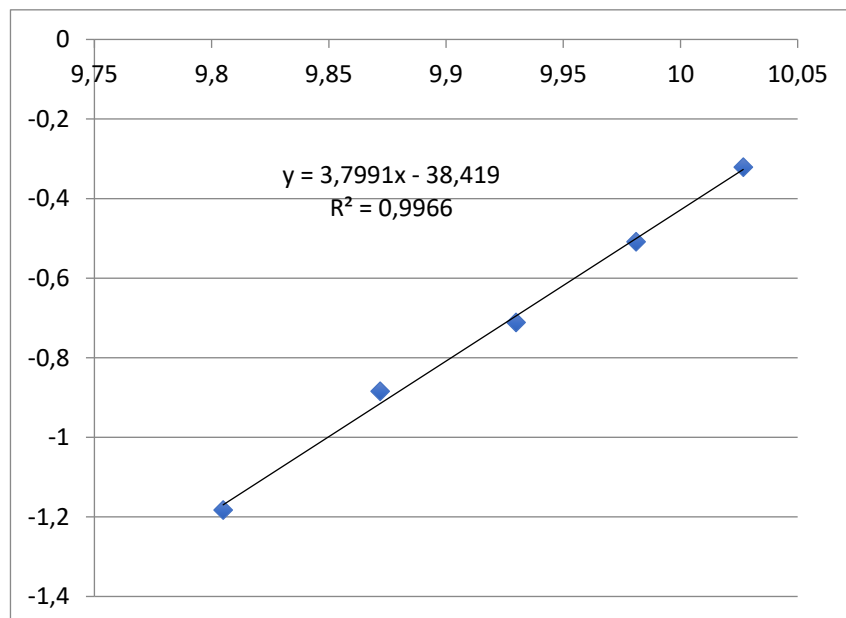
Cálculo de fotones para CH⁺ de la adenina a altas temperaturas.



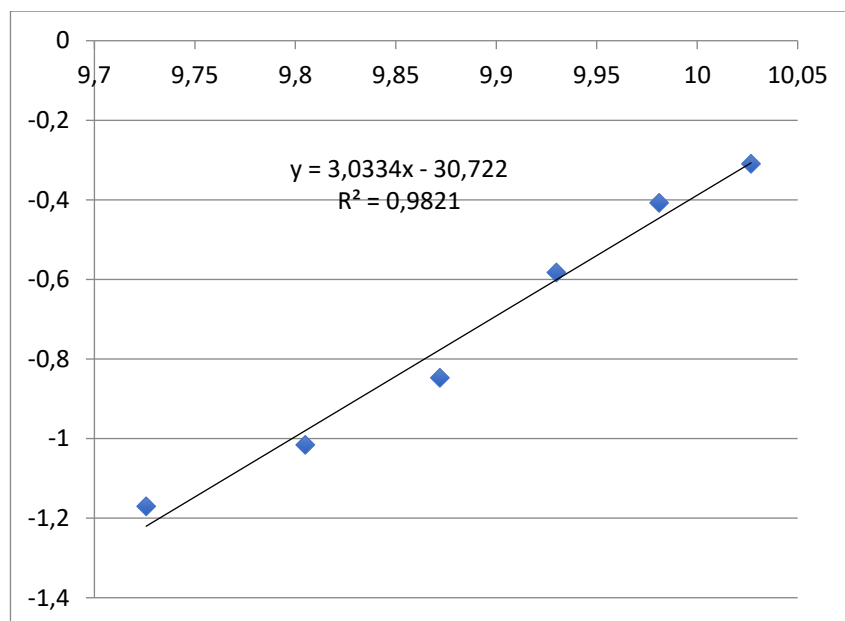
Cálculo de fotones para NH⁺ de la adenina a altas temperaturas.



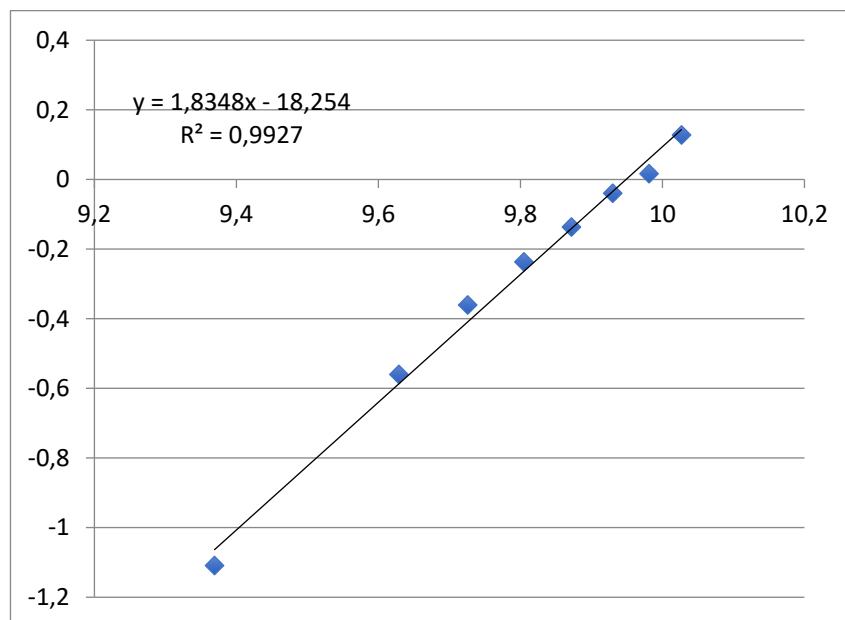
Cálculo de fotones para NH₃⁺ de la adenina a altas temperaturas .



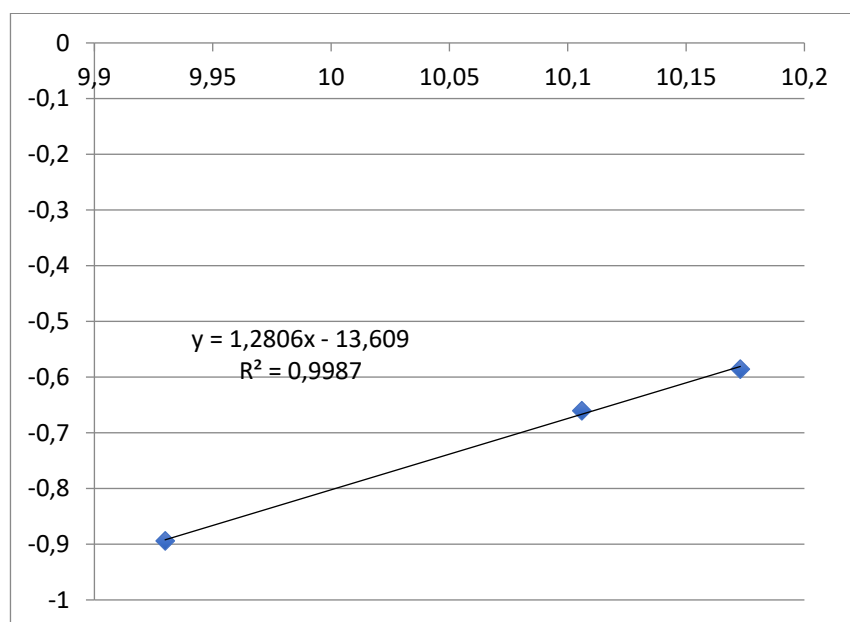
Cálculo de fotones para H₂O o NH₄⁺ de la adenina a altas temperaturas.



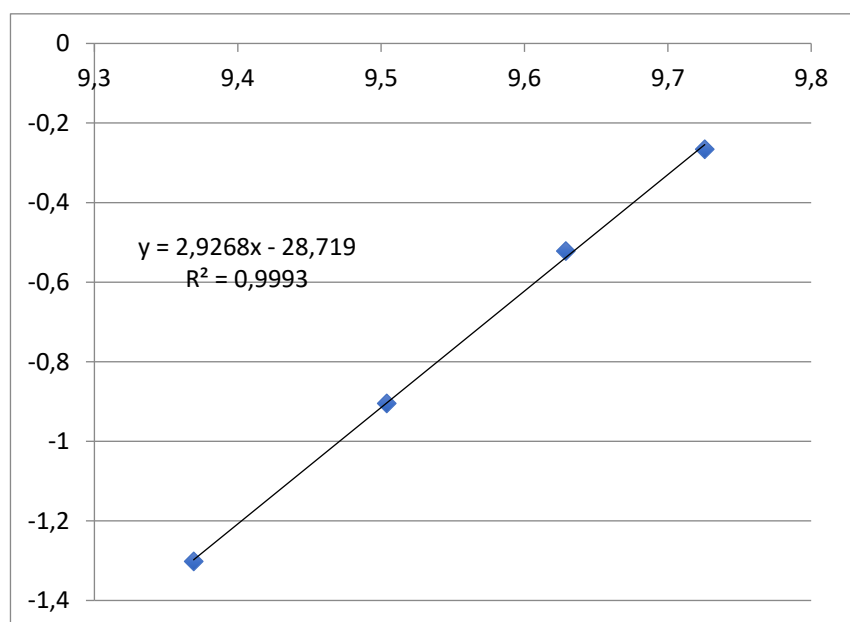
Cálculo de fotones para C₂⁺ de la adenina a altas temperaturas .



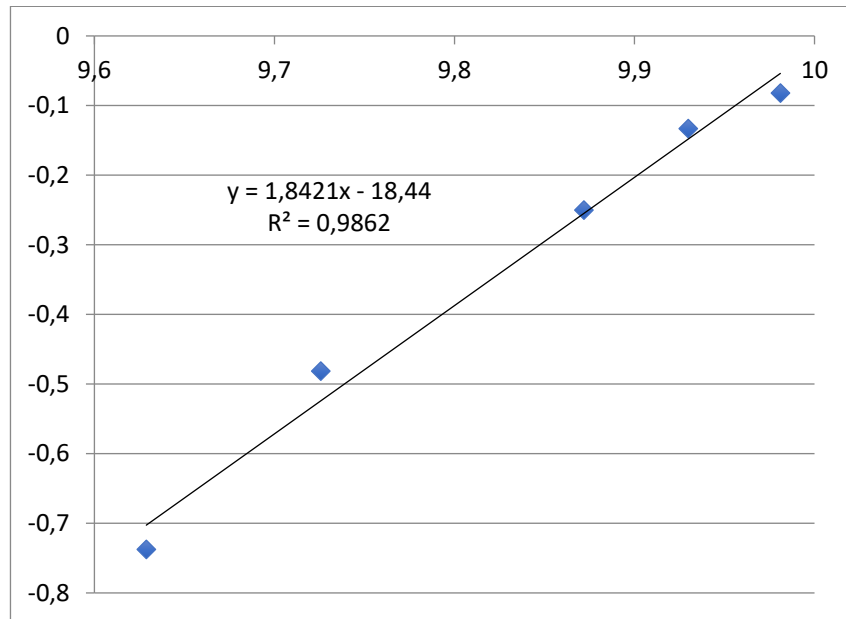
Cálculo de fotones para C_2H^+ de la adenina a altas temperaturas .



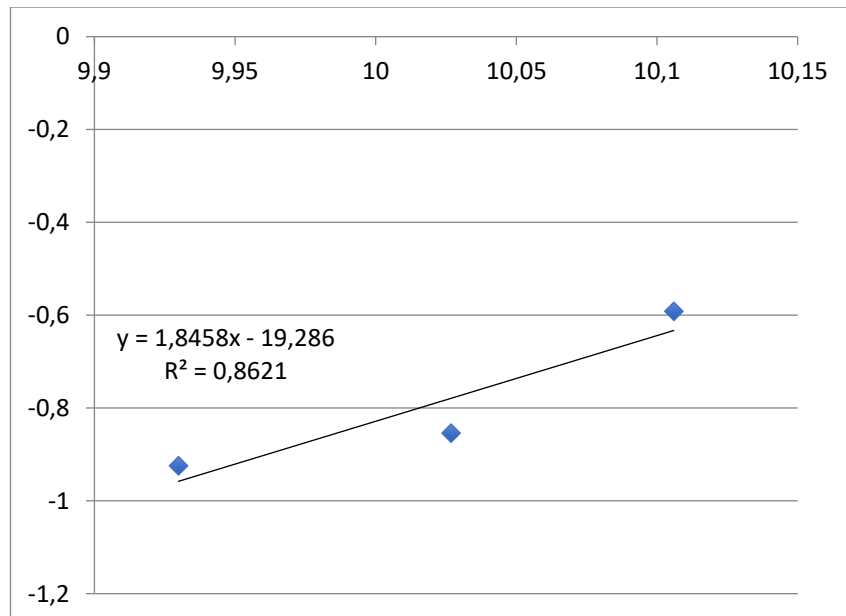
Cálculo de fotones para CN^+ o $C_2H_2^+$ de la adenina a altas temperaturas.



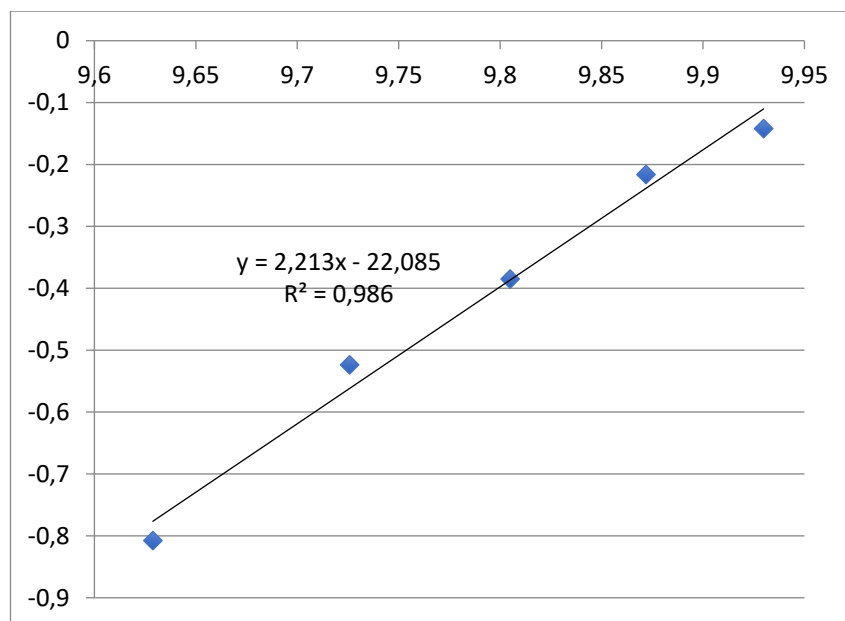
Cálculo de fotones para HCN⁺ de la adenina a altas temperaturas .



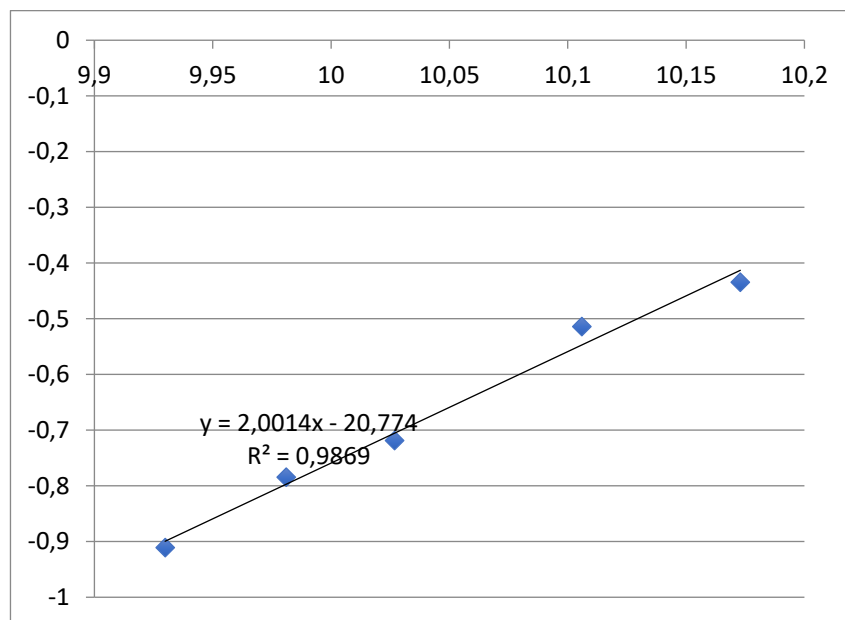
Cálculo de fotones para HCNH⁺ de la adenina a altas temperaturas



Cálculo de fotones para NH_2CH^+ de la adenina a altas temperaturas.



Cálculo de fotones para N_2H_2^+ de la adenina a altas temperaturas.



Cálculo de fotones para HCCN⁺ de la adenina a altas temperaturas .

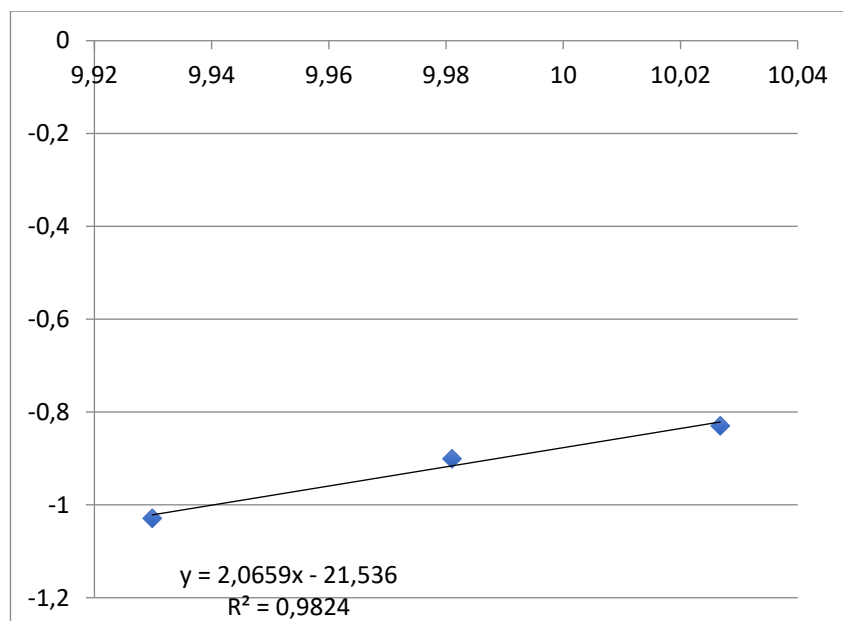


Figura 34. Cálculo de fotones para N₂HC⁺ de la adenina a altas temperaturas.

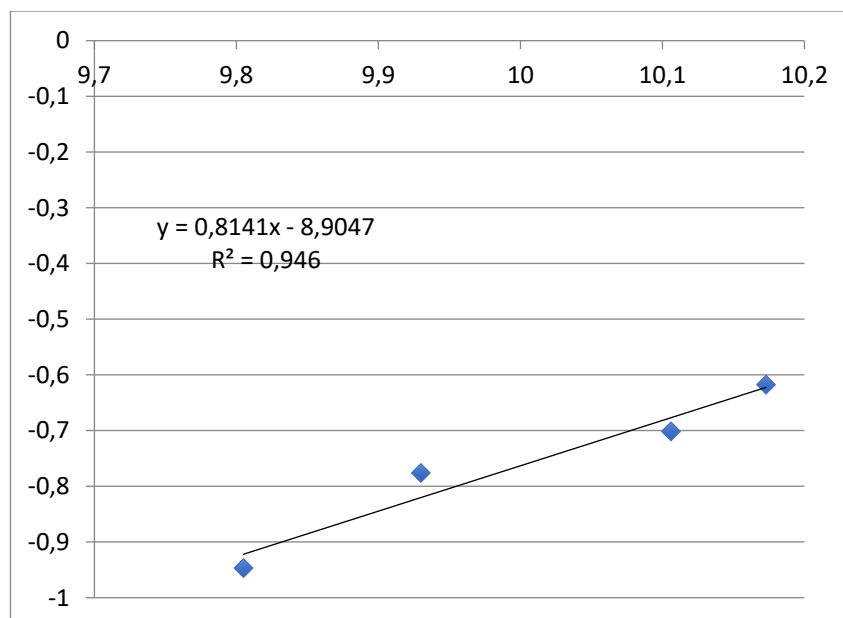
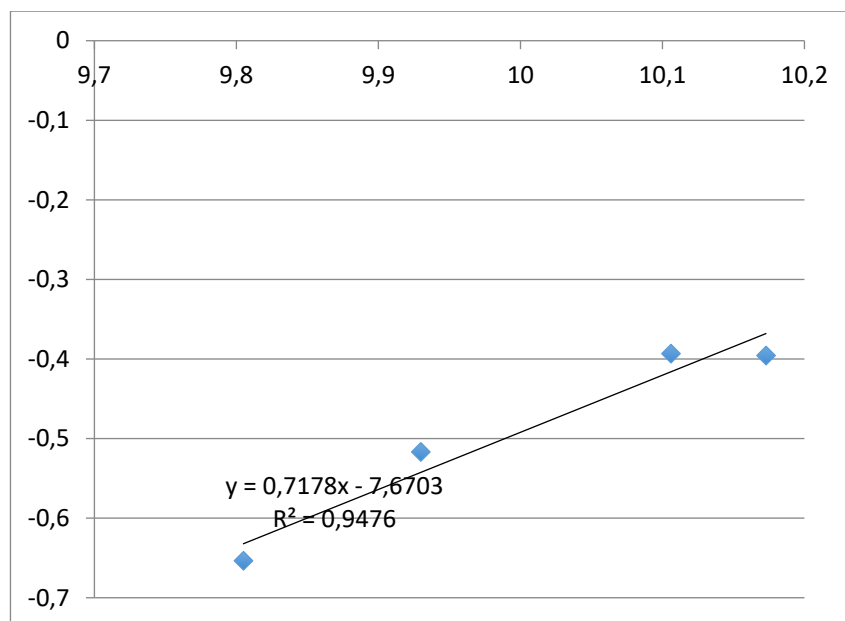
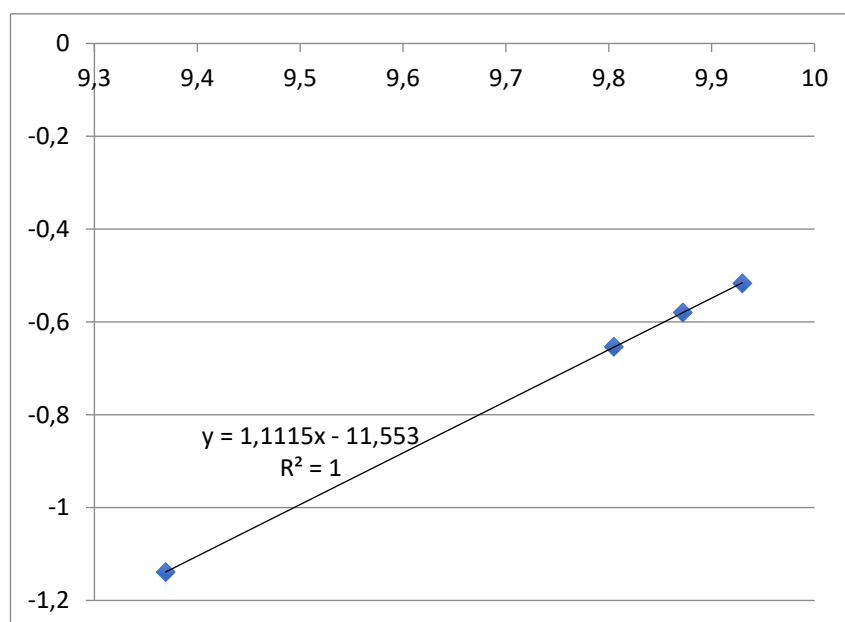


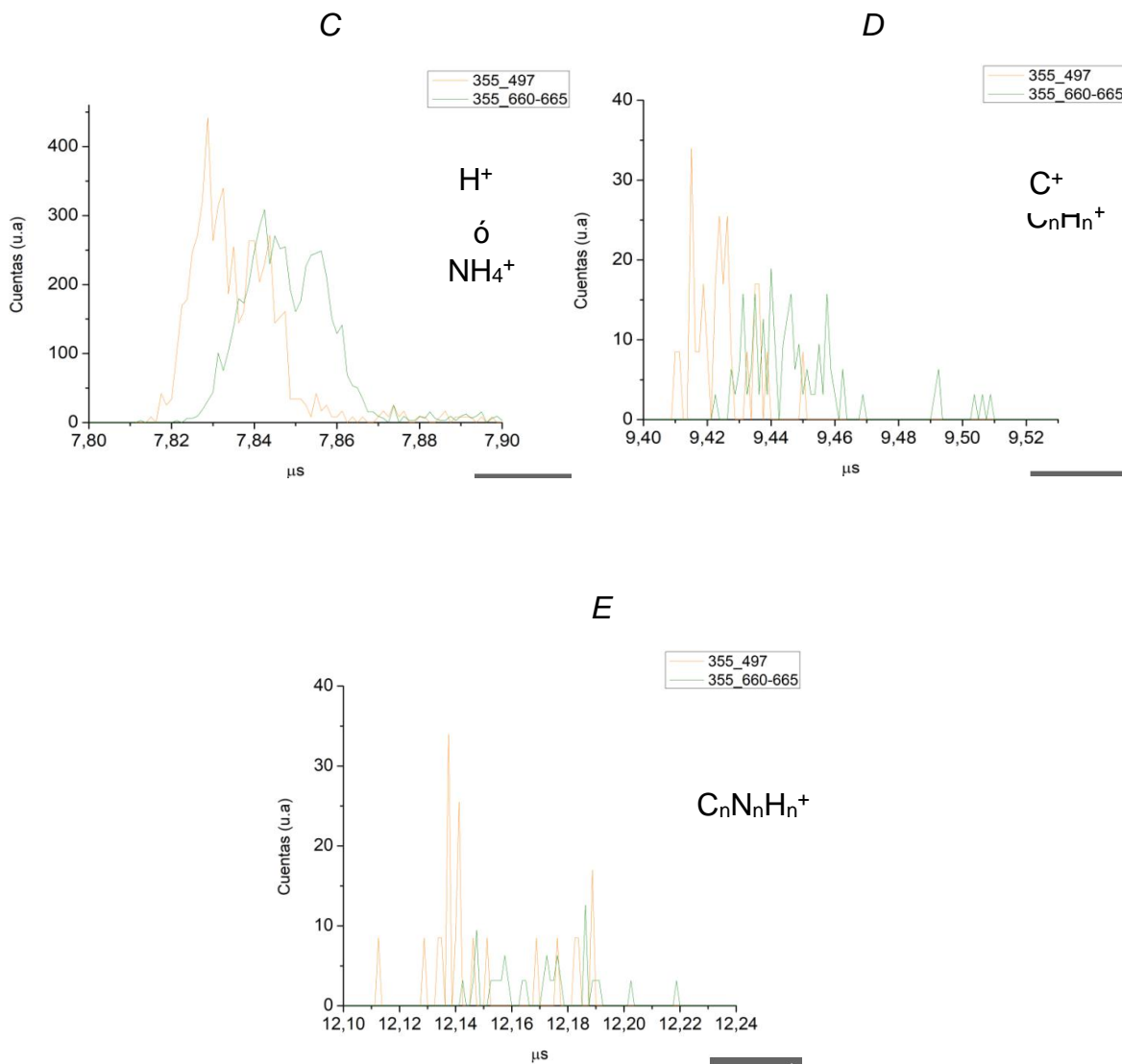
Figura 35. Cálculo de fotones para $N_2H_2C^+$ de la adenina a altas temperaturas.



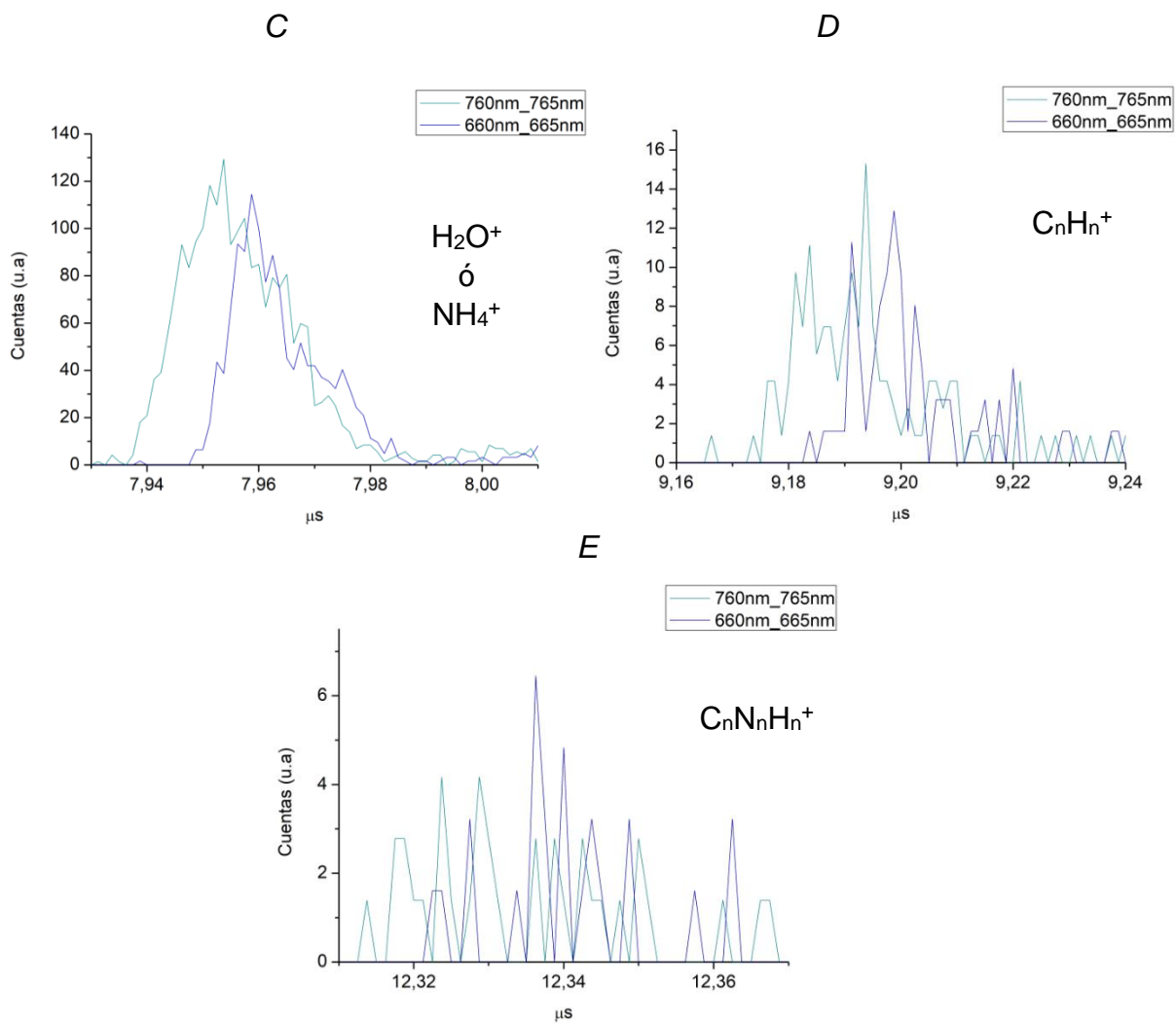
Cálculo de fotones para $C_2N_2H_5^+$ de la adenina a altas temperaturas.



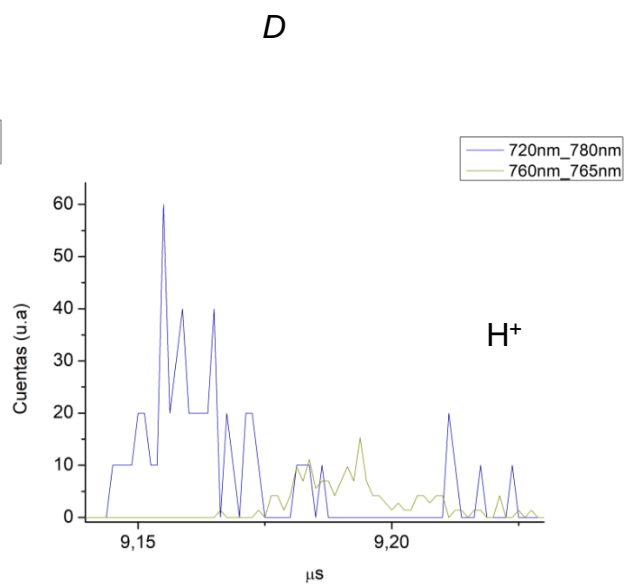
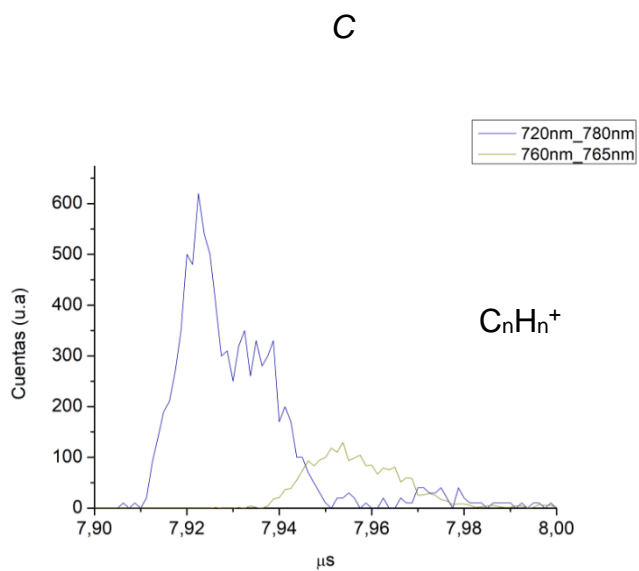
Anexo C. Ampliación de espectros de adenina a una potencia de 30mW, junto con el OPO 497 nm y 660 nm a 665 nm.



Anexo D. Ampliación de espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 760 a 765 y de 660 a 665.



Anexo E. Ampliación de espectros de la adenina para dos rangos de barrido del OPO, de 720nm a 780nm con el de 760nm a 765nm.



BIBLIOGRAFÍA

ANDREWS, David L. *Lasers in Chemistry*. Berlin York, New Tokyo, London Paris: Heidelberg, Springer-Verlag, 1986. p. 124-130. ISBN: 978-3-540-16161-5.

ASHFOLD, M.N.R., *et al.* Resonance Enhance Multiphoton Ionization (REMPI) and REMPI-Photoelectron Spectroscopy of Ammonia. En: *The European Physical* 1998, vol.4 , p. 189–97.

BEATTIE, David A, *et al.* (2 + 1) REMPI Spectra of the I₂ – Kr and I₂ – N₂ van der Waals Complexes and the (2 + 1') ZEKE–PFI Photoelectron Spectrum of I₂⁺– Kr. En: *Faraday Transactions* 93 (1997),p. 4245–51.

BERTOLOTTI, Mario. *Masers and Lasers, an Historical Approach*. 2 ed . New York: CCR Press, 2005. p. 141–62.

BLEASE, T.G., *et al.* (2 + 2) Resonance Enhanced Multiphoton Ionization Spectra of Jet-Cooled Ortho-, Meta- and Para-Xylene. En: *Laser Chemistry* 1988, vol.9, p. 241–263.

CAO, L, *et al.* “Resonance - Enhanced Multiphoton Ionization and VUV-Single Photon Ionization as Soft and Selective Laser Ionization Methods for On-Line Time-of-Flight Mass Spectrometry: Investigation of the Pyrolysis of Typical Organic Contaminants in the Steel Recycli. En: *Analytical Chemistry*, 2003, vol.75 ,p. 5639–5645.

COMSTOCK INCORPORATED. *TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETER MODEL TOF-101 OPERATION MANUAL*. Oak Ridge, Tennessee, 1990.

DR. SJUTS OPTOTECHNIK GMBH. *CEM Handling / Electrical Connections*. Goettingen, Alemania, 2017.

FISCHER, Ingo. Time-Resolved Photoionisation of Radicals , Clusters and Biomolecules : Relevant Model Systems. En: Chemical Society Reviews ,2003, vol.32 ,p. 59–69.

GILLIÉRON, Carine. Spectroscopy and Structure of the Naphthalene Dimer. En: *Boomerang Transactions* , 2006, vol. 1 ,p. 1–6.

HERTEL, Ingolf V. y WÖSE, L.. Chapter 3 Interaction of Strong Laser Fields with Matter. En: *Free Clusters and Free Molecules in Strong, Shaped Laser Fields*. [En línea] DISSERTATIONEN ONLINE DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN p. 17–30, 2009. (Recuperado en Mayo 12 del 2017.) Disponible en http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000005776/.

JOCHIMS, Hans-Werner, *et al.* Photoion Mass Spectrometry of Adenine , Thymine and Uracil in the 6 – 22 eV Photon Energy Range. En: Chemical Physics , 2005, vol.314 ,p. 263–82.

JOHNSON, Philip M. Molecular Multiphoton Ionization Spectroscopy. En: Accounts of Chemical Research , 1980, vol.13 ,p. 20–26.

JORDAN TOF Product, Inc. *D-803 Aref Power Supply for D-850 Positive Ion Angular Reflectorn*. Gace Valley , California, 2005.

KELDYSH, L.V. Ionization In The Field of a Strong Electromagnetic Wave. En: Soviet Physics,1965, vol.20 , no.5 ,p 1307–1314.

KIM, Nam Joon, *et al.* Resonant Two-Photon Ionization and Laser Induced Fluorescence Spectroscopy of Jet-Cooled Adenine. En: Journal of Chemical Physics , 2000, vol.113 ,p. 10051–10055.

KIM, Nam Joon, *et al.* Anomalous Fragmentation of Hydrated Clusters of DNA

Base Adenine in UV Photoionization. En: The Journal of Physical Chemistry A, 2000, vol.104 ,p. 6552–6557.

KLEINERMANN, Karl y PLÜTZER Chr.. Tautomers and Electronic States of Jet-Cooled Adenine Investigated by Double Resonance Spectroscopy. En: Physical Chemistry Chemical Physics, 2002, vol.4, p 4877–82.

Lab, Science. Material Safety Data Sheet Adenine MSDS, 2013.

LAMBROPOULOS, P. Reaching VUV Transitions with Multiphoton Processes. *Applied Optics* , 1980, vol.19, no. 23 ,p 3926–3933.

LIN, Sheng Hsien, *et al.* *Multiphoton Spectroscopy of Molecules*. Edited by Paul F Liao and Paul Kelly. Orlando: Academic Press, 1984. ISBN: 978-0-12-450520-9

LUBMAN, David M y KRONICK, Mel N.. Mass Spectrometry of Aromatic Molecules with Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization. En: Analytical Chemistry, 1982, vol. 54,p. 660–665.

LÜHRS, D. C.; VIALON J. y FISCHER I.. “Excited State Spectroscopy and Dynamics of Isolated Adenine and 9-Methyladenine.” En: Physical Chemistry Chemical Physics, 2001, vol.3, no.10 ,p. 1827–1831.

MARTÍNEZ FARFÁN, Ana Denhi. Fotólisis Del Nitrometano En El Límite de Transición Multifotónica. Tesis de Maestría en Ciencias Físicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en ciencias físicas, 2015,

MEVEL, Eric, *et al.* Atoms in Strong Optical Fields: Evolution from Multiphoton to Tunnel Ionization Eric. En: PHYSICAL REVIEW LETTERS, 1993, vol.36, no. 1,p. 406–409.

MURAOKA, K. y MAEDA M. Laser Processing Measurements. En: *Laser-Aided Diagnostics of Plasmas and Gases*, 230–257. (Serie in Plasma Physics). Taylor & Francis, 2000. ISBN : 978-0-7503-0643-0

MYERS, Richard L. *The 100 Most Important Chemical Compounds: A Reference Guide*. Westport, Connecticut: Greenwood Press, 2007. ISBN 978-0313337581

Nir, E. , *et al.* “REMPI Spectroscopy of Laser Desorbed Guanosines” En: *Journal American Chemical Society*. 2000, vol.122 , no.33, 8091–8092.

¹ Nir, E. , *et al.* “REMPI spectroscopy of Jet-Cooled Guanine”En: *Journal American Chemical Society*. 1999, vol.121 , no.20, 4896–4897.

NOLTING, Dirk, *et al.* Excited-State Relaxation of Protonated Adenine. En: *ChemPhysChem* , 2007, vol.8 ,p. 751–55.

OREA, J M, *et al.* Analysis of Carbendazim in Agricultural Samples by Laser Desorpt Ion and REMPI Time-of-Flight Mass Spectrometry. En: *Analytical Chemistry*,1998, vol.70, no.3 ,p 491–497.

OROZCO ARELLANES, M J, y CUDNEY R S. Construcción Y Caracterización de Un Oscilador Óptico Paramétrico Con Niobato de Litio Periódicamente Polarizado. En: *REVISTA MEXICANA DE FÍSICA*, 2001, vol.47 ,no.5,p 460–466.

OSER, Harald, *et al.* Development of a Jet-REMPI (Resonantly Enhanced Multiphoton Ionization) Continuous Monitor for Environmental Applications.En: *Applied Optics* 2001, vol.40 ,no.6, p 859–865.

OTTO, C, *et al.*” Surface enhanced Raman scattering of Derivatives of Adenine. The Importance of the External Amino Group in Adenine for Surface Binding” En: *Journal Physical Chemistry*. 1988, vol.92, 1626–310.

PERUN, Serhiy. AB INITIO STUDIES OF PHOTOPHYSICS OF ADENINE AND THYMINE MOLECULES AND OF THEIR DIMER . Tesis en Doctorado en Física. Instytut Fizyki Polska Akademia Nauk Serhiy Perun. Polish Academy of Sciences, 2006, p. 126

POVEDA JARAMILLO, Juan Carlos. FOTOIONIZACIÓN Y FOTODISOCIACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS TESIS. Tesis de Doctorado en Ciencias Físicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en Ciencias Químicas, 2003,

PRITCHARD, Jonathan. Rydberg Atoms. En: *Cooperative Optical Non-Linearity in a Blockaded Rydberg Ensemble*. Durham: Durham University, 2010, p. 13-25. ISBN 978-3-642-29712-0

PUGLIESE, Silvina Norma. INVESTIGACIÓN DE PROCESOS DE IONIZACIÓN DE MOLÉCULAS DE AGUA POR INTERACCIÓN CON RADIACIÓN LÁSER. Tesis en Maestría en Ciencias Físicas. Argentina: Universidad Nacional de Cuyo, 2013, p. 65

REQUENA RODRIGUEZ, Alberto y ZUÑIGA ROMÁN José. Espectroscopía. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, 2004. ISBN: 978-8420536774

SÁNCHEZ DEL RÍO, Carlos. T.3. CAVIDADES, ÁTOMOS DE RYDBERG E INTERACCIÓN FOTÓN- ÁTOMO APROXIMADA. En: *Física Cuántica*, 1151–1170. 5 ed. Madrid: Ediciones Pirámide, 2015. ISBN 9788436833058

SCHÄFER, Rolf, y SCHMID Peter C.. *Methods in Physical Chemistry Volume 1*. Weinheim, Alemania: Willey-VHC Verlag &Co, 2012. ISBN : 978-3527327454

SCHWELL, Martin y HOCHLAF Majdi. Photoionization Spectroscopy of Nucleobases and Analogues in the Gas Phase Using Synchrotron Radiation as Excitation Light Source. En : *Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids I*.

Nucleobases in the Gas Phase and in Solvents. 2015 ,vol. 355, p. 155–208.
ISBN: 978-3-319-13371-3

SCHWELL, Martin *et al.* VUV Photochemistry of Small Biomolecules. En:
Planetary Space Science. 2006, vol. 54 , p. 1073–1085.

SHUKLA, Manoj K. y LESZCZYNSKI Jerzy . Radiation Induced Molecular
Phenomena in Nucleic Acids: A Comprehensive Theoretical and Experimental
Analysis . EN : CHALLENGES AND ADVANCES IN COMPUTATIONAL
CHEMISTRY AND PHYSICS. United States of america: Springer, 2008,p. 1-14
. ISBN 978-1-4020-8183-5

SMOLAREK, S. UV and IR laser spectroscopy of isolated molecular structural
dynamics. Tesis de Doctorado. Holanda: Universidad de Amsterdam. Van 't
Hoff Institute for Molecular Sciences (HIMS), 2011. p. 81-101

SOLÁ REIJA, Ignacio. *Teoría Y Simulación Del Control de La Dinámica
Vibracional de Moléculas Sencillas Mediante Pulsos Láser Intensos.* Tesis de
Doctorado en Ciencias Químicas . Madrid: Universidad Complutense de
Madrid, 2000,p. 4–12

Spectra-Physics. *Quanta -Ray PRO-Series Pulsed Nd:YAG Lasers User's
Manual.* Mountain View, 1999.

TELLE, Helmut H.; URENA; Angel Gonzalez, y DONOVAN, Robert J. Laser
Chemistry: Spectroscopy, Dynamics and Applications. Statewide Agricultural
Land Use Baseline. Inglaterra: JohnWiley&Sons Ltd. Vol. 1, 2015. ISBN 978-0-
471-48571-1

YOKOYA, Akinari, *et al.* Spectroscopic of Radiation-Induced DNA Lesions and
Their Susceptibility to Enzymatic Repair. En: *Charged Particle and Photon
Interactions with Matter Recent Advances, Applications, and Interfaces*, edited

by Yoshihiko Hanato, Yosuke Katsumura, y A Mozumder, 543-574. Tokio y Tokai, Japón: CRC Press, 2010.

ZIMMERMANN, Ralf, *et al.* A Mobile Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Device for On-Line Analysis of Aromatic Pollutants in Waste Incinerator Flue Gases : First Results. En : *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 1997, vol.11, p. 1095–1102.

ZWIEB, Christian. Fundamental Aspects of RNA. En: *RNA Nanotechnology*, 6, p. 15–76. San Antonio, Texas: Pan Stanford Publishing, 2014. ISBN 978-981-4411-64-6